

**UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO
ALAN ANDRADE MESQUITA**

OCITOCINA NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Alfenas-MG

2012

ALAN ANDRADE MESQUITA

OCITOCINA NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Dissertação apresentada à Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre Profissional em Sistemas de Produção na Agropecuária.

Orientador:
Prof. Dr. Kleber Pelícia

Co-orientador:
Prof. Dr. Gustavo Augusto de Andrade

Alfenas-MG
2012

Mesquita, Alan Andrade

Ocitocina na produção e composição do leite/. "Alan Andrade Mesquita.--Alfenas, 2012.

37p

Orientador: Prof. Dr. Kleber Pelícia

Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção na Agropecuária) - Universidade José do Rosário Vellano.

1.Leite residual. 2.Ejeção do leite. 3.Ordenha plena.
4.Componentes do leite. I. Título

CDU: 637.1 (043)

Certificado de Aprovação

TÍTULO: "OCITOCINA NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE"

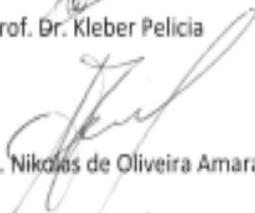
AUTOR: ALAN ANDRADE MESQUITA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Kleber Pelicia

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de **Mestre Profissional em Sistemas de Produção na Agropecuária** pela Comissão Examinadora.



Prof. Dr. Kleber Pelicia



Prof. Dr. Nikolas de Oliveira Amaral



Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva

Alfenas, 20 de junho de 2012.



Prof. Dr. José Messias Miranda
Coordenador do Mestrado Profissional
Sistemas de produção na Agropecuária

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, nosso senhor, que cuida de nós durante 24 horas por dia, em seguida a minha esposa Greyce pela sua paciência, amor e apoio, aos meus pais Marailda e Francisco, que sempre me apoiaram em tudo que envolvesse meus estudos, a todos os meus amigos e colegas de trabalho, porque se sou o que sou hoje e aonde estou em consequência principalmente das suas influências.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força, inteligência, saúde, que sem ele tenho certeza que nada poderia fazer.

Agradeço ao Instituto Federal de Educação do Sul de Minas pelo apoio financeiro e sua estrutura, para realização do projeto de pesquisa.

Aos estudantes Jonata, Wesley, Matheus e David que me auxiliaram muito no andamento dos experimentos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Kleber Pelicia que teve muita paciência, competência e sobretudo conhecimento para me auxiliar neste trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Gustavo Augusto de Andrade, que me apoiou em tudo para que a conseguisse realizar este experimento e dissertação.

Aos professores Dr. Delcio da Silva e Dr. Nikolas Amaral pela participação na banca examinadora.

Aos professores da UNIFENAS inseridos no programa de mestrado, que nos passaram novos conhecimentos e nos trouxeram suas experiências, somando muito nosso aprendizado.

Porque Deus amou o mundo de tal maneira que deu o seu Filho unigênito, para que todo aquele que nele crê não pereça, mas tenha a vida eterna. Porque Deus enviou o seu Filho ao mundo, não para que condenasse o mundo, mas para que o mundo fosse salvo por ele. Quem crê nele não é condenado; mas quem não crê já está condenado, porquanto não crê no nome do unigênito Filho de Deus.

João 3:16-18

RESUMO

MESQUITA, ALAN ANDRADE. **Ocitocina na Produção e Composição do Leite**. Orientador: Kleber Pelícia. ALFENAS: UNIFENAS, 2012, Dissertação (Sistemas de Produção na Agropecuária).

O objetivo deste trabalho foi avaliar se a ocitocina, antes e após a ordenha, influencia a eficiência da ejeção do leite e conseqüentemente o aumento da produção e mudanças na composição do leite. O experimento foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Machado, no setor de bovinocultura, utilizando 39 animais, divididos em 13 blocos, cada um com três animais enumerados de “1” a “13”, e foi utilizado na divisão dos animais, uma seqüência de produção individual. Assim, o bloco “1” foi composto pelos três animais mais produtivos, e o bloco “13”, pelos três animais de menor produção. Em cada bloco os animais foram sorteados para os tratamentos 1, 2 e 3, sendo que no tratamento um (T1) os animais não receberam ocitocina, representando o tratamento controle, apenas recebendo 0,5ml de soro fisiológico, em todas as ordenhas, durante os 60 dias do experimento. No tratamento dois (T2) os animais receberam ocitocina em todas as ordenhas, na concentração de 10 UI, no total de 0,5 ml, antes do início da ordenha, durante os 60 dias do experimento. No tratamento três (T3) os animais, receberam ocitocina no final de ordenha, na concentração de 10 UI, no total de 0,5 ml e foram reordenhados, atividades essas realizadas durante os 60 dias do experimento. Para aferir a produção das vacas, foram usados medidores de leite, e as colheitas de amostras foram realizadas a cada 15 dias, totalizando quatro procedimentos de pesar e amostrar. Após aferido a produção de todos os animais, as amostras foram coletadas e encaminhadas para as análises. As variáveis analisadas foram a acidez do leite, e após a determinação da acidez, quantificou-se a composição de gordura, lactose e proteína. Os resultados foram submetidos à análise de variância e posteriormente, ao teste de comparação de médias, com diferença estatística significativa de 5%. De acordo com os resultados, a ocitocina não influencia a produção leiteira, nas médias de porcentagem de gordura, lactose e proteína do leite, mas possibilita a moderação da queda de produção na curva de lactação e pode diminuir o efeito da queda da porcentagem de proteína na lactação.

Palavras-Chave: leite residual, ejeção do leite, ordenha plena e componentes do leite.

ABSTRACT

MESQUITA, Alan Andrade. **Oxytocin on Milk Production and Composition.**

Advisor: Kleber Pelícia. ALFENAS: UNIFENAS, 2012, Dissertation (Farm Production Systems).

The objective of this study was to evaluate whether oxytocin, before and after milking, influences the efficiency of milk ejection, and consequently increased production and changes in milk composition. The experiment was conducted at the Federal Institute of Education, Science and Technology in Southern Minas Gerais - Machado Campus in the cattle industry, using 39 animals, divided into 13 blocks, each with three animals listed from "1" to "13". The division of animals was based on the sequence of individual production, so that block "1" was composed by the three most productive animals and block "13" by three animals of lower production. For each block, the animals were randomly assigned to treatments 1, 2 and 3. One (T1) animal did not receive oxytocin, representing the control treatment. It received only normal saline 0.5 ml, in the entire teat during the 60 days of the experiment. In two treatment (T2), all the animals received milking oxytocin at a concentration of 10 IU, total 0.5 ml, before the start of milking, during the 60 days period. In treatment three (T3), the animals received oxytocin at the end of milking at a concentration of 10 IU, total of 0.5ml, and were milked again. Such activities were performed during the 60 days of the experiment. To measure the production of cow's milk meters were used and sampling was performed every 15 days, totaling four weighing and sampling procedures. After measured the production of all animals were, measured samples were collected and sent for analysis. The variables analyzed were the acidity of the milk and quantified of the composition of fat, lactose and protein. The results were submitted to ANOVA and subsequently the comparison of means test, which was statistically significant at 5%. According to the results oxytocin did not influence milk production, the average percentage of fat, lactose and milk protein, but enabled moderation of declining production in the lactation curve and may decrease the effect of the fall in the percentage of protein in milk.

Keywords: residual milk, milk ejection, full milking and milk components.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Produção de leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias.....21
- Tabela 2 Porcentagem de gordura do leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias.....25
- Tabela 3 Porcentagem de lactose do leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias.....27
- Tabela 4 Porcentagem de proteína do leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias.....28

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

OMS - Organização Mundial da Saúde

Ca – Cálcio

UI – unidade internacional

I.V. - intravenoso

I.M. - intramuscular

DPP – dias pós-parto

CCS – contagem de células somáticas

FIL – inibidor de feedback da lactação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Anatomia da glândula mamária e fisiologia da lactação.....	3
2.2 Mecanismo de síntese da ocitocina e ejeção do leite.....	5
2.3 Classificações do leite em relação à ordenha.....	9
2.4 Composição do leite.....	10
2.5 Propriedades físicas do leite e fatores que interferem na sua composição.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Local do experimento.....	15
3.2 Delineamento e período experimental.....	15
3.3 Divisão dos animais em lotes.....	16
3.4 Métodos utilizados para aplicação de ocitocina	16
3.5 Parâmetros avaliados e colheita de amostras.....	17
3.5.1 Mensuração da produção leiteira.....	17
3.5.2 Análises de composição do leite.....	18
3.6 Tipo de manejo utilizado.....	19
3.7 Estatística.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 Ocitocina na produção de leite.....	21
4.2 Ocitocina na porcentagem de gordura do leite.....	25
4.3 Ocitocina na porcentagem de lactose do leite.....	27
4.4 Ocitocina na porcentagem de proteína do leite.....	28
6 CONCLUSÃO	30
7 REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, de acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2012), estimou-se que 23.508.000 de vacas foram ordenhadas, em 2011, ação que resultou numa produtividade na ordem de 1374 Kg por animal neste período. E também com as projeções feitas pela Embrapa em 2012, que no ano de 2011 chegou-se a produzir mais 32296 milhões de litros de leite, situando na quinta posição dentre todos os países produtores de leite do mundo, empatando com a Rússia, que se encontra na quarta posição, com uma percentagem de 5,3% do total da produção mundial. Isto demonstra a importância desta atividade no cenário econômico mundial e nacional, mas sempre cabe citar também a importância do leite na nossa alimentação, que é a primazia deste produto.

Mesmo com o Brasil se situando na quinta posição dentre os produtores mundiais, sua eficiência na produção ainda está bem aquém daqueles países que se situam nas primeiras posições, demonstrando que o Brasil tem uma grande produção pelo fato de possuir muitos animais lactantes, e não porque os animais têm uma eficiência na produção de leite. Ao se comparar com os do EUA, onde a média de produção anual de uma vaca é de 9593 Kg (EMBRAPA, 2010), vê-se a triste realidade da baixa eficiência no quesito produção individual das vacas de leite no Brasil, que, como citado anteriormente, é de apenas 1374 Kg/ano.

Para reverter a baixa produção dos bovinos de leite no Brasil podem-se usar várias ferramentas de manejo, sendo que o hormônio ocitocina enquadra-se nas mesmas. Já muito usado este hormônio em fazendas brasileiras para retirada de leite de animais que tem a necessidade de ter o bezerro perto da mãe para que a mesma seja ordenhada, e por causa deste manejo que traz muita dificuldade na ordenha, tem-se usado este hormônio nestes animais para a ejeção do leite sem a necessidade da presença dos bezerros ao seu lado.

Além da possibilidade da ocitocina ajudar no manejo na hora da ordenha, este hormônio pode trazer outros benefícios como aumento da eficiência da ejeção do leite, e em consequência disto, aumento real na produção. Esta hipótese parte do princípio de que quando se deixa menos leite retido dentro do animal o mesmo produzirá maior quantidade na próxima lactação pelo fato do espaço físico de armazenagem ser maior por ter menos leite retido da ordenha anterior, e ainda um estímulo para esse animal

aumentar a sua produção ao longo de um período prolongado do uso da ocitocina.

Dentro do contexto da produção de leite, a ocitocina é um hormônio que participa do processo da ejeção do leite por meio de mecanismo neuroendócrino, que induz a contração das células mioepiteliais que envolvem os alvéolos da glândula mamária, aumentando a pressão destes e expulsando o leite no momento da ordenha deste animal.

Ainda há outras possibilidades no uso da ocitocina usada no auxílio para a ordenha de vacas, com uma probabilidade de benefícios na melhoria da qualidade do leite, motivado pelo fato de que quando se retira com maior eficiência o leite de dentro do animal diminui-se o leite retido, o que contribui para a diminuição da contaminação por microrganismos patogênicos pelo excesso de leite retido no úbere, por não terem substratos para seu crescimento, e ainda diminuindo a pressão dentro da glândula mamária e conseqüente diminuindo lesões internas dos tecidos e impedindo lugares lesionados para introdução de infecções mamárias. Tudo isso citado anteriormente se resume a obtenção higiênica do leite pela ordenha, que impede a queda do rendimento do leite na obtenção de produtos lácteos, e o produtor não sendo penalizado pela indústria, reflete diretamente na remuneração de seu produto pela sua qualidade.

Pesquisas foram realizadas sobre o uso da ocitocina anos atrás, mas já faz algum tempo que se parou de pesquisar sobre este assunto, colocando a expectativa que não se tem mais o que aprender sobre o uso deste hormônio. Mas todas essas pesquisas foram realizadas em um contexto de manejos, clima e mercado bem diferentes dos atuais, principalmente em outros países que não o Brasil. Para confirmar realmente os benefícios da ocitocina precisa-se saber da realidade no território brasileiro, se irá influenciar como nos demais pesquisas.

O objetivo do presente trabalho é de avaliar se a ocitocina sintética aplicada na forma intravenosa, antes e após a ordenha, influencia a eficiência da ejeção do leite e conseqüentemente um aumento da produção e se ocorrem mudanças na composição do leite pelo uso deste hormônio.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Anatomia da glândula mamária e fisiologia da lactação

Para elucidar melhor os mecanismos que envolvem o hormônio ocitocina, faz-se necessário o conhecimento sobre a anatomia e fisiologia da lactação. Nesse sentido o primeiro passo é definir a glândula mamária, que, segundo Birgel *et al.*(2006), é considerada anatomicamente glândula sudorípara modificada, especializada para a produção leiteira.

Birgel (2004) afirmou que o úbere da vaca consiste de quatro glândulas mamárias independentes morfológica e funcionalmente, localizadas na região inguinal. Assim, todo o leite ordenhado de um quarto mamário é produzido pelo tecido glandular daquele quarto. Em cada glândula, ou quarto, o leite é sintetizado continuamente pelas células parenquimáticas glandulares, as quais são constituintes básicos dos alvéolos, que unitariamente apresentam todas as estruturas necessárias para a síntese e o escoamento de leite para um sistema de ductos que convergem, formando ductos mais calibrosos, terminando em reservatório denominado cisterna da glândula (*sinus galactóforo*), e, associado a ela, encontra-se a cisterna do teto (*sinus papillaris*).

O leite produzido pela glândula mamária é armazenado nas cisternas da glândula e do teto bem como nos ductos galactóforos, e passa, no momento da ordenha, pelo conduto do orifício do teto, constituído por um conjunto de fibras musculares circulares, cuja contração determina a oclusão do *ductus papillaris*, formando um verdadeiro esfíncter (BIRGEL, 2004).

Em bovinos, o rendimento da produção de leite é diretamente influenciado pelo número de células mamárias; portanto, o crescimento mamário é o maior determinante do rendimento da lactação. Tendo em vista os mecanismos envolvidos na diferenciação e no crescimento da glândula mamária, e também no processo de lactação, é de extrema importância ressaltar que ambos são conduzidos sob influência de hormônios (BIRGEL, 2004).

A regulação hormonal induz, modula ou bloqueia os diferentes eventos relacionados com o processo da síntese láctea. Em geral, os principais hormônios que afetam a função mamária são: a insulina, o glucagon, a prolactina e a ocitocina.

A insulina é secretada pelas células beta das ilhotas de Langherans pancreáticas, e sua produção é estimulada principalmente pela taxa de glicose sanguínea. Atua no metabolismo de carboidratos, aumentando a taxa de captação de glicose no fígado, músculos e tecido adiposo; e estimula a glicogênese (polimerização da glicose em glicogênio). No metabolismo de lipídios a insulina estimula a lipogênese no fígado e tecido adiposo; e no metabolismo de proteínas, a insulina estimula a captação de aminoácidos no fígado e músculos, bem como a incorporação de aminoácidos em proteínas (RANDALL *et al.*, 2000).

O glucagon é o hormônio secretado pelas células alfa das Ilhotas de Langherans pancreáticas em resposta aos baixos níveis de glicose no sangue. Seu principal papel no metabolismo hepático está relacionado aos seus efeitos antagônicos à insulina, estimulando a glicogenólise e a lipólise, fornecendo lipídios para a gliconeogênese, enquanto que a insulina inibe esses fluxos. Os níveis de glucagon se elevam entre 5 e 30 dias de lactação, sugerindo que o mesmo desempenha papel de controle do metabolismo energético durante o início da lactação (RANDALL *et al.*, 2000).

A prolactina é um hormônio protéico produzido na hipófise anterior (GUYTON & HALL, 1998). Está envolvida na iniciação e manutenção da lactação, tendo papel importante na diferenciação das células da glândula mamária e atuando de forma sinérgica com outros hormônios, sendo sua principal função a síntese de caseína e lactose. As concentrações séricas de prolactina têm correlação positiva, mas de baixo nível com a produção de leite em bovinos (COLLIER *et al.*, 1984) e, segundo REECE (2007), a prolactina exógena tem muito pouco efeito galactopoiético em vacas lactantes.

A ocitocina procede na perfeita descida do leite, que permite uma adequada ordenha, restando nestas circunstâncias apenas um pequeno volume de secreção láctea, favorecendo a hígidez do órgão. A descida do leite em vacas sadias em condições normais de manejo deve-se à ação da ocitocina, liberada por via reflexa (estímulos da ordenha) do lóbulo posterior da hipófise (RANDALL *et al.*, 2000).

O processo de síntese e secreção do leite envolve: o suprimento de precursores a partir do sangue, da capacidade de captação dos precursores e da sua conversão em componentes do leite e da remoção do leite pela glândula mamária. A lactose é o principal fator osmótico no leite, responsável por 50% desta variável, e no processo de

síntese do leite puxa água para as células epiteliais mamárias (BIRGEL, 2004).

Em função da estreita relação entre a síntese de lactose e a quantidade de água drenada para o leite, o conteúdo de lactose é o componente que tem menos variação (GONZÁLEZ, 2001). O proprionato de origem da fermentação microbiana, no rúmen, é considerado o principal precursor da glicose na glândula mamária, sendo limitante para a síntese de lactose do leite (SANTOS e FONSECA, 2007).

A formação do leite demanda um enorme trabalho metabólico, requerendo a passagem de 450 litros de sangue pela glândula mamária para sintetizar um litro de leite. O leite é secretado como uma mistura desses componentes e suas propriedades são mais complexas que a soma de seus componentes individuais (GONZÁLEZ, 2001).

2.2 Mecanismo de síntese da ocitocina e ejeção do leite

Anterior ao saber de como a ocitocina procede, faz-se necessário o conhecer de como ela é sintetizada e como isso afeta suas funções, principalmente na produção de leite. A produção de leite é afetada por diversos fatores: raça dos animais, região do país, rebanho, grupo de manejo dentro do rebanho, data do controle, número da lactação, idade da vaca ao parto, mês do parto, dias em lactação, se a vaca se encontra prenha, número de ordenhas diárias, uso de hormônio como a ocitocina, entre outros (HAFEZ, 1995).

O hormônio responsável pela ejeção do leite é chamado de ocitocina, ele é sintetizado no hipotálamo, armazenado na neurohipófise e produzido também no corpo lúteo. Sua ação ocorre sobre as fibras musculares lisas, estimulando sua contração. A ocitocina é um hormônio composto por nove aminoácidos, envolvidos na regulação de vários processos fisiológicos além da ejeção do leite (HAFEZ, 1995).

Há relatos a partir do século XVIII sobre alguns efeitos da ocitocina na contração da musculatura lisa do útero e da glândula mamária. Estes foram induzidos por extratos de hipófise (OLIVER e SCHAFER, 1895, citado por AL-EKNAH e HOMEIDA, 1991). Meio século depois, determinou-se a estrutura química do hormônio, e sua síntese química foi conhecida (DU VIGNEAUD *et al.* 1953).

A ocitocina é um hormônio sintetizado principalmente nos neurônios do núcleo hipotalâmico magnocelular, supraóptico e paraventricular, mas também há relatos de que sua síntese acontece em outros tecidos, como o útero, placenta, corpo lúteo,

testículos e coração. Este hormônio é um nonapeptídeo constituído por uma estrutura cíclica formado por uma ponte dissulfeto entre moléculas de cisteínas, nas posições 1 e 6, e um tripeptídeo residual no terminal carboxila, constituído de leucina, prolina e glicina (GIMPL e FAHRENHOLZ, 2001).

A mesma é sintetizada como um pré-hormônio, que é um grande polipeptídeo, que inclui: o peptídeo inicial, para direcionar a síntese do polipeptídeo para o lúmen do retículo endoplasmático, o tripeptídeo que indica o local de processamento enzimático e separação do hormônio, e o último, que constitui a maior parte do polipeptídeo (GIMPL e FAHRENHOLZ, 2001).

A secreção de ocitocina na hipófise é contínua, e ocorre por excitação de despolarização da membrana e aumento da concentração de íons de cálcio do terminal. Foram identificados como estímulos para a secreção de ocitocina, a acetilcolina, a serotonina, estrogênio e noradrenalina (GIMPL e FAHRENHOLZ, 2001).

A função da ocitocina mostra uma meia-vida com uma componente rápida de cerca de um minuto, e um lento de cerca de 2 a 3 minutos (GRIFFIN e OJEDA, 2000). Finalmente, para exercer sua ação biológica, receptores de ocitocina, para interagir com afinidade específica, são levadas às células-alvo.

Nas células alvo localizadas no músculo liso, onde há presença de Ca e calmodulina, faz-se ativação das cadeias leves da miosina quinase, iniciando assim a contração do músculo liso, como no útero e células mioepiteliais ao redor do alvéolo da glândula mamária, realizando assim a remoção do leite (GIMPL e FAHRENHOLZ, 2001).

Aparentemente, a remoção do leite depende das características individuais do animal e de sua reatividade frente aos diferentes estímulos impostos durante a ordenha (VAN REENEN *et al.*, 2002). Vacas ordenhadas em um ambiente desconhecido apresentaram aumento na concentração de cortisol plasmático (BRUCKMAIER *et al.*, 1993), na frequência cardíaca e número de sobrepassos durante a ordenha (RUSHEN *et al.*, 2001).

A ejeção do leite, que é influenciada pela ocitocina durante a ordenha, é necessária para otimizar a produção e reduzir a incidência de mastite no rebanho. Entretanto, quando submetidas a agentes estressantes, as vacas leiteiras apresentam distúrbios na ejeção de leite (VAN REENEN *et al.*, 2002).

Mccaughan e Malecki (1981) demonstraram que fatores estressantes também

podem desencadear a liberação de adrenalina, que, em sua atividade durante o processo da ordenha, impede a perfeita descida do leite e, conseqüentemente, determina a retenção láctea no úbere. Ainda demonstraram que vacas, em permanente estresse, retêm maior volume de leite na glândula mamária após a ordenha, e afirmaram que doenças como a rinotraqueíte infecciosa dos bovinos e a infestação de ectoparasitas seriam severos fatores estressantes e, assim sendo, determinantes do aumento da retenção láctea. Todavia, em situações de dor, estresse ou infecções sistêmicas citados anteriormente, a glândula suprarrenal libera adrenalina, cuja ação se antepõe àquela da ocitocina, desfavorecendo a descida do leite.

A atuação da adrenalina faz acontecer a retenção de maior volume de leite nos ductos e células glandulares, que foram consideradas por si só indutoras de inflamação do tecido epitelial de revestimento interno da mama, sendo por isso considerado fator significativo predisponente à colonização e desenvolvimento de infecções bacterianas intramamárias (BIRGEL *et al.*, 1982).

Skrzypek *et al.* (2004) observaram que a massagem do úbere na ordenha foi associada com a diminuição de células somáticas. O uso da massagem como rotina obrigatória antes de cada ordenha tem sido sugerido, pois estimularia a liberação de ocitocina .

A falta da massagem pode causar distúrbios no curso da ordenha, resultando em aumento dos danos mecânicos do úbere e conseqüentemente, infecções. A massagem atuaria estimulando a liberação de ocitocina e ejeção de leite alveolar, e também atuaria por efeito mecânico, fazendo pressão na parte alta do úbere e proporcionando a descida do leite (BRUCKMAIER e BLUM, 1998).

A descida do leite, que acontece com a liberação maciça de ocitocina, provoca a contração das células mioepiteliais ao redor do alvéolo, que está localizado nas paredes dos ductos lactíferos. Em vacas leiteiras, durante os primeiros dois minutos são alcançados concentrações plasmáticas máximas de ocitocina, e, em seguida, o perfil de concentração diminui, retornando aos níveis basais entre 10 e 15 min. depois (LOLLIVIER *et al.* 2002). A glândula mamária responde a pequenas quantidades de ocitocina para a ejeção do leite, mas há necessidade de altas concentrações deste hormônio durante a ordenha, para a remoção eficiente deste leite (BRUCKMAIER *et al.* 1994).

O nível circulante de ocitocina em vacas leiteiras depende do estímulo a que se

submetem os animais. Aqueles que amamentam estão com níveis mais elevados de ocitocina do que ordenhadas manualmente ou pela ordenhadeira. Esses níveis de ocitocina mudam também em vacas que são alimentadas durante a ordenha, estes animais que foram alimentados, mostrou ter maiores níveis circulantes de ocitocina que os que não recebem alimentação (UVNÄS *et al.* 2001).

A ocitocina também foi testada como uma ferramenta para colher os resíduos de leite da ordenha principal. Descobriu-se que, quando aplicados 20 UI do hormônio, imediatamente após a ordenha, a melhor resposta para iniciar a remoção de leite residual foi obtida com espera de 10 minutos ou mais (ANDERSON *et al.* 1967), e mesmo quando eles aumentaram o período de espera foi necessária maior dose de ocitocina (THOMPSON *et al.* 1973). A diferença no tempo de resposta para o leite começar a fluir o residual entre a aplicação intravenosa (i.v.) ou intramuscular (i.m.) de ocitocina é o mínimo entre dois e 5 minutos, dependendo da dose, e é sempre menos com a administração intravenosa (<1 min.). Embora não houvesse diferenças significativas na duração do fluxo de leite residual, entre as vias de administração ou em doses na faixa de 5 a 20 UI por vaca (GRAF, 1967).

Tem sido documentado que doses de apenas 0,1 UI pode provocar descida do leite. Sagi *et al.* (1980) e Schams *et al.* (1984) apresentaram resultados indicando que a ejeção do leite só precisa ultrapassar um limiar mínimo de concentração de ocitocina para iniciar o processo; no entanto, Lollivier *et al.* (2002) utilizaram entre 10 e 20 UI, e obtiveram respostas bastantes satisfatórias na retirada do leite.

O uso de ocitocina exógena sobre a ordenha, uma vez por dia, na Nova Zelândia, mostrou que a resposta pode ser favorável, embora os resultados tenham sido inconsistentes (CARRUTHERS *et al.* 1991). A administração exógena de ocitocina tem sido usada com resultados positivos em caprinos (LOLLIVIER *et al.* 2002) e de ovinos lactantes (ZAMIRI *et al.* 2001).

Pequenas doses de ocitocina exógena, administrados i.v., podem imitar os estímulos que normalmente promovem a ejeção do leite nas vacas. A eficácia desses valores depende de critérios para determinar a ejeção do leite.

Cleverly *et al.* (1968) constataram que 0,1 UI de ocitocina, administrada i.v. às vacas, já provocava um aumento equivalente da pressão intramamária durante a ordenha. DONKER *et al.* (1958) constataram que 0,12 UI de ocitocina era necessária para provocar uma ejeção normal do leite em uma vaca, e para essa constatação um dos índices usados foi a produção de leite residual.

Peeters *et al.*(1960) mediram a quantidade de leite ejetado do quarto dianteiro esquerdo do úbere de vacas após uma aplicação de ocitocina. Eles relataram que o limiar de concentração necessária para ejeção do leite foi de aproximadamente 0,02 UI.

Ao observar a presença ou ausência de padrões de fluxo de leite, Sagi *et al.*(1980) relataram que 0,02 UI de ocitocina já foi eficaz para ejeção do leite de 9 vacas onde estavam 16 animais neste tratamento, e que 10 UI induziam ejeção do leite em todas as vacas. Ao aumentar a dose para 30 UI do leite, ouve um maior pico de taxas de fluxo e menor tempo de ordenha. As concentrações de pico de ocitocina no soro sanguíneo de vacas, como resultado de estímulos na ordenha, estão no faixa de 11 a 65 / UI / ml de sangue. Essas medidas foram realizadas por radio-imuno-ensaio. Se a mistura de ocitocina no sangue após o seu lançamento durante a ordenha é homogênea, isso pode fazer com que se aproxime do valor total do hormônio liberado pela hipófise posterior a sua concentração periférica. Isto quer dizer que uma vaca leiteira adulta com aproximadamente 40 litros de sangue teria de liberar cerca de 0,4-2,6 UI de ocitocina endógena para estabelecer a gama de concentrações mencionadas . Além da sua concentração a ocitocina em camundongos mostrou ter um efeito direto no estrógeno, sobre a diferenciação e proliferação das células da glândula mamária (SAPINO *et al.* 1993).

Ballou *et al.* (1993) sugerem que a administração exógena de ocitocina em vacas, melhora a produção, não apenas para a obtenção do leite residual, mas há um aumento no ganho real na produção de leite.

Lollivier *et al.* (2002) demonstraram que há um envolvimento da ocitocina em processos intracelulares de processamento dos componentes do leite. As evidências geradas por Knight (1994) indicam que o tratamento com ocitocina injetado em vacas leiteiras por via intramuscular, na concentração de 20 UI, quatro minutos antes da ordenha, aumentou a produção de leite em 12 % em relação ao observado feito três horas após a administração de ocitocina, o que levou a concluir que a produção de leite aumentou com a aplicação de ocitocina exógena, devido apenas à melhor ejeção do leite, e por isso nenhum tratamento pode ser atribuído a efeitos diretos da estimulação da síntese do leite e no metabolismo da glândula mamária.

O trabalho de Nostrand *et al.* (1991) teve como resultado, no grupo tratado com ocitocina, 11,6% a mais de leite (849 Kg) do que o controle, resultando em uma melhor persistência, sem os autores verificarem efeitos adversos sobre a saúde ou a reprodução de animais, atribuíveis ao tratamento.

2.3 Classificações do leite em relação à ordenha

O leite contido no úbere no momento da ordenha pode ser dividido em duas frações: leite alveolar, estocado no lúmen do tecido alveolar, e leite cisternal, que fica no interior da cisterna da glândula e nos grandes canais lactíferos (BRUCKMAIER *et al.*, 1994).

As cisternas maiores favorecem o armazenamento de leite, influenciando a quantidade de leite produzida na ordenha e permitindo a adoção de intervalos entre ordenhas mais longos (DAVIS *et al.*, 1998; NUDDA *et al.*, 2000).

O leite ordenhado possui algumas frações distintas por sua constituição e características. Têm-se considerado a existência de quatro frações: leite de retenção; leite da ordenha plena; leite residual e leite complementar (BIRGEL, 1982).

O leite de retenção corresponde à fração láctea acumulada nas cisternas da glândula e cisternas do canal do teto entre as ordenhas, sendo caracterizada por apresentar maior número de bactérias e de células somáticas (BIRGEL *et al.*, 1982), outra definição é dada como sendo o produto de ordenha, a partir de 30º (trigésimo) dia antes da parição, sendo proibidos sua comercialização e consumo para humanos (BRASIL, 1996).

O leite da ordenha plena representa maior fração láctea, correspondendo ao volume do leite total produzido (BIRGEL *et al.*, 1982).

O leite residual representa o volume de secreção láctea, não retirada da glândula mamária mesmo após ordenhas realizadas em condições ideais, mas o volume dessa fração depende diretamente das normas de ordenha. Ao se tornar necessária à obtenção do leite residual, utiliza-se um artifício farmacológico, aplicando-se por via endovenosa uma dose de ocitocina e, após alguns minutos, reordena-se este animal (BIRGEL *et al.*, 1982; OSTENSSON *et al.*, 1993).

O leite complementar corresponde a uma fração do leite que não pode ser extraída da glândula no ato da ordenha. Qualquer que seja o artifício utilizado seu volume é clinicamente indeterminado, sendo uma característica constitucional, todavia variaria segundo a produção animal e o tamanho de seu úbere (BIRGEL *et al.*, 1982).

De acordo com Schmidt *et al.* (1988), a quantidade do leite residual é de aproximadamente 15% do total presente no úbere. Vários fatores influenciam a quantidade de leite residual após a ordenha, como a produção leiteira (GRÖHN *et al.*, 1995), o estágio de lactação (KNIGHT *et al.*, 1994), a idade (SCHMIDT *et al.*, 1988), o estresse durante a ordenha (RUSHEN *et al.*, 2001), a qualidade das relações humano-animal (RUSHEN *et al.*, 1999), a hierarquia social entre as vacas (YUNES, 2001) e o tipo de ordenha, manual ou mecânica (SCHMIDT *et al.*, 1988; GOREWIT *et al.*, 1992; BAR-PELED *et al.*, 1995).

2.4 Composição do leite

O leite é uma mistura de proteínas, aliada a uma emulsão de gorduras, harmonicamente dispersas em solução de lactose, soroproteínas e sais minerais (HURLEY, 2006). Entende-se por leite o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

A constituição do leite também pode ser considerada como uma mistura complexa e heterogênea de substâncias orgânicas e inorgânicas, sendo caracterizados como uma suspensão coloidal de micelas de caseína ligadas ao cálcio e potássio, como uma emulsão de glóbulos de gordura e vitaminas lipossolúveis e como uma solução de lactose, sais minerais, vitaminas hidrossolúveis e proteínas solúveis em água (SANTOS e FONSECA, 2007).

As proteínas do leite são as principais formadoras de massa branca quando o leite coagula. A importância industrial da caseína está na fabricação de queijos e leite em pó associados a outros componentes do leite não menos importantes.

Outro componente do leite é a gordura, que é composta na sua quase totalidade por triglicerídeos originários dos lipídeos da dieta ou da mobilização de reservas corpóreas (ácidos graxos de cadeia longa). Particularmente, o acetato e butirato são os precursores da gordura do leite (ácidos graxos de cadeia curta) sintetizada pelas células epiteliais da glândula mamária (SANTOS; FONSECA, 2007).

Também sintetizada na glândula mamária, a lactose, um dissacarídeo formado a

partir da glicose e galactose, é considerada o componente mais estável do leite, correspondendo a aproximadamente 52% do extrato seco desengordurado, estando seu conteúdo diretamente relacionado com o volume de leite produzido, sendo responsável, juntamente, com o cloro, sódio e potássio, pelo controle da pressão osmótica da secreção láctea dos bovinos (SCHALM *et al.*, 1957). A lactose também é usada como substrato para fermentações, sendo aproveitada na indústria de laticínios para obtenção de diversos produtos derivados do leite como iogurte, leite acidófilo, queijos, requeijões, ácido láctico, dentre outros.

2.5 Propriedades físicas do leite e fatores que interferem na sua composição

O leite bovino possui na média as seguintes propriedades: densidade 1023 -1040 g/l 15°C; pH 6,6 - 6,8 (20 °C); acidez 0,13 - 0,19 g/l (ácido láctico), em graus dornic 13 a 19° (SILVA, 1997).

Após serem colocados os padrões de leite faz-se necessário o conhecimento dos fatores citados que podem influenciar a composição do leite, onde a síntese e secreção dos componentes do leite são processos extremamente complexos e dependem de uma série de fatores: bem-estar animal, clima, manejo, ordem e estágio de lactação, sanidade, genética e, principalmente, da nutrição (FONSECA, 1999; MÜHLBACH, 2000).

Os fatores relacionados à alimentação e à nutrição são os mais importantes e os que podem ser controlados e possivelmente conhecidos em prazos relativamente curtos, embora demandem um conhecimento mais aprofundado, já que afetam não somente a fermentação no rúmen, mas também o metabolismo geral do animal e a secreção de leite no úbere (FREDEEN, 1996; MÜHLBACH *et al.*, 2000).

Alterações no manejo alimentar e no balanceamento das dietas são responsáveis por mudanças nas concentrações de gordura e proteína do leite. Além disso, o consumo de matéria seca, a disponibilidade das fibras, a relação energia/proteína da dieta são considerados uns dos principais fatores que afetam a composição do leite (SANTOS e FONSECA, 2007).

Além dos fatores alimentares existe também outro fator que pode interferir, que seria o estágio de lactação, que é definido como sendo o começo e o final da lactação, seguindo uma curva que pode ser a representação gráfica da produção de leite de uma

vaca no decorrer de sua lactação. O conhecimento da forma da curva e suas implicações sobre a produção de leite pode auxiliar na previsão da produção de leite de vacas em determinado estágio de lactação (COBUCI *et al.* 2001).

Segundo Wood (1980), o conhecimento da curva de lactação é necessário para determinar o manejo nutricional e reprodutivo de animais em lactação, estimação da produção total, do pico de produção e da persistência na lactação.

A persistência na lactação mede o quanto a produção de leite é mantida em um ponto máximo ao longo da lactação, após esta atingir o pico máximo de produção. A persistência é uma característica que está diretamente relacionada com aspectos econômicos da atividade leiteira, pois a melhoria desta persistência pode contribuir para a redução de custos no sistema de produção (TEKERLI *et al.*, 2000).

Conforme Ludwick e Petersen (1943), a produção total de leite é função da persistência na lactação, do pico de produção de leite e da duração da lactação. A persistência é o principal componente da curva de lactação (WOOD, 1967).

Geralmente, acréscimos na produção, como no início da lactação, são acompanhados por decréscimos na concentração de gordura e proteína do leite. Assim, os teores de gordura e proteína são maiores no início e final da lactação e menores no pico de produção (HURLEY, 2006;).

Há existência também de outro fator que pode interferir na composição do leite além do estágio de lactação que tem uma importância, a mastite. Ela determina uma série de mudanças tanto na composição e características físico-químicas como na produção do leite (OGOLA *et al.*, 2007). Essas alterações são atribuídas pela mudança na permeabilidade vascular devido ao processo inflamatório, pela lesão do epitélio glandular secretor responsável pela síntese de alguns componentes do leite e pela ação enzimática de células somáticas ou de microrganismos presentes na glândula (SHARIF; MUHAMMAD, 2008).

As consequências patológicas da mastite são danos aos tecidos e alterações na função secretora, com alta liberação de leucócitos no leite. Em leite mastítico, os níveis de gordura e lactose diminuem, enquanto a proteína total modifica-se muito pouco, visto que o decréscimo na caseína é compensado pelo aumento nas soroproteínas e também na CCS (WALDNER *et al.*, 2006).

Alta CCS está associada com alteração na qualidade proteica, na composição da gordura, lactose e minerais e no aumento da atividade enzimática e do pH do leite cru (OGOLA *et al.*, 2007). Dentre os componentes do leite, as proteínas são as que sofrem

os maiores efeitos, principalmente, a fração caseína que diminui significativamente, ainda que a porcentagem de proteína total do leite não varie. O teor de lactose, na glândula mamária infectada, pode diminuir em até 10%. Apesar da queda da gordura do leite, aumenta a concentração de ácidos graxos livres e fosfolípidos. A parte mineral também é afetada, uma vez que, ocorre queda na concentração de cálcio e potássio, e aumento nos níveis de sódio e cloro. Por esta razão, mudanças na composição do leite podem alterar significativamente o seu valor como matéria-prima (SANTOS; FONSECA, 2007).

Em relação à composição química do leite, uso de ocitocina exógena pode aumentar a quantidade de gordura (GOREWIT e SAGI, 1984; SAGI *et al.*, 1980).

Nostrand *et al.*(1991) usaram vacas da raça Holandesa para determinar os efeitos da ocitocina exógena em 305 de lactação, medindo a produção de leite e saúde dos animais. O grupo que usou a ocitocina produziu 849 Kg de leite a mais durante a lactação, em comparação com o grupo controle, com uma diferença significativa ocorrendo após o pico da produção de leite. Isto sugere que a ocitocina exógena consegue manter uma maior persistência do pico durante a lactação. Não houve diferenças significativas nas porcentagens da gordura do leite e proteína e o uso da ocitocina exógena na ordenha do leite aumentou a produção, com nenhum efeito aparente na de saúde dos animais.

Colocando todas as evidencias anteriormente citadas com o uso da ocitocina exógena em foco, faz-se necessário provar se realmente todos os benefícios do uso desta é verdadeiro para um ambiente diferente, com clima, manejo e mercado, dos quais foram realizados pesquisas anteriores. Um ambiente diferenciado como o do Brasil, necessita de pesquisas, onde se prova um aumento real de produção, e também, verifica-se há algum benefício na composição do leite, já que hoje os maiores compradores de leite no Brasil pagam não só por qualidade, mas também por maior quantidade de sólidos no leite.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Machado, no setor de bovinocultura.

3.2 Delineamento e período experimental

O delineamento usado foi o de blocos casualizados, e os animais escolhidos para participar do experimento foram selecionados de acordo com os seguintes requisitos:

- Vacas com mais de 60 dias de parida, com o objetivo de evitar animais que estão com ascensão de produção na curva de lactação;

- Animais com 105 dias ou mais da data da próxima parição, para não perder a parcela deste animal durante os 60 dias de experimento e 45 dias de período seco.

Foram utilizados 39 animais, divididos em 13 blocos, cada um com três animais enumerados de “1” a “13”, e foi utilizada na divisão dos animais uma sequência de produção individual, sendo assim o bloco “1” era composto pelos três animais mais produtivos e o bloco “13” pelos três animais de menor produção.

Em cada bloco os animais foram sorteados para os tratamentos 1, 2 e 3, sendo que no tratamento um (T1) os animais não receberam ocitocina, representando o tratamento controle, apenas recebendo 0,5ml de soro fisiológico, em todas as ordenhas, durante os 60 dias do experimento, servindo como objeto de estudo de reflexo de aplicação, porque o objetivo não era determinar a eficácia do ocitocina exógeno, mas estudar a sua utilização como uma prática de gestão e tentar melhorar os índices de produtividade.

No tratamento dois (T2) os animais receberam ocitocina em todas as ordenhas, na concentração de 10 UI, no total de 0,5ml, antes do início da ordenha, durante os 60 dias do experimento.

No tratamento três (T3) os animais, receberam ocitocina no final de ordenha, na

concentração de 10 UI, no total de 0,5ml, durante os 60 dias do experimento para retirada do leite residual.

3.3 Divisão dos animais em lotes

Os 55 animais lactantes do setor foram separados em três lotes de acordo com sua produção e período de lactação. As vacas próximas ao período seco ficavam juntas às de menor produção.

No lote um estavam alojados os animais com produção acima de 24 Kg de leite por dia, e com gestação até seis meses e meio. Com isso, a composição deste lote foi de 24 animais, onde 18 estavam participando do experimento.

No lote dois estavam os animais com produção na faixa entre 18 Kg a 23,9 Kg de leite por dia e com gestação até seis meses e meio. Por causa destas descrições o lote estava com 20 animais, dos quais 15 estavam participando do experimento.

O último lote, chamado de lote três, eram as vacas com produção abaixo de 18 Kg de leite por dia, ou as vacas próximas ao período seco, pelo motivo de diminuir sua produção de leite. Este lote contemplava 11 animais, dos quais seis vacas estavam dentro do quadro dos animais participantes do experimento.

3.4 Métodos utilizados para aplicação de ocitocina

O processo de aplicação para os tratamentos um (T1) e dois (T2) foi realizado da seguinte maneira, após o animal adentrar ao local de ordenha:

O animal foi contido por meio de cordas, passadas nas patas traseiras, um pouco acima do jarrete. Logo após sua contenção foi realizada a aplicação de 0,5 ml de ocitocina (T2) ou 0,5 ml de soro fisiológico (T1), em uma das veias mamárias (epigástricas superficiais), com agulha de 13 x 4,5mm e seringa de um ml. Após a aplicação realizou-se o teste da caneca de fundo preto para verificar se houve ocorrência de grumos, indicando um possível problema de mastite; logo em seguida foi feito *pré-dipping* antes da colocação das teteiras. Ordenhou-se o animal; após verificação do término da ordenha através do cessar do fluxo de leite no copo do

conjunto de teteiras; retirou-se as teteiras e foi realizado o *pós-dipping*.

O processo de aplicação no tratamento três (T3) foi realizado da seguinte maneira, após o animal adentrar ao local de ordenha:

Primeiro passo foi a realização do teste da caneca de fundo preto para verificar se houve ocorrência de grumos, indicando um possível problema de mastite. Logo em seguida foi feito *pré-dipping* antes da colocação das teteiras. Colocaram-se as teteiras e ordenhou-se o animal; após verificação do término da ordenha através do cessar do fluxo de leite no copo do conjunto de teteiras, retirou-se as teteiras.

A atividade posterior foi a contenção do animal por meio de cordas, passadas nas patas traseiras, um pouco acima do jarrete, e logo após sua contenção foi realizada a aplicação de 0,5 ml de ocitocina (T3), em uma das veias mamárias (epigástricas superficiais), com agulha de 13 x 4,5mm e seringa de um ml. Após a aplicação esperou-se cinco minutos, colocavam-se novamente as teteiras e as vacas foram reordenhadas para a retirada do leite residual. Após verificação do término da reordenha, através do cessar do fluxo de leite no copo do conjunto de teteiras, retirou-se as teteiras. E o último passo foi a atividade do *pós-dipping*.

Todas estas atividades foram realizadas durante todo o período do experimento em todas as ordenhas.

3.5 – Parâmetros Avaliados e colheita de amostras

As médias pré-experimentais das colheitas de amostra e pesagem do leite tiveram início nos três dias anteriores ao início do experimento, com o objetivo de determinar a média do percentual de gordura, proteína, lactose e produção total dos animais envolvidos no experimento para verificar se os tratamentos tiveram alguma influência nos resultados. Após o início do experimento as colheitas de amostras foram realizadas a cada 15 dias, totalizando quatro procedimentos de pesagem e amostragem.

3.5.1 – Mensuração da produção leiteira

Para aferir a produção das vacas foram usados os medidores de leite, que funcionam a cada pulso da ordenhadeira, onde um jato de leite de aproximadamente 2,5% do leite produzido passa juntamente com o ar pelo medidor e vai para o tubo de medição, o restante do leite segue para a tubulação. Assim mede-se o rendimento total de cada vaca em quilogramas, amostrando todo o leite da ordenha e homogenizando-o, tendo assim uma amostra de todas as parcelas do leite destes animais. Nos T1 e T2 foram feitas apenas uma leitura da produção, mas no tratamento três foram realizadas duas leituras, a da ordenha plena e logo depois da aplicação da ocitocina foi mensurado o leite residual, ou seja, a medição e colheita da amostra do leite residual foi feita apenas nos animais referente ao T3. Todas as pesagens foram realizadas durante as ordenhas da manhã e da tarde do mesmo dia e foram somadas para posteriormente serem usadas para análises estatísticas.

A alteração na produção de leite foi realizada através da diferença da produção antes do início do experimento e a média das colheitas durante o experimento, para todas as variáveis e tratamentos.

3.5.2 – Análises de composição do leite

Logo após a pesagem do leite foi feita a colheita por meio do próprio medidor que possui uma saída frontal, e depositou-se o leite em frascos de plásticos de 500 mL limpos e desinfetados.

Depois de aferido a produção de todos os animais e coletado as amostras, as mesmas foram armazenadas em uma caixa de isotérmica com gelo. As amostras foram encaminhadas para as análises, verificando-se a acidez do leite através dos índices de acidez, obtida por titulação, utilizando-se o método de Dornic (BRASIL, 2006). Após a determinação da acidez, determinou-se a porcentagem de gordura, lactose e proteína no leite, realizadas no aparelho analisador ultrassônico de leite Lactoscan[®] SA, pertencente ao laticínio do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Machado, que fica a 100 metros do setor de bovinocultura.

No total foram analisadas 52 amostras por colheita, sendo 13 amostras no tratamento 1, 13 amostras do tratamento 2 e mais 26 amostras no tratamento 3, as quais foram analisadas separadas, mas as médias das variáveis de composição do leite de T3 foram proporcionais à produção da colheita, sendo que foram calculadas somando a quantidade total da variável (gramas de gordura, lactose ou proteína) e calculando seu percentual na produção total (leite da ordenha + leite residual) de cada animal. Todas as vezes que foram feitas as colheitas de amostras, as mesmas foram realizadas na ordenha da tarde.

3.6 Tipo de manejo utilizado

O setor de bovinocultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Machado possui 55 animais lactantes, da raça holandesa obtidos por cruzamentos, utilizando-se inseminação artificial, dos quais 39 foram utilizados do experimento.

Os animais ficam estabulados em camas individuais de areia fina (sistema de *Free Stall*), recebendo alimentação volumosa à base de silagem de milho duas vezes ao dia, de manhã e a tarde, e concentrado cinco vezes ao dia, repartido durante o mesmo, e também com disponibilidade de água e suplemento mineral à vontade. As dietas destes animais tiveram como principal fonte de fibra a silagem de milho, recebendo este de acordo com sua produção, e mais um suplemento alimentar à base de milho triturado (fubá), farelo de soja, núcleo mineral vitamínico e ureia.

As ordenhas foram realizadas duas vezes ao dia, uma realizada às cinco horas da manhã e outra às cinco horas da tarde. A sala de ordenha é do tipo espinha de peixe, com lugar para oito animais de uma única vez, também chamado de dupla quatro, onde foi realizado o *pré-dipping* e logo após a ordenha o *pós-dipping*.

3.7 Estatística

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância, posteriormente ao teste

de comparação de médias, com diferença estatística significativa de 5%, utilizando o programa estatístico SAS (2000) e teste de Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade láctea é uma das mais importantes características desejadas deste produto. Por tamanha importância, uma das análises realizadas neste presente experimento foi a acidez do leite, como auxílio na determinação da qualidade das amostras. Os resultados obtidos ficaram dentro do padrão ótimo de qualidade, entre 13° e 17° Dornic. Assim conseguiu-se comprovar que em nenhuma amostra foram observados problemas de qualidade, pois elas indicaram baixa atividade microbiana e baixa contaminação.

4.1 Ocitocina na produção de leite

Na tabela 1 observa-se que não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para a média de produção leiteira dos tratamentos, ou seja, os tratamentos não se diferenciaram na média de leite produzido. Observou-se diferença ($P < 0,05$) para a alteração na produção de leite a favor da aplicação de ocitocina, tanto antes como após a ordenha, em relação ao tratamento controle.

Tabela 1. Produção de leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias

Tratamento	Produção pré-experimental(Kg)	Média de produção durante o experimento(Kg)	Alteração na produção de leite(Kg)
T1	20,70	20,02	-0,68 B
T2	21,33	22,59	1,24 A
T3	22,76	24,86	2,08 A
Média	21,60	22,48	0,88
CV (%)	7,25	9,32	99,87

T1- tratamento controle aplicando soro fisiológico; T2 – aplicação de ocitocina no início da ordenha; T3 – aplicação de ocitocina no final de ordenha. Médias e alteração nas produções ausentes de letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A diminuição da produção normal de uma vaca após o pico de lactação, ou seja a

própria curva de lactação, não foi observada nos tratamentos com a presença da ocitocina neste período de 60 dias experimentais. Estes resultados demonstram que há uma perspectiva da ocitocina em restringir a queda normal de leite.

Sagi *et al.*(1980), utilizando cinco doses diferentes de ocitocina (5, 10, 15, 20, 30 UI), em 15 vacas da raça holandesa, 1 min antes de colocar a ordenhadeira, concluiu que uma dose de 20 ou 30 UI de ocitocina não aumenta a produção de leite, mas afeta o fluxo de leite, em comparação com doses mais baixas. Estes resultados foram confirmados no presente experimento.

Ballou *et al.*(1993) fazendo aplicações diárias de ocitocina exógena imediatamente antes da ordenha, concluíram que houve um aumento na produção de leite. O experimento foi realizado com dois ensaios completos: um com 12 vacas (45 dias) e outro com 15 vacas (95 dias). No primeiro ensaio ele conseguiu as médias de produção de leite 29,2, 29,3 e 28,3 Kg para aplicação de ocitocina antes da ordenha, após a ordenha, e solução salina injetada antes da ordenha, respectivamente. No segundo ensaio, as médias de produção de leite foram 33,3, 32,9, e 32,4 Kg para a ocitocina aplicada antes da ordenha e aplicada após a ordenha, e solução salina antes da ordenha, respectivamente. Concluiu-se que a ocitocina antes e após a ordenha aumentou a produção de leite em 3%. Estes resultados diferem dos obtidos neste experimento, pois não se constatou aumento de produção e sim a manutenção da média da produção de leite para os tratamentos com aplicação da ocitocina. Em consequência disto pode-se afirmar que a presença da aplicação da ocitocina mantém uma restrição moderada na queda de produção normal da curva de lactação.

Ballou *et al.* (1993) levantaram a hipótese que se aplica parcialmente a este trabalho, de que durante o tratamento com a ocitocina o leite armazenado nos alvéolos é retirado com maior eficiência, reduzindo assim a pressão exercida sobre os alvéolos e permitindo a máxima produtividade das células epiteliais, o que pode ter promovido a diminuição da queda da produção média de leite durante a lactação, já que não se constatou neste trabalho o aumento de produção.

Uma segunda hipótese é que a ocitocina afeta diretamente a produtividade ou a manutenção das células epiteliais mamárias através de um mecanismo ainda desconhecido. Esta hipótese é apoiada pela ocorrência de resposta máxima à ocitocina ao longo de um período de tratamento prolongado (NOSTRAND *et al.* 1991). Esta manutenção da atividade das células epiteliais pela ocitocina exógena também foi observada em ratos de laboratório (OSSOWSKI *et al.* 1979).

Os resultados de Gonnán e Swanson (1967) concluíram que, para a máxima resposta de produção de leite, a ocitocina tem que ser contínua, em toda a lactação, e não apenas em curto espaço de tempo, para se ter resultados de produtividade melhorada. Os autores afirmam ainda que se seus experimentos repetidos por um período maior poderá vir a constatar o aumento da produção devido à aplicação de ocitocina sintética principalmente no final da lactação, conclusões semelhantes também conseguidas neste experimento.

Nostrand *et al.* (1991), trabalharam com 84 vacas da raça holandesa para determinar os efeitos de ocitocina exógena em 305 dias sobre a produção de leite e de saúde destes animais. As vacas foram distribuídas ao parto por grupo de paridade entre os tratamentos: 1) grupo com ocitocina, os animais receberam uma aplicação de 1 ml (20 UI) de ocitocina em cada ordenha em toda a lactação; 2) grupo controle, os animais não receberam nenhuma aplicação. As amostras de leite foram colhidas de cada vaca quinzenalmente e foram analisadas para a célula somáticos, gordura e proteína. O grupo que recebeu a ocitocina produziu 849 Kg a mais de leite durante a lactação que o grupo controle, com uma diferença significativa ocorrendo após o pico de lactação. Os resultados obtidos por estes pesquisadores assemelham-se com os resultados aqui obtidos no que diz respeito a curva de lactação, sugerindo que a ocitocina exógena mantém uma restrição moderada na queda de produção normal da curva de lactação, mas, no que tange aos resultados obtidos neste experimento, não se obteve diferença no que diz respeito à produção com o uso da ocitocina indo de contrário com Nostrand *et al.* (1991).

Ainda Nostrand *et al.* (1991) mostraram uma produção de leite 11,6% maior para vacas que receberam ocitocina exógena. Os resultados obtidos pelos pesquisadores anteriores não foram observados no presente trabalho, talvez pelo curto espaço de dias do experimento.

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar o efeito da ocitocina na produção de leite. Nossos dados corroboram o conceito de que a ocitocina altera o processo de involução de alvéolos durante a lactação. Uma diminuição na taxa de involução das células secretoras poderia explicar os resultados de alteração da produção de leite obtidos e também mudar o declive da curva de lactação. Este mecanismo é proposto por estudos com ratos (THATCHER e TUCKER 1970), nos quais sugeriram que a ocitocina pode manter a integridade da célula secretora durante o final da lactação, em vez de um efeito direto sobre a tecido secretor. A ocitocina exógena pode

simplesmente estar impedindo um declínio normal na produção de leite, devido à alterações na secreção de ocitocina endógena.

Wachs *et al.* (1984) sugeriram que há um declínio na sensibilidade dos neuroendócrinos de reflexo com o avanço da lactação. Portanto, menos hormônio é disponível para a ejeção do leite com o avanço da lactação. Isto poderia resultar em diminuição do estímulo para ejeção do leite e um aumento da involução alveolar, expondo outra hipótese para os resultados obtidos neste experimento para alteração na produção dos tratamentos.

A ação da ocitocina também pode ser explicada por estimulação direta do fluxo sanguíneo mamário (FLEET *et al.* 1993), provavelmente como resultado do efeito-vasopressina, como da ocitocina, que iria aumentar o fornecimento de nutrientes e hormônios lactogênicos à glândula. No entanto, existe outra possibilidade: a ocitocina pode exercer um efeito direto sobre o epitélio celular. Os resultados de Nostrand *et al.* (1991) servem como exemplo, onde demonstraram que as injeções diárias de longo prazo de ocitocina em vacas leiteiras resultou num aumento na produção de leite, particularmente após o pico de lactação. Estes resultados podem ser explicados por um efeito de galactopoiético da ocitocina, permitindo uma lactação mais persistente.

Ainda há uma outra linha de pensamentos onde afirmam que a ocitocina pode atuar sobre células da glandula mamária por indução da diferenciação celular e proliferação, como foi demonstrado em animais não lactantes na glândula mamária de ratos (SAPINO *et al.* 1993).

Um outro efeito direto da ocitocina sobre a síntese de leite na glândula mamaria pode existir, o que poderia explicar os aumentos na produção de leite em Ballou *et al.* (1993). Então, talvez em adição ao efeito da ocitocina na ejeção do leite, este hormônio pode exercer efeitos diretos sobre a células mioepiteliais e, assim, estimular a síntese lactea.

Lollivier *et al.* (2001) consideram esta mesma hipótese com um duplo efeito de ocitocina no tecido mamário em lactação, o que é consistente não apenas com o seu clássico papel na contração mioepitelial e esvaziamento alveolar, mas também com um papel direto na influência secretória no epitélio mamário. Estes pesquisadores demonstraram que a ocitocina primeiro provoca uma rápida libertação de caseína para o lúmen alveolar, a qual é acompanhada pelo deslocamento de dois marcadores. Ao mesmo tempo, foi observada uma transferência de glóbulos de gordura na parte apical da célula epitelial, como um resultado do efeito da ocitocina. Além disso, observaram-

se sítios específicos de ligação entre a ocitocina e células epiteliais mamárias de coelho, o que confirmaria uma ação direta desse hormônio.

Receptores para a ocitocina já foram localizados no epitélio mamário em mulheres que amamentam, o que indica que a ocitocina deve ter uma papel fisiológico direto na atividade secretora. No entanto, o modelo acima mencionado é desprovido do compartimento cisternal, portanto, a receptividade da ocitocina ainda tem que ser comprovada na glândula mamária de ruminantes (KIMURA *et al.* 1992).

4.2 Ocitocina na porcentagem de gordura do leite

Para a média de gordura no leite não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2). Isso ilustra que a ocitocina pode não alterar a porcentagem de gordura no leite, seja sua média ou alteração na porcentagem de gordura.

Tabela 2. Porcentagem de gordura do leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias

Tratamento	Média de %gordura pré-experimental	Média de %gordura durante o período experimental	Alteração na média de %gordura do leite
T1	3,36	3,13	-0,23
T2	3,29	2,98	-0,31
T3	3,34	3,04	-0,30
Média	3,33	3,49	0,16
<i>CV (%)</i>	<i>17,10</i>	<i>18,14</i>	<i>82,03</i>

T1- tratamento controle aplicando soro fisiológico; T2 – aplicação de ocitocina no início da ordenha; T3 – aplicação de ocitocina no final de ordenha. Médias e alterações na %gordura ausentes de letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Ballou *et al.*(1993) mostraram resultados compatíveis com os obtidos neste experimento, onde o efeito da ocitocina sobre a gordura foi insignificante. Estes pesquisadores relataram que a ocitocina não se manifesta através de células de remodelação da síntese de gordura da glandula mamária. Resultados parecidos também ocorreram com Nostrand *et al.*, (1991), onde não existiu diferenças significativas em relação a porcentagens de gordura do leite.

Nos estudos de Nostrand *et al.* (1991), a média geral do percentual de gordura

não diferiu ($P > 0,40$) para a ocitocina e tratamento controle nas vacas durante a lactação. A média de percentual de gordura foi 3,59% e 3,61% para tratamento com a ocitocina e vacas do grupo controle, resultados semelhantes ao encontrado no presente experimento.

Com resultados diferentes, Sagi *et al.* (1980) relataram uma produção de gordura no leite maior, mas apenas no leite residual. Isto foi feito com experimentos usando 15 vacas da raça holandesa, com aproximadamente 160 dias pós-parto. Cada tratamento durou dois dias, e aplicações de ocitocina foram dadas apenas uma vez durante cada período. Toda a sequência durou oito dias e foi repetida duas vezes, colhendo 30 observações por tratamento. O tratamento de vacas com 15, 20, ou 30 UI de ocitocina elevou significativamente a porcentagem de gordura em comparação com vacas onde foi aplicado 5 UI de ocitocina, mas observou uma tendência oposta nos percentuais de gordura do leite de ordenha plena mais o leite residual (RM1 + RM2), relatando que não foi afetada pelos tratamentos.

Smith (1947) levantou resultados de aumento no conteúdo de gordura do leite. Tais relatos ocorreram, pois o mesmo realizou várias ordenhas ao dia, aumentando a produção e também o percentual de gordura durante seu experimento. Neste estudo tais relatos não foram semelhantes, talvez pelo motivo de relizar apenas duas ordenhas diárias.

Nostrand *et al.* (1991) sugeriram que o uso prolongado de ocitocina não altera a quantidade de gordura. No entanto a quantidade total de gordura variou proporcionalmente em seu experimento, com as mudanças na produção de leite durante toda a lactação, mudanças que se assemelham com as encontradas no presente experimento.

Lane *et al.* (1970), trabalhando com a porcentagem de gordura no leite, realizaram logo após a ordenha normal, quatro aplicações intravenosas sucessivas de ocitocina, em intervalos de 20 minutos, resultando em aumento da porcentagem de gordura na primeira coleta depois diminuiu-se o teor de gordura do leite nos procedimentos subsequentes. Esta diferença nos percentuais pode ser explicada, de acordo com Lollivier *et al.* (2002); que a concentração de gordura do leite aumenta com o tempo da ordenha. O leite removido no início de uma ordenha, que corresponde ao leite cisternal, é menos rico em gordura do que o leite removido no final da ordenha, correspondente ao leite alveolar (2,5 a 5 vezes mais ricos em gordura do leite em relação para o leite cisternal). Este efeito é devido aos glóbulos de gordura do leite

serem transferidos do alvéolos para a cisterna durante a ordenha, como um resultado da ocitocina na ejeção leite (GUINARD-FLAMENT *et al.* 2001).

4.3 Ocitocina na porcentagem de lactose do leite

Colocando os resultados da porcentagem de lactose em evidencia (Tabela 3) nota-se que assim como a porcentagem de gordura (Tabela 2), não obtivemos diferenças significativas nas médias de lactose e alteração da porcentagem dos tratamentos, demonstrando com isso que a lactose também pode não ser afetada pela aplicação de ocitocina.

Tabela 3. Porcentagem de lactose do leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias

Tratamento	%lactose pré-experimental	Média de %lactose durante o experimento	Alteração na %lactose do leite
T1	3,90	3,56	-0,34
T2	3,81	3,65	-0,16
T3	3,79	3,60	-0,19
Média	3,83	3,5	-0,33
<i>CV (%)</i>	<i>4,7</i>	<i>4,94</i>	<i>77,95</i>

T1- tratamento controle aplicando soro fisiológico; T2 – aplicação de ocitocina no início da ordenha; T3 – aplicação de ocitocina no final de ordenha. Médias e alterações na %lactose ausentes de letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os resultados apontam (Tabela 3) que a ocitocina tem uma probabilidade de não afetar a composição do leite no que diz respeito à quantidade de lactose.

Ballou *et al.*(1993) expulsaram que o efeito sobre a concentração de lactose (P <0,10) foi ligeiramente mais alto no seu primeiro ensaio, mas este efeito não foi encontrado no segundo ensaio, que durou 45 dias, onde foram realizados controles leiteiros diários. Resultados parecidos encontrados neste presente experimento, mostrando que não houve diferenças para o tratamento com a aplicação da ocitocina sintética.

Lollivier *et al.*(2002) expulsaram que alguns pesquisadores relataram que não há

modificação da composição do leite (lactose, contagem de células somáticas), independentemente de a ocitocina ser administrada em períodos médios ou longos de tempo (BALLOU *et al.*, 1993; Nostrand *et al.*, 1991), indo ao encontro com os resultados obtidos neste experimento, reforçando que a ocitocina não altera a composição do leite referente à parte de porcentagem de lactose.

4.Ocitocina na porcentagem de proteína do leite

Os resultados obtidos (Tabela 4) demonstra que a variável da alteração da porcentagem de proteína nos tratamentos foi significativa ($P<0,05$). Possivelmente a consequência destes resultados ocorreu pelo fato de a ocitocina restringir a queda normal de leite nos tratamentos onde esteve presente (Tabela 1), demonstrando que a quantidade de proteína não teve uma queda tão acentuada como no tratamento controle (Tabela 4).

No tocante às médias para porcentagem de proteína no leite (Tabela 4), nota-se que estatisticamente não houve diferenças ($P<0,05$).

Tabela 4. Porcentagem de proteína do leite com aplicação de ocitocina antes e após a ordenha de vacas da raça holandesa num período de 60 dias

Tratamento	%proteína pré-experimental	Média de %proteína durante o experimento	Alteração na %proteína do leite
T1	3,29	3,07	-0,22 B
T2	3,28	3,13	-0,15 AB
T3	3,22	3,14	-0,08 A
Média	3,26	2,35	-0,23
<i>CV (%)</i>	<i>4,68</i>	<i>4,41</i>	<i>-69,01</i>

T1- tratamento controle aplicando soro fisiológico; T2 – aplicação de ocitocina no início da ordenha; T3 – aplicação de ocitocina no final de ordenha. Médias e alterações na %proteína ausentes de letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Os resultados (Tabela 4) nos mostram uma visualização que a queda normal da composição do leite referente à proteína tem a possibilidade de ser suavizada com o uso da ocitocina, sendo que foi mais eficiente quando usada ao final da ordenha (T3).

Ballou *et al.*(1993) escreveram que o efeito da ocitocina sobre a proteína foi insignificante. Estes estudos vêm demonstrar a igualdade com os resultados obtidos no presente experimento em relação às médias encontradas para de porcentagem de proteína.

A média geral da porcentagem de proteína nos estudos de Nostrand *et al.* (1991), não diferiram para a ocitocina e tratamento controle durante a lactação. Os resultados sugerem que uso contínuo durante toda a lactação de ocitocina não altera o conteúdo de porcentagem de proteína no leite. No entanto, a produção da quantidade total de proteína variou proporcionalmente com as mudanças na produção de leite durante a lactação, resultado este semelhantes aos encontrados neste estudo experimental, onde os resultados obtidos para a produção de leite se mantiveram estáveis com o uso da ocitocina, e em consequência disto a queda da porcentagem de proteína do leite nos tratamentos não foi tão acentuada como observado no tratamento controle.

Sagi *et al.* (1980) acharam resultados contrários aos autores citados anteriormente, dizendo que a porcentagem de proteína do leite foi menor para vacas recebendo a ocitocina, mas tais resultados diferiram por usar doses bem mais altas de ocitocina, onde a porcentagem de proteína foi menor para vacas que receberam 30 UI de ocitocina. As diferenças entre porcentagem de proteína do leite de vacas que receberam doses de ocitocina de 5, 10, ou 15 UI não foram significativas neste experimento.

Ao se complementar as afirmações retromencionadas em todo o conteúdo deste trabalho, a aplicação de ocitocina não aumentou a média de produção de leite, mas influenciou positivamente na restrição da queda normal de leite, moderando a queda de produção de leite após o pico de lactação. Também foi observado através dos resultados que a queda da porcentagem de proteína do leite durante o tratamento com ocitocina ao final da ordenha foi menor, e observou-se também que a ocitocina não altera as médias de porcentagem de gordura, lactose e proteína do leite. Por esses resultados relatados acima a indicação da aplicação da ocitocina para a retirada do leite residual, ou seja após a ordenha, pode ser considerada uma opção vantajosa, principalmente por ter ocorrido a menor queda de proteína entre todos os tratamentos.

Dentro deste contexto é importante realizar mais pesquisas com a ocitocina em bovinos, tanto com os estudos da biologia molecular da lactação, como também uma análise mais abrangente de todos os fatores que influenciam na produção de leite.

5 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam-se o uso de ocitocina no período do pós-ordenha.

6 REFERÊNCIAS

AL-EKNAH M.M.; HOMEIDA A.M. A review of some aspects of the pharmacology of oxytocin in domestic animals. **Veterinary Research Communications**, v.15, p.45-55, 1991.

ANDERSON R.R., et al. Effectiveness of subcutaneously administered oxytocin upon removal of residual milk. **J. Dairy Science**, v. 51, n. 4, p. 601-605, 1967

BALLOU L.U. et al. The effects of daily oxytocin injections before and after milking on milk production, milk plasmin, and milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1544-1549, 1993.

BAR-PELED, U. et al. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. **Journal Dairy of Science**, v.78, n. 1, p. 2726-2736, 1995.

BIRGEL, E. H. et al. **Patologia Clínica Veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 177-213.

BIRGEL, E. H. Semiologia da Glândula Mamária de Ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária – a arte do diagnóstico**. São Paulo: Editora Roca, 2004. p. 353-398.

BIRGEL JUNIOR, E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Girolando e Gir, criados no estado de São Paulo**. 2006. 335 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRASIL - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA; disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/estatisticas.php>> Acesso: 09 de mar. de 2012.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Lei 1283 de 18/12/1950, Regulamentada pelo Decreto 30691 de 20/03/1952 e alterado pelo Decreto 1255 de 25/06/1962. **RIISPOA Diário Oficial da União**, Brasília, 09 fev. 1996, seção I, p. 2241-2243, 1996a.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA -. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**. Brasília, 14 de dezembro de 2006.

BRANDÃO, S. C. C. Fundamentos da busca pela qualidade na indústria. In: **PERSPECTIVAS E AVANÇOS DA QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL**, 2006, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Talento, 2006. p. 291-312.

BRUCKMAIER, R. M.; SCHAMS, K.; BLUM, J. W. Milk removal in familiar and unfamiliar surroundings: concentrations of oxytocin; prolactin; cortisol and β -endorphin. **Journal of Dairy Research**, v. 60, n. 4, p. 449- 456, 1993.

BRUCKMAIER, R. M., AND J. W. BLUM. Central and peripheral inhibition of milk ejection. **Proc. Int. Symp. Prospects for Future Dairying**, p. 96–101, 1994.

BRUCKMAIER R.M., SCHAMS D. AND BLUM J.W. Continuously elevated concentrations of oxytocin during milking are necessary for complete milk removal in dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v. 61, p. 323-334, 1994.

BUCKMAIER R.M., WELLNITZ O. AND BLUM J.W. Inhibition of milk ejection in cows by oxytocin receptor blockade, alpha-adrenergic receptor stimulation and in unfamiliar surroundings. **J. Dairy Res.**, v. 64, p. 315-325, 1997.

BRUCKMAIER, R. M.; BLUM, J. W. Oxytocin release and milk removal in ruminants. **Journal Dairy of Science**, v. 81, n. 1, p. 939-949, 1998.

CARRUTHERS, V.R., DAVIS, S.R.; NORTON, D.H. The effects of oxytocin and bovine somatotropin on production of cows milked once a day. **Proceedings of the New Zeland Society of Animal Production**, v. 51, p. 197-201, 1991.

CLEVERLY, J. D. The detection of oxytocin release in response to conditioned stimuli associated with machine milking in the cow. **J. Endocrinol**, v. 2, p.40, 1968.

COBUCI J. A. et al., Aspectos Genéticos e Ambientais da Curva de Lactação de Vacas da Raça Guzerál **Rev. bras. zootec.**, v. 30, n.4, p. 1204-1211, 2001.

COLLIER, R.J. et al., A review of endocrine regulation of metabolism during lactation. **Journal of Animal Science**, v.59, n.2, p.498-510, 1984.

DAVIS, S.R. et al., Partitioning of milk accumulation between cisternal and alveolar compartments of the bovine udder: relationship to production loss during once daily milking. **J. Dairy Res.**, v.65, p.1-8, 1998.

DU VIGNEAUD V., RESSLER C.; TRIPPETT S. The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. **J. Biol. Chem.**, v. 205, p. 949-957, 1953.

FLEET I.R. et al., The stimulation of mammary blood flow by oxytocin and the potential role of locally released nitric oxide in the goat, **J. Reprod. Fertil**, v. 11, p. 104, 1993.

FREDEEN, A.H. Considerations in the nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, n.1-3, p.185-197, 1996.

FONSECA, M.G., MORAIS, E.M. **Indústria de leite e derivados no Brasil: uma década de transformações**. Informações Econômicas, São Paulo, v. 29, p. 7-29, 1999.

GUINARD-FLAMENT J., MICHALSKI M.C., RULQUIN H., Evolution of milk fat content and fat globule diameter according to milking time in dairy cows. **Rencontres Recherches Ruminants**, Paris, France, 2001.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.603-604.

GIMPL G.; FAHRENHOLZ F. The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. **Physiological Reviews**. v. 81, n.2, p.629-683, 2001.

GIMPL G. et al., Oxytocin receptors and cholesterol: interaction and regulation. **Exp. Physiol**. v. 85, p.41-50, 2000.

GOFF, K. R.; SCHMIDT, G. H. Effect of Eliminating Machine Stripping of Dairy Cows on Milk Production, Residual Milk, and Mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 50, n. 11, p. 1787-1791, 1967.

GONZÁLEZ, F.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Eds). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre, RS: Gráfica UFRGS, 2001. p.5-21.

GONNAN, G. M.; E. W. SWANSON. Effects of oxytocin administered during the dry period on the succeeding lactation. **J. Dairy Sci.**, p.51-60, 1967.

GOREWIT R.C.; SAGI R. Effects of exogenous oxytocin on production and milking variables of cows. **J. Dairy Sci**. v.67, p. 2050-2054. 1984.

GOREWIT, R. C. et al., Endocrine responses in cows milked by hand and machine. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 1, p. 443-448, 1992.

GOREWIT R.C. et al., Current Concepts on the role of oxytocin in milk ejection. **Journal of Dairy Science**. v. 66, n. 10, p. 2236-2250, 1983.

GRÖHN, Y. T.; EICKER, S. W.; HERTL, J. A. The association between previous 305-day milk yield and disease in New York State dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78 n. 8, p. 1693-1702, 1995.

GRAF G.C. Effects of oxytocin injected intramuscularly and intravenously on milk ejection of the bovine. **Journal of Dairy Science**, v. 51, n. 4, p. 628, 1967.

GRIFFIN J.E.; OJEDA S.R. **Textbook of endocrine physiology**. 4th ed. United States of America: Oxford University Press, 2000.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 6.ed. São Paulo: Manole, 1995. 582 p.

HURLEY, W. L. **Milk Composition; Synthesis: Physicochemical properties.** Resource Library. University of Illinois, 2006. Disponível em: <<http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308/Milkcompsynth/milkcompsynthresources.html>>. Acesso em: 20 jul. 2011.

KNIGHT, C. H.; HIRST, D.; DEWHURST, R. J.. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. **Journal of Dairy Research**, v. 61, p. 67-177, 1994.

KNIGHT C.H. SHORT-TERM oxytocin treatment increases bovine milk yield by enhancing milk removal without any direct action on mammary metabolism. **Journal of Endocrinology**, v. 142, p. 471-473, 1994.

KIMURA T. et al., Structure and expression of a human oxytocin receptor. **Nature**, v. 356, p.526-529, 1992.

LANE G.T. et al., Influence of Repeated Oxytocin Injections on Composition of Dairy Cows' Milk. **J. Dairy Sci**, v.53, p.427-429, 1970.

LOLLIVIER V. et al., Oxytocin and milk removal: two important sources of variation in milk production and milk quality during and between milkings. **Reprod. Nutr. Dev**, v. 42, p. 173-186, 2002.

LOLLIVIER V. et al., oxytocin effects on secretory events in rabbit and cow mammary cells, **Livest. Prod. Sci**, v. 70, p. 180, 2001.

LUDWICK, T.M., PETERSEN, W.E. A measure of persistency of lactation of dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 26, p. 439-445, 1943.

MCCRACKEN J.A., CUSTER E.E.; LAMSA J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 2, p. 263-323, 1999.

MCCAUGHAN, C. J.; MALECKI, J. C. Milk retention in chronically stressed dairy cows. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, n. 4, p. 203-204, 1981.

MÜHLBACH, P. R. F. A Produção de leite em ambiente ameno. Opções forrageiras como alternativa de produção de energia alimentar no inverno. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS, 2000, Carambei. **Anais...** Carambei: Fundação ABC, 2000. p 11-21.

NOSTRAND S.D. et al., Effects of daily exogenous oxytocin on lactation milk yield and composition. **J. Dairy Sci**, v. 74, p. 2119-2127, 1991.

NUDDA, A. et al., Ultrasound technique for measuring mammary cistern size of dairy ewes. **J. Dairy Res.**, v.67, p.101-106, 2000.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, n. 3, p. 237-242, 2007.

ÖSTENSSON, K., HAGELTORN, M., ASTROM, G. Differential cell counting in fraction-collected milk from dairy cows. **Acta Veterinary Scandinavia**, v. 29, p. 493-500, 1988.

ÖSTENSSON, K. Variations during lactation in total and differential leukocyte counts, N-acetyl-glucosaminidase, antitrypsin and serum albumin in foremilk and residual milk from non-infected quarters in the bovine. **Acta Veterinary Scandinavia**, v. 34, n. 1, p. 83-93, 1993.

PEETERS, G., H.; STORMORKEN,; F. VANSCHOUBROEK.. The effects of different stimuli on milk ejection and diuresis in the lactating cows. **J. Endocrinol**, v. 20, p. 163, 1960.

RANDALL, D., BURGGREN, W., FRENCH, K. **Fisiologia animal: mecanismos e adaptações**. 4 ed. Rio de Janeiro: editora Guanabara Koogan, 2000. 729p.

REECE, W.O. **Dukes : fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 926p.

RUSHEN, J. et al., Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 720-727, 1999

RUSHEN, J, et al., Humans contact and the effects of acute stress on cow at milking. **Appl Animal Behavior Science**, v. 73, n. 1, p. 1-14, 2001.

SANTOS, M. V. E.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri, SP: Manole, 2007,. v.1, 314 p.

SAGI R.; GOREWIT R.C.; WILSON D.B. Role of exogenous oxytocin in eliciting milk ejection in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 2006-2011, 1980.

SAPINO A. et al. Oxytocin enhances myoepithelial cell differentiation and proliferation in the mouse mammary gland. **Endocrinol**, v. 133, p. 838-842, 1993.

SAS-Statistical Analysis System. **Statistical Analysis System user's guide**. Version 8.2. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2000.

SHARIF, A.; MUHAMMAD, G. Somatic cell count as an indicator of udder health status under modern dairy production: a review. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 28, n. 4, p. 194-200, 2008.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, B. S. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199, 1957.

SCHAMS D. et al., Oxytocin secretion during milking in dairy cows with regard to the variation and importance of a threshold level for milk removal. **Journal of Endocrinology**, v. 102, p. 337-343, 1984.

SKRZYPEK, R.; WÓJTOWSKI, J.; FAHR, R. D. Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk – A case study from Poland. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 51, n.1, p. 127-131, 2004.

SILVA, P. H. F. Leite: aspectos de composição e propriedades. **Química Nova na Escola**, São Paulo, 1997. 6 v.

SCHMIDT, G. H.; VAN VLECK, L. D.; HUTJENS, M. F. **Principles of Dairy Science**, Prentice Hall, 1988. p. 466.

SMITH, V. R.. The effect of milking at short intervals with and without injections of oxytocin. **Dairy Sci**, v. 30, p. 703, 1947.

STRABEL, T., JAMROZIK, J. The effect of incorrect estimated variance covariance components on genetic evaluation of dairy cattle with random regression models. *In*: 7TH WORLD CONGRESS GENETIC APPLIED LIVESTOCK PRODUCTION. MONTPELLIER, **Proceedings**, France Communication, 2002 p. 01-09.

THATCHER, W. W.; H. A. TUCKER.. Lactational performance of rats injected with oxytocin, cortisol21- acetate, prolactin, and growth hormone during prolonged lactation. **Endocrinology**, v. 86, p. 237, 1970.

TEKERLI, M. et al., Factors affecting the shape of lactation curves of Holstein cows from the Balikesir province of Tukey. **J. Dairy Sci.**, v. 83, n. 6, p. 1381-1386, 2000.

THOMPSON BY P.D., PAAPE M.J. AND SMITH J.W. Residual milk yield as affected by dose and time of injection of oxytocin. **Journal of Dairy Resear.**, v. 40, p. 221-227, 1973.

UVNÄS M.K. et al., Oxytocin facilitates behavioural, metabolic and physiological adaptations during lactation. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 72, p. 225-232, 2001.

WALDNER, D.N. *et al.* **Managing milk composition**: normal sources of variation. Disponível em: <<http://www.osuextra.okstate.edu/pdfs/F4016web.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2012.

WACHS, E. A., R C. GOREWIT;; W. B. CURRIE.. Oxytocin concentration of cattle in response to milking stimuli through lactation and mammary involution. **Domest. Anim. Endocrinol**, v. 1, p. 141, 1984.

WILDE C.J. et al., The effect of goat milk fractions on synthesis of milk constituents by rabbit mammary explants and on milk yield in vivo, **Biochem. J**, v. 242, p. 285–288, 1987.

WILDE C.J. et al., Regulation of intracellular casein degradation by secreted milk proteins. **Biochim. Biophys. Acta**. v. 992, p. 315-319, 1989.

WILDE C.J. et al., Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. **Biochem. J**, v. 305, p. 51-58, 1995.

WILDE C.J. et al., Feed-back inhibition of milk secretion: the effect of a fraction of goat milk on milk yield and composition. **Q.J. Exp. Physiol**, v. 73, p. 391-397, 1988.

WILDE C.J. et al., The effect of goat milk fractions on synthesis of milk constituents by rabbit mammary explants and on milk yield in vivo. **Biochem J**, p. 285-288, 1987.

WOOD, P.D.P. Algebraic model of the lactation curve in cattle. **Nature**, v. 216, p. 164-165, 1967.

WOOD, P.D.P. Breed variation in the shape of the lactation curve of cattle and their implications for efficiency. **Journal of Animal Production**, v.34, p.133-141, 1980.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca, New York: Cornell University, 1994. 476 p.

VAN REENEN, C. G. et al., Individual Differences in Behavioral and Physiological Responsiveness of Primiparous Dairy Cows to Machine Milking. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2551-2561, 2002.

YUNES, M. C.. **Efeito da hierarquia social em vacas leiteiras em aspectos da produção, da reprodução e da interação humano animal**. Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

ZAMIRI, M.J.; QOTBI, A.; IZADIFARD, J. Effect of daily oxytocin injection on milk yield and lactation length in sheep. **Small Ruminant Research**, v.40, n.2, p.179-185, 2001.