

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BOAS PRÁTICAS DE MANEJO DE BEZERRAS  
LEITEIRAS NA FASE DE CRIA E POTENCIAIS EFEITOS  
NA RECRIA**

**Luciana Pontes da Silva**

Zootecnista

**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BOAS PRÁTICAS DE MANEJO DE BEZERRAS  
LEITEIRAS NA FASE DE CRIA E POTENCIAIS EFEITOS  
NA RECRIA**

**Luciana Pontes da Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa**

**Coorientadora: Dra. Aline Cristina Sant'Anna**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

**2015**

Silva, Luciana Pontes da  
S586b Boas práticas de manejo de bezerras leiteiras na fase de cria e  
potenciais efeitos na recria / Luciana Pontes da Silva. -- Jaboticabal,  
2015  
v, 51 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015  
Orientador: Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa  
Banca examinadora: Carla Forte Maiolino Molento. Fernando  
Sebastian Baldi Rey.

Bibliografia

1. Bem-estar animal. 2. Escovação. 3. Novilhas. 4. Pós-desmama.
5. Temperamento. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.083:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação  
– Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LUCIANA PONTES DA SILVA – Nascida em 17 de junho de 1986, na cidade de São Bernardo do Campo – SP. Formada em Zootecnia pela Universidade Federal de Alagoas - Câmpus Arapiraca no ano de 2011. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica, desenvolvendo um projeto no curso de Agronomia. Participou de monitorias de duas disciplinas (Introdução à Zootecnia e Fisiologia Vegetal e Forragicultura). Desenvolveu projetos na área de forragicultura. Em janeiro de 2011 fez estágio obrigatório no Grupo de Estudos e Pesquisas em Etologia e Ecologia Animal (ETCO). Em junho de 2011 iniciou o treinamento técnico (como bolsista FAPESP) na FCAV – Unesp, Câmpus de Jaboticabal e com o Grupo ETCO, trabalhando com bem-estar e comportamento de bezerros leiteiros. No ano de 2013 ingressou no mestrado em Zootecnia pela FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Em 2015 realizou um intercâmbio estudantil na *Swedish University of Agricultural Science (SLU)*, Suécia. Atualmente desenvolve trabalhos com bezerros leiteiros no Grupo ETCO e um estudo com interação predador presa entre lobos e ovelhas na SLU- Suécia.

*A gentileza é a essência do ser humano. Quem não é suficientemente gentil não é suficientemente humano.*

*Joseph Joubert*

*Dedico...*

*Aos dias vividos, sem poluição urbana. Aos animais que sempre me surpreendem com seus mistérios. Aos risos soltos. Aos amigos distantes fisicamente, mas que estão perto do meu coração. Às doces e amargas experiências vividas. Aos gostos desconhecidos, como as minhas novas experiências. Ao amanhecer que tanto me causa admiração. Aos poucos seres humanos gentis, mas que graças a Deus, eu tive a honra de conhecer. E por fim, à vida, esta que vivo e que vale a pena.*

## Agradecimentos

Primeiramente agradeço à Deus, meu divino criador, sábio de tudo e que é conhecedor da minha essência, por isso, proporcionou-me essa maravilhosa jornada, a vida.

Ao abrir meus olhos, após meu nascimento, pude conhecer o ser mais encantador que existe na minha vida, minha mãe. Eu já a amava desde o dia que soube que seria abençoada por ser sua filha. Obrigada minha mãe, Maria Gercina, minha professora, amiga, inspiradora, minha sorte, minha razão de viver. Te amo.

Quando criança, na minha imaginação, meus super-heróis eram sempre gordinhos, por que né pai? Porque eles sempre tinham algo do senhor, algo tão forte que nem saberia explicar e mágico, como tem que ser um pai. Obrigada por me dar ferramentas para meus primeiros passos. Obrigada por sempre dizer que dinheiro não é tudo, mas que o pouco que o senhor tinha, seria para ajudar a realizar nossos sonhos. Eu estou aqui, consegui. Obrigada por sempre tirar o tampão da maldade dos meus olhos, meu pai bravo José Pontes. Te amo.

Aos meus queridos manolus, meus irmãos, Luciano e Isac. Obrigada pelo ensinamento de viver sorrindo a cada dia com a arte. Obrigada pelas noites de filmes. Obrigada pela sensação de sentir meu coração batendo, quando esperei cada um de vocês nascerem. Obrigada por serem meus irmãos amigos. Amo vocês.

Eu não teria conseguido sem vocês, meus alicerces, tia Lilia, minha vó Maria, minha prima Lilian, meu primo Helton e Arlan e meu tio Iran. Vocês foram e serão sempre os degraus mais humanos que ajudaram-me a subir a escada, chamada vida. Toda minha família contribuiu de alguma forma. Tenho sorte de ter vocês como família.

Quem diria uma menina iniciando a vida profissional, apertando a mão de um dos maiores ícones da agropecuária brasileira. Obrigada meu orientador Prof. Dr. Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa, o seu aperto de mão foi o início para realização de um sonho. Obrigada pelas oportunidades, pelas conversas amigas, confiança, pelos puxões de orelhas (sempre válidos) e por ter feito parte da minha vida.

Docilidade, caráter, profissionalismo, humanidade e gentileza, são características de poucos humanos que conheço, mas tive a sorte de conhecer

um ser muito radiante com tais características, minha coorientadora Aline Cristina Sant'Anna. Obrigada pela ajuda, pela amizade, pelo apoio, pela paciência e principalmente por acreditar em mim. Te admiro muito como ser humano e como profissional. Você foi capaz de despertar uma Luciana melhor.

Confiança e companheirismo são características importantes em uma relação de trabalho. Eu sou grata à Deus por ter construído isto com você Lívia Carolina. Obrigada pela confiança, pela ajuda, amizade, iniciativa, pelas risadas e pelas experiências vividas. Você é muito especial na minha vida.

Aos membros da minha banca de qualificação, Prof. Dr. Sergio Ferraudo e Profa. Dr. Luciandra Macedo de Toledo. Obrigada pelos conselhos, correções e sugestões. E também aos os membros da banca de defesa, Profa. Dra. Carla Forte Maiolino Molento e Prof. Dr. Fernando Sebastian Baldi Rey. Obrigada pela presença e por mostrar que mesmo bom, nosso trabalho pode ficar ainda melhor.

Ao CNPq, pela bolsa a mim concedida, esta foi o suporte para realização do meu sonho. Obrigada aos servidores da Sessão de Pós-graduação da Unesp-Câmpus de Jaboticabal-SP.

O profissionalismo junto com respeito cria um grupo sólido e forte, foi assim que me senti sendo parte do Grupo ETCO. Obrigada ETCO. Meus agradecimentos nunca serão suficientes para expressar a experiência que vivi com vocês. Obrigada meus companheiros.

Aos amigos que fiz durante minha estadia no Grupo ETCO, em especial Tiago, Arqui, Jana, Milia, Mafer, Dani, Fanfis, Nique, Pedro, Dai, Naty, Nachacha, Kaka, MC e Steffan. Vocês foram a minha vontade de acordar cedo em dias de chuva e ir para o ETCO. Obrigada.

O estágio na vida de um profissional é importante. E ser tratado bem, faz a diferença no início da vida profissional destas pessoas. May, Farol e Bia, vocês sem dúvidas serão brilhantes profissionais e eu tenho o prazer de ter feito parte disto. Vocês também se tornaram grandes amigas. Sucesso.

Todos os amigos que fiz em Jaboticabal, em especial, Nadir, Cleverson e João Victor. Obrigada pelos dias mais feliz que passei na FAI.

Aos funcionários e Sr. Mauricio Coelho da Fazenda Santa Luzia. Meu estudo e experiência não seriam os mesmos sem vocês. Obrigada pela confiança, apoio e amizade.

A um grande amigo, profissional e pai que conheci na Suécia, obrigada Jens, pela oportunidade e por confiar em mim. Obrigada também a todos da SLU, Suécia.

A um presente que ganhei quando fui enfrentar um grande desafio profissional, ir para Suécia. Obrigada David Sjögren, pelas palavras doces, pelo abraço forte e pelo amor que você conquistou. Te amo.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>RESUMO.....</b>	ii
<b>ABSTRACT.....</b>	iv
<b>CAPÍTULO 1 – Considerações gerais .....</b>	1
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	3
2.1. Boas práticas de manejo e a relação entre seres humanos e animais.....	3
2.2. Boas práticas de manejo e o temperamento animal .....	4
2.3. Efeito do contato tático gentil por humanos em animais de fazenda.....	5
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	12
<b>CAPÍTULO 2 –Long-term effects of good handling practices during the pre-weaning period of crossbreed dairy calves .....</b>	17
<b>1. INTRODUCTION .....</b>	18
<b>2. MATERIAL AND METHODS.....</b>	21
<b>3. RESULTS .....</b>	28
<b>4. DISCUSSION.....</b>	34
<b>5. CONCLUSION.....</b>	39
<b>6. REFERENCES .....</b>	40
<b>CAPÍTULO 3 – Considerações finais .....</b>	45

## BOAS PRÁTICAS DE MANEJO DE BEZERRAS LEITEIRAS NA FASE DE CRIA E POTENCIAIS EFEITOS NA RECRIA

**RESUMO** – A relação entre seres humanos e bezerros leiteiros pode ser melhorada através do contato tátil gentil. Este estímulo também pode refletir em efeitos na produção e no bem-estar animal. O uso de cruzamentos entre raças europeias e zebuíños vem ganhando espaço na produção leiteira em regiões subtropicais e tropicais, porém ainda se sabe pouco sobre a influência das boas práticas de manejo no bem-estar animal e no temperamento dos animais cruzados. O presente estudo foi desenvolvido buscando entender os efeitos de longo prazo destas práticas de manejo sobre indicadores de comportamento, desempenho, indicadores fisiológicos de estresse e sobre a saúde das bezerras. O primeiro capítulo, revisão bibliográfica, foi desenvolvido com o intuito de contextualizar o leitor sobre os assuntos gerais da dissertação. O segundo capítulo, estudo experimental, foi elaborado com objetivo de avaliar os efeitos de longo prazo de boas práticas de manejo durante o período de pré-desmama em bezerras leiteiras com diferentes proporções de Zebu. Foram utilizadas 98 bezerras recém-nascidas, alocadas aleatoriamente em três tratamentos durante o período pré-desmama: a) boas práticas de manejo com escovação (BME), boas práticas de manejo (BM); e o Grupo controle. Foram realizadas quatro avaliações (AV) de temperamento a cada dois meses, usando quatro indicadores comportamentais: a) tempo de entrada (TE); b) escore composto de reatividade (ECR); c) velocidade de saída (VS); e d) distância de fuga (DF). As frequências respiratória e cardíaca foram usadas como indicadores fisiológicos de estresse agudo durante o manejo. Números de ocorrências de anaplasmosse bovina e pneumonia por animal foram obtidos durante o período pós-desmama. O ganho médio diário (GMD) foi calculado baseado no peso corporal de cada avaliação. Os tratamentos tiveram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) nas três características de temperamento; TE, VS e DF, mas não para ECR ( $P = 0,78$ ). Nas três primeiras AV o grupo Controle teve menores médias de TE (AV1:  $25,40 \pm 6,21$ ; AV2:  $9,52 \pm 3,69$  e AV3:  $23,90 \pm 3,99$ ) do que os grupos BME (AV1:  $38,63 \pm 7,20$ ; AV2:  $13,66 \pm 3,93$  e AV3:  $35,45 \pm 4,66$ ) e BM (AV1:  $41,53 \pm 7,60$ ; AV2:  $24,55 \pm 4,41$  e AV3:  $28,34 \pm 4,83$ ). Também nas primeiras AV, o grupo BME teve menor média (AV1:  $1,19 \pm 0,16$ ; AV2:  $0,97 \pm 0,13$  e AV3:  $0,82 \pm 0,13$ ) na VS do que o grupo Controle (AV1:  $1,47 \pm 0,15$ ; AV2:  $0,97 \pm 0,13$ ; AV3:  $0,82 \pm 0,13$ ), enquanto os grupos BME e BM não diferiram significativamente. Resultado semelhante foi encontrado para DF, com o grupo BME, tendo menores médias (AV2:  $6,04 \pm 0,51$ ; AV3:  $2,53 \pm 0,31$  e AV4:  $3,74 \pm 0,50$ ) do que observado para os grupos BM (AV2:  $6,30 \pm 0,55$ ; AV3:  $3,30 \pm 0,32$  e AV4:  $5,03 \pm 0,50$ ) e Controle (AV2:  $7,08 \pm 0,41$ ; AV3:  $3,53 \pm 0,30$  e AV4:  $5,40 \pm 0,43$ ) nas três últimas avaliações. Os tratamentos não tiveram efeito significativo ( $P > 0,05$ ) nas frequências cardíaca, respiratória e no GMD. Incidências de anaplasmosse bovina e pneumonia foram independentes dos tratamentos ( $P > 0,05$ ). Concluímos que as boas práticas de manejo durante o período pré-desmama têm efeitos positivos em longo prazo no temperamento de novilhas leiteiras cruzadas, mas o tempo decorrido após o manejo gentil terminar, pode levar a diluição dos seus efeitos benéficos ao longo da vida dos animais.

**Palavra-chaves:** bem-estar animal, escovação, novilhas leiteiras, pós-desmama, temperamento

## GOOD PRACTICES OF HANDLING OF DAIRY CALVES DURING PRE-WEANING AND POTENTIAL EFFECTS IN THE POST- WEANING PERIOD

**ABSTRACT** – Human-calves relationship can be improved through gentle tactile interactions. This stimulus can also affect the calves production and animal welfare. The use of European and Zebu crossbreds has gained space for the dairy production in tropical and subtropical regions, however, little is known about the influence of good handling of practices on the welfare and temperament of crossed cattle. The aim of this study was to understand the long-term effects of the good practices of handling on behavior, performance, physiological stress indicators, and calves health. The first chapter was developed with the purpose of contextualizing the reader about the main subjects of the dissertation. The second chapter, experimental study, was performed with the aim of evaluate the long-term effects of good practice of handling during the pre-weaning period on dairy calves with different proportions of Zebu breed. Ninety eight newborns calves were used, assigned into three groups of treatments applied during the pre-weaning period: a) good practices of handling plus brushing; b) good practices of handling; and c) Control group. Four temperament evaluations (EV) were performed every two months, using four behavioral indicators: a) time to drive (TD); b) reactivity score (CRS); c) flight speed (FS) and; d) flight distance (FD). Respiratory and heart rates were used as physiological indicators of acute stress during handling. Numbers of occurrences of bovine anaplasmosis and pneumonia per calf during the post-weaning period were obtained. ADG was calculated based on body weight in the time of EV. Treatments had significant effects ( $P < 0.05$ ) in three temperament traits: TD, FS, and FD, but not in CRS ( $P = 0.78$ ). In the first three EV the Control group had lower TD means (EV1:  $25.40 \pm 6.21$ ; EV2:  $9.52 \pm 3.69$  and EV3:  $23.90 \pm 3.99$ ) than GPB (EV1:  $38.63 \pm 7.20$ ; EV2:  $13.66 \pm 3.93$  and EV3:  $35.45 \pm 4.66$ ) and GP groups (EV1:  $41.53 \pm 7.60$ ; EV2:  $24.55 \pm 4.41$  and EV3:  $28.34 \pm 4.83$ ). Also in the first three EV, the GPB group had lower FS means (EV1:  $1.19 \pm 0.16$ ; EV2:  $0.97 \pm 0.13$  and EV3:  $0.82 \pm 0.13$ ) than Control group (EV1:  $1.47 \pm 0.15$ ; EV2:  $0.97 \pm 0.13$ ; EV3:  $0.82 \pm 0.13$ ), whereas GP and GPB groups did not differ significantly from each other. Similar results were found for FD, with the GPB group having lower means (EV2:  $6.04 \pm 0.51$ ; EV3:  $2.53 \pm 0.31$  and EV4:  $3.74 \pm 0.50$ ) than those found for GP (EV2:  $6.30 \pm 0.55$ ; EV3:  $3.30 \pm 0.32$  and EV4:  $5.03 \pm 0.50$ ), and Control groups (EV2:  $7.08 \pm 0.41$ ; EV3:  $3.53 \pm 0.30$  and EV4:  $5.40 \pm 0.43$ ) in the last EV. Treatments had no significant effects ( $P > 0.05$ ) on respiratory and heart rates and ADG. Incidences of bovine anaplasmosis and pneumonia were independent of treatments ( $P > 0.05$ ). We conclude that good practices of handling during the pre-weaning period have long-term positive effects on the temperament of crossbred dairy heifers, but the time elapsed after gentle handling of calves has finished can lead to dilution of its beneficial effects throughout the animal's life.

**Keywords:** animal welfare, brushing, heifer calves, post-weaning, temperament

## CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

### 1. INTRODUÇÃO

A mecanização nos sistemas de produção animal teve um papel importante para a otimização do uso do tempo e do espaço, mas paradoxalmente a isso, diminuiu a oportunidade de interações entre seres humanos e animais. Por essa razão, o entendimento destas relações tem recebido atenção no cenário da produção animal, principalmente no que diz respeito aos efeitos de diferentes práticas de manejo (positivas, negativas ou neutras) no bem-estar dos animais (BOIVIN et al., 1998; PROBST et al., 2013; SCHUELZE-WESTERATH et al., 2014).

O manejo positivo pode promover redução de emoções negativas dos animais de produção em relação aos humanos e ao ambiente de criação (LE NEINDRE; BOIVIN; BOISSY, 1996). Por exemplo, a adoção de boas práticas de manejo pode reduzir o medo de bezerros frente a situações imprevistas, podendo afetar significativamente os índices de produtividade e diminuir a tendência dos animais a evitar o ser humano, criando oportunidade para uma positiva interação entre estes (LENSINK et al., 2001).

A redução da resposta do medo dos animais em relação ao ser humano e a consequente diminuição no grau de reatividade podem ser explicadas em função dos processos de aprendizado que ocorrem ao longo da vida dos bovinos. Uma das práticas comumente utilizadas que pode auxiliar neste processo é o estímulo tátil feito por humanos. Este estímulo podem ser realizados por meio de escovação, carinhos ou toques suaves, como relatado em diversos estudos (KERR; WOOD-GUSH, 1987; BOISSY; BOUSSIQUET, 1988; BOIVIN et al., 1998; JAGO et al., 1999; LENSINK et al., 2000a,b; PAJOR; RUSHEN; DE PASSILLE, 2000; KROHN; JAGO; BOIVIN, 2001; RUSHEN et al., 2001; BREUER et al., 2004; WAIBLINGER et al., 2004; BERTENSHAW et al., 2008; SCHMIED et al., 2008a,b; PROBST et al., 2013). De modo geral, os estudos vêm demonstrando que tal tipo de contato melhora a relação humano-animal, estabelecendo um vínculo positivo entre ambos. Além disso, Boissy e Bouissou (1988) sugeriram que o contato gentil com humanos pode ser mais eficiente quando ocorre no

período inicial de desenvolvimento e permanece por longo período de tempo na vida dos animais.

A reatividade é um termo usado para descrever o temperamento de bovinos (BOISSY; BOUSSOU, 1995). Esta pode ser afetada pelo tipo de manejo, experiências prévias, sistema de criação, sexo e genética do animal. Os bovinos leiteiros de origem europeia (*Bos taurus*) são reconhecidos pelo seu menor grau de reatividade ao manejo que os animais zebuínos (*Bos indicus*), o que ocorre devido ao longo histórico de seleção das raças europeias para aproximar humanos e animais.

Se por um lado os bovinos de origem europeia são pouco adaptados às condições tropicais, incluindo fatores como condições climáticas, nutricionais e de agentes parasitários, os zebuínos por sua vez apresentam produção leiteira mais baixa. Por conta disto, há uma tendência crescente do uso de cruzamentos entre *Bos taurus* e *Bos indicus* para exploração leiteira, de forma a combinar a capacidade produtiva dos primeiros com a rusticidade dos segundos (BERMAN, 2011). Uma das raças que se originou deste tipo de cruzamento é a Girolando, produzida a partir do cruzamento de gado Holandês com Gir, sendo considerados puros sintéticos os animais com a proporção 5/8 Holandês x Zebu (MADALENA; PEIXOTO; GIBSON, 2012).

Atualmente, algumas fazendas leiteiras vêm buscando adotar práticas de manejos mais racionais, que levem em consideração o comportamento mais reativo do gado Zebu, a fim de melhorar seu desempenho e reduzir os riscos para os trabalhadores e para os animais. Desta forma, fazem-se necessários estudos sobre as respostas de animais leiteiros cruzados frente a distintos tipos de manejo, incluindo também os contatos gentis por seres humanos. Assim, será possível desenvolver uma melhor compreensão sobre seus potenciais efeitos nas diferentes fases da vida dos animais. A maioria dos estudos disponíveis até o momento sobre o efeito do manejo positivo em bovinos leiteiros usam raças de origem europeia, principalmente Holstein-Friesian (BERTENSHAW et al., 2008; PAJOR; RUSHEN; DE PASSILLE, 2000; LENsink et al., 2000a,b; RUSHEN et al., 2001; JAGO; KROHN; MATTHEWS, 1999; BREUER et al., 2000), o que limita o conhecimento sobre as implicações de tais práticas para bovinos leiteiros de outras raças.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da adoção das boas práticas de manejo de bezerras leiteiras durante o período de pré-desmame sobre o bem-estar e temperamento na fase pós-desmame.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Boas práticas de manejo e a relação entre seres humanos e animais

A relação humano-animal é um processo dinâmico, onde o resultado de interações anteriores entre o animal e os seres humanos forma a base para um relacionamento que, uma vez estabelecido, exerce um efeito de retroalimentação sobre a natureza e a percepção das interações futuras (WAIBLINGER et al., 2006). A boa qualidade das interações entre seres humanos e animais requer certos níveis de contato positivo entre ambos, reduzindo reações de medo dos bovinos aos seres humanos e facilitando o manejo.

O medo é uma emoção que os animais podem experimentar na presença de seres humanos ou em situações novas (BOISSY; BOUSSOU 1988). Segundo Lansade et al. (2004), o medo é uma das características do indivíduo que o leva a reagir com a mesma tendência para uma variedade de eventos desconhecidos. Esta emoção pode ser reduzida através de treinos ou manejos positivos, sendo descrito que animais manejados com calma e silenciosamente, mostraram menor reação de medo, medida por meio do teste de distância de fuga e velocidade de saída, que aqueles manejados de modo negativo (PETHERICK et al., 2009). Alguns procedimentos de criação podem proporcionar um ambiente mais adequado para os bovinos, quer por redução da frequência de potenciais eventos aversivos ou pela promoção de experiências positivas adicionais aos animais (BOISSY et al., 2005).

Diversas pesquisas avaliaram os efeitos da adoção de um manejo positivo sobre os comportamentos dos animais de produção em relação ao ser humano e ao ambiente, com uso de distintas espécies e categorias de animais, dentre eles: bezerros leiteiros (JAGO; KROHN; MATTHEWS, 1999; LENsink et al., 2000a,b; KROHN et al., 2001; SHEPLERD, 2010; HAWKE, 2010; SCHÜTZ et al., 2012); vacas leiteiras (WAIBLINGER et al., 2004, SCHMIED et al., 2008a,b); novilhas leiteiras (BOISSY; BOUSSOU, 1988; BREUER; HEMSWORTH; COLEMAN,

2004; BERTENSHAW et al., 2008); equinos (LANSADE et al., 2004); bovinos de corte (BOIVIN et al., 1998; PROBST et al., 2013) e suínos (HEMSWORTH et al., 1986). Nesses estudos, o manejo positivo consistia no contato <sup>1</sup>gentil dos seres humanos, como carícias, escovação, conversa em tom de voz suave e oferta de alimento, avaliando-se os efeitos do manejo positivo em distintas idades e usando tempos variáveis de realização do estímulo, entre 3 e 15 min. Em geral todos os trabalhos mostraram que o manejo positivo melhorou a relação humano-animal.

Porém, para bezerros leiteiros não foram encontrados na literatura trabalhos revelando o efeito de um conjunto mais complexo de boas práticas de manejo incluindo, por exemplo, primeiros cuidados com o recém-nascido, uso de balde com bicos, escovação e presença frequente de seres humanos, durante o período de aleitamento e seus efeitos na qualidade da relação humano-animal em curto e longo prazo.

## **2.2. Boas práticas de manejo e o temperamento animal**

O temperamento pode ser definido como as diferenças comportamentais entre os animais, que são consistentes ao longo do tempo e em distintas situações (BATES, 1989), sendo conhecido também como a natureza ou a índole de um dado animal. Este pode ser afetado por vários aspectos, dentre eles genética, experiências prévias, sexo, sistema de criação e tipo de manejo adotado (GAULY et al., 2001). A reatividade é um termo usado para descrever um aspecto do temperamento dos bovinos (BOISSY; BOUSSOU, 1995), sendo definida como a reação dos animais perante situações de manejo que envolvam a presença de humanos (BOIVIN et al., 1998). Segundo Frondelius et al. (2014), a reatividade afeta aspectos de produção animal, como por exemplo, a produção de leite e o ganho de peso. Dentre as formas de reduzir o grau de reatividade dos animais de produção estão a habituação, o condicionamento operante (com o uso de recompensa ou punição), e o condicionamento clássico (PARANHOS DA COSTA, 2002). Por exemplo, a adoção de uma rotina de manejo positivo nas

---

<sup>1</sup>Amável, delicado, agradável, dócil, atento e respeitoso (dicionário da língua portuguesa).

fazendas pode reduzir a reatividade de vacas leiteiras, como demonstrado por Rosa (2004), que avaliou o manejo de ordenha registrando o tipo de interação retireiro-vaca e observou que os animais apresentaram uma maior reatividade na ordenha quando não receberam um manejo positivo, caracterizado pela fala em tom de voz suave e contatos táteis gentis. As ações dos ordenhadores tiveram impacto também na produção de leite, que foi menor para os animais mais reativos e manejados de modo negativo.

Sutherland e Huddart (2012) avaliaram se a adoção de um treino baseado em manejos positivos para novilhas leiteiras no pré-parto pode modular a reatividade dos animais após o parto. Os animais foram previamente selecionados e alocados em grupos de pior e melhor temperamento, usando-se os testes comportamentais de distância de fuga e teste de contenção na sala de ordenha durante a primeira semana de lactação. O treino de manejo positivo consistiu em conduzir as novilhas duas semanas antes do parto à sala de ordenha, expondo-as sistematicamente aos estímulos que ocorrem durante a ordenha, como som da ordenha, colocação do conjunto de teteiras, toques suaves no úbere, tetas e pernas. Os resultados mostraram que os animais classificados como de melhor temperamento, após os treinos, reduziram a distância de fuga e coicearam menos durante o teste de contenção do que aqueles de pior temperamento treinados. Entretanto, todas as primíparas treinadas, independentemente da classificação do temperamento, apresentaram menor quantidade de leite residual ao longo dos 8 meses de lactação, tiveram maior fluxo de leite e menor tempo para serem ordenhadas. Desta forma, a resposta do treinamento sobre o comportamento de novilhas parece estar influenciada pelo temperamento das mesmas, embora o treinamento no período pré-parto mostrou benefícios para sua produtividade.

### **2.3. Efeitos do contato tático gentil por seres humanos em animais de fazenda**

O toque na pele de algumas espécies de mamíferos pode ser uma importante forma de interação social, com consequências nas emoções dos animais. Em primatas, o contato gentil com estimulação tática na pele tem um importante papel de acalmar e estreitar laços saudáveis (SUOMI, 1995). Para os animais de produção, os estímulos táticos têm sido utilizados como forma de

estreitar a relação humano-animal, caracterizando-se como carícias, escovação e toques suaves com as mãos, sendo o foco de um grande número de pesquisas nas diferentes espécies de animais de fazenda (BREUER et al., 2000; HEMSWORTH et al., 2000; JAGO; KROHN; MATTHEWS, 1999; LE NEINDRE; BOIVIN; BOISSY, 1996; LENSSINK et al., 2000a,b; WAIBLINGER et al., 2004; PROBST et al., 2013; TALLET et al., 2014).

A preferência de leitões entre a escovação e as carícias com as mãos dos tratadores foi avaliada, revelando que, após duas semanas de estímulo, os animais passaram mais tempo em contato com os seres humanos quando haviam sido escovados do que quando tinham sido acariciados (TANIDA et al., 1994). Este resultado foi interpretado como uma preferência dos leitões pela escovação. No entanto, cabe destacar que a escovação durava 15 minutos por semana, enquanto o tempo para afagar dependia da vontade dos animais em se aproximar do ser humano, o que pode ter influenciado em tais resultados.

Ainda com suínos, Tallet et al. (2014) avaliaram o efeito da estimulação tátil na interação humano-animal, submetendo leitões a duas sessões diárias de escovação entre o 1º e o 28º dia de vida, realizadas em suas baias de criação. Foi demonstrado que os animais estimulados apresentaram maior interesse em interagir com seres humanos no período pós-desmama, evidenciando que o estímulo gentil feito por seres humanos pode perdurar nas fases seguintes da vida dos suínos.

O contato gentil em equinos jovens também pode apresentar efeitos positivos de longo prazo, como evidenciado por um estudo avaliando a resposta comportamental de potros submetidos à estimulação tátil feita por seres humanos (LANSADE et al., 2004). Os autores observaram que os animais estimulados gentilmente com carícias pelo corpo apresentaram maior facilidade para serem manejados e menor reatividade em relação ao ser humano na fase de desmama. Os autores sugerem que esse efeito possa persistir em longo prazo na vida dos equinos.

Outros tipos de efeitos benéficos do contato gentil têm sido relatados para pequenos ruminantes. Jackson e Dave (2007), estudando o contato gentil feito por seres humanos em cabras leiteiras por 10 min diários durante 24 dias, observaram que os animais estimulados apresentaram maior produção de leite e menor latência para se aproximar de seres humanos. Oliveira (2013) avaliou o

potencial efeito da estimulação tátil em cordeiros com a presença da mãe e verificou que os animais escovados apresentaram maior ganho de peso.

No que diz respeito aos bovinos, a adoção do contato gentil em determinados períodos de vida dos animais vem mostrando efeitos positivos. Probst et al. (2012) avaliaram se o toque gentil, com uso do método TTouch®, realizado na fase inicial de vida de bezerros de corte pode produzir efeitos duradouros ao longo do tempo, reduzindo a distância de fuga dos animais e suas respostas de estresse no manejo pré-abate. Para tanto foi realizado o contato físico gentil nos bezerros a cada três dias durante três semanas em suas baías. Os animais foram abatidos aos 10 meses de vida, onde foram coletadas amostras de sangue para avaliar a concentração de cortisol, lactato e glicose, além de um indicador de qualidade da carne (força de cisalhamento). Os resultados mostraram que os animais acariciados apresentaram menor distância de fuga e concentração de cortisol menor em comparação ao grupo controle, além de menor força de cisalhamento, um indicador de qualidade da carne. Os resultados confirmaram as hipóteses iniciais dos autores, pois o contato gentil nas primeiras semanas de vida foi eficiente para reduzir o medo dos animais a seres humanos, com reflexos positivos para a qualidade da carne.

Em outro estudo, Probst et al. (2013) avaliaram se o contato gentil, porém realizado mais tarde na vida de garrotes, durante cinco semanas antes do abate, pode melhorar o comportamento frente a seres humanos, reduzir o estresse no manejo pré-abate e melhorar a qualidade da carne. De acordo com o esperado, houve efeito positivo da estimulação tátil sobre a distância de fuga dos animais em comparação com o grupo controle. Porém, o contato gentil não afetou os indicadores fisiológicos, como cortisol sanguíneo e glicose, nem a força de cisalhamento e coloração da carne. Os resultados de ambos os estudos (PROBST et al., 2012 e 2013) levaram os autores a concluir que a estimulação tátil realizada no início da vida dos bezerros é mais eficiente que o mesmo tipo de prática realizada de modo mais tardio, em período próximo ao abate, levando a uma redução mais efetiva do estresse ao manejo, que pode ser duradoura na vida dos bovinos.

Também para bovinos de corte, Schuelze-Westerath et al. (2014) avaliaram se bezerros de corte podem perceber como positivas as práticas de escovação e o fornecimento de concentrado e cenouras, alimentos palatáveis.

Em um primeiro teste de preferência oito bezerros tiveram a possibilidade de escolher entre o concentrado e cenoura ou o seu alimento habitual de silagem de milho e feno; em um segundo teste, os mesmos animais podiam escolher entre um local onde estava a pessoa que o estimulou gentilmente ou permanecer em uma baia sem manejo. No primeiro teste de preferência, seis dos oitos animais escolheram o alimento palatável, sendo que apenas três comeram a cenoura. No segundo teste, quatro animais escolheram as pessoas que os escovaram com mais frequência. Os comportamentos durante a escolha pelo estímulo foram registrados, como por exemplo, esticar o pescoço, encostar-se na escova, exploração do ambiente, vocalização e autolimpeza. De modo geral, os resultados demonstraram que tanto o fornecimento de um alimento especial (concentrado) como a presença de pessoas que os escovaram são percebidos como positivos para os bezerros de corte. Isto sugere que os dois estímulos servem como reforço para o condicionamento de animais à presença de humanos.

Para os bovinos leiteiros, as atividades realizadas rotineiramente apresentam uma maior frequência da presença humana, assim pode-se esperar que a realização de contatos gentis adicionais seja importante no estabelecimento de rotinas de manejo positivas. Por essa razão os efeitos do contato gentil feito por seres humanos têm sido bastante estudados para animais leiteiros. Boissy e Boissou (1988), ao avaliarem o efeito da escovação em bezerras leiteiras em diferentes períodos (0 a 3 meses, 6 a 9 meses e de 0 a 9 meses) por meio de testes comportamentais realizados aos 15 meses de vida expondo-os a situações desconhecidas e ao manejo realizado por humanos, perceberam que os animais escovados duas vezes por dia de 0 a 9 meses de vida apresentaram menor reação a situações novas. Segundo os autores, o menor intervalo de tempo passado desde o fim do período de escovação até a realização dos testes foi determinante para que os animais escovados de 0 a 9 meses apresentassem uma melhor resposta comportamental.

Carícias feitas por seres humanos e fornecimento de alimentos também parecem ser estímulos positivos para bezerros leiteiros. Jago, Krohn e Matthews (1999) avaliaram se bezerros de 3 a 62 dias de vida submetidos a carícias e fornecimento de alimentos por tratadores poderiam apresentar uma associação mais positiva com seres humanos. Os animais foram divididos em quatro grupos

onde os tratamentos consistiram em: *i)* fornecimento de alimentos mais escovação, *ii)* fornecimento de alimentos, *iii)* alimentação sem contato visual com seres humanos e escovação, e *iv)* grupo controle que recebia pouco contato de seres humanos, estabelecido no momento do aleitamento e arraçoamento. Os comportamentos dos bezerros foram avaliados em suas baías de criação e em um local desconhecido aos 3, 17, 32 e 62 dias de vida. Em lugares desconhecidos, não foi observado efeito significativo dos tratamentos sobre as respostas dos bezerros a testes de aproximação aos seres humanos em nenhuma das idades. Entretanto, quando se avaliaram os animais na presença de mais animais em um local conhecido os animais alimentados se aproximaram mais rápidos dos seres humanos em comparação com aqueles que foram escovados e com os que receberam ambas as práticas, porém a frequência de interação reduziu com o aumento de idade dos bezerros. Segundo os autores, o manejo feito no início da vida do animal parece melhorar a interação entre ser humano e animal.

O sistema de criação de bezerros leiteiros para carne de vitelo pode afetar a relação ser humano-bezerro, uma vez que o contato com tratador é mínimo ou, muitas vezes, aversivo. Pensando nisso, Lensink et al. (2000a) avaliaram o efeito do contato gentil (carícias e deixar sugar o dedo no momento da alimentação) por 21 semanas em bezerros criados para produção de carne de vitelo. Os animais foram avaliados em suas baías e em uma arena desconhecida, sendo que os bezerros acariciados interagiram mais com seres humanos que aqueles do grupo controle, porém não houve efeito na resposta de medo dos animais frente a uma situação imprevista. Os autores concluíram que o contato gentil breve, porém regular, no momento da alimentação, parece ser positivo para os bezerros, além de melhorar a facilidade de manejo desses animais.

Diante da confirmação da hipótese acima, Lensink et al. (2000b) estudaram a importância do manejo gentil (carícias e sugar o dedo) também em bezerros leiteiros criados para carne de vitela, mas com um enfoque em indicadores de saúde, estresse e qualidade da carne. Foram avaliados bezerros da raça Holandesa criados em baías individuais, onde um grupo recebeu contatos gentis por humanos durante a alimentação por um período de 21 semanas. Os indicadores de bem-estar utilizados foram comportamento dos animais durante uma situação desconhecida (transporte) e saúde dos animais

(número de tratamentos médicos e ocorrências de lesões no abomaso). Como indicador de estresse foi avaliado a concentração de cortisol, e a qualidade da carne foi avaliado através do potencial glicolítico (nível de glicogênio muscular), pH e cor. Os animais que receberam o contato gentil apresentaram menor reação ao serem transportados em carrinhos empurrados manualmente, apresentaram menos lesões no abomaso, maior glicogênio no músculo, porém não houve efeito significativo do tratamento sobre o pH e a cor da carne.

Em fazendas de exploração leiteira muitos procedimentos veterinários podem ser aversivos para os animais, aumentando o risco de acidentes. Em função disto, Waiblinger et al. (2004) avaliaram o papel de manejo positivo com carícias suaves durante a palpação retal e inseminação artificial, demonstrando que as vacas manejadas positivamente apresentaram menor frequência cardíaca durante esse procedimento, além de uma redução no grau de reatividade ao manejo.

Conhecer a região em que os bovinos leiteiros preferem serem escovados por seres humanos, também é importante para direcionar adequadamente o contato tático. Por isso, Schmied, Boivin e Waiblinger (2008a) ao estudarem os repetidos afagos em distintas regiões do corpo de vacas leiteiras onde elas recebem lambidas de interação social, verificaram que os animais preferem ser tocados gentilmente nas regiões do pescoço, cernelha e peito, reduzindo sua reação a seres humanos. Estes resultados se repetiram tanto na área de vida das novilhas, quanto durante testes de campo aberto. Em outro estudo os mesmos autores, observaram que regiões do corpo das vacas lambidas no momento de interações sociais são preferidas por elas para aceitação de contato gentil por seres humanos, o que foi demonstrado por reações comportamentais, como o estiramento do pescoço (também observado durante o contato gentil social entre as vacas) (SCHMIED et al., 2008b). Isso sugere que as vacas podem perceber as carícias por seres humanos, realizadas em determinadas regiões do seu corpo, de forma semelhante à lambida social entre elas.

Apartir do exposto nessa revisão, acreditamos que o contato tático gentil com humanos é uma ferramenta que contribui para melhorar a relação entre humanos e animais, redução de medo ao manejo e ao homem, com consequências positivas para a produção e bem-estar dos animais. São escassos os trabalhos retratando os efeitos de um conjunto de boas práticas de

manejo durante a fase de cria para bezerros leiteiros cruzados. Assim, entender melhor como estas práticas afetam o temperamento e a produção de animais cruzados, especialmente o Girolando, é um desafio para ciência animal contemporânea.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATES, J. E. Concepts and measures of temperament, In: Kohnstamm, G. A.; Bates, J. E.; Rothbart, M. K. (Eds). **Temperament in Childhood**, New York: John Wiley & Sons Ltd, 1989. p. 3-26.

BERMAN, A. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? **Journal Dairy Science**, v. 94, p. 2147–2158, 2011.

BERTENSHAW, C.; ROWLINSON, P.; EDGE, H.; DOUGLAS, S.; SHIEL, R. The effect of different degrees of ‘positive’ human–animal interaction during rearing on the welfare and subsequent production of commercial dairy heifers. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 114, p. 65–75, 2008.

BOISSY, A.; BOUSSOU, M.F. Effects of early handling on heifers’ subsequent reactivity to humans and to unfamiliar situations. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 20, p. 259-273, 1988.

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

BOISSY, A.; FISHER, A.D.; BOUIXC J.; HINCHD, G.N.; LE NEINDREE, P. Genetics of fear in ruminant livestock. **Livestock Production Science**, v. 93, p.23–32, 2005.

BOIVIN, X.; GAREL, J.P.; DURIER, C.; LE NEINDRE, P. Is gentling by people rewarding for beef calves? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 61, p. 1–12, 1998.

BREUER, K.; HEMSWORTH, P. H.; BARNETT, J. L.; MATTHEWS, I. R.; Coleman, G. J. Behavioural response to humans and the productivity of commercial dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 66, p. 273-288, 2000.

BREUER, K.; HEMSWORTH, P.H.; COLEMAN, G.J. The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 84, p. 3–22, 2004.

FRONDELIUS, L.; JÄRVENRANTA, K.; KOPONEN, T.; MONONEN, J. The effects of body posture and temperament on heart rate variability in dairy cows. **Physiology & Behavior**, v. 139, p. 437–441, 2014.

GAULY, M.; MATHIAK, H.; HOFFMANN., KRAUS, M., ERHARDT, G. Estimating genetic variability in temperamental traits in German Angus and Simmental cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 74, p. 109-119, 2001.

Gentil in **Dicionário da Língua Portuguesa com Acordo Ortográfico**. 2003. Disponível em: <<http://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/gentil>>. Acesso em: 21 jul. 2015.

HAWKE, M. **The effects of early handling on play behaviour and social interactions in dairy calves**. 2010. 125 r. Thesis (Masters of Science) - The University of Waikato, Waikato, 2010.

HEMSWORTH, P.H.; BARNETT J.L.; HANSEN C.; GONYOU, H.W. The influence of early contact with humans on subsequent behavioural response of pigs to humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v.15, p.55–63, 1986.

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

JACKSON, K.M.A.; HACKETT, DAVE. A note: The effects of human handling on heart girth, behaviour and milk quality in dairy goats. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 108, p. 332–336, 2007.

JAGO, J.G.; KROHN, C.C.; MATTHEWS, L.R. The influence of feeding and handling on the development of the human–animal interactions in young cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 62, p. 137–151, 1999.

KERR, S.G.C., WOOD-GUSH, D.G.M. The development of behaviour patterns and temperament in dairy heifers. **Behavioural Processes**, v.15, p. I-16, 1987.

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

LANSADE, L.; BERTRAND, M.; BOIVIN, X.; BOUSSOU, M.F. 2004. Effects of handling at weaning on manageability and reactivity of foals. **Applied Animal Behaviour Science**, v.87, p.131–149, 2004.

LE NEINDRE, P.; BOIVIN, X.; BOISSY A. Handling of extensively kept animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, p.3-81, 1996.

LENSINK, B J.; BOIVIN, X.; PRADEL, P.; LE NEINDRE, P.; VEISSIER, I. Reducing veal calves' reactivity to people by providing additional human contact. **Journal Animal Science**, v. 78, p. 1213-1218, 2000a.

LENSINK, B. J.; FERNANDEZ X.; BOIVIN, X.; PRADEL P.; LE NEINDRE, P.; VEISSIER, I. The impact of gentle contacts on ease of handling, welfare, and growth of calves and on quality of veal meat. **Journal Animal Science**, v. 78, p. 1219-1226, 2000b.

LENSINK, B.J.; RAUSSIB, S.; BOIVINA, X.; PYYKKOÈNEN, M.; VEISSIER, I. Reactions of calves to handling depend on housing condition and previous experience with humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 70, p. 187-199, 2001.

MADALENA, F.E.; PEIXOTO, M. G.C. D.; GIBSON, J. Dairy cattle genetics and its applications in Brazil. **Livestock Research for Rural Development**, v. 24, p.1-49, 2012.

OLIVEIRA, D. **Potenciais efeitos da estimulação tátil no comportamento e desenvolvimento de cordeiros e leitões**. 2013. 102 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

PAJOR, E.A., RUSHEN, J., DE PASSILLE, A.M.B. Aversion learning techniques to evaluate dairy cattle handling practices. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 69, p. 89–102, 2000.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Comportamento e bem-estar. In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. (Eds). **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. Brasil: FUNEP/UNESP, p. 327-334, 2002.

PETHERICK, J. C.; DOOGAN, V. J.; HOLROYD, R. G.; OLSSON, P.; VENUS, B.K. Quality of handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: Relationships with flight speed and fear of humans. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 120, p. 18-27, 2009.

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

PROBST, J.K.; HILLMANN., E.; LEIBER, F.; KREUZER,M.; NEFF, A.S. Influence of gentle touching applied few weeks before slaughter avoidance distance and slaughter stress in finishing cattle. **Applied Animal behaviourScience**,v. 144, p. 14-21, 2013.

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

RUSHEN, J.; MUNKSGAARD, L.; MARNET, P.G.; DE PASSILLÉ, A.M. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 73, p. 1–14, 2001.

SCHMIED, C.; BOIVIN, X.; WAIBLINGER, S. Stroking Different Body Regions of Dairy Cows: Effects on Avoidance and Approach Behavior Toward Humans. **Journal Dairy Science**, v. 91, p. 596–605, 2008a.

SCHMIED, C.; WAIBLINGER. S.; SCHARL, T.; LEISCH, FRIEDRICH.; BOIVIN, X. Stroking of different body regions by a human: Effects on behaviour and heart rate of dairy cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 109, p. 25–38, 2008b.

SCHUELZE - WESTERATH, H.;GYGAX, L.; HILMANN, E. Are special feed and being brushed judged as positive by calves? **Applied Animal Behaviour Science**, p. 156:12–21, 2014.

SCHÜTZ, K.E.; HAWKE, M.; WAAS, J.R.; MCLEAY, L.M.; BOKKERS, E.A.M.; VAN REENEN, C.G.;WEBSTER, J.R.; STEWART, M. Effects of human handling during early rearing on the behaviour of dairy calves. **Animal Welfare**, v. 21, p.19-26, 2012.

SHEPHERD, H. **The effects of early handling on dairy calves' physiological and behavioural responses to routine husbandry procedures.** 2010. 112 r. Thesis (Master of Science)-The University of Waikato, Waikato, 2010.

SUOMI, S.J. Touch and immune system in Rhesus Monkeys. In: T.M. Field (ed.) **Touch in Early Development.** Psychology Press, Lawrence Erlbaum Associates: New York, 1995. p.136.

SUTHERLAND, M. A.; HUDDART, F. J. The effect of training first-lactation heifers to the milking parlor on the behavioral reactivity to humans and the physiological and behavioral responses to milking and productivity. **Journal Dairy Science**, v.95, p.6983–6993, 2012.

TALLET, C.; SY, K.; PRUNIER, A.; NOWAK, R.; BOISSY, A.; BOIVIN, X. Behavioural and physiological reactions of piglets to gentle tactile interactions vary according to their previous experience with humans. **Livestock Science**, v.167, p. 331–341, 2014.

TANIDA, H.; MIURA, A.; TANAKA, T.; YOSHIMOTO, T. The Role of Handling in Communication Between Humans and Weanling Pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 40, p. 219–228, 1994.

WAIBLINGER, S.; MENKE, C.; KORFF, J.; BUCHER, A. Previous handling and gentle interactions affect behaviour and heart rate of dairy cows during a veterinary procedure. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 85, p. 31– 42, 2004.

WAIBLINGER , S.; BOIVIN, XAVIER.; PEDERSEN, V.; TOSI, M. V.; JANCZAK, A.M.; VISSER, E. K.; JONES, R. B. Assessing the human–animal relationship in farmed species: A critical review. **Applied Animal Behaviour Science**, v.101, p.185–242, 2006.

## CAPÍTULO 2 -Long-term effects of good handling practices during the pre-weaning period of crossbreed dairy calves

**L. P. Silva,\*A. C.Sant'Anna,†L. C. Magalhães Silva,\*and M. J. R. Paranhos da Costa†‡<sup>1</sup>**

\*Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, FCAV- UNESP, Jaboticabal,Brazil, 14.884-900.

†Grupo de Estudos e Pesquisas em Etiologia e Ecologia Animal (Grupo ETCO), Departamento de Zootecnia, FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP, Brazil, 14.884-900.

‡Pesquisador CNPq.

<sup>1</sup>Corresponding author: Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa, Departamento de Zootecnia, FCAV-UNESP, Jaboticabal, Brazil, 14.884-900, phone and fax: +551632023430, mpcosta@fcav.unesp.br.

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate long-term effects of good practices of handling during the pre-weaning period (including provision of teat feeder buckets and brushing) on dairy calves with different proportions of Zebu breed. Newborn calves ( $n = 98$ ) were assigned into three groups of treatments applied during the pre-weaning period: a) good practices of handling plus brushing (GPB,  $n = 25$ ), characterized by navel disinfection and ingestion of at least 4 l of good quality colostrum (provided by a stockperson) within 3 hours after birth, receiving gentle tactile contact (brushing) from birth to weaning, and being feed in milk-fed teat buckets from the 2<sup>nd</sup> day of life calves to weaning; b) good practices of handling (GP,  $n = 25$ ), calves received the same handling procedures applied to GPB treatment, but they were not brushed; and c) Control ( $n = 48$ ), calves suckled the colostrum directly from their dams without prior assessment of its quality nor control of time elapsed after birth, the navel disinfection was performed on the first day of life, without controlling the time interval between births and the disinfections, and after the 2<sup>nd</sup> day of life calves were milk fed in buckets without teats, receiving very little human contact. In the post-weaning period calves

temperament was evaluated every two months (EV1 to EV4) from ~170 to 376 d of age, using four behavioral indicators of calves' reactions to handling: a) time to drive (TD), time taken to drive each calf along an aisle 8 m in length; b) reactivity score (CRS), recording the general reactivity of heifer calves when restrained in the crush; c) flight speed (FS), measuring the speed (m/s) at which each heifer calf exited the crush and; d) flight distance (FD), the distance at which heifer calves allowed human approach before presenting withdrawal reaction. Respiratory and heart rates were used as physiological indicators of acute stress during handling. Occurrences of pneumonia and bovine anaplasmosis per calf during the post-weaning period were obtained. ADG was calculated based on body weight at EV1 to EV4. Treatments had significant effects ( $P < 0.05$ ) in three temperament traits: TD, FS, and FD, but not in CRS ( $P = 0.78$ ). Control had lower TD means than GP and GPB groups in the first three assessments (EV1 to EV3). Also in EV1 to EV3, the GPB group had lower FS means than Control group, whereas GP and GPB groups did not differ significantly from each other. Similar results were found for FD, with the GPB treatment having lower means than those observed for GP and Control in EV2, EV3, and EV4. Treatments had no significant effects ( $P > 0.05$ ) on respiratory and heart rates and ADG. Incidences of bovine anaplasmosis and pneumonia were independent of treatments ( $P > 0.05$ ). We conclude that adoption of good practices of handling during the pre-weaning period has long-term positive effects on the temperament of crossbred dairy heifers, but the time elapsed after gentle handling of calves has finished can lead to dilution of its beneficial effects throughout the animal's life.

**Key words:** animal welfare, brushing, heifer calves, post-weaning, temperament

## INTRODUCTION

Dairy calves often face situations that can impoverish their welfare, mainly because they are frequently being neglected by farmers because they generate low or no economic

return (Vasseur et al., 2010). However, success in the rearing period drives the efficiency of the entire production system, ensuring that heifers quickly enter into the reproductive stage, have better productivity during the first lactation, and have a longer productive life (Svensson et al., 2008; Hultgren, 2009a,b).

One way to improve dairy cattle welfare and productivity is through the adoption of positive handling (Vasseur et al., 2010). There is evidence that gentle contacts, such as brushing, stroking, careful touching, human presence during feeding and soft talking reduce fear in relation to humans and reactivity to handling, resulting in improvements to animal welfare and productivity (Lensink et al., 2000a; Breuer et al., 2000; Hemsworth et al., 2000).

Several studies have focused on this subject, addressing specifically the potential effects of gentle tactile interactions on the behavior and productivity of dairy cattle during different stages of life, including pre-weaning (Boissy and Bouissou, 1988; Boivin et al., 1992; Jago et al., 1999; Lensink et al., 2000a,b; Krohn et al., 2001) and pre-calving periods (Kerr and Wood Gush, 1987; Breuer et al., 2003; Bertenshaw et al., 2008), or during milking (Pajor et al., 2000; Rushen et al., 2001; Schmied et al., 2008 a,b) and reproductive handling procedures (Waiblinger et al., 2004). In general, these studies have demonstrated the beneficial effects of gentle tactile contact on human–animal interaction. More recently, other authors have shown that dairy cattle judge brushing a pleasant stimulus (Schuelze-Westerath et al., 2014), especially when it is done in body regions that are often licked in social grooming (Schmied et al., 2008 a,b).

Despite the large number of studies that have focused on the beneficial effects of gentle tactile contact during the pre-weaning and post-weaning phases, the complex nature of this subject has left several unanswered questions. First, most of these studies (Boivin et al., 1992; Jago et al., 1999; Lensink et al., 2000 a,b; Krohn et al., 2001) have been limited to the immediate or early impacts positive handlings, such as brushing, and did not evaluate long-term effects. Thus, the question remains whether these practices have long-term positive

effects on cattle welfare. Moreover, previous works have focused on European dairy breeds, especially Holstein-Frisian cattle (Boissy and Bouissou, 1988; Boivin et al., 1992; Jago et al., 1999; Lensink et al., 2000a,b; Krohn et al., 2001). These animals have been selected for low fear of humans over the years; as a result, stimulated and unstimulated individuals display very small differences in their relation with humans (Jago et al., 1999). Thus, there is little understanding of how breeds with more excitable temperaments, such as those of Zebu origin, may respond to positive handling, including gentle tactile stimulation.

The Zebu breeds and their crosses have a strong predominance in milk production in sub-tropical and tropical regions, as these animals have better resistance to parasites, are more tolerant heat stress, and adapt well to lower quality forage (Berman, 2011). One of these breeds is the Girolando, originated from crosses of Holstein and Gyr cattle. Animals that are 5/8 Holstein x Gyr are considered 'pure synthetic', although this nomenclature is also applied to 3/4 Holstein x Gyr cattle (Madalena et al., 2012). Despite the importance of these Zebu cattle crossbred for tropical climate farming, few studies have focused on the effects of increasingly Zebu proportion on the temperament and welfare of crossed cattle. The Zebu breeds are recognized by their more excitable temperament than European cattle (Fordyce et al., 1988); thus should be expected that the increase in Zebu proportion would lead to more flighty and reactive heifers.

Previous unpublished results obtained by our research group using the same calves as in the present study have shown that a set of handling practices, regarded as 'good practices of handling' (including the ingestion of good quality colostrum within 3 h of life, use of teat feeder buckets, and brushing) have short-term effects on pre-weaned calves' welfare, reducing their flight distance and improving docility when compared to non-brushed calves (Magalhães Silva et al., 2014), as well as increased calf growth (Paranhos da Costa et al., 2014). We hypothesize that these positive effects found for pre-weaned calves may last until the post-weaning phase of heifers. Thus, the aim of this study was to evaluate long-term

effects of a set of handling practices (named good practices of handling) during the pre-weaning period on dairy calves with different proportions of Zebu breed. The good practices of handling were characterized by provision of good quality colostrum *ad libitum* and navel disinfection within 3 hours after birth, besides milk-fed in teat buckets and gentle tactile contact (brushing) from birth to weaning.

## MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the commission for the ethical use of animals of FCAV – UNESP Jaboticabal, protocol number 015/14. The study was conducted at Fazenda Santa Luzia, a private farm located in southern Minas Gerais state, Brazil. During the study, the farm had around 1,000 lactating cows, yielding around 21,000 kg of milk per day. The adult herd was composed of 45% Holstein (H) x Gyr (G) F1 cows, 40% Girolando cows (3/4 HG and 5/8 HG), and 15% Holstein x Girolando crosses (7/8 HG). For this study 98 heifer calves were evaluated, consisting of 12 1/2 HG (F1), 51 Girolando (3/4 and 5/8 HG), and 35 crosses Holstein x Girolando, all born between March and June 2013.

The research was conducted in two phases, from March to August 2013, defined here as pre-weaning period, and from October 2013 to May 2014, characterized here as post-weaning period.

### ***Pre-weaning Period***

All newborn calves included in the study were born from eutocic deliveries of multiparous cows, and the calves weighed on average  $33.9 \pm 4.44$  kg of BW at birth. From the second day of life to weaning, the calves were kept in an outdoor housing system known as ‘tropical housing’, where each calf is tied to a 2 m long chain using a leather collar around the neck, and the other extremity of the chain is fixed to a 10 m long wire stretched on the ground (fixed to short wood posts, around 10 cm high). Thus, each calf had access to around 40 m<sup>2</sup> of area, most of it covered in Tifton 85 Bermuda grass (*Cynodon* spp.). The calves had

visual contact with many others and physical contact with the two nearest neighbors. Each calf had access to an 8 m<sup>2</sup> shelter made of shading screen, to protect it from direct solar radiation. Water and concentrate (18% crude protein) were available *ad libitum*.

**Treatments.** Calves were assigned into three treatments according to birth sequence. The treatments were applied during the pre-weaning period and were characterized according to a set of different handling practices, as follow: **Good practices of handling plus brushing (GPB, n = 25)**, characterized by navel disinfection within 3 hours after birth (using a 10% iodine solution), assuring the ingestion of at least 2 l of good quality colostrum (with immunoglobulin concentration above 51 mg / ml of IgG (measured using a *Nascos Farm & Ranch*<sup>®</sup> colostrometer and temperature between 35 and 37°C, always provided by a stockperson) within 3 hours after birth and 6 l in the first 12 h after birth. From the second day of life calves were milk fed in teat buckets receiving 6 l of milk per day (divided in 2 meals) until the 35<sup>th</sup> day of life; from the 36<sup>th</sup> day of life calves were milk fed 3 l once a day until weaning. During the morning milk feeding, the calves received tactile stimulation by being gently brushed for 5 min; this was done using a soft brush over the back, base of the tail, groin, and head, simulating the licking done by the cows when nursing their calves. **Good practices of handling (GP, n = 25)**, calves received the same handling procedures described for the GPB treatment, but they were not brushed. **Control (n = 48)**, calves received the standard handling procedure used in the farm, remaining with their mothers during the first 24 h of life, and suckling the colostrums directly from their dams without prior assessment of its quality nor control of time elapsed after birth. Navel disinfection was also performed on the first day of life by using a 10% iodine solution (similarly to GPB and GP), but without controlling precisely the time interval between births and the disinfections. Calves were milk fed in buckets without teats, receiving the same amount of milk offered to GPB and GP calves (6 l divided in 2 meals). In this treatment, calves did not have opportunity to suckle and received less human contact, which was limited to milk and

concentrate delivery, besides veterinary procedures when necessary. Control group represented the usual management practices applied in most Brazilian dairy farms, characterized by provision of controlled amount of milk (usually 4 l per day) in buckets without teats, few human contact, individual housing, maintaining calves tied on the neck by chains with 1.5 m (for more details see recommendations presented by Miranda et al., 2003; Campos and Campos, 2004).

The number of calves from the three genetic groups (1/2 HG, 3/4 and 5/8 HG, and 7/8 HG) per treatment are presented in Table 1; their proportions did not differ significantly among treatment groups ( $\chi^2 = 8.71$ ,  $P = 0.07$ ).

**Table 1.** Number of calves per treatment<sup>1</sup> according to the genetic groups (1/2 HG, 3/4 and 5/8, and 7/8 HG).

Genetic groups	GPB	GP	Control	Total
1/2 HG	6	3	3	12
3/4 and 5/8 HG	10	10	31	51
7/8 HG	9	12	14	35
Total of treatments	25	25	48	98

<sup>1</sup>Treatments: GPB = Good practices of handling plus brushing, GP = good practices of handling, Control = control group.

Weaning was carried out using the same two criteria for all treatments, age and body weight, assuming that to be weaned the calves should be at least 70 d old and weigh at least 70 kg BW. During the last 7 d at the pre-weaning individual housing, the calves did not receive the milk, maintaining water and the solid diet *ad libitum*.

### **Transition Period**

After weaning, calves received a transitional handling in order to adapt to nutritional and environmental conditions of post-weaning phase (social groups maintained in paddocks). They were kept for 10 days in a collective paddock, with Tifton 85 Bermuda grass (*Cynodon spp.*) pasture, in groups of approximately 20 individuals, assigned according to their body weight. These groups mixed animals from the three treatments (GPB, GP, and Control) as well as calves that were not part of this study. They were fed with the pre-weaning concentrate (with 18% crude protein), adding gradually a total mixed ration with 40% of

concentrate, containing corn and Napier grass (*Pennisetum purpureum*) silages, soybean meal, and mineral mixture.

### ***Post-weaning Period***

After the transition period (~10 d) calves were moved to another paddock, kept in groups according to similarities in age and body weight, with a variable number of animals per group. The post-weaning period was divided into sub-periods, based on the calves' ages, defining a new environmental condition, as described in Table 2. During this period, the calves were fed a total mixed ration (as described above) and had the opportunity to graze Tifton 85 Bermuda grass (*Cynodon* spp.).

**Table 2.** Range of ages (in d) and number of individuals per lot in each post-weaning sub-period.

Post-weaning sub-periods	Age	Group size
1	70 to 80	15 calves
2	81 to 200	35 calves
3	201 to 300	120 calves
4	above 300	*150 calves

\*Transferred to another unit of the same farm.

***Temperament traits.*** The calves' temperament was evaluated every two months during the study period, for a total of four evaluations (EV) performed when the animals were  $170 \pm 30$  (EV1),  $248 \pm 30$  (EV2),  $318 \pm 29$  (EV3), and  $376 \pm 29$  (EV4) days of age.

The animals were driven to a corral, where the temperament trait assessments were carried out. Three individuals who were unfamiliar with the animals and blind to the treatment evaluated the temperament of the calves in the three treatments in a random sequence, by using four behavioral indicators of calves' reactions to handling, as follows :i) Time to drive (TD) (adapted from Pajor et al., 2000), recording the time taken to drive each calf along an aisle 8 m long and 0.7 m wide, finishing when the calf entered into the squeeze chute. Each calf was placed individually at the beginning of the race, and the squeeze chute's gate was opened; during 10 s, the calf was allowed to move through the race without any human interference. If the calf did not move into the squeeze chute after the 10 s had elapsed,

a person adopted a standardized sequence of actions with increasing intensity of stimulus, changing them every 10 s when the previous actions were not efficient to drive the calf into the squeeze chute. The first action taken was the use of body movement: a person walked along the aisle, crossing the calf's balance point and holding a flag to stimulate the calf to move, as recommended by Grandin (1993); if this action was not efficient, the person started using also voice commands; the next action was the use of physical stimulation, touching the calf's back with the hands, combined with the voice commands; finally, when none of these actions was successful, the person held the base of the calf's tail with the hand, lifting and pushing it forward (without twisting it), forcing the calf to move forward. The recording of time to drive began when the calf entered the alley and stopped when it entered completely into the squeeze chute and the door was closed. The person who drove the calves was familiar with the animals and the time was recorded by a person who was unfamiliar and blind to the treatment. ii) Reactivity score (adapted from Fordyce et al., 1985) measurements were performed with the calf inside the crush, without physical restraint on head bail. Five visual scores were applied: movement, tension, breathing, vocalization, and kicking, as follows: a) Movement: 1 = no movement; 2 = little movement, during less than half of the observation time; 3 = frequent movements (during half of the observation time or more), but not vigorous; 4 = constant and vigorous movements; or 5 = constant and vigorous movements, animal jumps and raises its fore limbs off of the ground; b) Tension: 1 = the animal did not exhibit sudden movements of the tail, head, and neck, no muscle tremors, and white of eye was not visible, 2 = the animal exhibited few sudden movements of the tail, head, and neck, no muscle tremors, and white of eye was visible or not, 3 = the animal exhibited continuous and vigorous movements of the tail, head, and neck, white of eye was visible, no muscle tremors, and 4 = the animal appeared paralyzed or "freezing" reaction; muscle tremors were visible; c) Breathing: 1 = normal and rhythmic breathing, 2 = audible and not rhythmic breathing, blowing; d) Vocalization: 1 = without vocalization, 2 =

occurrence of vocalization; e) Kicking: 1 = absence of kicks, and 2 = presence of kicks. The grades obtained with these measurements were summed to obtain a single measure of reactivity, named composite reactivity score (**CRS**). iii) Flight speed (**FS**) (adapted from Burrow et al., 1988) recorded the speed at which each calf exited the weighing scale and faster calves were considered a having more excitable temperament. This measurement was taken using an electronic device that records the time (s) taken by each animal to cover a known distance (1.53 m and 2.0 m), later converted to speed (m/s). iv) Flight distance (**FD**) was defined as distance at which calves allowed human approach before first showing withdrawal reaction. This test was applied with calves kept individually in a pen of the corral, done immediately after the other measurements of temperament. An unfamiliar observer made two attempts of approximation and the flight distance of each calf was obtained calculating the average of both trials.

**Physiological indicators.** Two physiological indicators of acute stress were used in order to measure the response of calves to handling. Heart rate (in beats / min) was taken by cardiac auscultation (using a stethoscope), and respiratory rate (in movements / min) was recorded by counting the breathing thoracic movements. The measurements were performed by a person who was unfamiliar with the animals and blind to the treatment, immediately after the application of the reactivity test at EV2, EV3, and EV4, with the animals placed into the squeeze chute, but without being restrained on the head bail.

**Health indicators.** The numbers of occurrences of pneumonia and bovine anaplasmosis (a tick-borne hemoparasitic disease caused by *Anaplasma* sp.) per calf between October 2013 and May 2014 was obtained from the farm dataset. The on-farm herd health monitoring was done through daily inspections of calves by only one trained stockperson, who identified and recorded clinical signs of pneumonia (fever, increased respiratory rate and difficult breathing, cough, nasal discharge, abnormal lung sounds, and apathetic behavior) and anaplasmosis (fever, muscle tremors, pale or icteric mucosae, depression, lethargy and

loss of appetite). Pneumonia and anaplasmosis were chosen because they were the most common diseases affecting dairy calves during post-weaning period on the farm. During the pre-weaning period no clinical signs of anaplasmosis were recorded, the calves suffered only diarrhea and a few cases of pneumonia were recorded.

**Average daily gain.** The ADG was calculated based on weight at weaning and the successive weighing, obtained during the handlings in the corral for temperament assessments at  $170 \pm 30$ ,  $248 \pm 30$ ,  $318 \pm 29$ , and  $376 \pm 29$  days of age, corresponding to EV1 to EV4, respectively.

### **Statistical Analysis**

A multivariate exploratory method was initially applied to temperament (TD, CRS, FS, FD), respiratory rate, heart rate, and ADG, using principal component analysis (**PCA**) (Manly, 2008). Four separate PCA were done for the data from each evaluation (EV1 to EV4). The scores of animals in the first two principal components (**PC**) were used as dependent variables to evaluate the effect of treatments and genetic group on calves' responses, using ANOVA, through PROC GLM of SAS (version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC). The statistical models included the fixed effects of treatment, genetic group, and the age of animal (in months) at the time of evaluation.

The effects of treatments on temperament (TD, CRS, FS, FD), physiological indicators (heart and respiratory rates), and ADG were evaluated with repeated measures ANOVA, using the PROC MIXED of SAS. Models considered the following fixed effects: evaluation, treatment nested within evaluation, genetic group, and age of animal (in months) at the time of evaluation. In all analyses the interaction treatment genetic group was test and excluded from the model when  $P > 0.05$ . Animal (*subject*) was included in the model as random effect repeated within evaluation (EV1, EV2, EV3, and EV4). To select the covariance structure of residuals the Bayesian Information Criterion was used. Means were compared using the post-hoc Tukey test and the P-value was considered at  $< 0.10$  for

exclusion and  $< 0.05$  for significance. Summary of ANOVA for each dependent variable presenting values of  $F$  and  $P$  for the fixed effects evaluated is shown in Annex 1. To test the hypothesis that the occurrences anaplasmosis of pneumonia and differed among treatments we used the chi-square test for contingency table.

## RESULTS

### *Exploratory Data Analysis*

The dependence structure contained in the original data set for temperament traits (TD, CRS, FS, and FD), respiratory rate, heart rate, and ADG was converted into principal components. The first two principal components together explained 59.7, 46.2, 45.9, and 44.7% of the variation in the dataset for EV1, EV2, EV3, and EV4 respectively (Table 3).

**Table 3.** Variables, eigenvalues, and percentage of variance returned by the first two principal components (PC1 and PC2) in the four evaluations (EV).

Evaluations Variables	EV1		EV2		EV3		EV4	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
Time to drive	-0.69	-0.53	0.53	0.44	0.73	-0.17	0.63	0.09
Reactivity score	0.22	-0.78	-0.66	0.55	-0.26	0.37	-0.51	0.19
Flight speed	0.78	0.17	-0.75	-0.24	-0.39	0.60	-0.79	-0.14
Flight distance	0.69	-0.41	-0.68	-0.68	-0.55	-0.11	-0.54	0.20
Respiratory rate	-	-	-0.16	-0.84	-0.61	-0.61	0.11	0.77
Heart rate	-	-	-0.15	0.19	-0.58	-0.40	-0.27	0.58
ADG	0.07	-0.54	-0.19	0.31	-0.16	0.67	0.18	0.64
Eigenvalues	1.61	1.37	1.82	1.41	1.81	1.40	1.69	1.44
Variance (%)	32.2	27.5	26.1	20.1	25.8	20.1	24.1	20.6

In EV1 PC1 had two variables with high positive loadings (FS and FD), and a negative loading only for TD, whereas in PC2 only variables with higher negative loadings were observed, with TD, CRS, and ADG having the highest values. In EV2 only TD loaded positively in PC1, whereas three variables (CRS, FS, and FD) had high negative loadings; for PC2 the variables TD and CRS had the highest positive and FD and respiratory rate had the highest negative loadings. In EV3 only TD had a positive loading on PC1 and the highest negative loadings were found for respiratory and heart rates; and for PC2 FS and ADG had the highest positive loadings and respiratory and heart rates loaded negatively. Finally, in

EV4 TD had the highest positive loading and CRS, FS, and FD showed the highest negative loadings on PC1, and only respiratory rate and ADG showed high positive loadings on PC2. These results are summarized in Table 3.

Treatments had no significant effects ( $P > 0.05$ ) on PC1 in EV1, EV3, and EV4, or on PC2 in EV1, EV2, and EV3. In EV2 treatments had significant effect on PC1 ( $F = 3.18$ ,  $P = 0.05$ ), a component that reflected the variation in calves' temperament (with positive loadings for TD and negative for FS, FD, and CRS), thus animals with higher scores on PC1 were those with calmer temperament whereas lower scores indicated more 'fearful/exitable' calves. In this evaluation, calves from Control group had lower PC1 mean than the ones from GPB group, and GP did not differ from GPB and Control (Table 4). In EV4 we found significant effects of treatments on PC2 ( $F = 3.70$ ,  $P = 0.03$ ), with significantly higher mean for Control group than for the other two groups (GP and GPB), which did not differ from each other. This component reflected the relationship between physiological indicators (heart and respiratory rates) and AGD, and animals with higher loadings on this component were those with higher ADG and higher physiological responses to handling.

**Table 4.** Means ( $\pm$  SE) of the two principal components (PC1 and PC2) for the treatments<sup>1</sup>, in the four evaluations (EV).

Dependent variable	EV1	EV2	EV3	EV4
PC1				
<i>GPB</i>	-0.15 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29	0.79 <sup>a</sup> $\pm$ 0.35	0.61 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	0.19 <sup>a</sup> $\pm$ 0.28
<i>GP</i>	-0.26 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	0.41 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.42	0.16 <sup>a</sup> $\pm$ 0.37	-0.15 <sup>a</sup> $\pm$ 0.30
<i>Control</i>	0.17 <sup>a</sup> $\pm$ 0.26	-0.14 <sup>b</sup> $\pm$ 0.35	-0.35 <sup>a</sup> $\pm$ 0.34	-0.50 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29
PC2				
<i>GPB</i>	-0.17 <sup>a</sup> $\pm$ 0.28	-0.11 <sup>a</sup> $\pm$ 0.34	0.30 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29	-0.18 <sup>b</sup> $\pm$ 0.28
<i>GP</i>	-0.02 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	0.67 <sup>a</sup> $\pm$ 0.41	-0.05 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	0.10 <sup>b</sup> $\pm$ 0.30
<i>Control</i>	0.31 <sup>a</sup> $\pm$ 0.26	-0.31 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	0.24 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	0.71 <sup>a</sup> $\pm$ 0.29

<sup>a-b</sup>Means within a column with same superscript do not differ, Tukey test( $P > 0.10$ ).

<sup>1</sup>Treatments: GPB = Good practices of handling plus brushing, GP = good practices of handling, Control = control group.

Genetic group had no significant effects ( $P > 0.05$ ) on PC1 in EV3 and on PC2 in the first three evaluations (EV1 to EV3). In general, the main principal component reflected the variation in calves' temperament, being affected by genetic group in EV1 ( $F = 3.59$ ,  $P = 0.03$ ), where the higher values on PC1 indicated more fearful temperament. In this

evaluation, 7/8 HG animals showed lower PC1 mean than the other two groups, which did not differ from each other (Table 5). In EV2 and EV4 we was also found significant effects of genetic group on PC1 ( $F = 8.88$ ,  $P < 0.001$  and  $F = 6.98$ ,  $P = 0.002$ , respectively), however in this case calves with higher scores on PC1 were those with calmer temperament (because PC1 had positive loadings for TD and negative for FS, FD, and CRS). In EV2 and EV4, 7/8 HG calves had significantly lower means than 1/2 HG, and Girolando had intermediary mean values (Table 5). Only in EV4 the genetic group affect PC2 ( $F = 3.38$ ,  $P = 0.04$ ), the component reflecting the relationship between physiological indicators with ADG. The highest mean on PC2 was found for 1/2 HG, followed by 7/8 HG, and the lowest mean for Girolando calves.

**Table 5.** Means ( $\pm$  SE) of the two principal components (PC1 to PC2) according to the genetic groups<sup>1</sup>,in the four evaluations (EV).

Dependent variable	EV1	EV2	EV3	EV4
PC1				
1/2 HG	$0.29^a \pm 0.44$	$-0.99^c \pm 0.45$	$0.52^a \pm 0.52$	$-0.63^b \pm 0.43$
Girolando	$0.18^a \pm 0.23$	$0.42^b \pm 0.35$	$-0.27^a \pm 0.27$	$-0.46^b \pm 0.23$
7/8 HG	$-0.71^b \pm 0.27$	$1.63^a \pm 0.44$	$0.18^a \pm 0.33$	$0.63^a \pm 0.26$
PC2				
1/2 HG	$0.15^a \pm 0.43$	$0.36^a \pm 0.44$	$0.66^a \pm 0.47$	$0.83^a \pm 0.43$
Girolando	$-0.28^a \pm 0.22$	$-0.04^a \pm 0.34$	$0.03^a \pm 0.25$	$-0.28^b \pm 0.23$
7/8 HG	$0.25^a \pm 0.27$	$-0.07^a \pm 0.43$	$-0.20^a \pm 0.29$	$0.07^{ab} \pm 0.26$

<sup>a-b</sup>Means within a column with same superscript do not differ, Tukey test( $P > 0.10$ ).

<sup>1</sup>Genetic groups: 1/2 HG = 50% Holstein and 50% Gyr racial composition, 7/8 HG = 87% Holstein and 23% Gyr racial composition.

### **Temperament Traits**

Treatments had significant effect ( $F = 3.24$ ,  $P = 0.002$ ) on TD. In the first three assessments (EV1 to EV3) Control group had the lowest TD, differing significantly from GP (in EV1 and EV2) and GPB (in EV3) (Table 6). In EV4, no significant differences ( $P > 0.05$ ) among treatments were found.

Treatments also had a significant effect on FS ( $F = 2.13$ ,  $P = 0.033$ ). In the first three evaluations (EV1 to EV3), the GPB means were significantly lower than the Control group means, whereas the GP did not differ significantly from the other two groups (Table 6). Finally, treatments also had a significant effect ( $F = 3.81$ ,  $P < 0.001$ ) on FD, and GPB means

in EV2, EV3, and EV4 were significantly lower than those observed for GP and Control groups (Table 6). Treatments had no significant effect on CRS ( $F = 0.59$ ,  $P = 0.785$ ).

**Table 6.** Means ( $\pm$  SE) of time to drive the calves into the squeeze chute, reactivity score, flight speed, and flight distance for the three treatments<sup>1</sup>, in the four evaluations (EV) carried out.

Dependent variable	EV1	EV2	EV3	EV4
Time to drive, s				
<i>GPB</i>	38.63 <sup>a</sup> $\pm$ 7.20	13.66 <sup>b</sup> $\pm$ 3.93	35.45 <sup>a</sup> $\pm$ 4.66	26.68 <sup>a</sup> $\pm$ 5.90
<i>GP</i>	41.53 <sup>a</sup> $\pm$ 7.60	24.55 <sup>a</sup> $\pm$ 4.41	28.34 <sup>ab</sup> $\pm$ 4.83	29.75 <sup>a</sup> $\pm$ 5.84
<i>Control</i>	25.40 <sup>b</sup> $\pm$ 6.21	9.52 <sup>b</sup> $\pm$ 3.69	23.90 <sup>b</sup> $\pm$ 3.99	21.25 <sup>a</sup> $\pm$ 5.18
Reactivity score				
<i>GPB</i>	3.88 <sup>a</sup> $\pm$ 0.45	3.20 <sup>a</sup> $\pm$ 0.37	2.68 <sup>a</sup> $\pm$ 0.36	2.80 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42
<i>GP</i>	3.60 <sup>a</sup> $\pm$ 0.47	3.63 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42	2.78 <sup>a</sup> $\pm$ 0.38	3.07 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42
<i>Control</i>	3.44 <sup>a</sup> $\pm$ 0.42	3.55 <sup>a</sup> $\pm$ 0.32	3.02 <sup>a</sup> $\pm$ 0.32	3.27 <sup>a</sup> $\pm$ 0.38
Flight speed , m/s				
<i>GPB</i>	1.19 <sup>b</sup> $\pm$ 0.16	0.97 <sup>b</sup> $\pm$ 0.13	0.82 <sup>b</sup> $\pm$ 0.13	0.92 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15
<i>GP</i>	1.32 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.17	1.16 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.15	1.05 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.14	1.03 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15
<i>Control</i>	1.47 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15	1.31 <sup>a</sup> $\pm$ 0.12	1.17 <sup>a</sup> $\pm$ 0.12	1.12 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14
Flight distance, m				
<i>GPB</i>	5.65 <sup>a</sup> $\pm$ 0.57	6.04 <sup>b</sup> $\pm$ 0.51	2.53 <sup>b</sup> $\pm$ 0.31	3.74 <sup>b</sup> $\pm$ 0.50
<i>GP</i>	5.73 <sup>a</sup> $\pm$ 0.59	6.30 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.55	3.30 <sup>a</sup> $\pm$ 0.32	5.03 <sup>a</sup> $\pm$ 0.49
<i>Control</i>	6.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.52	7.08 <sup>a</sup> $\pm$ 0.41	3.53 <sup>a</sup> $\pm$ 0.30	5.40 <sup>a</sup> $\pm$ 0.43

<sup>a-b</sup>Means within a column with same superscript do not differ, Tukey test ( $P > 0.10$ ).

<sup>1</sup>Treatments: GPB = Good practices of handling plus brushing, GP = good practices of handling, Control = control group.

There was no significant interaction between genetic group and treatment ( $P > 0.05$ ) for any of the temperament traits, indicating that heifers with different proportions of Zebu breed responded similarly to the treatments. However, a significant effect of genetic group was observed on TD ( $F = 5.43$ ,  $P = 0.005$ ), CRS ( $F = 3.82$ ,  $P = 0.023$ ), FS ( $F = 12.18$ ,  $P < 0.001$ ), and FD ( $F = 4.94$ ,  $P = 0.008$ ). F1 heifer calves (1/2 HG) had lower TD and higher CRS, FS, and FD means when compared to 7/8 HG heifers (Table 7). Regarding TD, CRS, and FS, Girolando calves were similar to 1/2 HG calves, whereas for FD, they were similar to 7/8 HG animals (Table 7).

**Table 7.** Means ( $\pm$  SE) of time to drive the calves into the squeeze chute, reactivity score, flight speed, and flight distance, according to the calves' genetic groups<sup>1</sup>.

Genetic groups	N	Time to drive (TD), s	Reactivity score (CRS)	Flight speed (FS), m/s	Flight distance (FD), m
1/2 HG	12	23.51 <sup>b</sup> $\pm$ 3.14	3.60 <sup>a</sup> $\pm$ 0.23	1.32 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08	5.53 <sup>a</sup> $\pm$ 0.24
Girolando	51	24.08 <sup>b</sup> $\pm$ 1.91	3.27 <sup>a</sup> $\pm$ 0.13	1.18 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	4.89 <sup>b</sup> $\pm$ 0.15
7/8 HG	35	32.08 <sup>a</sup> $\pm$ 2.12	2.87 <sup>b</sup> $\pm$ 0.15	0.89 <sup>b</sup> $\pm$ 0.06	4.65 <sup>b</sup> $\pm$ 0.17

<sup>a-b</sup>Means within a column with same superscript do not differ, Tukey test ( $P > 0.10$ ).

<sup>1</sup>Genetic groups: 1/2 HG = 50% Holstein and 50% Gyr racial composition, 7/8 HG = 87% Holstein and 23% Gyr racial composition.

### Physiological Indicators

Treatments had no significant effect on respiratory ( $F = 1.21$ ,  $P = 0.304$ ) and heart rates ( $F = 0.80$ ,  $P = 0.572$ ). However means comparison using Tukey test evidenced that GPB had a lower mean of heart rate in EV2 and respiratory rate in EV4 (Table 8). Genetic groups also had no significant effect on physiological indicators (respiratory rate:  $F = 1.28$ ,  $P = 0.279$ ; heart rate:  $F = 1.37$ ,  $P = 0.256$ ).

**Table 8.** Means ( $\pm$  SE) of respiratory and heart rates for the treatments<sup>1</sup>, for the three evaluations (EV) carried out.

Dependent variable	EV2	EV3	EV4
Respiratory rate, mov/min			
<i>GPB</i>	61.45 <sup>a</sup> $\pm$ 2.87	53.45 <sup>a</sup> $\pm$ 2.22	48.64 <sup>b</sup> $\pm$ 2.51
<i>GP</i>	59.94 <sup>a</sup> $\pm$ 3.26	56.88 <sup>a</sup> $\pm$ 2.35	49.13 <sup>ab</sup> $\pm$ 2.49
<i>Control</i>	64.19 <sup>a</sup> $\pm$ 2.55	56.42 <sup>a</sup> $\pm$ 1.95	53.04 <sup>a</sup> $\pm$ 2.24
Heart rate, beats/min			
<i>GPB</i>	105.94 <sup>b</sup> $\pm$ 4.66	83.29 <sup>a</sup> $\pm$ 2.80	88.14 <sup>a</sup> $\pm$ 2.95
<i>GP</i>	116.75 <sup>a</sup> $\pm$ 5.26	83.37 <sup>a</sup> $\pm$ 2.98	87.42 <sup>a</sup> $\pm$ 2.93
<i>Control</i>	108.00 <sup>ab</sup> $\pm$ 4.00	86.01 <sup>a</sup> $\pm$ 2.54	86.66 <sup>a</sup> $\pm$ 2.71

<sup>a-b</sup>Means within a column with same superscript do not differ, Tukey test ( $P > 0.10$ ).

<sup>1</sup>Treatments: GPB = Good practices of handling plus brushing, GP = good practices of handling, Control = control group.

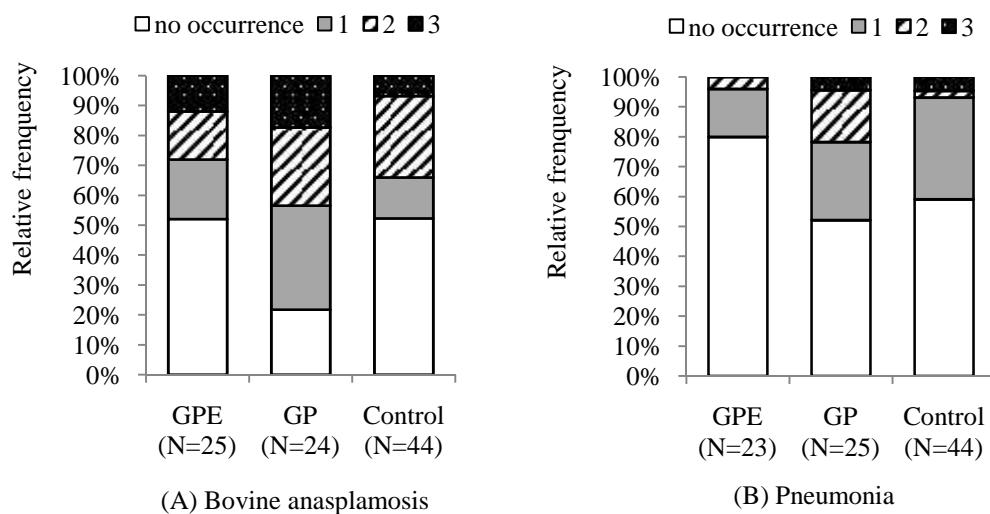
### ADG

Treatments and genetic group had no significant effects on ADG ( $F = 0.64$ ,  $P = 0.742$  and  $F = 2.18$ ;  $P = 0.115$ , respectively).

### Health Indicators

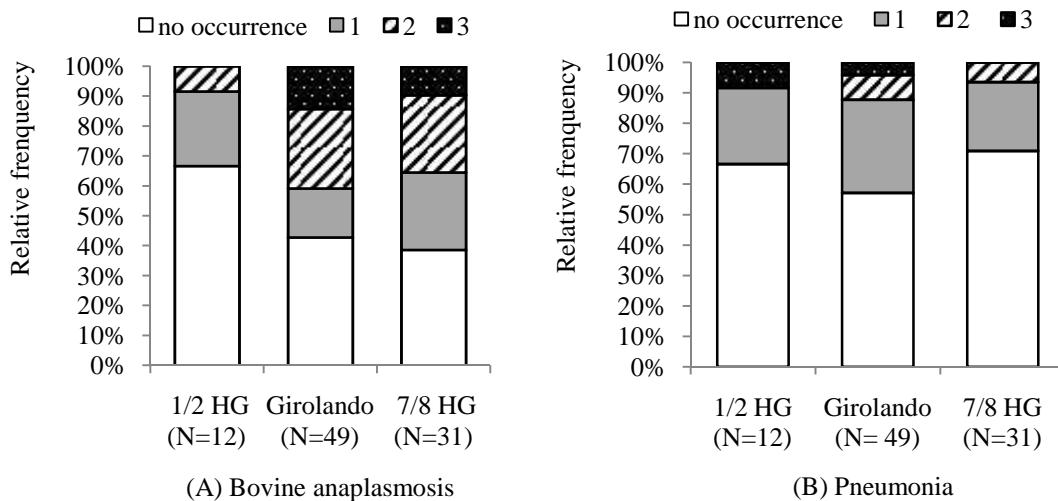
To assess animals' health, we evaluated during the entire study period the incidence of two commonly occurring diseases: pneumonia and bovine anaplasmosis. According to the

chi-square test, bovine anaplasmosis occurrence was not dependent on treatments ( $\chi^2 = 9.365$ , df = 6, P = 0.154), although a higher percentage of animals were affected in GPB (52.0%) and Control (52.3%) groups than in GP group (21.7%), as shown in Figure 1A. However, the GP group had a higher recurrence of bovine anaplasmosis with 17.4% of animals developing the disease three or more times. The percentage of animals with pneumonia also did not depend on treatments ( $\chi^2 = 10.363$ , df = 6, P = 0.110), however, 80% of the animals in the GPB group showed no case of this disease, whereas for the GP and Control groups these percentages were 52.2 and 59.1%, respectively (Figure 1B). Of the three recurrent pneumonia cases observed, one was in the GP and two in the Control group, corresponding to 4.35% and 4.55% of the calves, respectively.



**Figure 1.** Percentages of animals with clinical signs of bovine anaplasmosis (A) and pneumonia (B) according to treatments. Where: 1 = one occurrence of the disease, 2 = two occurrences of the disease, 3 = recurrent cases, three or more occurrences of the disease, GPB = Good practices of handling plus brushing, and GP = Good practices of handling.

The incidences of pneumonia and bovine anaplasmosis were independent of genetic group (pneumonia:  $\chi^2 = 4.123$ , df = 6, P = 0.660 and bovine anaplasmosis,  $\chi^2 = 5.814$ , df = 6, P = 0.444). However, it is also worth noting that 66.7% of the animals that were not affected by bovine anaplasmosis were F1 (1/2 HG) (Figure 2).



**Figure 2.** Percentages of occurrences of bovine anaplasmosis (A) and pneumonia (B) according to the genetic groups. Where: 1 = one occurrence of the disease, 2 = two occurrences of the disease, 3 = recurrent cases, three or more occurrences of the disease, 1/2HG = 50% and 50% Holstein and Gyr racial composition, 3/4 HG = 75% Holstein and 25% Gyr racial composition, and 7/8 HG = 87% Holstein and 23% Gyr racial composition.

## DISCUSSION

Our results showed that good practices of handling improve calves' temperament and indicate that brushing might have a positive long-term effect, especially on FD. However, no significant long-term effects of these practices were found for calf growth and health. Regarding genetic group, our results confirmed the hypothesis that increasing the proportion of Zebu breed may worsen calf temperament.

Tests measuring the time required to move though a race have previously been used to indicate cattle aversion to different handling practices, and fearful animals took a longer time to move through an alley leading to a treatment area (the cattle crush) (Pajor et al., 2000). On the other hand, in the present study less agitated and less fearful animals took a longer time to reach the chute, given the negative association between FS and TD. This apparent discrepancy is explained by the different study designs, as Pajor et al. (2000) subjected adult

cows to a prior learning period, during which they entered the treatment area (crush) and received positive or aversive treatments, and just after that the test was conducted. Heifer calves evaluated in the present study did not face a previous learning period in which they received stimulus inside the cattle crush, they were not driven to the coral in the pre-weaning period, and after being weaned, they were infrequently handled in the coral, at long time intervals (around 60 d). The faster time for entering exhibited by Control group calves can be interpreted as an attempt to avoid close contact with the person who performed the driving to the squeeze chute and to quickly exit such a handling situation.

The FS is an indicator of general fear and agitation traditionally used in the evaluation of beef cattle temperament. This indicator is influenced by genetic factors (Burrow and Corbet, 2000; Sant'Anna et al., 2013) and previous experiences, such as positive or negative handling (Petherick et al., 2009). For dairy cattle, although less used, this test proved to be a useful indicator of 'responsiveness' to handling in Holstein-Friesians dairy heifers (Gibbons et al., 2011). Likewise, in this study we observed that animals in the Control group had a higher FS than animals in GP and GPB groups. The GP and GPB groups, however, were not significantly different, showing that brushing during the pre-weaning period did not promote long-term responses for this indicator.

On the other hand, the FD test revealed significant differences between calves in the GPB and GP groups, with lower flight responses for GPB calves. Although the FS and FD tests have correlated responses (Gibbons et al., 2011), the main difference between them is that the former is a more general indicator of fear (MacKay et al., 2013), while the latter deals more specifically with fearfulness in relation to humans (Waiblinger, 2006). Thus, we can infer that brushing during the pre-weaning period produced long-term positive responses, reducing animal fear of humans even months after its completion; but it had no effect on the responses to general fear. This result corroborates previous findings reporting that gentle contact (stroking) had no significant effect on veal calf behavior during tests which did not

involve human presence (novelty and surprise tests), leading the authors to conclude that the gentling had a specific effect on reactivity to handling by humans, but not for general fear responses (Lensink et al., 2000a).

It is noteworthy that in the EV1, FD did not significantly differ among the three groups. This result may be explained by the fact that tests were carried out in the corral, an unknown site for the studied calves. Indeed, previous studies showed that calves respond differently to human approach in unknown sites when compared to familiar places (Rushen et al., 1998; Jago et al., 1999). The decrease in FS and FD means over the four assessments leads us to infer that calves became habituated to handling in the corral, and responded more naturally to human approach, revealing differences in FD among the three groups starting in EV2.

The reactivity test inside the squeeze chute is also an indicator traditionally used in the assessment of beef cattle temperament, usually assigning a 5-point scale, known as 'crush score' or 'movement score' (Fordyce et al., 1985; Burrow and Corbet, 2000; Sant'Anna et al., 2013). In the present study the CRS did not show differences among the three treatments, which can be attributed to the lower level of reactivity inside the crush expressed by dairy calves when compared to beef calves. The same behavior was previously observed in Holstein-Friesian dairy heifers, which showed low variability for this trait in a test performed using a scale from 0 ("*standing stationary, calm, no movement, no resistance*") to 4 points ("*active escape behavior, animal may kneel / fall*") (Gibbons et al., 2011). According to these authors, several of the heifers assessed in their study received a 1-point score, leading them to suggest that only a more detailed and sensitive scoring system might allow for the detection of differences among animals of dairy origin. Although we used Zebu crossed cattle and a more detailed composite score with a greater range (0 to 9 points), we also considered this measure less adequate to express the differences in temperament of dairy calves, when compared to the other temperament tests (TD, FS, and FD).

Regarding the physiological indicators, GPB calves had lower means of respiratory rates than those found for the Control group, although the difference was significant only in EV4. For heart rate, this difference only occurred at EV2, when GPB heifers had lower heart rate than animals from GP and Control groups. Both indicators are related to the activity of the sympathetic nervous system, and may indicate activation of the sympathetic-adrenomedullary response to acute stress. However, our results should be interpreted with caution, because differences among groups were not consistent throughout the three assessments, particularly for heart rate. In future studies, other physiological measurements, such as plasma cortisol and glucose concentrations and the interval of time to recover the basal levels, should be included to confirm that stimulated heifers are less susceptible to stress during handling. Finally, our PC analysis showed that respiratory rate held a positive correlation to FS and a negative one to TD. Therefore, the higher respiratory rate of the Control group, which entered and left the squeeze chute faster, could be related to their higher level of activity and agitation.

The adoption of good practices of handling during the early life of calves did not show long-term effects on weaned heifer calves' growth. This result corroborates the findings of other authors who did not find any significant effect of brushing or stroking on the average daily gain of dairy calves (Jago et al., 1999; Lensink et al., 2000a).

The provision of high quality colostrum soon after birth is related to efficient acquisition of passive immunity by calves, which in turn leads to better health of these animals in early life, reflecting in long-term effects to their health and productivity (Waltner-Toews et al., 1986). Additionally, there is scientific evidence that the handling practices adopted in early life of heifers can produce long-lasting effects on their health, growth, and milk production during the first lactation (Heinrichs et al., 2005). We did not find any papers evaluating the role of brushing in resistance to diseases in dairy calves, but research done with other mammal species such as rats (Solomon et al., 1968), Rhesus monkeys (Suomi,

1995), humans (Field, 1995), and dogs (Brennan et al., 2004) has suggested that tactile stimulation during infancy can positively affect the immunological system. Therefore, it was expected that the adoption of good practices of handling would lead to a lower incidence of diseases during the post-weaning period; however our results did not confirm this expectation, because the calves from the GP group did not have a lower occurrence of diseases compared to the calves from the Control group. Regarding pneumonia, there is evidence that the level of passive immunity acquisition by dairy calves, measured by total serum protein, had an effect on pneumonia incidence in the first weeks of life, but this effect disappeared as the animals became older (Donovan et al., 1998). This previous finding supports the lack of significant results we observed for weaned heifers.

It is worth noting that, although the chi-square test did not reveal any dependence between the occurrence of pneumonia and treatments, this disease showed no recurring cases for animals in the GPB group. It is possible that the intimate contact with stockpersons promoted by brushing may have contributed to earlier detection and treatment of respiratory problems, reducing the occurrence of more severe cases.

With respect to the genetic group, no significant interaction with treatment was observed for the dependent variables assessed, indicating that the response of animals to good practices of handling does not depend on genetic group. However, one must consider that animals with a higher proportion of Zebu breed have worse temperament. To date this was the first study to evaluate the temperament of Girolando and 1/2 HG dairy calves, which had reduced TD as well as higher CRS, FS, and FD compared to 7/8 HG animals. These differences probably result from the long-term selection of European breeds for low fear of humans, a process that only more recently started for most Zebu breeds, including Gyr. Therefore, we encourage further research on the temperament of dairy cattle breeds adapted to the tropics, including Girolando and Gyr dairy breeds, which have shown to be viable

alternatives for milk production in tropical regions, where European cattle face serious welfare problems (Berman, 2011).

## CONCLUSIONS

We conclude that the good practices of handling during the pre-weaning period have long-term beneficial effects, improving the temperament of weaned heifer calves. When good practices of handling are associated with brushing one can expect a stronger improvement in the quality of human–animal interactions, reducing the heifers’ fear of humans. However, the time elapsed after gentle handling of calves has finished can lead to dilution of its beneficial behavioral effects throughout the animal’s life, leading us to recommend that close and positive contacts with humans be performed during all rearing periods. The results of this study do not support the hypotheses that brushing the calves would improve heifer calves health. In future studies it is import to test the hypothesis that the positive effect of brushing on heifers’ temperament would persist until the onset of their reproductive (first insemination) and productive life (post-partum period and first milking), by reducing their reactivity during AI procedures and milking.

As practical recommendations, we suggest that the good practices of handling with gentle physical contact (brushing or stroking) must be applied as routine all through the dairy heifers’ life, maintaining the positive contact between animals and stockpersons all over rearing periods, to avoid diluting the positive effect of good practices of handling over time. Special attention should be paid from weaning until the pre-calving period, when heifers are commonly kept in more extensive pasture-based systems, by stimulating a positive and close contact between dairy cattle and humans. Under these circumstances, positive interactions could be performed during feeding, including walking softly and talking in a gentle voice. In turn, brushing could be done in situations where animals are driven to the corral for routine

handlings, and at times characterized as sensitive periods such as the preparation of heifers for their first milking sessions.

**ACKNOWLEDGMENTS:** This research was funded by FAPESP (n. 2011/00813-6). The study was part of the lead author's master thesis in the Post Graduate Program in Animal Science at São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal Campus.

## REFERENCES

- Berman, A. 2011. *Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates?* J. Dairy Sci. 94:2147–2158.
- Bertenshaw, C., P. Rowlinson, H. Edge, S. Douglas, and R. Shiel. 2008. The effect of different degrees of ‘positive’ human–animal interaction during rearing on the welfare and subsequent production of commercial dairy heifers. Appl. Anim. Behav. Sci. 114:65–75.
- Boissy, A. L., and M. F. Bouissou. 1988. Effects of early handling on heifers' subsequent reactivity to humans and to unfamiliar situations. Appl. Anim. Behav. Sci. 20:259–273.
- Boivin, X., P. Le Neindre, J. M. Chupin, J. P. Garel, and G. Trillat. 1992. Influence of breed and early management on ease of handling and open-field behaviour of cattle. Appl. Anim. Behav. Sci. 32:313–323.
- Bowland, S. L., and P. E. Shewen. 2000. Bovine respiratory disease: Commercial vaccines currently available in Canada. Can. Vet. J. 41:33–48.
- Brennan, F. X., C. J. Charnetski, and S. Riggers. 2004. Effect of petting a dog on immune system function. Psychol. Rep. 95:1087–1091.
- Breuer, K., P. H. Hemsworth, and G. J. Coleman. 2003. The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. Appl. Anim. Behav. Sci. 84:3–22.

- Breuer, K., P. H. Hemsworth, J. L. Barnett, L. R. Matthews, and G. J. Coleman. 2000. Behavioural response to humans and the productivity of commercial dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 66:273–288.
- Burrow, H. M., and N. J. Corbet. 2000. Genetic and environmental factors affecting temperament of zebu and zebu-derived beef cattle grazed at pasture in the tropics. *Aust. J. Agric. Res.* 51:62–155.
- Burrow, H. M., G. W. Seifert, and N. J. Corbet. 1988. A new technique for measuring temperament in cattle. *Aust. Soc. Anim. Prod.* 17:154–157.
- Donovan, G. A., I. R. Dohoo, D. M. Montgomery, and F. L. Bennetta. 1998. Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. *Prev. Vet. Med.* 34:31–46.
- Miranda, J.E.C., A.C.C.L. Ribeiro, O.F. Campos, L.P. Novaes. 2003. Cria e Recria de fêmeas leiteiras: passo a passo. Comunicado Técnico- EMBRAPA gado de leite, Juiz de fora, MG.
- Campos, O.F., A.T. Campos. 2004. Instalações para bezerras de rebanho leiteiro. 80 Circular Técnica- EMBRAPA gado de leite. Juiz de fora, MG.
- Field, M. T. 1995. Massage therapy for infants and children. *J. Dev. Behav. Ped.* 16:105–111.
- Fordyce, G., M. E. Goddard, R. Tyler, G. Williams, and M. A. Toleman. 1985. Temperament and bruising of *Bos indicus* cross cattle. *Aust. J. Exp. Agr.* 25:283–288.
- Fordyce, G., R. M. Dodt, J. R. Wythes. 1988. Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland 1. Factors affecting temperament. *Aust. J. Exp. Agr.*, 28: 683–687.
- Gibbons, J. M., A. B. Lawrence, and M. J. Haskell. 2011. Consistency of flight speed and response to restraint in a crush in dairy cattle. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 131:15–20.
- Grandin, T. 1993. Behavioral agitation during handling in cattle is persistent over time. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 36:1–9.

- Heinrichs, A. J., B. S. Heinrichs, O. Harel, G. W. Rogers, and N. T. Place. 2005. A prospective study of calf factors affecting age, body size, and body condition score at first calving of Holstein dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 88:2828–2835.
- Hemsworth, P. H., G. J. Coleman, J. L. Barnett, and S. Borg. 2000. Relationships between human-animal interactions and productivity of commercial dairy cows. *J. Anim. Sci.* 78:2821–2831.
- Hultgren, J., and C. Svensson. 2009a. Heifer rearing conditions affect length of productive life in Swedish dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 89:255–264.
- Hultgren, J., and C. Svensson. 2009b. Lifetime risk and cost of clinical mastitis in dairy cows in relation to heifer rearing conditions in southwest Sweden. *J. Dairy Sci.* 92:3274–3280.
- Jago, J. G., C. C. Krohn, and L. R. Matthews. 1999. The influence of feeding and handling on the development of the human–animal interactions in young cattle. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62:137–151.
- Kerr, S. G. C., and D. G. M. Wood-Gush. 1987. The development of behaviour patterns and temperament in dairy heifers. *Behav. Process.* 15:1–16.
- Krohn, C. C., J. C. Jago, and X. Boivin. 2001. The effects of early handling on the socialisation of young calves to humans. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 74:121–133.
- Lensink, B. J., X. Boivin, P. Pradel, P. Le Neindre, and I. Veissier. 2000a. Reducing veal calves' reactivity to people by providing additional human contact. *J. Anim. Sci.* 78:1213–1218.
- Lensink, B. J., X. Fernandez, X. Boivin, P. Pradel, P. Le Neindre, and I. Veissier. 2000b. The impact of gentle contacts on ease of handling, welfare, and growth of calves and on quality of veal meat. *J. Anim. Sci.* 78:1219–1226.
- MacKay, J. R. D., S. P. Turner, J. Hyslop, J. M. Deag, and M. J. Haskell. 2013. Short-term temperament tests in beef cattle relate to long-term measures of behaviour recorded in the home pen. *J. Anim. Sci.* 91:4917–4924.

- Madalena, F. E., M. G. C. D. Peixoto, and J. Gibson. 2012. Dairy cattle genetics and its applications in Brazil. *Lives. Res. Rural Dev.* 24:1–49.
- Magalhães Silva, L. C., L. P. Silva, M. F. M. Guimarães, and M. J. R. Paranhos da Costa. 2014. Positive effects of the good practices of handling adoption on the welfare of dairy calves. Page 169 in Proc. Congress Int. Soc. Appl. Ethol., Vitoria-Gasteiz, Spain.
- Manly, B. J. F. 2008. *Métodos estatísticos multivariados: Uma introdução*. Bookman, Porto Alegre, Brazil.
- Magalhães Silva, L. C. 2015. Avaliação dos benefícios da adoção de boas práticas de manejo no bem-estar de bezerros leiteiros. Dr Thesis. São Paulo State Univ., Jaboticabal.
- Pajor, E. A., J. Rushen, and A. M. B. de Passillé. 2000. Aversion learning techniques to evaluate dairy cattle handling practices. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 69:89–102.
- Paranhos da Costa, M. J. R., L. C. Magalhães Silva, L. P. Silva, and M. F. M. Guimarães. 2014. Effects of good practices of handling on the welfare of dairy calves. Page 13 in Proc. UFAW Anim. Welfare Conference, York, UK.
- Petherick, J. C., V. J. Doogan, B. K. Venus, R. G. Holroyd, and P. Olsson. 2009. Quality of handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: 2. Consequences for stress and productivity. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 120:28–38.
- Rushen, J., L. Munksgaard, A. M. B. de Passillé, M. B. Jensen, and K. Thodberg. 1998. Location of handling and dairy cows' responses to people. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 55:259–267.
- Rushen, J., L. Munksgaard, P. G. Marnet, and A. M. B. de Passillé. 2001. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 73:1–14.
- Sant'Anna, A. C., M. J. R. Paranhos da Costa, F. Baldi, and L. G. Albuquerque. 2013. Genetic variability for temperament indicators of Nellore cattle. *J. Anim. Sci.* 91:3532–3537.

- Schmied, C., S. Waiblinger, T. Scharl, F. Leisch, and X. Boivin. 2008b. Stroking of different body regions by a human: Effects on behaviour and heart rate of dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109:25–38.
- Schmied, C., X. Boivin, and S. Waiblinger. 2008a. Stroking different body regions of dairy cows: Effects on avoidance and approach behavior toward humans. *J. Dairy Sci.* 91:596–605.
- Schuelze-Westerath, H., L. Gygax, and E. Hilmann. 2014. Are special feed and being brushed judged as positive by calves? *Appl. Anim. Behav. Sci.* 156:12–21.
- Solomon, G. F., S. Levine, and J. K. Kraft. 1968. Early experience and immunity. *Nature*, 220:821–822.
- Suomi, S. J. 1995. Touch and immune system in Rhesus Monkeys. In: Pages 89–104 in *Touch in Early Development*. T. M. Field, ed. Psychology Press, New York, NY.
- Svensson, C., and J. Hultgren. 2008. Associations between housing, management, and morbidity during rearing and subsequent first-lactation milk production of dairy cows in southwest Sweden. *J. Dairy Sci.* 91:1510–1518.
- Vasseur, E., J. Rushen, A. M. B. de Passillé, D. Lefebvre, and D. Pellerin. 2010. An advisory tool to improve management practices affecting calf and heifer welfare on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 93:4414–4426.
- Waiblinger, S., C. Menke, J. Korff, and A. Bucher. 2004. Previous handling and gentle interactions affect behaviour and heart rate of dairy cows during a veterinary procedure. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 85:31–42.
- Waiblinger, S., X. Boivin, V. Pedersen, M. V. Tosi, A. M. Janczak, E. K. Visser, and R. B. Jones. 2006. Assessing the human–animal relationship in farmed species: A critical review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 101:185–242.
- Waltner-Toews, D., S. W. Martin, and A. H. Meek. 1986. The effect of early calf hood health status on survivorship and age at first calving. *Can. J. Vet. Res.* 50:314–317.

### CAPÍTULO 3- Considerações finais

O sucesso na realização de estudos científicos em fazendas comerciais depende de muitos fatores, dentre eles está a aplicação de técnicas de baixo custo, fáceis de serem executadas e que atinjam o entendimento dos responsáveis pelas tomadas de decisões nas fazendas. Diante disto, desenvolvemos a presente linha de investigação, com foco na adoção de um conjunto de boas práticas de manejo de bezerros leiteiros, que são de baixo custo e que podem trazer resultados positivos quando realizadas com eficiência. Dentre elas destacamos ações para melhorar a oferta de colostro e a cura de umbigo, realizadas nas primeiras horas de vida, o uso de baldes com bicos para aleitamento dos bezerros e o estabelecimento de rotinas de manejo que promovam a estimulação tátil dos bezerros, realizada por humanos.

Nos estudos desenvolvidos na fazenda Santa Luzia a adoção desse conjunto de boas práticas de manejo dos bezerros Girolando foi capaz de reduzir a ocorrência de doenças e mortalidade, facilitar o manejo dos bezerros em rotinas diárias, tornar os animais mais exploradores do seu ambiente, além de melhorar a relação humano-animal. Estes resultados também foram acompanhados rotineiramente pelo produtor de leite (proprietário dos animais), que se surpreendeu ao comparar as bezerras pertencentes ao estudo com outras bezerras criadas pelas práticas de manejo tradicionais da fazenda. Isto foi um dos motivos para que a Fazenda Santa Luzia passasse a adotar as boas práticas como seu manejo de rotina após o término dos experimentos. Todas essas conquistas foram possíveis graças à aceitação, colaboração e comprometimento dos funcionários da fazenda.

A presença do proprietário nas tomadas de decisões para implementação de técnicas nas rotinas de manejo, também foi uma das razões para o aprimoramento das práticas de manejo propostas no estudo. Durante o período de aleitamento o proprietário esteve sempre presente, questionando e contribuindo com novas ideias sobre os possíveis desdobramentos da pesquisa, sendo que sua participação foi importante para definição deste estudo de longo prazo, apresentado na presente dissertação de mestrado. Observamos com os nossos resultados, que adoção das boas práticas de manejo no período pré-desmama foi capaz de melhorar o temperamento das bezerras, com evidências concretas de que a estimulação tátil mostrou ser benéfica na redução de medo dos animais aos humanos, ao longo do tempo. Este mesmo contato gentil, pode ter contribuído também para melhorar a

resposta imune das bezerras, dada a menor ocorrência de pneumonia no período pós-desmama. Cabe ressaltar aqui outros achados importantes com o presente estudo. O ganho médio diário não apresentou diferença significativa entre tratamentos, mas foi evidente que na avaliação 3 (318 dias de vida) todos os animais apresentaram perda de peso. Este fato pode ser explicado pela mudança abrupta do tamanho do lote e a transferência para outra unidade da fazenda de estudo. Na prática, estas perdas foram significativas, uma vez que as novilhas nessa fase estão em crescimento e devem ganhar peso para estarem aptas à reprodução. Outro achado interessante foi que as bezerras 1/2 Holandês - Gir (F1) foram mais reativas e excitáveis durante o manejo que as bezerras dos demais grupos genéticos (Girolando e 7/8 Holandês - Gir). Embora, essa comparação de grupos genéticos, em princípio, não fosse o foco do estudo, ela nos trouxe informações novas e relevantes, pois na literatura científica não encontramos trabalhos tratando da influência do grupo genético e dos benefícios das práticas de manejo sobre o temperamento de bovinos leiteiros cruzados, principalmente com a raça Girolando.

Ainda com base nas observações de campo, obtidas durante as nossas coletas de dados, pudemos notar que os bovinos podem apresentar comportamentos de imitação. Ao submeter as bezerras estimuladas, juntamente com outras que não participaram dos estudos, a um teste de aproximação voluntária dentro de um piquete, observamos que os animais estimulados iniciaram a aproximação ao humano, porém as outras bezerras após observarem a aproximação das primeiras, logo expressaram o mesmo comportamento, também se aproximando do observador.

Por fim, os resultados com os estudos nessa linha de investigação podem ter um valor científico e prático, levando os envolvidos a praticarem e divulgarem a experiência adquirida. No âmbito científico foram criados questionamentos, como: 'Será que em longo prazo, quando as novilhas entrarem na primeira ordenha os efeitos no temperamento vão perdurar?' 'Será que a estimulação realmente teve um papel importante no sistema imune das bezerras?' As respostas a estas perguntas poderão ser respondidas com futuros estudos.

No universo prático, os estudos demonstraram que é possível estreitar os laços dos humanos com os animais, mostrando que o sucesso com o trabalho está na contínua motivação dos envolvidos, no envolvimento do produtor e funcionários

para as tomadas de decisões sobre cada detalhe das mudanças no manejo, sendo importante para o sucesso da atividade e para que se obtenha melhorias no bem-estar animal e da fazenda.

## APPENDIX

Summary of ANOVA including all the dependent variables and fixed effects evaluated, where: EV = evaluation.

Dependent variable	Source of variation	G1	F	P-value
Time to drive	Evaluation	3	7.35	< 0.001
	Treatment within EV	8	3.24	0.002
	Age	10	1.88	0.048
	Genetic group	2	5.43	0.005
Reactivity score	Evaluation	3	1.09	0.354
	Treatment within EV	8	0.59	0.785
	Age	10	1.94	0.039
	Genetic group	2	3.82	0.023
Flight speed	Evaluation	3	0.84	0.472
	Treatment within EV	8	2.13	0.033
	Age	10	2.65	0.004
	Genetic group	2	12.18	< 0.001
Flight distance	Evaluation	3	30.86	< 0.001
	Treatment within EV	8	3.81	< 0.001
	Age	2	1.95	0.039
	Genetic group	10	4.94	0.008
Respiratory rate	Evaluation	2	5.55	0.005
	Treatment within EV	6	1.21	0.304
	Age	8	1.96	0.053
	Genetic group	2	1.28	0.279
Heart rate	Evaluation	2	20.28	< 0.001
	Treatment within EV	6	0.80	0.572
	Age	8	0.38	0.932
	Genetic group	2	1.37	0.256
Average daily gain	Evaluation	3	91.90	< 0.001
	Treatment within EV	8	0.64	0.742
	Age	10	4.23	< 0.001
	Genetic group	2	2.18	0.115
EV1 Principal component 1	Treatment	2	0.88	0.420
	Age	3	2.62	0.059
	Genetic group	2	3.59	0.034
EV1 Principal component 2	Treatment	2	1.04	0.361
	Age	3	0.97	0.415
	Genetic group	2	1.48	0.235
EV2 Principal component 1	Treatment	2	3.18	0.050
	Age	4	2.36	0.066
	Genetic group	2	8.88	< 0.001
EV2 Principal component 2	Treatment	2	2.82	0.069
	Age	4	0.57	0.688
	Genetic group	2	0.33	0.722
EV3 Principal component 1	Treatment	2	2.65	0.079
	Age	4	0.45	0.770
	Genetic group	2	1.53	0.226
EV3 Principal component 2	Treatment	2	0.44	0.644
	Age	4	0.94	0.448
	Genetic group	2	1.17	0.319
EV4 Principal component 1	Treatment	2	1.98	0.146
	Age	4	4.21	0.004
	Genetic group	2	6.98	0.002
EV4 Principal component 2	Treatment	2	3.70	0.030
	Age	4	1.73	0.155
	Genetic group	2	3.38	0.040