

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

JULIANA APARECIDA MELLO LIMA

**DESEMPENHO PRODUTIVO DE VACAS F1 HOLANDÊS/ZEBU
SUBMETIDAS AO AUMENTO DO NÚMERO DE ORDENHA NO
INÍCIO DA LACTAÇÃO E A DIFERENTES MANEJOS DE
AMAMENTAÇÃO**

**BELO HORIZONTE
2011**

JULIANA APARECIDA MELLO LIMA

**DESEMPENHO PRODUTIVO DE VACAS F1 HOLANDÊS/ZEBU
SUBMETIDAS AO AUMENTO DO NÚMERO DE ORDENHA NO
INÍCIO DA LACTAÇÃO E A DIFERENTES MANEJOS DE
AMAMENTAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Prof. Orientador: Sandra Gesteira Coelho

Coorientadores: Ângela Maria Q. Lana
José Reinaldo M. Ruas

**BELO HORIZONTE
2011**

- L732d Lima, Juliana Aparecida Mello, 1985-
Desempenho produtivo de vacas F1 Holandês/Zebu submetidas ao aumento do numero de ordenha no inicio da lactação e a diferentes manejos de amamentação / Juliana Aparecida Mello Lima. – 2011.
79 p. : il.
- Orientadora: Sandra Gesteira Coelho
Co-orientadores: Ângela Maria Q. Lana, Jose Reinaldo M. Ruas
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia
1. Vaca – Ordenha – Teses. 2. Leite – Produção – Teses. 3. Lactação – Teses.
4. Desempenho produtivo de vaca – Teses. I. Coelho, Sandra Gesteira. II. Lana, Ângela Maria Quintão. III. Ruas, José Reinaldo Mendes. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

Dissertação defendida e aprovada em 18.01.2011, pela comissão
examinadora
constituída por:



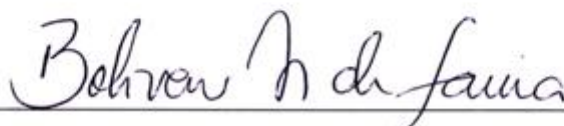
Prof^a. Sandra Gesteira Coelho
Orientador



Prof. Helton Mattana Saturnino



Prof. Breno Mourão de Sousa



Prof. Bolívar Nóbrega de Faria

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Josué e Sueli, que sempre foram meus exemplos e grandes amigos.

Ao meu irmão Rodrigo, pelo apoio.

Aos meus amigos, pela paciência e confiança.

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade da realização de um sonho, que me fez crescer como pessoa e profissional.

À Professora Sandra Gesteira Coelho, pelos ensinamentos, apoio, dedicação, confianças durante estes anos.

Aos Professores Ângela Quintão Lana e José Reinaldo Mendes Ruas, pela orientação e apoio quando precisei.

À CAPES pela bolsa de Mestrado.

À Fazenda Experimental da EPAMIG em Felixlândia, por abrir as portas da Fazenda, em que pude realizar o experimento.

Aos membros da banca examinadora, pela importante contribuição nesse trabalho e pelas sugestões apresentadas.

Ao Professor Antônio Último de Carvalho, pela amizade, apoio, ensinamentos e confiança.

Aos novos irmãos conquistados durante estes dois anos de mestrado, Lú Galega, Amandinha (mãe do Lucca), Rebeca, Celso, Dudu, Paolo, Lú Preta, Flavio, Kissia, Daniel, Fabi e Seu João (que é mais pai do que irmão).

A Mari, Luciele, Isa, Tete, Helena, Bruna e Betânia, pela amizade, ajuda na confecção desse trabalho e por tornar esses dois anos de mestrado muito alegres.

Aos meus amigos Luciele Gusmão, Manu, Rafael, Sheila, Alexandre, Alessandro, Camila, Guto que mesmo distantes sempre estiveram presentes me apoiando quando precisei.

Ao Departamento Feminino da Loja Flor de Maio, pelo apoio e carinho.

À equipe do Colegiado de Pós-graduação, pela prestabilidade e atenção.

À todos os colegas de pós-graduação que sempre se dispuseram a servir.

Expresso meu agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram na realização desse trabalho.

“Viver é arriscar-se a morrer...
Esperar é arriscar-se a se desesperar...
Tentar é arriscar-se a falhar...
Mas devemos nos arriscar!
O maior perigo na vida está em não arriscar.
Aquele que não arrisca nada...
Não faz nada...
Não tem nada...
Não é nada...”

Rudyard Kipling

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 PRODUÇÃO DE LEITE EM GADO MESTIÇO.....	13
2.2 BIOLOGIA DA SECREÇÃO DE LEITE.....	15
2.2.1 Dinâmica do número celular.....	15
2.2.2 Controle endócrino da função celular mamária.....	18
2.3 MECANISMOS DE REGULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LEITE FRENTE AO AUMENTO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA.....	20
2.3.1 Regulação local da produção de leite.....	20
2.3.1.1 Permeabilidade das “tight junctions”.....	20
2.3.1.2 Fator inibidor da lactação – FIL.....	21
2.3.1.3 Captação de nutrientes.....	23
2.3.2 Frequência unilateral de ordenha.....	24
2.3.3 Resposta celular para a frequência de ordenha.....	26
2.3.4 Resposta endócrina para a frequência de ordenha.....	28
2.4 EFEITO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA SOBRE A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	29
2.4.1 Durante toda lactação.....	29
2.4.2 No início da lactação.....	31
2.5 EFEITO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA SOBRE METABOLISMO ENERGÉTICO E REPRODUÇÃO.....	35
2.6 EFEITO DA AMAMENTAÇÃO E RELAÇÃO BEZERRO/VACA SOBRE A PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DESEMPENHO DOS BEZERROS.....	37
2.7 RELAÇÃO CUSTO/BENEFÍCIO DO AUMENTO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA.....	39
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1 Localização, condições climáticas e período experimental.....	41
3.2 Delineamento experimental.....	41
3.3 Manejo nutricional.....	42
3.4 Manejo de ordenha.....	43
3.5 Manejo dos bezerros.....	44
3.6 Manejo reprodutivo.....	45
3.7 Colheita de dados.....	45
3.8 Análise estatística.....	47
3.9 Avaliação financeira.....	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1 Avaliação da produção e composição do leite.....	50
4.2 Avaliação do peso corporal das vacas.....	58
4.3 Avaliação do desempenho dos bezerros.....	59
4.4 Avaliação do desempenho reprodutivo.....	61
4.5 Avaliação financeira.....	63
5. CONCLUSÃO.....	66
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
7. ANEXOS.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição do leite em percentagem (%) de diferentes raças e composições raciais.....	14
Tabela 2 -	Efeito da frequência de ordenhas sobre a produção de leite em diferentes espécies, aplicada em apenas uma metade do úbere.....	25
Tabela 3 -	Resultados de trabalhos publicados sobre os efeitos da frequência de ordenhas durante toda lactação sobre a produção de leite de vacas leiteiras.....	30
Tabela 4 -	Resultados de trabalhos publicados sobre os efeitos do aumento da frequência de ordenhas (AFO) no início da lactação sobre produção e composição do leite em vacas da raça Holandês.....	34
Tabela 5 -	Grupos experimentais.....	41
Tabela 6 -	Produções de leite médias durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	51
Tabela 7 -	Médias e desvios padrão (DP) da produção por ordenha e produção total observada e estimada (kg) de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	55
Tabela 8 -	Média da composição de leite durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	56
Tabela 9 -	Médias de peso (kg) durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	58
Tabela 10 -	Média do peso corporal (kg) e ganho de peso (kg/d) de bezerros mestiços, durante 36 semanas, submetidos a diferentes manejos de ordenha.....	59
Tabela 11 -	Médias e desvios padrão (DP) do número de coberturas e período de serviço de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes com o bezerro fazendo o apoio (BA) ou mamando (BM) durante a ordenha nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	61
Tabela 12 -	Receita mensal com a venda de leite estimada durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	63
Tabela 13 -	Custo mensal hora/ordenha estimado durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	63
Tabela 14 -	Custo mensal alimentar vacas de leite durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	64
Tabela 15 -	Margem Bruta mensal estimada para produção de leite durante a lactação de vacas ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 2 -	Taxa de renovação celular que é definida pela relação entre as taxas de proliferação e apoptose celular do parênquima mamário. Círculos abertos representam as populações iniciais de células; círculos hachurados representam novas células formadas por proliferação celular e células que morrem durante este período são representadas por círculos pretos.....	16
Figura 2 -	Esquema do mecanismo de ação do Fator Inibidor da Lactação sobre as células alveolares mamárias.....	22
Figura 3 -	Esquema de ordenha adotado durante a fase experimental. Grupo 4x = vacas ordenhas quatro vezes ao dia com ou sem a sucção pelos bezerros durante a ordenha (4BA e 4BM); Grupo 2x = vacas ordenhas duas vezes ao dia com ou sem a sucção pelos bezerros durante a ordenha (2BA e 2BM).....	43
Figura 4 -	Médias de produção de leite (kg/d) observada até 35 semanas, de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (2BA e 4BA) ou mamando (2BM e 4BM), seguido por duas ordenhas no até o final da lactação.....	51
Figura 5 -	Curvas de lactação até 250 dias de vacas ordenhadas duas ou quatro vezes nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas até o final da lactação.....	53
Figura 6 -	Comportamento do peso corporal (kg) de bezerros mestiços submetidos a diferentes manejos de amamentação.....	60

ANEXOS

Anexo 3 -	Distribuição dos animais nos grupos experimentais 4BM e 4BA quanto á ordem de lactação, composição genética, produção total de leite na lactação (kg) anterior e previsão de parto.....	76
Anexo 2 -	Distribuição dos animais nos grupos experimentais 2BM e 2BA quanto á ordem de lactação, composição genética, produção total de leite na lactação (kg) anterior e previsão de parto.....	77
Anexo 3 -	Composição do preço do leite baseados nos preços recebidos pela fazenda EPAMIG em 2008.....	78
Anexo 4 -	Cálculo do tempo de ordenha gasto por vaca.....	78
Anexo 5 -	Planilha de cálculo hora/ordenha da fazenda EPAMIG Felixlândia – Dados corrigidos monetariamente referentes a 2008.....	79

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de quatro ordenhas diárias nos primeiros 21 dias da lactação, seguido de duas ordenhas diárias, com ou sem a sucção de leite pelo bezerro, sobre: produção e composição do leite, pesos das vacas e dos bezerros, ganhos de peso dos bezerros e parâmetros reprodutivos, além da relação custo/benefício da implantação desse protocolo de ordenha. Cinquenta e três vacas F1 Holandês/Zebu multíparas foram distribuídas em quatro grupos: 2BA - 12 vacas ordenhadas duas vezes ao dia com os bezerros apresentados para o apoio; 2BM - 13 vacas ordenhadas duas vezes ao dia com a sucção de leite pelos bezerros em apenas um teto durante a ordenha; 4BA - 15 vacas ordenhadas quatro vezes ao dia, do 1º ao 21º dia da lactação com os bezerros apresentados para o apoio; 4BM - 13 vacas ordenhadas quatro vezes ao dia, do 1º ao 21º dia da lactação, com a sucção de leite pelos bezerros em apenas um teto durante a ordenha. Após o dia 21 todas as vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia. A produção e composição do leite foram avaliadas a cada quatro dias até o 33º dia da lactação e a partir desta data a cada 15 dias. Os animais foram pesados ao parto, aos 21 e 250 dias da lactação. Para análise da viabilidade financeira dos diferentes grupos foi utilizada, a margem bruta como indicador de desempenho financeiro da atividade leite. O aumento da frequência de ordenha nos primeiros 21 dias da lactação promoveu incremento de 2,04 kg/d de leite ao longo de toda lactação ($P < 0,01$) e de 17,3% na margem bruta estimada com a venda de leite. O aumento da frequência de ordenhas no início da lactação não afetou os pesos das vacas e dos bezerros, nem o período de serviço e o número de coberturas.

Palavras chave: girolando, presença do bezerro, quatro ordenhas diárias, vacas F1, viabilidade financeira

ABSTRACT

The objective of this trial were to evaluate the effects of four daily milking until lactation day 21 and after this day two milking, with or without suckling by the calf, on milk yield and composition, daily weight gain of the calves, cows and calves weights and the reproductive parameters. Fifty three multiparous crossbred Holstein Zebu were distributed in four groups: 2BA - 12 cows were milked twice a day in the presence of their calves; 2BM - 13 cows were milked twice a day with theirs calves suckling in one teat during milking; 4BA - 15 cows were milked four times a day in presence of their calves and 4BM - 13 cows were milked four times a day with theirs calves suckling in one teat during milking. After day 21 all cows were milking twice a day. Milk production and composition were measured each four days until 33th day of lactation, and then each 15 days until the end of lactation. The animals were weighed at birth, 21 and 250 days of lactation. To analyze the financial viability of the different groups was used the gross margin, as financial indicator. The rise of milking frequency increased milk production in 2.04 kg/d, and in 17.3% of estimated gross margin from the sale of milk. The increase on milking frequency at the beginning of lactation did not influence the weight of cows and calves, service period or number of mount ($P > 0.05$).

Keywords: calf suckling, crossbreed F1, financial viability, four milking, milking frequency, service period

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o sexto produtor mundial de leite possuindo um dos maiores rebanhos do mundo, sendo os sistemas de produção caracterizados pela diversidade na composição racial do rebanho e nas práticas de manejo, que vão de modelos de confinamento total, com gado puro, a extensivos com gado mestiço. O rebanho leiteiro no Brasil é composto por 74% de vacas mestiças com produção média de 1.100 kg/lactação, 20% de vacas sem qualquer especialização, produzindo em média 600 kg/lactação e por 6% de vacas de raças especializadas com 4.500 kg de leite/lactação como produção média. Em Minas Gerais, a produção de leite/vaca/ano é em média de 1.964 kg. Essa produção é oriunda de um rebanho em que 41,7% das vacas ordenhadas são mestiças Holandês/Zebu, 24,9% tem predominância de sangue Holandês (mais que 7/8 Holandês/Zebu), 7,9% tem predominância de sangue Zebu e 25,4% não apresentam padrão definido quanto á composição genética (FAEMG, 2006).

Devido a grande participação de animais mestiços na produção leiteira do Brasil, é importante ressaltar que esses animais apresentam certas particularidades como maior rusticidade, o que os fazem suportar maiores variações no ambiente e nos sistemas de manejos, diferenças quanto à fisiologia da lactação o que acarreta em alterações no momento do pico de produção de leite, persistência, comprimento e comportamento da curva da lactação, entre outras, quando comparados com animais da raça Holandês. Apesar disso, a exploração desse tipo de rebanho ainda segue o mesmo padrão e tecnologia desenvolvida primariamente para sistemas de criação em que se utilizam raças especializadas de base genética pura, como a raça Holandês.

A baixa produtividade da maioria dos rebanhos nacionais aliada ao aumento exponencial da população humana mundial, e conseqüentemente, do consumo de leite e seus derivados para suprir a demanda por proteína animal na alimentação humana, tem pressionado cada vez mais os produtores a buscarem sistemas mais adaptados às condições brasileiras e maior eficiência econômica da atividade. A rentabilidade das explorações leiteiras está intimamente relacionada com o total de leite vendido e as despesas para produzi-lo. Produção por vaca tem sido a força motriz na equação econômica de rentabilidade (BAUMAN, 1992). Maior produção de leite pode ser conseguida por meio do aumento da produção de leite no pico e/ou persistência da lactação. Dessa forma, muitas práticas de manejo tem sido estudadas ao longo dos anos para ajudar os produtores a aumentarem a produção de leite e sua rentabilidade. Uma das opções disponível para o produtor brasileiro é a utilização de raças européas especializada na produção de leite em cruzamentos com raças zebuínas, explorando

dessa forma as vantagens do efeito da “heterose”, permitindo à obtenção de indivíduos adaptados as condições de criação do Brasil. Além da utilização de programa de melhoramento genético, o produtor pode também dispor de outras práticas como mudanças na nutrição, aplicação de somatotropina recombinante bovina (rbST), ocitocina exógena, duração do fotoperíodo, duração do período seco, instalações, sistemas de refrigeração e conforto dos animais, entre outros, sendo o aumento do número de ordenhas diárias um dos métodos mais utilizados para aumentar a produção de leite, e consequentemente a receita do produtor.

A prática do aumento da frequência de ordenha tradicionalmente tem sido empregada com sucesso no que diz respeito ao aumento da produção de leite ao longo de toda a lactação, tanto em animais da raça Holandês (ERDMAN e VARNER, 1995) quanto em mestiços com variada composição genética (RUAS et al., 2006a). No entanto, estudos recentes em vacas da raça Holandês, tem demonstrado o potencial do aumento da frequência de ordenha durante o início da lactação interferindo principalmente sobre a produção de leite. Pesquisadores relataram aumento na produção de leite em vacas ordenhadas quatro (4x) ou seis vezes (6x) durante os primeiros 21 ou 42 dias após o parto, com a persistência deste efeito após as vacas retornarem a frequências menores de ordenhas (2x ou 3x) (BAR-PELED et al., 1995; HALE et al., 2003; DAHL et al., 2004). No entanto, outros estudos observaram efeito residual mínimo (FERNANDEZ et al., 2004) ou negativo (VANBAALE et al., 2005) do aumento da frequência de ordenha durante o início da lactação sobre a produção de leite.

Em função da inexistência de estudos sobre utilização desta metodologia em animais mestiços e da importância desses animais para a produção de leite no Brasil, esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do aumento do número de ordenha e da amamentação ou não do bezerro durante a ordenha apenas nos primeiros 21 dias da lactação, sobre a produção e composição do leite, peso das vacas e dos bezerros, ganhos de peso dos bezerros e parâmetros reprodutivos, bem como avaliar a relação custo/benefício da aplicação desta técnica em vacas F1 Holandês/Zebu.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de leite em gado mestiço

Grande parte do rebanho leiteiro do Brasil é composto por animais oriundos do cruzamento de *Bos taurus taurus* com *Bos taurus typicus*, os quais por serem mais adaptadas ao ambiente tropical, podem ser muito produtivos se selecionados e manejados adequadamente (MATOS, 2001). Devido à grande diversidade dos tipos de rebanhos mestiços, das condições de manejo e ambientais, diferentes médias foram relatadas para a produção total de leite, variando de 2.829 kg leite a 5.926 kg leite (POLASTRE et al., 1987; JUNQUEIRA FILHO et al., 1992a e RIBAS et al., 1993).

A produção de leite em gado mestiço apresenta determinadas peculiaridades quanto à fisiologia da lactação se comparada a raças mais especializadas para a produção de leite, com destaque para a raça Holandês. Característica de importante relevância em vacas F1 é o formato da curva de lactação. Segundo Glória (2008), vacas F1 Holandês/Zebu apresentam formato de curva semelhante ao descrito na literatura para vacas de raças leiteiras européia, caracterizada por uma fase ascendente até o pico, não tão característica de acordo com Oliveira (2002), e uma fase descendente posterior ao pico. Entretanto, este autor relatou que o período entre o início e o pico de lactação, com média de 23,3 dias, foram inferiores aos relatados na literatura para raças especializadas. Além disso, vacas mestiças F1 apresentam menor duração da lactação que as observadas em vacas de raças especializadas. Enquanto que em 853 lactações avaliadas de vacas mestiças F1 Holandês/Gir, da primeira a quarta ordens de parto, em três diferentes fazendas, Ruas et al. (2008) observaram duração da lactação de 278,8 dias. Carvalho (2009) relatou duração média da lactação de 293,1 e 285,4 dias para vacas F1 Holandês/Zebu que pariram na estação chuvosa e seca, respectivamente. Além disso, este último autor concluiu que vacas mestiças apresentam balanço energético negativo de menor duração e intensidade, com menor mobilização de reservas corporais se comparado com os dados na literatura para raças especializadas.

Outro importante efeito a ser considerado é a diferença observada na interação existente entre a produção de leite e a ordem de parição ou idade do animal nas diferentes composições genéticas. Enquanto a produção de leite nos animais da raça Holandês aumenta até a quinta lactação por volta dos sete anos, e se mantêm em um platô por alguns anos para depois decrescer, os mestiços apresentam produção de leite crescente até oito a 10 anos de idade (DURÃES et al., 1999). Esta constatação estaria relacionada com a incompleta formação da

glândula mamária e ao direcionamento dos nutrientes para atendimento das exigências de crescimento mamário (LARSON, 1985).

Diferentes raças e composição genética também são responsáveis por variações na composição do leite (Tabela 1). Existem poucos relatos na literatura sobre a produção de gordura e proteína de vacas mestiças de diferentes composições genéticas. Teodoro e Madalena (2003) avaliaram a composição do leite (gordura e proteína) de vacas mestiças obtidas do cruzamento de touros das raças Holandês, Jersey e Pardo-Suíço com vacas F1, 5/8 e Holandês/Gir. As percentagens de gordura foram de $3,37 \pm 0,10$, $3,73 \pm 0,04$, $3,77 \pm 0,07$ e as de proteína de $3,02 \pm 0,05$, $3,10 \pm 0,02$ e $3,06 \pm 0,04$, respectivamente, para as filhas dos touros das raças Holandês, Jersey e Pardo-Suíço. Já Madalena et al. (1990), ao avaliar a produção de sólidos em vacas na primeira lactação oriunda de diferentes cruzamentos envolvendo animais das raças Holandês e Guzerá, em rebanhos com nível baixo ou alto de manejo, observaram produções de gordura e proteína de 132,4 kg (3,40%) e 99,8 kg (3,36%) nas vacas submetidas ao nível alto de manejo. Por outro lado, nas submetidas ao nível de manejo baixo foram de 113,6 kg (4,30%) e 83,9 kg (3,16%), respectivamente.

Tabela 4 - Composição do leite em percentagem (%) de diferentes raças e composições raciais

	Holandesa	Jersey	Pardo Suíço	$\frac{3}{4}$ H ¹ $\frac{1}{4}$ Z ²	$\frac{5}{8}$ H ¹ $\frac{3}{8}$ Z ²	$\frac{1}{2}$ Z ²	$\frac{3}{4}$ Z ² $\frac{1}{4}$ H ¹	Zebu
Proteína	3,00	3,98	3,64	3,20	3,42	3,52	3,54	3,83
Gordura	3,32	5,13	3,99	3,66	4,01	4,00	4,08	4,39
Lactose	4,56	4,83	4,94	4,62	4,73	4,80	4,82	4,85
ESD ³	8,26	9,40	9,20	8,52	8,85	9,02	9,06	9,43
EST ⁴	11,58	14,42	13,08	12,18	12,86	13,02	13,14	13,82

¹H = Holandês; ²Z = Zebu; ³ESD = Extrato Seco Desengordurado; ⁴EST = Extrato Seco Total.

Fonte: Adaptado de Fonseca e Santos (2007).

Além das diferenças relatadas acima, pode-se também destacar, que a criação dos animais mestiços apresenta condições características. Entre elas pode-se ressaltar a necessidade do contato do bezerro com a mãe ou a amamentação natural durante a ordenha, como estímulo para a ejeção do leite (COMBELLAS et al., 2003), sendo comum a prática de ordenhar vacas em presença do bezerro na maioria das fazendas leiteiras no Brasil.

Há uma série de vantagens na amamentação controlada quando comparada a criação artificial. A amamentação controlada e restrita consiste em deixar o bezerro mamar em sua mãe poucos minutos antes da ordenha (1 a 2 minutos), para estimular a descida do leite, e por mais tempo após a ordenha (15 min a 1 h) para a esgota do leite residual, que é aproveitado pelo bezerro e responsável pelo seu maior desenvolvimento. Além disso, deve-se enfatizar a

prevenção de processos inflamatórios na glândula mamária devido ao maior esgotamento desta e pela presença de fatores antimicrobianos na saliva do bezerro (COMBELLAS e TESORERO, 2003).

No entanto, a presença do bezerro na sala de ordenha tem como inconveniente a necessidade de instalações adequadas, retarda o processo de ordenha, além do manejo do bezerro poder acarretar acidentes com os mesmos (COMBELLAS e TESORERO, 2003). Nesse tipo de sistema observam-se variações no tempo de amamentação dentro do período de lactação, sendo que esta variação pode afetar a quantidade de leite disponível para venda, consumida pelo bezerro, bem como no seu conteúdo de gordura (NEGRÃO e MARNET, 2002).

2.2 BIOLOGIA DA SECREÇÃO DO LEITE

2.2.1 Dinâmica do número celular

Por muitos anos uma relação positiva foi demonstrada entre o tamanho da glândula mamária e a produção de leite (LINZELL, 1966 citado por BOUTINAUD et al., 2004). No entanto, Sorensen et al. (1998) demonstraram que vacas de elevado mérito genético produziam 1,3 vezes mais leite do que vacas de baixo valor genético, com 1,3 vezes mais tecido mamário secretor. Dessa forma, o número de células mamárias diferenciadas na glândula mamária, bem como o nível de atividade das mesmas, são os fatores determinantes para a produção de leite e não o tamanho do úbere.

Para avaliar as mudanças na população de células secretoras de leite e a extensão da renovação celular dentro desta população, é necessário quantificar a taxa de proliferação (aumento do número de células devido à divisão celular – mitose) e apoptose (morte celular programada). Segundo Capuco et al. (2001) a glândula mamária se desenvolve quando a taxa de proliferação excede a de apoptose, regride quando a taxa de apoptose é maior que a taxa de proliferação celular e o número de células se mantém constante ao se igualarem as taxas de proliferação e apoptose. Logo, a taxa de renovação celular pode ser definida como o balanço entre a proliferação celular e apoptose (Figura 1), figura esta que demonstra que populações finais com números iguais de células podem apresentar taxas de renovação diferentes.

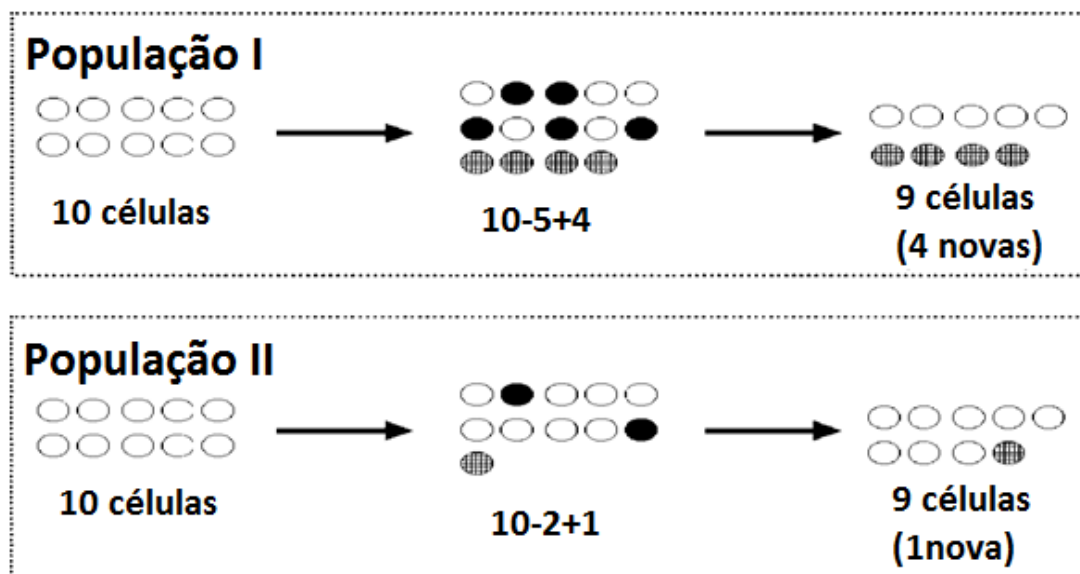


Figura 1 - Taxa de renovação celular que é definida pela relação entre as taxas de proliferação e apoptose celular do parênquima mamário. Círculos abertos representam as populações iniciais de células; círculos hachurados representam novas células formadas por proliferação celular e células que morrem durante este período são representadas por círculos pretos.

Fonte: Adaptado de Capuco et al. (2001).

Uma análise das mudanças do número de células e atividade secretora mamária durante uma lactação foi realizada por Capuco et al. (2001). Este estudo baseou-se no abate aos 14, 90, 120 e 240 dias de lactação de vacas não gestantes da raça Holandês, ordenhadas duas vezes ao dia, com quantificação do DNA total mamário. Durante a lactação aproximadamente 0,3% do total de células mamárias proliferaram dentro de 24h, sendo que esta taxa de proliferação não foi afetada pelas diferentes fases da lactação ($P > 0,05$). Por outro lado, a fase da lactação influenciou a taxa de apoptose. No 14º dia, a taxa de apoptose foi de 0,27% do total de células e de 0,07% em média, durante o restante da lactação ($P > 0,05$). Segundo estes autores a alta taxa de apoptose encontrada no início da lactação pode ser menor do que a estimada pela técnica utilizada, devido á dificuldade em diferenciar células epiteliais em apoptose de leucócitos apoptóticos, comuns durante o início da lactação.

A apoptose celular tem duração aproximada de 3h, logo, a taxa de apoptose durante o restante da lactação pode ser estimada como sendo de 0,56% de células mamárias durante 24h ($0,07\% \times 24h/3h$) e claramente excede a taxa de proliferação mensurada de 0,3% de células mamárias por 24h, resultando em uma constante perda de epitélio celular por dia durante a lactação (CAPUCO et al., 2001).

A atividade secretora das células mamárias foi estimada a partir da produção de leite por unidade de DNA mamário, sendo observado aumento primário deste índice até 90 dias após o parto, seguido da ausência de alterações significativas com o avançar da lactação. Mediante os

resultados relatados, concluiu-se que o aumento de produção de leite durante o início da lactação foi devido ao aumento da atividade secretora por célula, na ausência de crescimento mamário e o declínio da mesma após o pico da lactação deveu-se à gradual regressão sofrida pela glândula mamária por meio do processo de apoptose celular (CAPUCO et al., 2001).

É importante enfatizar que no experimento realizado por Capuco et al. (2001) foram utilizadas somente vacas multíparas não gestantes. Quando as vacas estão concomitantemente lactantes e gestantes é provável que um declínio da capacidade secretora por célula mamária acompanhe a gestação avançada devido à oposição metabólica demandada pela gestação e lactação. Na verdade, este efeito é facilmente perceptível durante o final da gestação, quando o número de células epiteliais mamárias aumenta simultaneamente com o rápido declínio na produção de leite (CAPUCO et al., 1997).

Sorensen et al. (2006) estudaram a dinâmica celular por meio de resultados obtidos a partir de biopsias mamárias nos dias 14, 42, 88, 172 e 270 da lactação de vacas ordenhadas duas vezes ao dia e que ficaram gestantes ao longo do experimento. A proliferação celular foi relativamente baixa e constante durante a lactação, variando entre 0,4% e 0,9% ao dia, enquanto que a taxa de apoptose celular foi alta no 14º dia da lactação (0,76% para 3h, ou 6% extrapolada para 24h) e durante o restante da lactação (0,08% e 0,76%, ou seja, de 0,6% a 6% no período de 24 h). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Capuco et al. (2001) que também observaram baixa taxa de proliferação celular durante a lactação (0,3% ao dia) e altas taxas de apoptose encontradas no início da mesma (0,56% ao dia).

As mudanças que ocorrem na atividade celular mamária são frequentemente mensuradas a partir de mudanças na atividade de algumas enzimas mamárias, tais como a acetil-CoA carboxilase, ácido graxo sintase e a galactosiltransferase. Sorensen et al. (2006), além da mensuração da atividade dessas enzimas também utilizaram a concentração de RNA, a relação entre RNA e DNA e a expressão de genes selecionados, como α -acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase para avaliar a atividade secretora das células mamárias. A concentração de RNA total se manteve constante dentro dos períodos de lactação enquanto para a RNA/DNA foi observado aumento do 14º até o 88º dia da lactação. A atividade da enzima acetil-CoA carboxilase foi constante durante a lactação, ácido graxo sintase aumentou ($P=0,02$) do dia 14 para o 42, após este permaneceu instável e GT manteve-se constante do dia 14 até o 172, seguido de diminuição ($P<0,001$) no final da lactação. Os resultados deste experimento sobre as atividades enzimáticas e RNA/DNA indicaram aumento na atividade celular no início da lactação, mas este aumento não foi confirmado por aumento consecutivo de mRNA das enzimas acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase, demonstrando assim que

a expressão gênica não teve nenhum aumento do 14º dia em diante. Logo, concluiu-se que a atividade das enzimas não segue a curva da lactação e pode não ser limitante para a produção de leite, já a renovação celular parece ser o maior determinante do tipo da curva da lactação após o pico (SORENSEN et al., 2006).

2.2.2 Controle endócrino da função celular mamária

O sistema endócrino desempenha papel importante na síntese e secreção do leite, sendo estes processos regulados por três diferentes grupos de hormônios. Entre esses hormônios pode-se destacar o estrogênio, progesterona, lactogênio placentário, prolactina e ocitocina que tem impacto direto sobre a glândula mamária, atuando sobre a mamogênese, lactogênese e galactopoiese.

A mamogênese é definida como a fase do desenvolvimento da glândula mamária, em que esta cresce na mesma proporção que o resto do corpo, com exceção de duas fases de crescimento denominado alométrico. A primeira fase do crescimento alométrico ocorre antes da puberdade e é regulada principalmente pelo estrogênio produzido pelos ovários. O segundo período de crescimento alométrico ocorre após a concepção (SVENNERSTEN-SJAUNJA e OLSSON, 2005). O desenvolvimento da glândula mamária durante a gestação é regulado essencialmente por esteróides ovarianos, no entanto, a prolactina é necessária para alcançar crescimento lobuloalveolar completo (HART e MORANT, 1980).

Lactogênese e galactopoiese são os dois eventos metabólicos que iniciam a síntese de leite. Lactogênese foi descrita por Neville et al. (2002) como a diferenciação das células mamária e que consiste no conjunto de processos que levam ao início de uma lactação. Já galactopoiese, segundo Akers (2006) é definida como a manutenção da secreção do leite. Esses dois eventos são controlados pela prolactina e hormônio do crescimento (GH), que são essenciais para a transição de células mamárias em proliferação para células produtoras de leite (FLINT e KNIGHT, 1997).

O processo da ejeção do leite consiste na ativação do mecanismo neuroendócrino, que resulta na liberação de ocitocina na corrente sanguínea pela glândula pituitária, em resposta a vários estímulos táteis e/ou exteroceptivos (visão, olfato e/ou som dos bezerros e do local da ordenha). A ocitocina liberada promove a contração das células mioepiteliais que circundam os alvéolos mamários, resultando na expulsão do leite (BRUCKMAIER, 2005).

Os hormônios metabólicos (hormônio do crescimento, glicocorticóides, hormônios da tireóide e insulina) compõem o segundo grupo de hormônios que agem indiretamente sobre a

secreção do leite, afetando a capacidade de resposta da glândula mamária aos hormônios reprodutivos, além de exercer influência sobre o fluxo de nutrientes direcionados para a glândula mamária. Por último, a própria glândula mamária é um órgão endócrino capaz de produzir hormônios como hormônio de crescimento, a leptina e a prolactina, entre outros (SVENNERSTEN-SJAUNJA e OLSSON, 2005).

Após a lactação a glândula mamária passa por um processo de involução, como preparação para lactações subsequentes. Esse processo é caracterizado pela perda de células epiteliais por apoptose (ACCORSI et al., 2002). Pesquisas recentes sugerem que a glândula mamária da vaca não involui completamente da mesma forma que em outras espécies, ocorrendo a remodelagem da glândula mamária durante este período por meio da substituição de células envelhecidas por novo tecido secretor (CAPUCO et al., 1997).

A importância do período seco tem sido extensamente pesquisada e estudos tem demonstrados que, em vacas leiteiras, a ausência deste período pode reduzir produção de leite até 20% na lactação subsequente (CAPUCO et al, 1995; ANDERSEN et al., 2005). A “involução”, assim como cada aspecto do desenvolvimento e da função mamária, também é regulada por hormônios. Accorsi et al. (2002) conduziram experimento para avaliar os efeitos da prolactina (PRL), hormônio do crescimento (GH) e o fator de crescimento semelhante á insulina (IGF-I) sobre a involução na glândula mamária de vacas. Estes autores demonstraram que a falta de PRL, GH ou IGF-I aumentou a apoptose celular.

2.3 MECANISMOS DE REGULAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LEITE FRENTE AO AUMENTO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA

2.3.1 Regulação local da produção de leite

2.3.1.1 Permeabilidade das “tight junctions”

O aumento da frequência de ordenha reflete positivamente na produção de leite em diversas espécies produtoras de leite, no entanto o inverso também é verdade, a redução na frequência de ordenha resulta em menor produção de leite, sendo que o exato motivo para esta redução permanece desconhecido.

Vários mecanismos têm sido propostos com o intuito de esclarecer o aumento ou a diminuição da produção de leite em resposta a variação na frequência de ordenha, sendo que para muitos pesquisadores a explicação mais óbvia parece estar relacionada ao aumento ou diminuição da pressão dentro da glândula mamária (KNIGHT et al., 1998). Fleet e Peaker, (1978) relataram que o aumento da pressão intramamária, após dias sem a retirada do leite foi responsável pela ruptura das “tight junctions” e mudança na composição iônica da glândula mamária.

“Tight junctions” podem ser definidas como uma estrutura extracelular que esta localizada próxima a membrana apical, formando uma barreira semi-permeável entre as células epiteliais e endoteliais adjacentes. Logo, tem como função prevenir que os componentes do leite passem para o sangue e vice-versa (DUY-AI e MARGARET et al., 1998).

Stelwagen et al. (1994) observaram que as “tight junctions” das células mamárias de cabras começavam a perder a sua integridade a partir de 20 horas de intervalo de ordenhas, coincidindo com o momento em que a síntese do leite começa a declinar, sugerindo que as “tight junctions” desempenham importante papel na regulação da síntese do leite quando se utiliza apenas uma ordenha diária. Estudo posterior realizado por Stelwagen e Knight (1997) em vacas ordenhadas apenas uma vez ao dia, confirmaram que as “tight junctions” começam a ficar permeáveis após 17 ou 18 horas de intervalo de ordenhas, que coincide com o período em que a taxa de secreção de leite começa a declinar (DAVIS et al., 1998).

Evidências da maior relação entre a “tight junction” e a produção de leite foi observada por Stelwagen et al. (1995), em que estes provocaram artificialmente a ruptura das “tight

junctions” em apenas metade do úbere, o que provocou nesta a diminuição em 15% na produção de leite se comparada com as glândulas contralaterais, que é pertinente com a redução observada com o uso de apenas uma ordenha diária. Segundo Stelwagen (2001), um bom indicador da alteração na permeabilidade das “tight junctions” seria a concentração plasmática da proteína α -lactalbumina, que foi significativamente mais alta em vacas ordenhadas 2x ao dia se comparada com 3x, sugerindo que as “tight junctions” estavam menos permeáveis com o aumento da frequência de ordenha. Resultados semelhantes foram encontrados por Castillo et al. (2008) ao avaliarem a permeabilidade das “tight junctions” em ovelhas submetidas a diferentes intervalos de ordenhas (4, 8, 12, 16, 20, e 24h) em que observaram aumento da concentração plasmática de lactose após 20h de acúmulo de leite na glândula mamária, indicando aumento da permeabilidade das “tight junctions” do epitélio mamário.

As “tight junctions” encontradas no epitélio mamário são dinâmicas e podem ser reguladas por uma série de estímulos, entre eles podemos destacar fatores locais como a estase do leite resultando em maior pressão intramamária, processos inflamatórios (mastite) e os fatores sistêmicos, como a prolactina, progesterona e glicocorticóides, que parecem desempenhar papel na regulação mamária das “tight junctions” (DUY-AI e MARGARET et al., 1998). O exato mecanismo de ação destes fatores sobre as “tight junctions” não é totalmente conhecido, porém de acordo com os resultados obtidos por Ben Chedly et al. (2010), ao romperem artificialmente as “tight junctions”, a perda da integridade do epitélio mamário estaria associada a redução da atividade celular e indução de apoptose na glândula mamária.

2.3.1.2 Fator inibidor da lactação - FIL

No início dos anos 80, Linzell e Peaker (1971) citados por Stelwagen (2001) hipotetizaram que a produção de leite poderia ser regulada por um inibidor químico presente no leite que posteriormente, passou a ser denominado por Wilde et al. (1995) de fator inibidor da lactação. Desde então, muitos experimentos foram conduzidos com o objetivo de comprovar esta hipótese e desvendar o mecanismo de ação dessa proteína (WILDE et al., 1987; WILDE et al., 1996).

O efeito do FIL sobre a secreção do leite foi testado primeiramente in vitro por Wilde et al. (1987), utilizando cultura de células mamárias de coelhas. A secreção de leite foi inibida

de forma rápida e reversível por uma fração de proteínas do soro entre 10 e 30 Kilodalton (KDa). Posteriormente, frações destas proteínas foram injetadas em uma única glândula mamária de coelhas e constatou-se que essa mesma fração de proteínas inibiu a síntese de leite tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Em estudo subsequente com cabras (WILDE et al., 1995), onde a fração de proteínas de 10 a 30 KDa após purificação foi infundida via intramamária em apenas uma glândula mamária, observou-se que o FIL inibiu a secreção de leite em relação a glândula controle contralateral. Após imunoneutralização do FIL endógeno, os resultados demonstraram efeitos estimulatórios sobre a produção de leite (WILDE et al., 1996).

Uma das formas de ação proposta para o FIL é de que ao se acumular no leite presente no lúmen alveolar ele atinja uma concentração crítica, onde passará a agir como feedback negativo, inibindo assim a produção de leite. Outro potencial modo de ação dessa proteína seria a sua produção na forma inativa e subsequente ativação dentro do lúmen alveolar. Após a ligação do FIL aos seus receptores presentes na superfície das células alveolares ocorreria a redução da taxa de secreção de proteínas pela inibição do tráfego de vesículas por meio do aparelho de Golgi, esquematizado na figura 2 (RENNISON et al., 1993).

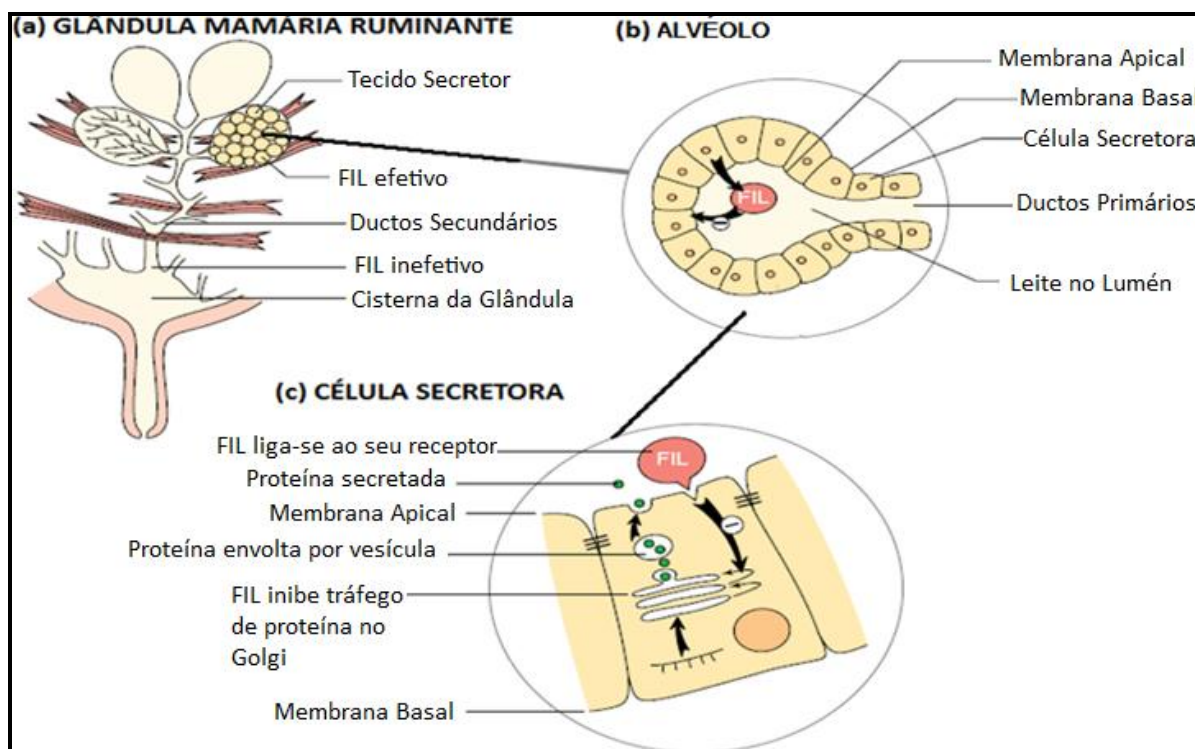


Figura 2 - Esquema do mecanismo de ação do Fator Inibidor da Lactação sobre as células alveolares mamárias. Fonte: Adaptado de Knight et al. (1998).

Embora a concepção de que o FIL seja responsável pela redução da secreção de leite possa explicar a maior produção durante o aumento da frequência de ordenha, Bar-Peled et al. (1995) e Hale et al. (2003) contestaram esta concepção, baseados no fato dessa proteína não explicar a manutenção de produções elevadas de leite, mesmo após cessado o tratamento do aumento na frequência de ordenha durante o início da lactação.

No entanto, Knight et al. (1998) propuseram que o FIL participaria da adaptação da glândula mamária ao aumento ou diminuição da frequência de ordenha como mecanismo agudo de regulação, tendo como ação primária a regulação intracelular do tráfego de proteínas. O efeito imediato sobre a secreção do leite é considerado como efeito direto, e os efeitos subsequentes sobre a atividade celular e número de células são consequência indireta mediada por meio das alterações na sensibilidade de hormônios como a prolactina e provavelmente IGF-1.

2.3.1.3 Captação de nutrientes

Outro fator que tem sido considerado como potente regulador da produção de leite em resposta as mudanças na frequência de ordenha é a capacidade de captação dos nutrientes pela glândula mamária. Guinard-Flament e Rulquin (2001) observaram declínio de 28% na produção de leite e redução de 10% no fluxo sanguíneo mamário de vacas ordenhadas uma vez ao dia durante sete dias. Já em cabras, um alongamento do intervalo entre ordenhas de 26 para 36h causou redução de 50% do fluxo sanguíneo mamário (STELWAGEN et al., 1994; FARR et al., 2000). Por outro lado, os efeitos das mudanças do número de ordenha para mais de duas vezes ao dia sobre o fluxo sanguíneo mamário são menos claros.

Em cabras ordenhadas cinco vezes em 12h, a secreção de leite e o fluxo sanguíneo mamário aumentaram 24% e 44%, respectivamente (PROSSER e DAVIS, 1992). No entanto, em cabras ordenhadas a cada hora, durante oito horas, a secreção de leite aumentou 15%, mas não houve mudanças no fluxo sanguíneo mamário (MALTZ et al., 1984).

Delamaire e Guinard-Flament (2006) conduziram experimento com vacas multíparas, no terço médio da lactação, onde estas foram ordenhadas a intervalos de oito, 12, 16 e 24h em um período de sete dias. As vacas foram cirurgicamente preparadas para estimar o balanço mamário dos precursores dos componentes do leite (glicose, aminoácidos, acetato, β -hidroxibutirato (BHBO) e glicerol total). A eficiência da glândula mamária em sintetizar os

componentes do leite foi estimada pela relação entre a captação destes nutrientes na glândula mamária e secreção no leite.

Os autores observaram redução de 6,1 kg/d na produção de leite entre oito e 24h de intervalo de ordenhas, ou seja, a produção de leite diminui com o aumento do intervalo de ordenhas, associada com redução da captação de nutrientes pela glândula mamária, enquanto que a eficiência de síntese dos componentes do leite manteve-se relativamente inalterada. A captação mamária reduziu 26% para glicose, 32% para aminoácidos, 20% para acetato, 30% para β -hidroxibutirato (BHBO), 25% para glicerol total. Esta redução na absorção dos nutrientes deveu-se a diminuição do fluxo sanguíneo mamário que foi de 1,23 para 0,89 L/min, quando houve aumento de oito para 24h no intervalo de ordenhas. A captação dos nutrientes seguiu o mesmo padrão da diminuição da produção de leite, começando a diminuir com 16h de intervalo (DELAMAIRES e GUINARD-FLAMENT, 2006).

Logo, a redução da produção de leite observada seguida de aumento do intervalo de ordenhas parece estar mais estreitamente associada com a redução na captação de nutrientes pela glândula mamária do que com uma menor eficiência da mesma em converter estes nutrientes em componentes do leite. Esta redução na captação de nutriente pela glândula mamária ocorre em resposta à redução no fluxo sanguíneo mamário (DELAMAIRES e GUINARD-FLAMENT, 2006).

2.3.2 Frequência unilateral de ordenha

Após os primeiros relatos em 1930 de que as ordenhas frequentes aumentam a produção de leite (WOODWARD, 1931 citado por WALL e MCFADDEN, 2008; DEPETERS et al., 1985), diversos estudos passaram a utilizar a ordenha unilateral para investigar os efeitos do aumento da produção causado por mudanças na frequência de ordenha (WILDE et al., 1987; WILDE e KNIGHT, 1990). Experimentos onde a prática do aumento da frequência de ordenha é aplicada em apenas metade do úbere, enquanto a metade contralateral passa a corresponder ao controle experimental são extremamente eficientes, porque eliminam a variação entre os animais devido ao meio ambiente, nutrição e genética. Além disso, as metades do úbere estão expostas aos mesmos fatores sistêmicos, portanto, qualquer diferença de tratamento deve ser exclusivamente devido a fatores locais.

Na tabela 2 são apresentados os resultados de experimentos em que esta metodologia foi aplicada, demonstrando variação na produção de leite, sendo a diminuição na produção de

leite de 38%, com uma ordenha diária e aumento de 32% com os regimes de ordenhas mais frequentes, além de não serem resultados específicos da espécie. Variações nas respostas dentro de uma determinada frequência de ordenha podem estar relacionadas à diferença na fase da lactação, nível de produção, raça, duração do regime de ordenha e características individuais do úbere.

Tabela 5 - Efeito da frequência de ordenhas sobre a produção de leite em diferentes espécies, aplicada em apenas uma metade do úbere

Espécies	Frequência de ordenhas em metade do úbere ¹			Referências
	1x	3x	4x	
Bovina (início da lactação)	- 38			Stelwagen e Knight, 1997
Bovina (final da lactação)	- 28			Stelwagen e Knight, 1997
Bovina			+ 14	Knight et al, 1994
Bovina		+ 7		Morag, 1973
Bovina		+ 32		Cash e Yapp, 1950
Ovina	- 19			Morag, 1968
Caprina		+ 20		Wilde et al., 1987
Caprina	- 26			Wilde e Knight et al, 1990
Caprina		+ 10		Knight, 1992

¹Os valores expressos representam a diferença em percentual entre duas ordenhas da metade do úbere utilizada como controle e uma, três e quatro (1x, 3x e 4x) ordenha da outra metade.

Fonte: Adaptado de Stelwagen (2001).

Mais recentemente Wall e McFadden (2007) utilizaram a metodologia de ordenhas unilaterais para investigar se o aumento da produção observado com o aumento da frequência de ordenha apenas no início da lactação é causado por fatores sistêmicos ou locais. Dois quartos mamários foram ordenhados quatro vezes ao dia durante 21 dias e os outros dois quartos foram ordenhados duas vezes ao dia. A produção de leite da metade ordenhada quatro vezes foi nos primeiros 21 dias $3,5 \pm 0,2$ kg/d maior e permaneceu $1,8 \pm 0,2$ kg/d maior do que a metade ordenhada duas vezes nos meses seguintes à volta a duas ordenhas. Os resultados demonstram que os mecanismos que controlam o aumento da produção de leite e seus efeitos residuais são restritos à glândula mamária.

2.3.3 Resposta celular para a frequência de ordenha

De acordo com Bar-Peled et al. (1995); Stelwagen e Knight (1997); Sanders et al. (2000) e Hale et al. (2003), o aumento na frequência de ordenha aumenta a produção de leite por meio do aumento do número de células mamárias e/ou atividade das mesmas, sendo ambos fundamentais para a melhoria do desempenho produtivo durante a lactação.

O aumento da frequência de ordenha de duas para três ordenhas ao dia aumentou a produção em 10 a 20% (AMOS et al., 1985). Para Wilde et al. (1987), este aumento na produção de leite durante as primeiras duas semanas após implantada três ordenhas diárias, pode ser acompanhado em cabras por elevação na atividade enzimática por unidade celular da acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase que estão relacionadas com a síntese da gordura no leite e da galactosiltransferase principal enzima responsável pela síntese de lactose no leite. Resultados semelhantes também foram obtidos por Wilde e Knight (1990) e Hillerton et al. (1990) ao aumentarem a frequência de ordenha de duas para três ordenhas em cabras e para quatro ordenhas em vacas, respectivamente.

Na maioria destes experimentos, a atividade das células mamárias foi mensurada após período de tratamento relativamente curto, semanas ao invés de meses. No entanto, há evidências em cabras sugerindo que, a longo prazo (ou seja, meses), o aumento da atividade celular não é mantido com a utilização de três ordenhas diárias, apesar de persistente maior produção de leite (WILDE e HENDERSON, 1985). Isto implica que a longo prazo, a maior produção de leite é mantida por outros fatores que não a atividade celular aumentada. Consistente com estes achados, o mesmo grupo relata que a longo prazo (isto é, nove meses), três ordenhas diárias resultou em maior parênquima mamário (HENDERSON et al., 1985), sugerindo aumento no número de células mamárias.

Embora não se possa excluir que o aumento do parênquima foi devido à hipertrofia e não um resultado de hiperplasia, o mesmo grupo relatou em estudo posterior que, após 37 semanas, as glândulas ordenhadas 3x ao dia continham mais células secretoras que as glândulas ordenhadas 2x ao dia (WILDE et al., 1987). Resultados comparáveis foram obtidos em vacas ordenhadas quatro vezes ao dia em que estas exibiram alta taxa de síntese de DNA associada com aumento do número de células mamárias (HILLERTON et al., 1990).

Coletivamente, estes dados sugerem que os efeitos á curto prazo (ou seja, semanas) na secreção de leite, como resultado de uma mudança na frequência de ordenha, são mediados pela regulação da atividade celular, enquanto os efeitos á longo prazo (ou seja, meses) são provavelmente mais relacionados às mudanças no número celular (STELWAGEN, 2001).

Hale et al. (2003) analisaram a dinâmica da renovação celular, em vacas ordenhadas mais frequentemente no início da lactação, seguidas do retorno a duas ordenhas no restante da lactação, distribuídas em três tratamentos: vacas ordenhas 2x ao dia (Controle), vacas ordenhas 4x do primeiro (AFO1) e do quarto (AFO4) ao 21º dia pós-parto. Estes autores relataram aumento tanto na produção de leite ao longo de toda lactação dos grupos submetidos ao aumento da frequência de ordenha no início da lactação quanto na proliferação celular no tecido mamário coletado no sétimo dia da lactação apenas do grupo IMF1. Já as percentagens de células apoptóticas no epitélio e no estroma mamário foram claramente maiores para os grupos submetidos ao aumento da frequência de ordenha (AFO1 e AFO4) em relação ao grupo controle, porém estes resultados não foram considerados, devido à dificuldade em diferenciar células epiteliais em apoptose de leucócitos apoptóticos, comuns durante o início da lactação. Estes resultados são consistentes com a hipótese de que o aumento da frequência de ordenha no início da lactação aumenta a proliferação das células mamárias, portanto, fornecem um mecanismo para aumentar a produção de leite mesmo após cessado o período de aumento da frequência de ordenha.

No entanto Norgaard et al. (2005) e Soberón et al. (2010) em estudos posteriores ao compararem, respectivamente, vacas ordenhadas três vezes ao dia durante as oito primeiras semanas da lactação e 4x ao dia durante as três primeiras semanas da lactação com vacas ordenhas duas vezes ao dia, não foi observado efeito do número de ordenha sobre a produção de leite ao longo de toda lactação, além da ausência de mudanças significativas sobre a renovação celular e atividade enzimática mamária.

Connor et al. (2008), ao tentarem esclarecer as mudanças fisiológicas que ocorrem na glândula mamária durante ordenhas mais frequentes, utilizaram a análise serial da expressão gênica (SAGE) e “Microarray” para identificar mudanças na expressão dos genes na glândula mamária bovina em resposta a quatro ordenhas diárias iniciadas a partir do quarto dia da lactação (AFO4) em relação a duas ordenhas ao dia (Controle). Os resultados indicaram que o aumento da frequência de ordenha alterou, na glândula mamária a expressão dos genes relacionados com o aumento da remodelagem da matriz extracelular, metabolismo, proliferação e apoptose celular, transporte de nutrientes, função imune e neovascularização, de vacas ordenhadas quatro vezes versus controle. Contudo, estudos adicionais são necessários para determinar se as mudanças fisiológicas que ocorrem na glândula mamária, mencionadas acima, resultam em aumento da produção de leite durante o aumento da frequência de ordenha ou se estas são consequências do aumento da produção de leite (CONNOR et al., 2008).

2.3.4 Resposta endócrina para a frequência de ordenha

A implementação do aumento da frequência de ordenha pode não apenas influenciar a renovação celular mamária, mas também o perfil endócrino. Durante muito tempo se pensou que os hormônios liberados durante a ordenha, como glicocorticóides, a ocitocina e prolactina poderiam estar envolvidos na regulação dos efeitos galactopoéticos de ordenha frequente sobre a produção de leite (AKERS e LEFCOURT, 1982).

Dahl et al. (2004) destacaram que a liberação da prolactina, principalmente no início da lactação seria um potente mecanismo que explicaria o impacto da frequência de ordenha sobre a produção de leite por promover a diferenciação de células epiteliais mamárias. Bar-Peled et al. (1995) observaram aumento na produção de leite e nas concentrações de GH, IGF-I, ocitocina e prolactina na circulação de vacas ordenhadas durante os primeiros 42 dias da lactação, 3x e amamentando seus bezerros também três vezes ao dia, valores intermediários para vacas ordenhadas 6x ao dia e baixas concentrações para o grupo controle (3x). Além disso, Koprowski e Tucker (1973) relataram que assim como a produção de leite declina com o decorrer da lactação o mesmo ocorre com as concentrações de prolactina.

Segundo Dahl et al. (2002) o aumento da frequência de ordenha de 3x para 6x nos primeiros 21 dias da lactação estaria associado não apenas ao aumento na concentração de prolactina, mas também com a expressão de seus receptores, o que sugere que vacas ordenhadas mais frequentemente seriam mais sensíveis a prolactina. Já Hale et al. (2003) não observaram efeito da frequência de ordenha sobre a concentração basal de prolactina de vacas ordenhadas 4x durante 21 dias da lactação e a partir desse período 2x para vacas ordenhada 2x ao dia ao longo de toda lactação ($P > 0,05$), embora a concentração de prolactina tenha sido numericamente maior para as vacas ordenhadas mais frequentemente do que para o grupo controle.

Wall et al. (2006) conduziram estudo para determinar se a liberação de prolactina induzida pela ordenha mediar os efeitos da frequência de ordenha sobre a produção de leite, a partir da avaliação de três diferentes grupos: vacas ordenhadas 2x com e sem a aplicação de prolactina exógena ou quatro ordenhas diárias. Estes autores concluíram que tanto a ordenha frequente quanto a suplementação exógena de prolactina promoveram maior produção de leite ($P < 0,05$). No entanto, esses dois procedimentos apresentaram efeitos diferentes sobre a proliferação celular mamária e, portanto, provavelmente a maior produção de leite seria explicada por mecanismos distintos (WALL et al., 2006). A resposta a frequência unilateral de ordenha no início de lactação suporta este conceito, baseado no fato que ordenhas

frequentes estimulam a produção de leite por meio de fatores locais, ao passo que a aplicação exógena de prolactina por mecanismos sistêmicos.

Hale et al. (2003) também mensuraram as concentrações no soro de GH e IGF-I. As concentrações no soro de GH não diferiram entre os tratamentos, sugerindo que o possível efeito proliferativo do aumento da frequência de ordenha sobre a glândula mamária não seria mediado pelo GH sistêmico. O IGF-I tem sido caracterizado por estimular a síntese de DNA *in vitro*, além de ser o mediador primário dos efeitos galactopiéticos do GH em ruminantes (FORSYTH, 1995). Baixas concentrações de IGF-I foram encontradas em vacas submetidas a maior frequência de ordenha, contestando desta forma a sua participação como estimulador da mamogênese em resposta a maior frequência de ordenha. Além disso, o IGF-I também é sintetizado localmente pelas células da glândula mamária e talvez este possa regular o crescimento mamário de forma parácrina (MCGRATH et al., 1991).

2.4 EFEITO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA SOBRE A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

2.4.1 Durante toda lactação

As mudanças na frequência de ordenha ao longo de toda lactação e seus efeitos sobre a produção de leite foram intensamente estudados em rebanhos compostos por animais da raça Holandês, principalmente durante os anos 80 e 90, quando houve grande interesse na mudança de regimes de duas para três ordenhas com o intuito de aumentar a eficiência da produção de leite. Muitos autores demonstraram maior produção de leite com o aumento da frequência de ordenha, caracterizando dessa forma correlação positiva entre a frequência de ordenha e a produção de leite em bovinos, assim como em outras espécies (KNIGHT e DEWHURST, 1994). As respostas sobre a produção de leite encontradas na literatura em relação á alterações na frequência de ordenha são muito variadas, sendo relatados aumentos de produção de seis a 25% (Tabela 3).

Segundo Stelwagen (2001), enquanto não for identificada nenhuma vantagem biológica em se ordenhar vacas mais do que 4x ao dia, o número ideal de ordenhas estaria entre três e quatro ordenhas diárias. Em sistemas de ordenha robotizado, em que foi proporcionado a vacas de alta produção liberdade para escolher com qual frequência desejavam ser ordenhadas, Ipema et al. (1987), observaram média de 3,9 vezes por dia.

Tabela 6 - Resultados de trabalhos publicados sobre os efeitos da frequência de ordenhas durante toda lactação sobre a produção de leite de vacas leiteiras

Referências	Raças	Mudança produção	Mudança produção	Mudança produção
		2x vs 1x ¹	2x vs 3x ¹	2x vs 4x ¹
Woodward, 1931	Holandês		+ 20%	
DePeters et al., 1985	Holandês		+17%	
	Holandês		+6% (NS)	
Amos et al., 1985	Holandês		+18,5%	
	Holandês		+25,2%	
Campos et al., 1994	Holandês		+17,3%	
	Jersey		+6,3%	
Erdman e Varner (1995)	Holandês	-6,2 kd/d	+3,5 kd/d	+4,9 kd/d
Klei et al., 1997	Holandês		+10,4%	
Smith et al., 2002	Holandês		+16%	

¹Números nas colunas representam o aumento da produção de leite observada com menor e maior frequência de ordenhas. 1x, 2x, 3x, 4x = ordenhas realizadas uma, duas três e quatro vezes ao dia. NS = não significativo.

²DEL = dias em lactação.

Contudo apesar da frequência de ordenha e seus impactos sobre a eficiência produtiva decorrentes de uma ou mais ordenhas extras durante toda lactação terem sido massivamente explorados em vacas da raça Holandês, estudo em rebanhos compostos de vacas mestiças, principalmente vacas F1 oriundas do cruzamento *Bos taurus taurus* com *Bos taurus typicus* ainda são incipientes. Ruas et al. (2006a) observaram, sem prejuízo para a saúde do úbere, aumento de 24,5% (700 kg) na produção total de leite em vacas F1 Holandês/Zebu submetidas a duas ordenhas diárias em relação aquelas submetidas a uma única ordenha ($P < 0,05$). Além disso, a adoção de uma ou duas ordenhas diárias, de forma alternada, proporcionou aumento de 19,5% na produção de leite total no final da lactação (aproximadamente 522,4 kg de leite a mais) em relação ao grupo submetido a apenas uma ordenha diária, caracterizando a capacidade de aumento da produção em qualquer fase da lactação, quando os animais passaram de uma para duas ordenhas diárias.

Já os efeitos da ordenha frequente sobre a composição do leite, têm se mostrado inconsistentes. Muitos pesquisadores não observaram efeito da frequência de ordenha sobre a composição do leite (RAO E LUDRI, 1984; AMOS et al., 1985; DEPETERS et al., 1985), enquanto outros observaram apenas redução no percentual de gordura e proteína do leite (ALLEN et al., 1986; ERDMAN e VARNER, 1995; SMITH et al., 2002). Outro achado também frequente é aumento na produção total de gordura e proteína (ERDMAN e VARNER, 1995; KLEI et al., 1997; DAHL et al., 2004), explicado pelo aumento na produção de leite encontrado como reflexo do aumento da frequência de ordenha.

2.4.2 No início da lactação

Ordenhar vacas com mais frequência claramente tem efeitos positivos sobre a produção de leite (AMOS et al., 1985; ERDMAN e VARNER, 1995, SMITH et al., 2002). No entanto, pesquisadores constataram que o período da lactação em que se executa ordenhas frequentes pode influenciar a resposta sobre a produção de leite. Durante o meio e final da lactação, ordenhas frequentes refletiram no aumento da produção de leite, no entanto, a cessação desta prática resultou em uma imediata diminuição na produção de leite aos níveis pré-tratamento (MORAG, 1973; SVENNERSTEN et al., 1990).

Para diminuir os custos fixos da produção de leite, estudos recentes tem avaliado as consequências do aumento da frequência de ordenha apenas no início da lactação. Pesquisadores relataram que ordenhar vacas frequentemente (4x ou 6x) durante o início da lactação e por curta duração pode estimular a produção de leite e este efeito persiste ao longo do restante da lactação, mesmo após retorno a rotina normal de ordenha (2x ou 3x; BAR-PELED et al., 1995; HALE et al., 2003; DAHL et al., 2004).

Bar-Peled et al. (1995) compararam três diferentes grupos, vacas ordenhadas 3x (controle) com vacas ordenhadas 6x (OR6) ou 3x com o bezerro mamando também três vezes ao dia (M) durante os 42 dias iniciais da lactação. Vacas pertencentes aos grupos OR6 e M produziram 7,3 kg/d e 14,7 Kg/d mais leite do que o grupo controle durante o período de tratamento, respectivamente ($P < 0,01$). Porém, estes autores observaram que a maior produção de leite persistiu apenas para o grupo M6 após retorno a menor frequência de ordenha (3x) ($P < 0,01$). A composição do leite não foi significativamente diferente entre os grupos durante o tratamento, apenas foi observada maior produção de proteína e gordura para o grupo OR6 em relação ao controle. Nenhuma diferença foi encontrada para a porcentagem de gordura e proteína do leite após o tratamento (BAR-PELED et al., 1995).

A partir deste trabalho, novos estudos com o aumento da frequência de ordenha apenas no início da lactação foram realizados. Dahl et al. (2004) testaram um curto período de tratamento, em que adotaram a prática do aumento da frequência de ordenha de três para seis vezes, durante os 21 primeiros dias da lactação. Vacas submetidas a aumento da frequência de ordenha no início da lactação produziram 8 kg/d e 5 kg/d a mais de leite durante o período de seis ordenhas e após o encerramento do aumento da frequência de ordenha, respectivamente. Já em relação a composição do leite, esta seguiu padrão semelhante ao da produção de leite, ou seja, vacas ordenhadas 6x no início da lactação produziram mais proteína, gordura e sólidos totais do que as vacas controle no decorrer do estudo. Além disso, estes pesquisadores

também constataram que o período necessário para implementação do aumento da frequência de ordenha, denominada “janela”, para que este reproduzisse respostas persistentes durante toda lactação também poderia ser de 21 dias, além dos 42 dias relatado por Bar-Peled et al. (1995).

O período em que se pode iniciar a “janela” sem a perda do efeito residual sobre a lactação foi avaliado por um estudo realizado por Hale et al. (2003) que estudaram os efeitos de quatro ordenhas diárias iniciadas no primeiro (AFO1) ou no quarto dia após o parto (AFO4) em comparação com duas ordenhas diárias (controle) durante os primeiros 21 dias da lactação, sendo posteriormente os animais submetidos a duas ordenhas. Os animais ordenhados 4x ao dia produziram em média 3 kg/d de leite a mais do que o grupo controle durante as 44 semanas de avaliação ($P < 0,05$). Além disso, estes autores também observaram que o aumento da frequência de ordenha é igualmente eficaz quando iniciada logo após o parto a partir do primeiro ou do quarto dia da lactação. Durante o período de tratamento de três semanas, houve diminuição do percentual de gordura entre os grupos de 4x em relação ao grupo 2x ($P < 0,05$). Após o tratamento, o grupo 2x manteve a maior porcentagem de gordura ($P < 0,05$). Para produção e percentagem de proteína e lactose não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$).

Soberón et al. (2010) avaliaram o efeito de quatro ordenhas diárias nos primeiros 21 dias da lactação seguido do retorno a duas ordenhas em vacas primíparas e multíparas da raça Holandês. O efeito da interação do tratamento e da ordem de lactação não foram significativos para qualquer das variáveis relacionadas com a produção medida neste experimento. Os autores observaram aumento da produção de leite de 4,3 kg/d, durante os 21 primeiros dias da lactação, de vacas submetidas ao aumento da frequência de ordenha em relação ao grupo controle (38,1 vs 33,9 kg/d; $P < 0,01$), contudo, a produção de leite destas vacas ao longo das 17 semanas de lactação não foi afetada pelo tratamento (42,0 vs 40,6 kg/d, $P = 0,25$). Com exceção da percentagem de lactose, diferenças totais em percentuais ou de rendimento dos componentes do leite não foram significativos ($P > 0,10$).

Além do esquema de ordenhar vacas 4x e 6x no início da lactação com subsequente retorno, respectivamente, a duas e três ordenhas, Netto (2010) testou outro protocolo de ordenhas frequentes em início da lactação tanto em vacas primíparas quanto multíparas da raça Holandês, protocolo este que consistiu na utilização de quatro ordenhas durante os primeiros 28 dias da lactação seguida de três ordenhas até o final da mesma. Apesar desse autor não ter encontrado diferença entre os tratamentos avaliados dentro da ordem de parto ($P > 0,05$; primíparas e multíparas), a estimulação extra no início da lactação quando

comparada as lactações de primíparas e múltíparas juntas aumentou a produção de leite total em 5,5% ($P < 0,01$) e que esse efeito persistiu mesmo após cessado o tratamento. Já a composição do leite não diferiu entre os tratamentos.

Norgaard et al. (2005) embora tenham relatado tendência no aumento da produção de leite de vacas ordenhadas 3x ao dia durante as oito primeiras semanas da lactação ($P = 0,07$) em relação o grupo controle (2x), não observaram efeito residual do aumento da frequência de ordenha sobre a produção de leite após retorno a duas ordenhas diárias.

Apesar dos resultados positivos observados nas pesquisas citadas acima, outros autores falharam em reproduzir estes efeitos. VanBaale et al. (2005) não observaram aumento da produção de leite ao compararem 300 animais de um rebanho comercial ordenhados 6x durante sete, 14, ou 21 dias pós parto com 3x durante toda lactação ($P > 0,05$). As porcentagens de proteína e gordura não diferiram entre os tratamentos. As razões pelas quais os resultados obtidos neste experimento são diferentes dos obtidos por outros autores não foram bem definidas. Contudo, os autores consideram que o excessivo tempo gasto fora das instalações durante as ordenhas, em média 6,5 horas por dia (h/d), pelo grupo de animais ordenhados 6x em relação a 3,5 h/d gastos pelo grupo ordenhado 3x pode ter reduzido o tempo gasto no cocho e comprometido a resposta às ordenhas frequentes.

Outro estudo também conduzido em uma fazenda comercial comparou quatro ordenhas diárias durante os 21 primeiros dias da lactação com duas ordenhas durante toda lactação (FERNANDEZ et al., 2004). Vacas ordenhadas 4x durante os 21 primeiros dias da lactação produziram significativamente mais leite (3,0 kg/d) durante os primeiros 15 dias de teste, mas depois disso, diferenças na produção de leite não foram significativas, caracterizando efeito residual mínimo de aproximadamente 1,6 kg/d. Resultados semelhantes foram encontrados por Blevins et al. (2006), em que estes observaram apenas aumento da produção em vacas ordenhadas 4x ao dia durante os 30 primeiros dias da lactação, sendo que após o período de tratamento não houve efeito residual significativo.

De acordo com Soberón (2008) a grande variação nos resultados da produção de leite encontrados ao avaliar diferentes experimentos, em que utilizaram a metodologia de aumentar a frequência de ordenha apenas no início da lactação pode estar relacionado a diferenças na duração e frequência de ordenha aplicadas durante e após o período de tratamento. Produções de leite de diferentes estudos com aumento da frequência de ordenha no início da lactação estão resumidas na tabela 4.

Tabela 7 - Resultados de trabalhos publicados sobre os efeitos do aumento da frequência de ordenhas (AFO) no início da lactação sobre produção e composição do leite em vacas da raça Holandês

Referência	Esquema de ordenha ¹	Duração do AFO ²	DEL ³	Produção de leite (kg/d) ⁴	Gord (kg/d) ⁴	Prot (kg/d) ⁴
Bar-Peled et al., 1995	6X-3X	42 d	1-42 d	7,3	0,19	0,20
			42-126 d	5,1	0,15	0,15
Sander et al., 2000	6X-3X	42 d	1-42 d	6,0	NR	NR
			42-266 d	3,7	NR	NR
Hale et al., 2003	4X-2X	21 d	1-21 d	6,8	0,02	0,23
			21- 70d	4,6	0,09	0,07
			21-308 d	2,8	0,03	0,06
Fernandez, 2004	4X-2X	21 d	~15 d	3,0	NR	NR
			~45d	3,5	NR	NR
			1-270 d	1,6 ⁶	0	0,01
Dahl et al, 2004	6X-3X	21 d	1-21 d	8,0	NR	NR
			21-305 d	5,0	NR	NR
VanBaale et al., 2005	6X-3X	7 d	1-63 d	-1,7 ⁶	-0,12	-0,03 ⁶
			63-308 d	-0,8 ⁶	-0,03 ⁶	0,04 ⁶
		14 d	1-63 d	0,2 ⁶	-0,04 ⁶	0
			63-308 d	-0,2 ⁶	0,01 ⁶	-0,01 ⁶
		21 d	1-63 d	-2,3 ⁶	-0,15	-0,10 ⁶
			63-308 d	-0,6 ⁶	-0,04 ⁶	-0,02 ⁶
Wall e McFadden, 2007	4X-2X FO unilateral	21 d	1-21 d	3,5 ⁵	NR	NR
			21- 305 d	1,8 ⁵	NR	NR
Soberón, 2008	4X-2X	21 d	1-21 d	4,3	NR	NR
			21-210 d	2,1 ⁶	-0,1	0,06 ⁶
Soberón et al., 2010	4X-2X	21 d	1-21 d	4,3	NR	NR
			1-119 d	1,4 ⁶	-0,06 ⁶	-0,03 ⁶
Netto, 2010	4X-3X	28 d	1-210 d	5,5 %	NR	NR

¹Número de ordenhas a que o grupo tratado foi exposto durante o período de aumento da frequência de ordenha, número de ordenhas a que o grupo controle foi exposto durante todo experimento e a que o grupo tratado foi exposto após a conclusão do aumento da frequência de ordenha.

²Tempo em que se aplicou o aumento da frequência de ordenha.

³DEL = Dias em lactação.

⁴Diferença média de produção de leite em kg/d e % de gordura e proteína entre vacas tratadas e controle.

⁵Representa resposta em metade dos tetos

⁶Diferença não significativa (P>0,05)

NR = Não relatado

FO = Frequência de ordenha

Fonte: Adaptado de Soberón (2008).

2.5 EFEITO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA SOBRE METABOLISMO ENERGÉTICO E REPRODUÇÃO

As exigências nutricionais da lactação geralmente excedem o potencial de ingestão no período pós-parto imediato. A mobilização de tecidos corporais no período inicial da lactação, denominado como estado de balanço energético negativo (BEN) consiste em uma fonte alternativa de energia para suprir a demanda energética necessária para a manutenção e a produção que não foi atendida pela dieta. Essa mobilização de reservas corporais, principalmente do tecido adiposo, pode suportar a produção de 120 a 550 kg de leite durante as primeiras semanas de lactação (FREITAS JÚNIOR et al., 2008).

O aumento da frequência de ordenha como descrito anteriormente nesta revisão tem como consequência maior produção de leite, correspondendo a uma ameaça extra para o balanço energético durante os primeiros meses da lactação. Portanto, a instalação de balanço energético negativo durante este período pode resultar em perda de condição corporal que está associada com alterações nos perfis de metabólitos sanguíneos e hormonais, que por sua vez influenciam a ocorrência de doenças metabólicas e a fertilidade das vacas (KADOKAW e MARTIN, 2006).

Embora uma relação inversamente proporcional entre a produção de leite e a taxa de concepção tenha sido detectada por Lucy (2001), o desempenho reprodutivo das vacas geralmente não é alterado pela utilização de três ordenhas em comparação a duas em alguns estudos (BARNES et al., 1990; ALLEN et al., 1986), enquanto outros tem demonstrado apenas tendência para a redução (DEPETERS et al., 1985; GISI et al., 1986) ou discreta redução da mesma (SMITH et al., 2002). Amos et al. (1985) avaliaram os efeitos de duas ou três ordenhas diárias durante uma lactação completa sobre as mudanças no peso corporal e desempenho reprodutivo de vacas primíparas e múltíparas da raça Holandês. A partir dos resultados obtidos, estes autores observaram a inexistência de diferença ($P>0,05$) no peso corporal relacionados à frequência de ordenha, além disso, o desempenho reprodutivo mensurado por intermédio de parâmetros como intervalo para primeiro estro (dias), dias em aberto e serviços por concepção também não foram influenciados pelo número de ordenha, embora estes autores tenham encontrado tendência no aumento dos dias em aberto para vacas ordenhadas mais frequentemente.

Brandão et al. (2007) também não encontraram efeito do número de ordenhas (1x, 2x ou 1x e 2x intercaladas a cada 14 dias) sobre o retorno ao estro (84,3 dias; 81,7 dias e 71,2 dias); a taxa de manifestação de estro (80,9%; 80,90% e 80,90%); o período de serviço (99,0 dias;

114,0 dias e 93,1 dias) e a taxa de gestação até 120 dias pós-parto (66,7%; 57,1%; 66,7%) de vacas mestiças F1 Holandês/Zebu.

Apesar de diversos autores não terem encontrado influência do aumento da frequência de ordenha durante toda lactação sobre a eficiência reprodutiva de vacas da raça Holandês e mestiças Holandês/Zebu, Blevins et al. (2006) observaram que o aumento da frequência de ordenha (4x-2x), apenas nos primeiros 30 dias de lactação, resultou em efeitos negativos sobre a reprodução para alguns parâmetros e ausência de influência desse protocolo de ordenha para outros, embora estes animais tenham perdido mais peso e escore de condição corporal (ECC).

Devido a necessidade em minimizar a extensão e a duração do BEN no início da lactação para alcançar o melhor desempenho produtivo e reprodutivo, aliado ao fato da dificuldade em se manipular nutricionalmente o balanço energético no início da lactação, o interesse em empregar uma única ordenha diária no início da lactação por tempo determinado para restringir a energia gasta para a produção de leite, e consequentemente, reduzir os efeitos do balanço energético negativo tem se destacado. De acordo com Remond et al. (1999) e Paton et al. (2006) a imposição temporária de uma ordenha no início da lactação reduz a produção de leite, além de exercer efeito residual negativo sobre a mesma após retorno a duas ordenhas diárias.

Já Remond et al. (2002), ao avaliarem três diferentes frequências de ordenhas no início da lactação (1x, 2x e 3x) observaram que ordenhar vacas uma vez ao dia temporariamente no início da lactação não apresenta influência sobre a ingestão de matéria seca, porém estes animais apresentaram menor perda de peso e ECC, além do balanço energético mais positivo do que as vacas ordenhadas duas ou três vezes ao dia no início da lactação. Apesar de Paton et al. (2006) não terem observado, em vacas da raça Holandês, o efeito do número de ordenha sobre o grau de variação do peso corporal, vacas ordenhadas uma vez ao dia no início da lactação apresentaram balanço energético menos negativo em comparação as vacas ordenhada 3x. Para os parâmetros reprodutivos analisados, assim como Blevins et al. (2006) estes autores encontraram resultados conflitantes. Logo, concluíram que menores frequências de ordenhas no início da lactação podem promover retorno a ciclicidade mais cedo, mediado por melhorias no estado nutricional desses animais.

Poucos estudos têm se concentrado nos efeitos do aumento da frequência de ordenha no início da lactação sobre a eficiência reprodutiva das vacas. No entanto, os efeitos deste manejo de ordenha sobre os indicadores do metabolismo energético, como as concentrações

plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e β -hidroxibutirato (BHBO) bem como ECC e peso corpóreo vem sendo relatados.

Andersen et al. (2004) compararam as concentrações plasmáticas de AGNE e BHBO de vacas ordenhadas duas vezes ao dia e vacas ordenhadas três vezes durante a primeira oito semana pós-parto. Vacas ordenhadas três vezes ao dia apresentaram as concentrações plasmáticas de BHBO 19% maior do que as vacas ordenhadas duas vezes, porém as concentrações plasmáticas de AGNE não diferiram entre as frequências de ordenhas. Fernandez et al. (2004) também observaram resultados semelhantes em que vacas ordenhadas 2x ao dia foram comparadas com vacas ordenhadas quatro vezes nos primeiros 21 dias com subsequente retorno a duas ordenhas. Estes autores observaram que vacas ordenhadas 4x tenderam a ter maior circulação BHBO, mas sem alteração na concentração plasmática de AGNE e na proporção de vacas com cetose subclínica.

Já Soberón et al. (2010) relataram que o aumento da frequência de ordenha no início da lactação (4x) não resultou em diferenças de ECC e peso corporal das vacas em comparação com o grupo controle (2x). Estes resultados estão de acordo com os de Hale et al. (2003), que não encontraram diferença no ECC de vacas submetidas ao mesmo protocolo de ordenha utilizado por Soberón et al. (2010), porém vão contra aos de Bar-Peled et al. (1995), que relataram que seis ordenhas diárias diminuiu o ECC de vacas em comparação com o grupo controle (3x).

2.6 EFEITO DA AMAMENTAÇÃO E RELAÇÃO BEZERRO/VACA SOBRE A PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DESEMPENHO DOS BEZERROS

O método de ordenha (presença ou ausência do bezerro) e amamentação (natural e restrita ou artificial) pode ter consequências sobre diversos aspectos que influenciam a conveniência econômica de se adotar uma ou outra alternativa, entre eles podemos destacar os parâmetros produtivos e reprodutivos, assim como o desempenho dos bezerros.

Em rebanhos leiteiros baseados em raças zebuínas e seus mestiços, os bezerros são utilizados para estimular a descida do leite, que quase sempre não ocorre na ausência do mesmo (ORIHUELA, 1990). Segundo Bruckmaier e Blum (1998), entre os estímulos táteis para liberação da ocitocina, que tem como função promover a ejeção do leite via contração do mioepitélio alveolar, a sucção de leite pelo bezerro é o estímulo mais potente, seguida das ordenhas manual e mecânica, sendo este estímulo o responsável pela maior produção de leite

em sistemas de produção em que se permite que o bezerro mame em sua mãe (BAR-PELED et al., 1995). Para Marel (1985), a presença do bezerro no momento da ordenha, e não a amamentação em si, seja o fator capaz de estimular a descida do leite e obtenção de altas produções de leite e gordura.

Junqueira et al. (2005) estudaram os efeitos de dois métodos de ordenha e aleitamento sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas primíparas e múltiparas F1 Holandês/Gir, além de mensurar o desempenho dos bezerros até a desmama. As vacas foram distribuídas em dois grupos: animais ordenhados sem bezerro (aleitamento artificial) e ordenhados com bezerro até 60 dias de idade (aleitamento natural e restrito a apenas um teto e do leite residual após ambas as ordenhas diárias). A produção total de leite foi 21% maior nas vacas ordenhadas com bezerros, como também relatado por Combellas et al. (2003), além de permanecerem mais dias em lactação (251 dias contra 216 dias do grupo sem bezerro). Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos nas taxas de mortalidade e morbidade dos bezerros até a desmama (2 meses), peso do bezerro e nas características reprodutivas avaliadas (intervalo de parto e primeiro cio e período de serviço). Assim como os autores citados acima, Ruas et al. (2006b) também não encontraram efeito dos diferentes tipos de manejo de ordenha para vacas mestiças (com ou sem presença contínua do bezerro e presença momentânea) sobre as características reprodutivas avaliadas como período de serviço, dias para o retorno ao cio e as taxas de manifestação de cio e gestação até os 120 dias pós-parto.

Brandão et al. (2008) realizaram experimento semelhante ao de Junqueira et al. (2005) com vacas mestiças F1 Holandês/Zebu em que foram alojadas em três diferentes grupos. As vacas do grupo I foram ordenhadas sem a presença do bezerro, enquanto que as do grupo II tiveram a presença dos bezerros apenas para descida do leite, sendo este retirado da sala no momento da ordenha e por fim as vacas do grupo III foram ordenhadas com a presença constante do bezerro. Os bezerros do grupo I foram criados individualmente até 90 dias de idade e recebendo 4 L de leite/dia. Para os bezerros dos grupos II e III era deixado um teto sem ordenhar até 90 dias e, após a ordenha, mamavam o leite residual por 30 min. Após os 90 dias só tinham acesso ao leite residual. A produção de leite total e a média diária não foram influenciadas ($P>0,05$) pela presença ou não do bezerro na sala de ordenha, porém, a duração da lactação foi menor ($P<0,05$) nas vacas ordenhadas sem a presença do bezerro em comparação aos outros dois grupos. Aos 93 dias de idade, quando do desmame dos bezerros do grupo I e os dos grupos II e III, não se observaram diferenças nos pesos, que permaneceram com o mesmo comportamento até 139 dias de idade. Após esse período, os

bezerros que mamavam o leite residual após a ordenha ganharam mais peso ($P<0,05$) do que os desmamados.

Segundo Griffith e Williams (1996), diferentemente dos resultados encontrados acima, em que não foi observado efeito dos diferentes tipos de manejo de ordenha ou amamentação sobre o desempenho reprodutivo, a amamentação ou o vínculo mãe e cria seriam os grandes responsáveis pelos efeitos negativos sobre a reprodução, resultando em processo anovulatório no pós-parto. Esta relação seria determinada pela produção de opióides endógenos, principalmente endorfinas e encefalinas, que atuam diretamente nos neurônios produtores de GnRH inibindo a sua liberação, além de atuarem na hipófise inibindo a liberação de LH (YAVAS e WALTON, 2000). Já para Campos et al. (2003), o nível nutricional no pré e pós-parto tem efeito decisivo sobre as características reprodutivas, como reinício da atividade ovariana, caracterizando que a escolha do tipo de amamentação a ser adotado em vacas com regime alimentar adequado pré e pós-parto, dependerá de outros fatores, como a produção de leite e incidência de mastite, e não a função reprodutiva.

2.7 RELAÇÃO CUSTO/BENEFÍCIO DO AUMENTO DA FREQUÊNCIA DE ORDENHA

O objetivo de qualquer tecnologia adotada em uma fazenda de gado leiteiro é aumentar a rentabilidade. Portanto, antes da adoção de uma nova tecnologia, o produtor deve considerar o custo adicional de sua implementação, bem como a estimativa de retorno financeiro e/ou econômico.

Vários grupos de pesquisa têm caracterizado os ganhos econômicos obtidos com o aumento da frequência de ordenha tanto ao longo de toda lactação quanto apenas no início da mesma, no entanto, há um custo associado com a utilização de um número maior de ordenhas durante toda a lactação, especialmente, naquelas propriedades em que o trabalho ou a capacidade de sala de ordenha é limitado.

No caso do aumento de frequência de ordenha, a produção de leite adicional é acompanhada por aumento no custo alimentar e custo operacional com hora/ordenha, além de outros fatores que devem ser considerados como o tamanho do rebanho, saúde do rebanho e principalmente o preço pago pelo leite (MALTZ et al., 2003). Segundo Erdman e Varner (1995) a adoção de uma ordenha extra, acarreta aumento dos gastos principalmente com mão de obra, maquinário de ordenha e implementos utilizados na ordenha, como soluções desinfetantes, papel toalha, água, alimentação, entre outros.

Rao e Ludri (1984) relataram que a utilização de três ordenhas diárias aumentou o lucro líquido em 21% em relação a duas ordenhas. Já Wall e McFadden (2007) estimaram aumento do lucro líquido em cerca de U\$ 93,0 por vaca ao ano, quando as vacas foram ordenhadas quatro vezes ao dia nas primeiras três semanas da lactação e posteriormente retornaram a duas ordenhas diárias.

Mais recentemente, Soberón (2008) fizeram análise econômica para pequenos e grandes rebanhos, comparando a rentabilidade de vacas submetidas ao mesmo protocolo de ordenhas utilizado por Wall e McFadden (2007) com duas e três ordenhas diária ao longo de toda lactação. Estes autores concluíram que para pequenos rebanhos (200 vacas em lactação) ordenhar vacas 4x durante o início da lactação, com subsequente retorno a duas ordenhas é mais rentável do que duas ou três ordenhas ao longo de toda lactação e para grandes rebanhos (1.000 vacas em lactação) o manejo de ordenha mais adequado economicamente seria o de três ordenhas diárias.

Moraes et al. (2004) ao avaliarem a rentabilidade no primeiro e segundo ano de avaliação de um sistema de produção de leite de duplo propósito, com gado mestiço F1 Holandês/Zebu, relataram rentabilidade de 20,2% e 37,6%, respectivamente, que é expressiva se comparada ao 6% ao ano observado por Schiffler (1998), em sistemas de produção de leite com gado Holandês puro. Para estes autores, a venda de bezerros com aptidão para produção de carne representa 21,4% das receitas do sistema de produção, dessa forma, constitui parte significativa da receita da atividade, sendo-lhe atribuída grande parcela de contribuição pelo expressivo resultado econômico positivo obtido pelo sistema.

Portanto, assumindo que não há efeitos negativos sobre a saúde animal, desempenho reprodutivo ou produtivo da vaca em posteriores lactações, o aumento da frequência de ordenha nos primeiros 21 dias da lactação, apresenta-se como ferramenta de manejo de fácil adoção e com grande potencial em incrementar o lucro da atividade leiteira em rebanhos compostos por vacas da raça Holandês (WALL e MCFADDEN, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização, condições climáticas e período experimental

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), localizada no município de Felixlândia, região central do estado de Minas Gerais, situado a 18° 45' 28" S de latitude e 44° 53' 56" de longitude W. De acordo com a classificação de Köppen, esta região enquadra-se no clima Aw, identificado como clima tropical de savana, caracterizado por inverno seco e verão chuvoso segundo informações colhidas no 5º Distrito de Meteorologia do Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O período experimental correspondeu ao intervalo de setembro de 2008 a outubro de 2009.

3.2 Delineamento experimental

Foram utilizadas 53 vacas multíparas mestiças F1 Holandês/Zebu, tendo como base genética na fração zebu as raças Gir, Guzerá, Nelore e mestiço azebuado. Esta última base genética é constituída de vacas indubrasiladas ou giradas, ou seja, vacas sem uma raça definida, mas com 100% de sangue zebuino. Os animais selecionados para participarem do experimento foram agrupados inicialmente em quatro grupos, de tal forma que ao final da distribuição todos os grupos apresentaram-se homogêneos quanto à composição genética, ordem da lactação, previsão de parto e produção total da lactação anterior (Anexo 1 e 2). Posteriormente, estes pré-grupos foram designados aleatoriamente aos grupos experimentais conforme descrito na tabela 5.

Tabela 8 - Grupos experimentais

Grupos	n	Protocolo de ordenha
2BA	12	Ordenha duas vezes ao dia, do 1º ao 21º dia da lactação, sendo os bezerros apresentados para o apoio ¹ .
2BM	13	Ordenha duas vezes ao dia, do 1º ao 21º dia da lactação, com a sucção de leite pelos bezerros em um teto durante a ordenha.
4BA	15	Ordenha quatro vezes ao dia, do 1º ao 21º dia da lactação, sendo os bezerros apresentados para o apoio.
4BM	13	Ordenha quatro vezes ao dia, do 1º ao 21º dia da lactação, com a sucção de leite pelos bezerros em um teto durante a ordenha.

¹sucção do leite somente antes da colocação das teteiras.

A partir do 22º dia da lactação todas as vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia e os bezerros passaram a ser apresentados apenas para o apoio até 250 dias da lactação, quando a lactação foi considerada encerrada.

Os grupos experimentais 2BA e 4BM iniciaram o experimento com número igual de animais (n=14), enquanto que os grupos 2BM e 4BA iniciaram o experimento com 15 animais em cada grupo. No entanto, ao longo do experimento quatro vacas secaram precocemente com aproximadamente 100 dias da lactação sendo que este fato ocorreu devido a morte dos bezerros e apenas uma vaca apresentou quadro clínico de mastite e por isso foi retirada do experimento.

3.3 Manejo nutricional

As vacas pertencentes aos quatro grupos experimentais foram mantidas em um mesmo piquete, formado por capim braquiária (*Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizanta*) e submetidas ao mesmo manejo nutricional. Manejo este que se baseou no pastejo rotacionado de *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizanta* no verão, enquanto no período da seca os animais receberam em currais de alimentação com cocho coberto silagem de milho e/ou cana de açúcar *ad libitum* como fonte de volumoso.

As vacas receberam, durante o ano todo, sal mineralizado *ad libitum* que ficava em cocho coberto nos piquetes e ração concentrada comercial contendo 22% de proteína e 87% de NDT no momento da ordenha (Ração Lacmaster 20 AP - Itambé®), sendo a ração fornecida em cochos individualizados localizados na ordenha tipo passagem. A quantidade de concentrado era fornecida de acordo com a produção de leite individual, em que para cada 3kg de leite produzidos, acima dos primeiros 8kg de leite, era ofertado 1kg de concentrado. A quantidade de ração concentrada fornecida era corrigida a cada 14 dias, a partir das pesagens de leite realizadas durante toda a lactação, para atender quaisquer mudanças nas exigências, com base na variação da produção de leite. A individualização no fornecimento de ração concentrada foi feita pela identificação das vacas com cordas coloridas, ou seja, cada cor correspondia a uma determinada quantidade de ração a ser fornecida, a corda de cada vaca era mantida ou trocada de acordo com a produção obtida nos controles leiteiros.

3.4 Manejo de ordenha

A Fazenda Experimental de Felixlândia realiza rotineiramente duas ordenhas diárias (manhã e tarde) que se iniciam às 7h e 14h, respectivamente, tendo como sistema de ordenha utilizado o mecânico com fosso tipo passagem, com equipamento em linha com seis conjuntos de ordenha. Durante o experimento, o esquema de ordenha adotado foi o seguinte: as vacas submetidas a quatro ordenhas diárias que correspondem aos animais dos grupos 4BA e 4BM, nas ordenhas da manhã e da tarde, foram as primeiras a serem ordenhadas, seguidas dos animais pertencentes aos grupos controle (2BA e 2BM) e demais lotes de vacas em lactação da fazenda. Após o término da ordenha dos lotes de animais não pertencentes ao experimento, as vacas dos grupos 4BA e 4BM foram novamente ordenhadas. Os intervalos de ordenhas para os grupos 2BA e 2BM foram de sete e 17 horas e nos grupos 4BA e 4BM de duas, cinco, 1,3 e 15,3 horas, aproximadamente (Figura 3). Desta forma, os intervalos de ordenhas para os grupos ordenhados quatro vezes ao dia (4BA e 4BM) apresentaram-se desiguais e em sua maioria com curto período visando a não adoção de mais dois turnos de trabalho.

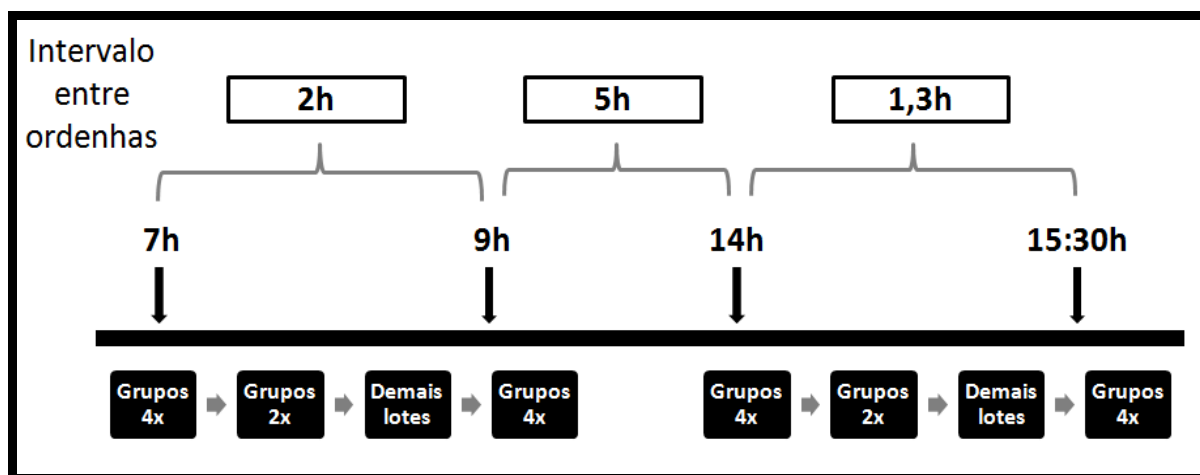


Figura 3 - Esquema de ordenha adotado durante a fase experimental. Grupo 4x = vacas ordenhas quatro vezes ao dia com ou sem a sucção de leite pelos bezerros durante a ordenha (4BA e 4BM); Grupo 2x = vacas ordenhas duas vezes ao dia com ou sem a sucção de leite pelos bezerros durante a ordenha (2BA e 2BM).

Durante os 21 primeiros dias da lactação, no momento da ordenha os bezerros das vacas dos grupos 2BA e 4BA foram trazidos até a sala de ordenha apenas para fazer o apoio, que consistiu na sucção do leite somente antes da colocação das teteiras, com o intuito de estimular a descida do leite e em seguida foram retirados da sala de ordenha e alojados em um

curral ao lado da mesma. Desta forma, para estes grupos, o restante da ordenha aconteceu na ausência do bezerro. Nas vacas ordenhadas duas e quatro vezes ao dia, dos grupos 2BM e 4BM, foram deixados um dos tetos anteriores sem ser ordenhado para que os bezerros pudessem fazer a sucção do leite durante e após a ordenha apenas nos primeiros 21 dias da lactação. A escolha de qual dos tetos anteriores seria destinado ao bezerro não seguiu um padrão definido e era realizada de acordo com a preferência do ordenhado. Este procedimento foi realizado por meio do acoplamento de três teteiras do conjunto de ordenha e deixando uma teteira com tampão.

Após entrada da vaca na sala de ordenha iniciavam-se os procedimentos de higienização dos tetos que consistiu na lavagem dos tetos com água corrente e posterior secagem com toalha úmida conservada em água com solução de hipoclorito de sódio. Em seguida os bezerros eram colocados para fazer o apoio ou mamarem. Após o manejo do bezerro dentro da sala de ordenha e feita nova secagem dos tetos com toalha úmida, os conjuntos de ordenha eram colocados, dando início à extração de leite, que terminava quando cessava o fluxo de leite.

Após o término da ordenha as vacas permaneciam no curral de saída da ordenha com seus bezerros por período de aproximadamente 30 minutos, para mamada do leite residual.

3.5 Manejo dos bezerros

Os bezerros das vacas utilizadas no seguinte experimento permaneceram em piquetes formados por *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizanta* do nascimento até a desmama com 250 dias. Nos piquetes os bezerros tinham acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

Antes do início tanto da ordenha da manhã quanto a da tarde, os bezerros eram levados até um curral ao lado da sala de ordenha. Durante a ordenha das vacas pertencentes aos grupos 2BA e 4BA, seus respectivos bezerros eram encaminhados para a sala de ordenha para fazer o apoio e posteriormente retornavam ao curral anexo a sala de ordenha. Já para as vacas pertencentes aos grupos 2BM e 4BM seus bezerros permaneciam na sala de ordenha durante toda a ordenha mamando em apenas um dos tetos anteriores e depois assim com os outros bezerros do experimento retornavam ao curral anexo a sala de ordenha.

Após a ordenha de todos os animais da fazenda durante a ordenha da manhã e tarde os bezerros eram encaminhados para o curral de saída, junto com as vacas, para que estes mamassem o leite residual. Importante destacar que os bezerros oriundos dos grupos

submetidos a maior frequência de ordenha assim como os demais grupos tiveram acesso ao leite residual apenas duas vezes ao dia.

3.6 Manejo reprodutivo

O manejo reprodutivo foi realizado por meio da monta natural, em que as vacas foram mantidas, logo após o parto, ou seja, sem a adoção de período voluntário de espera, na proporção de um touro para cada 50 vacas em presença constante com touros das raças Nelore e Guzerá, previamente submetidos à avaliação andrológica. As observações do cio, monta e cobertura foram realizadas duas vezes ao dia por um funcionário da fazenda.

O diagnóstico de gestação era realizado como rotina da fazenda mensalmente, sendo realizado somente nas vacas 45 dias após a observação da cobertura ou naquelas com mais de 100 dias de pós-parto e sem registro de cobertura.

3.7 Colheita de dados

Os controles leiteiros foram realizados com intervalos regulares de quatro dias até o trigésimo terceiro dia da lactação e a partir desta data a cada 15 dias até o final da lactação. A produção de leite foi mensurada com a utilização dos coletores Milk Meter-Mark V (α-Laval Agri®) e posteriormente corrigida para o teor de sólidos totais (LCST) pela equação citada por Tyrrel e Reid (1965).

$$LCST = (12,3 \times PG) + (6,56 \times ESD) - (0,0752 \times PL).$$

LCST = Produção de leite corrigida para teor de sólidos totais

PG = Produção de gordura (kg/dia)

ESD = Produção de extrato seco desengordurado

PL = Produção de leite (kg/dia)

Já a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (LCG 3,5%) foi calculada segundo a equação descrita por Gravet (1987).

$$LCG\ 3,5\% = (0,35 \times PL) + (16,2 \times PG)$$

$$LCG\ 3,5\% = \text{Produção de leite corrigido para 3,5 \% de gordura (kg/dia)}$$

$$PL = \text{Produção de leite (kg/dia)}$$

$$PG = \text{Produção de gordura (kg/dia)}$$

A produção de leite total estimada para os grupos submetidos a duas e quatro ordenhas diárias foi obtida por meio da utilização das equações de regressão realizadas para cada grupo.

Amostras para composição do leite foram coletadas a cada ordenha nos mesmos dias da mensuração da produção de leite. Para as vacas submetidas a quatro e duas ordenhas diárias, as amostras para a composição do leite foram coletadas, respectivamente, quatro e duas vezes ao dia durante a ordenha utilizando-se do leite contido nos medidores de leite Milk Meter-Mark V após homogenização, sendo estas proporcionais ao volume de leite produzido em cada ordenha. As amostras foram refrigeradas em recipientes plásticos a 4°C com bromopol (2-bromo 2-nitropropano 1,3-diol), na relação de 10mg de bromopol para 50mL de leite e enviadas para Laboratório de Análise e Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, para determinação do conteúdo de gordura, proteína, lactose e sólidos totais, a partir da utilização da metodologia eletrônica Bentley®.

Os pesos dos animais foram avaliados em tronco com balança Coima® com capacidade para 1.000kg. As pesagens das vacas foram realizadas ao parto, aos 21 dias e 250 dias da lactação. As pesagens dos bezerros seguiram o mesmo protocolo das vacas. As variações no peso dos bezerros foram determinadas nos mesmos dias de avaliação do peso, a partir da seguinte fórmula:

$$GP = \frac{P_f - P_i}{D_f - D_i}$$

GP= Ganho de peso

$P_f - P_i$ = Peso final menos o peso inicial

$D_f - D_i$ = Período em dias

Todos os dados referentes ao cio, montas, coberturas, diagnóstico de gestação foram anotados. O número de montas e coberturas para cada vaca foi obtido a partir da observação de um funcionário da fazenda.

3.8 Análises estatísticas

Todas as variáveis avaliadas foram submetidas ao teste de Lilliefors e Bartlett para verificar a distribuição de probabilidade normal e para homocedasticidade de erros dentro de grupos experimentais, respectivamente, sendo o procedimento de transformação dos dados utilizado quando as variáveis violaram estas condições.

A avaliação do peso inicial e aos 21 dias e final dos bezerros e vacas, durante o período experimental, foi realizada utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com no mínimo 12 repetições por grupo em arranjo fatorial 2 x 2, sendo duas frequências de ordenha (duas ou quatro ordenhas ao dia até 21º dia) e dois métodos de ordenha (com e sem sucção do leite pelo bezerro durante a ordenha até o 21º dia), conforme modelo abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + O_i + M_j + (OM)_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = efeito da observação da frequência de ordenha i no método j da repetição k

μ - efeito médio geral

O_i – efeito da frequência de ordenha i

M_j – efeito do método de ordenha j

$(OM)_{ij}$ – efeito da interação frequência e método de ordenha

e_{ijk} – erro aleatório da observação da frequência de ordenha i no método j da repetição k

A avaliação da produção e composição de leite, ganho de peso dos bezerros, durante os períodos de 1 a 21, 22 a 250 e 1 a 250 dias, foi realizada a partir do delineamento inteiramente casualizado com no mínimo 12 repetições no arranjo em parcelas subdivididas. Parcela esta composta por um arranjo fatorial 2x2 (frequência de ordenha e métodos de ordenha) e na sub-parcela os tempos (dias) de avaliação, conforme modelo abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + O_i + M_j + (OM)_{ij} + e_{ijk} + A_l + (AO)_{il} + (MA)_{jl} + (OMA)_{ijl} + \delta_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = efeito da observação da frequência de ordenha i, no método j da avaliação l na repetição k

μ - efeito médio geral

O_i – efeito da frequência de ordenha i

M_j – efeito do método de ordenha j

$(OM)_{ij}$ – efeito da interação frequência e método de ordenha

e_{ijk} – erro aleatório atribuído a parcela da frequência de ordenha i, no método j da repetição k

A_l – efeito da avaliação l

$(AO)_{il}$ – efeito da interação da frequência de ordenha e dias de avaliação

$(MA)_{jl}$ – efeito da interação método de ordenha e avaliação

$(OMA)_{ijl}$ – efeito da interação frequência e método de ordenha e dias de avaliação

δ_{ijkl} – efeito do erro aleatório atribuído à sub-parcela da frequência de ordenhas i, método de ordenha j, na avaliação l da repetição k

Os valores de leite corrigido para gordura e sólidos totais foram transformados pela função logarítmica, assim como o peso dos bezerros e o período de serviço. Já a variável ganho de peso dos bezerros foi transformada pela função raiz quadrada. Os pesos das vacas ao parto e dos bezerros ao nascimento foram utilizados como covariáveis. As variáveis quantitativas (produção média diária, composição do leite, ganho de peso, peso inicial, peso final, número de coberturas) foram avaliadas por análise de variância, sendo as comparações entre as médias, realizadas a partir do teste de Tukey a 5% de probabilidade. O período de serviço apesar de ser uma variável quantitativa violou os pressupostos de normalidade e homocedasticidade mesmo após a transformação dos dados, sendo dessa forma a comparação entre médias analisada pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Nos resultados das amostras para composição de leite, obtidos após processamento foram observados valores muito discrepantes, principalmente para percentagem de proteína e gordura do leite, que não condiziam com valores encontrados na literatura para a composição genética avaliada neste trabalho (F1 Holandês/Zebu). Dessa forma, os valores extremos foram eliminados e analisados apenas resultados entre 2,5 a 4% para proteína e 2 a 6% para gordura.

A produção por dia de lactação e o peso dos bezerros por semana foram avaliados por análise de regressão, determinando assim a curva que melhor ajustou a cada tratamento. Para

o processamento das análises utilizou-se os procedimentos do Software SISTEMA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS (SAEG), Versão 8.0 da Universidade Federal de Viçosa.

3.9 Avaliação financeira

Com intuito de visualizar o impacto da utilização de quatro ordenhas diárias nos primeiros 21 dias da lactação sobre a resposta financeira, em sistema de produção de leite comercial, as médias de produção de leite obtidas em cada grupo foram utilizadas em simulação com rebanho composto de 136 vacas em lactação, correspondente ao rebanho em lactação da fazenda da EPAMIG.

Os preços de leite e dos insumos em geral utilizados para composição da receita e custo operacional efetivo foram referentes aos preços praticados na fazenda da EPAMIG no ano base de 2008, no período experimental.

Para análise da viabilidade financeira dos diferentes grupos, foi utilizada a margem bruta como indicador de desempenho financeiro da atividade leite, calculada por meio da seguinte equação:

$$\text{Margem Bruta} = \text{Receita total} - \text{COE (Custo operacional efetivo)}$$

O modelo analítico utilizado para estimar a receita foi:

$$\text{Receita} = (PL_i.X_{ij})$$

PL_i = preço médio anual por litro de leite por grupo i ;

X_{ij} = média de leite por animal j em cada grupo i ;

Para a determinação da receita de venda do leite a produção foi calculada pela multiplicação do número médio de vacas em lactação, pela média de produção de leite observada em cada grupo. O preço do leite foi composto pelo preço base, acrescido das bonificações por volume, porcentagem de gordura e proteína, recebidos em 2008. A bonificação por contagem bacteriana e pela contagem de células somáticas (CCS) foi fixa para todos os grupos, entrando na composição do preço base, uma vez que estes parâmetros não foram avaliados no presente estudo (Anexo 3).

O modelo analítico utilizado para estimar o custo operacional efetivo (COE) foi:

$$COE = \sum [(CD.X_{ij}) + (CO.H_{ij}) + K_n]$$

CD = custo da dieta por litro de leite;

X_{ij} = média de leite por animal j em cada grupo i ;

CO = custo hora ordenha;

H_{ij} = horas ordenha por animal j em cada grupo i ;

K_n = custos dos fatores mantidos constantes, em que foi assumido que os demais componentes do COE foram comuns aos diferentes grupos;

O custo alimentar/vaca foi calculado a partir do custo alimentar médio anual por litro de leite, multiplicado pela média de produção de leite observada em cada grupo.

Para o cálculo do custo médio hora ordenha foi considerado o somatório anual de despesas relacionadas ao processo de ordenha, dividido pelo número de horas anuais de utilização do equipamento de ordenha, obtendo assim o custo médio hora/ordenha. Os custos relacionados ao processo de ordenha foram: energia elétrica, mão de obra, gerenciamento, encargos trabalhistas, produtos de limpeza, filtro de ordenha, mangueiras da ordenha, despesa com manutenção da ordenha e outros (Anexo 4 e 5).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da produção e composição do leite

Os resultados da produção de leite durante os diferentes períodos estudados (1-21, 22-250, 1-250 dias da lactação) estão presentes na tabelas 6 e figura 4, em que pode se observar a ausência do efeito da sucção ou não de leite pelo bezerro durante a ordenha apenas nos primeiros 21 dias da lactação, além da não interação entre este fator e a frequência de ordenha sobre esta variável ($P > 0,05$). Já a frequência de ordenha no decorrer dos diferentes períodos estudados (1-21, 22-250, 1-250 dias da lactação) influenciou as respostas sobre a produção de leite (kg/d).

Tabela 9 - Produções de leite médias durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Grupos								Probabilidade		
		2 ordenhas		4 ordenhas						
	Dias PP	BA	BM	BA	BM	DP	CV	Ord	Bez	Ord*Bez
Leite kg/d	1-21	18,4	17,3	21,9	21,7	4,9	21,4	<0,01	ns	ns
	22-250	16,8	16,3	17,9	18,1	5,1	16,4	<0,01	ns	ns
	1-250	17,2	16,7	18,9	19,0	5,1	18,9	<0,01	ns	ns

ns, $P>0,05$. DP, desvio padrão. CV, Coeficiente de variação (%). Dias PP, dias pós-parto. Ord, efeito da frequência de ordenha. Bez, efeito da amamentação do bezerro durante a ordenha. Ord*Bez, interação entre a frequência de ordenha e a amamentação do bezerro durante a ordenha. Teste Tukey ($P\leq 0,05$).

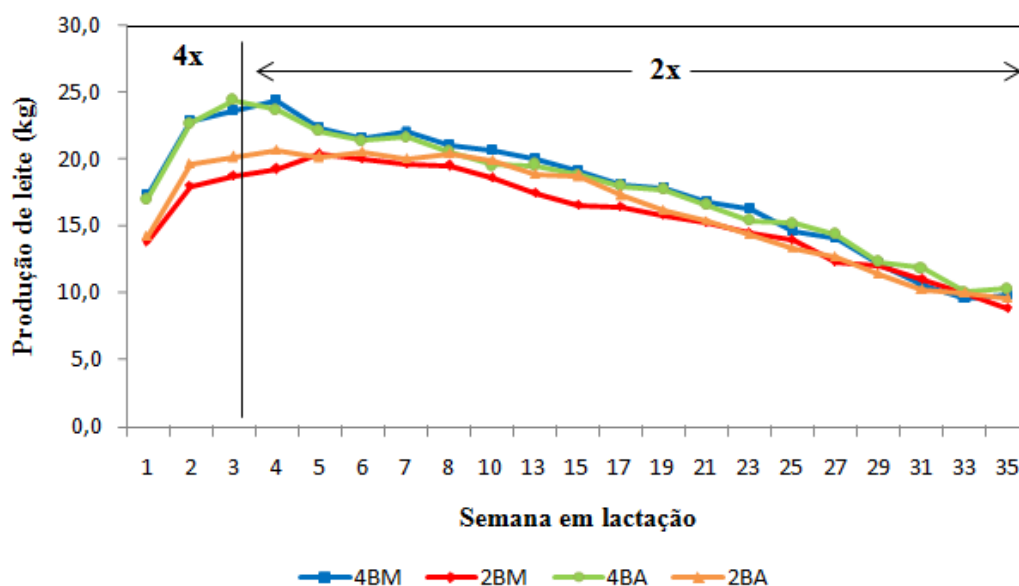


Figura 4 - Médias de produção de leite (kg/d) observada até 35 semanas, de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (2BA e 4BA) ou mamando (2BM e 4BM), seguido por duas ordenhas no até o final da lactação.

As vacas ordenhadas mais frequentemente (4BA e 4BM) produziram, 4,0 kg/d e 1,5 kg/d de leite a mais do que os grupos controle (2BA e 2BM, $P<0,01$), durante as três primeiras semanas e após o retorno a duas ordenhas, respectivamente. No entanto, a produção de leite durante o período de tratamento, para as vacas ordenhadas duas e quatro vezes ao dia com o bezerro mamando durante a ordenha (2BM e 4BM), poderiam ter sido maiores do que as observadas na tabela 6, uma vez que esses resultados foram obtidos a partir da ordenha de apenas três tetos. Desta forma, considerando que a produção de leite é proporcionalmente diferente entre as glândulas anteriores e posteriores, correspondendo a cerca de 40% e 60% da produção total, respectivamente, as produções médias para estes grupos, durante os 21 primeiros dias, possivelmente poderiam ter sido maiores em 4,7 kg/d de leite para o grupo

4BM e de 3,4 kg/d para o 2BM, indicando que talvez a amamentação pelo bezerro, durante a ordenha, possa ter sim influenciado de forma positiva a produção de leite nos primeiros 21 dias da lactação e que a quantidade de leite ingerido pelo bezerro e não avaliada no presente estudo, possa ter mascarado a visualização desse efeito. Caldas e Madalena (2001) e Combellas et al.(2003) observaram que vacas que amamentam seu próprio bezerro durante a ordenha apresentam maior produção de leite do que as vacas ordenhadas sem a presença dos mesmos. Segundo Bruckmaier e Blum (1998) a amamentação é o método mais eficiente de estimulação da ejeção do leite e o efeito da amamentação sobre a produção de leite estaria relacionado a maior liberação de ocitocina.

Em 250 dias de lactação, as produções médias diárias das vacas dos grupos submetidos a quatro ordenhas foram maiores do que das vacas ordenhadas duas vezes ao dia (19,0 kg/d vs 17,0 kg/d), correspondendo ao aumento da produção ao longo de toda lactação de 2,0 kg/d ($P<0,01$). As representações das curvas de lactação médias e estimadas para vacas ordenhadas duas e quatro vezes ao dia até os 21 primeiros dias da lactação, estão apresentadas na figura 5. As equações de regressão foram significativas ($P<0,01$) para o efeito da frequência de ordenhas, duas ou quatro ordenhas apenas no início da lactação, tendo como melhor modelo de ajuste a função raiz quadrada apresentadas na figura 5 com seus respectivos $r^2 = 0,88$ e $r^2 = 0,92$. Ambas as curvas apresentaram produção inicial seguida de uma fase ascendente, em que a produção de leite aumenta em taxas variáveis, alcançando níveis máximos de 19,9 kg e 22,5 kg nos dias 47 e 34, ou seja, por volta da sétima e quinta semana da lactação, para vacas ordenhadas duas e quatro vezes ao dia até os primeiros 21 dias da lactação e seguido de duas ordenhas diárias, respectivamente.

Já o pico de produção médio observado ocorreu em média na quinta e quarta semana da lactação para vacas submetidas a duas e quatro ordenhas diárias apenas nos primeiros 21 dias, com média de produção de leite de 20,7 e 25,9 kg, respectivamente, caracterizando a ocorrência do pico de lactação antes e com produções maiores para vacas ordenhadas mais frequentemente no início da lactação do que para seus respectivos grupos controle (2BA e 2BM). Embora Hale et al. (2003) também tenham encontrado maiores produções no pico para as vacas da raça Holandês ordenhadas com maior frequência de ordenha no início da lactação, o pico de lactação para estes animais ocorreu na oitava semana da lactação, ou seja, uma semana após o grupo controle (2x), divergindo dos resultados encontrados no presente estudo.

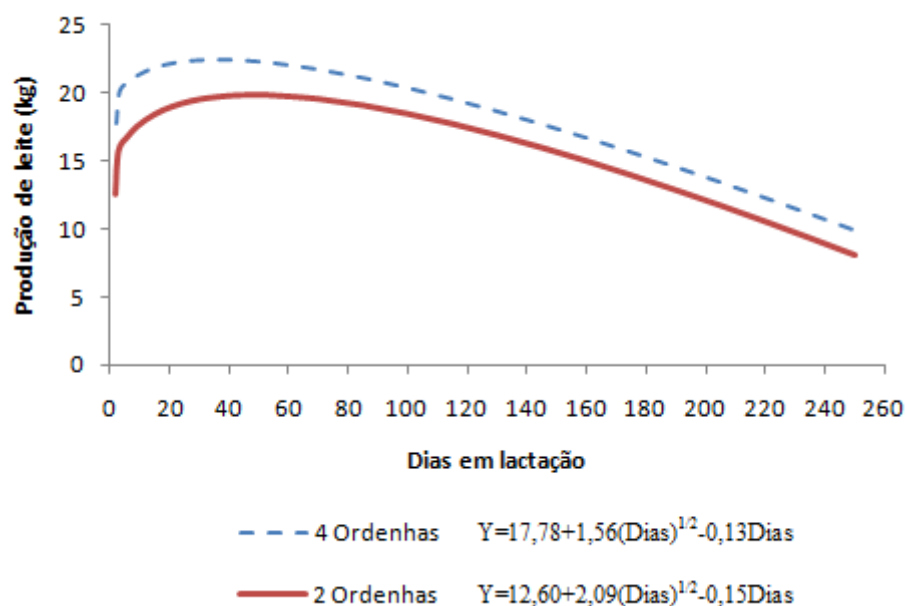


Figura 5 - Curvas de lactação até 250 dias de vacas ordenhadas duas ou quatro vezes nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas até o final da lactação.

Segundo Sorensen et al. (1998) altos níveis de produção de leite estariam diretamente relacionado com maior número de células alveolares secretoras, sendo o contrário também verdade. Para Capuco et al. (2001), o aumento progressivo da atividade enzimática por célula é o principal fator responsável pelo aumento da produção de leite até o pico de lactação. A ocorrência do pico de lactação mais precoce observado em vários trabalhos com vacas F1 Holandês/Zebu, como por exemplo, os de Glória (2009) e Carvalho (2008) que observaram, respectivamente, a ocorrência do pico em média nos dias 23,3 e 26,3, e inclusive pelo presente estudo ao compará-la com o pico mais tardio das vacas da raça Holandês, pode ser explicado pelo fato das vacas mestiças terem menores quantidades de células secretoras na glândula mamária para se diferenciarem e entrarem em atividade após o início da lactação, dessa forma atingindo a atividade e produção máxima mais rapidamente do que raças com maior produção, e consequentemente, maior número de células mamárias.

A ocorrência do pico de lactação mais precoce e com volume maior de produção, no presente estudo, para os grupos submetidos a maior frequência de ordenha apenas no início da lactação em relação aos grupos controle talvez possa estar relacionado com o aumento da atividade celular mamária estimulado pelo maior número de ordenha, pois de acordo Hillerton et al. (1990) o aumento de duas para quatro ordenhas diárias promoveu aumento da atividade das enzimas acetil-CoA carboxilase (13,8%), ácido graxo sintase (11,1%), galatossiltransferase

(17,1%) e glicose 6 fostato dehidrogenase (31,8%), além do aumento da síntese de DNA na glândula mamária.

Consistente com outros estudos com aumento da frequência de ordenha apenas no início da lactação em vacas da raça Holandês (SANDERS, 2000; DAHL et al., 2005; WALL e MCFADDEN, 2007), nesse trabalho, as vacas F1 Holandês/Zebu submetidas ao aumento da frequência de ordenha tiveram incremento da produção durante o período de tratamento (21 dias) e sustentaram maiores produções de leite após retorno a rotina normal de ordenhas (2x), demonstrando a existência de efeito residual do tratamento ao longo de 250 dias de lactação.

Soberón et al. (2010) e Fernandez (2004) observaram que quatro ordenhas diárias nos primeiros 21 dias após o parto seguido de duas ordenhas aumentou a produção de leite em 4,3 e 3,0 kg/d, respectivamente, durante o período de tratamento comparado com o grupo controle (2x), enquanto que Hale et al., (2003) relatam aumento de 3 kg/d da produção de leite durante 308 dias de lactação em similar experimento ($P<0,05$). Estes resultados são comparáveis com as respostas de 4,0 kg/d e 2,0 kg/d obtidas no presente estudo durante o período de tratamento (primeiros 21 dias da lactação) e ao longo de 250 dias respectivamente, em vacas F1 Holandês/Zebu.

Os grupos quatro ordenhas (4BA e 4BM) encerraram a lactação com produção total média observada e estimada maiores que as dos grupos duas ordenhas, como observado na tabela 7, correspondendo ao aumento de 11% e 13% na produção, respectivamente ($P<0,01$). DePeters et al. (1985) e Erdman e Varner (1995) observaram, respectivamente, aumento de produção de 15% e 3,5 kg/d de leite em animais da raça Holandês, ordenhados três vezes ao dia por toda a lactação. Estes valores estão próximos aos obtidos nesse trabalho com mestiços F1 Holandês/Zebu, demonstrando o grande potencial de aumento da produção com a utilização de quatro ordenhas diárias durante 21 dias da lactação, sem grande impacto nos custos operacionais, uma vez que este aumento foi obtido sem a necessidade de criação de novo turno de ordenha. Proporcionalmente ao curto intervalo de ordenhas, as vacas submetidas ao protocolo de maior frequência de ordenha apenas no início da lactação produziram $4,7 \pm 1,7$ kg/d na segunda ordenha da manhã e $2,7 \pm 1,5$ kg/d na segunda ordenha da tarde (Tabela 7), demonstrando que mesmo com intervalos de ordenhas pequenos e desiguais de aproximadamente 2, 5, 1,3 e 15,3 h, ocorreu aumento da produção e manutenção deste efeito após o retorno a duas ordenhas diárias. Resultados estes, comparáveis com os obtidos por Bar-Peled et al. (1995) e Sanders (2000), ao avaliarem a utilização do aumento da frequência de ordenha apenas no início da lactação em igual intervalo entre ordenhas ao longo de 24h.

Tabela 7 - Médias e desvios padrão (DP) da produção por ordenha e produção total observada e estimada (kg) de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Produção total (kg)	Grupos		Diferença ¹
	Duas ordenhas	Quatro ordenhas	
Observada	3.742	4.141	399 (11%)
Estimada	3.967	4.489	522 (13%)
Produção média e DP até 21 dias (kg/d)			
1º ordenha manhã	11,4 ± 2,6	10,9 ± 2,5	
2º ordenha manhã	-	4,7 ± 1,7	
1º ordenha tarde	6,7 ± 1,9	3,5 ± 1,1	
2º ordenha tarde	-	2,7 ± 1,5	

¹Diferença entre a produção total e estimada de vacas ordenhadas quatro e duas vezes nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas no período remanescente.

Diferentes mecanismos tem sido propostos para explicar o efeito residual do aumento da frequência de ordenha no início da lactação sobre a produção de leite. Para Hale et al. (2003) e Wall e McFadden (2007) a maior produção de leite observada com o aumento da frequência de ordenha no início da lactação e sua manutenção está relacionada ao aumento da proliferação celular, com possível redução nas taxas de apoptose, sendo estes parâmetros provavelmente regulados por mecanismos locais sensíveis ao aumento das frequência de ordenha. Esses mecanismos locais, apesar de ainda não elucidados, tem sido comprovados pelo aumento e manutenção da produção observada em animais ordenhados nos primeiros dias da lactação quatro vezes ao dia em metade do úbere e duas vezes ao dia na outra metade (WALL e MCFADDEN, 2007).

No entanto, Connor et al. (2008) constataram por meio de estudos da expressão gênica em glândula mamária ordenhada mais frequentemente no início da lactação, que a regulação da secreção do leite é provavelmente resultado não apenas de um fator isolado e sim da complexa interação de mecanismos, como remodelagem da matriz extracelular, proliferação e apoptose celular, transporte de nutrientes, função imune, neovascularização e metabolismo, e que muitos desses mecanismos necessitam de maiores pesquisas para melhor esclarecimento de seu papel dentro da regulação da secreção do leite.

Os dados relacionados as concentrações dos componentes do leite estão demonstrados na tabela 8. Com excessão da percentagem de lactose, produção de leite em kg/d corrigido para 3,5% de gordura (LCG) e para sólidos totais (LCST) nenhuma das variáveis avaliadas para composição do leite apresentaram significância para a interação da frequência de ordenha com a sucção ou não de leite do bezerro mamando durante a ordenha ($P>0,05$). Os componentes do leite nos diferentes períodos estudados (1-21, 22-250, 1-250 dias da lactação)

não foram influenciados ($P>0,05$) pela sucção ou não do leite pelo bezerro durante a ordenha nos primeiros 21 dias da lactação.

Tabela 8 - Média da composição de leite durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

	Dias PP	Grupos				Probabilidade				
		2 ordenhas		4 ordenhas		DP	CV	Ord	Bez	Ord*Bez
		BA	BM	BA	BM					
Gordura %	1-21	3,58	3,59	4,30	4,32	0,69	14,83	<0,01	ns	ns
	22-250	3,83	3,78	3,95	3,93	0,74	18,91	<0,01	ns	ns
	1-250	3,79	3,74	4,03	4,00	0,73	17,87	<0,01	ns	ns
Proteína %	1-21	3,26	3,29	3,26	3,25	0,25	7,87	ns	ns	ns
	22-250	3,24	3,25	3,20	3,26	0,25	7,71	ns	ns	ns
	1-250	3,25	3,25	3,21	3,26	0,25	7,69	ns	ns	ns
Lactose %	1-21	4,55	4,59	4,59	4,50	0,16	3,55	ns	ns	<0,05
	22-250	4,58	4,64	4,61	4,53	0,14	2,93	<0,01	ns	<0,01
	1-250	4,58	4,63	4,61	4,53	0,15	2,93	<0,01	ns	<0,01
S. totais %	1-21	12,31	12,38	13,07	13,01	0,82	5,86	<0,01	ns	ns
	22-250	12,55	12,55	12,66	12,62	0,93	3,38	ns	ns	ns
	1-250	12,51	12,52	12,74	12,68	0,91	7,02	<0,01	ns	ns
LCG kg/d	1-21	18,16	15,75	22,73	23,28	5,43	8,08	<0,01	ns	<0,05
	22-250	16,48	15,63	18,13	18,49	4,30	8,59	<0,01	ns	<0,05
	1-250	16,76	15,65	18,94	19,29	4,64	8,20	<0,01	ns	<0,05
LCST kg/d	1-21	18,31	15,96	22,42	22,75	5,18	7,98	<0,01	ns	<0,05
	22-250	16,45	15,68	17,95	18,31	4,10	8,82	<0,01	ns	<0,05
	1-250	16,76	15,73	18,74	19,05	4,43	7,99	<0,01	ns	<0,05

ns, $P>0,05$. LCG, leite corrigido para 3,5% de gordura. LCST, leite corrigido para sólidos totais. DP, Desvio padrão. CV, Coeficiente de variação (%). Dias PP, dias pós-parto. Ord, efeito da frequência de ordenha. Bez, efeito da amamentação do bezerro durante a ordenha. Ord*Bez, interação entre a frequência de ordenha e a amamentação do bezerro durante a ordenha. Teste Tukey ($P\leq 0,05$).

O aumento da frequência de ordenha geralmente altera a composição, especialmente em relação à gordura e proteína. Segundo Erdman e Varner (1995), é esperada redução de sólidos do leite, como a proteína e gordura, em resposta a maiores frequências de ordenha, no entanto, isto não foi observado no presente trabalho.

A percentagem de proteína não foi afetada pelo aumento da frequência de ordenha nos diferentes períodos de avaliação (1-21, 22-250, 1-250 dias da lactação) ($P>0,05$). Resultados similares foram encontrados por Hale et al. (2003) e Soberón et al. (2010), ao avaliarem o mesmo protocolo de ordenha em vacas da raça Holandês.

Os grupos quatro ordenhas apresentaram maior teor de gordura no leite ($P<0,01$) durante e após o período de tratamento. A gordura do leite por ter menor densidade em relação à proteína e a lactose apresenta variações percentuais ao longo das ordenhas, aumentando ao final destas e no leite que fica retido no úbere (REIS et al., 2007). Dessa forma, com o aumento da frequência de ordenha foi possível retirar do úbere uma fração de

leite com maior valor de gordura que alterou a concentração final deste sólido, e consequentemente, os valores encontrados para leite corrigido para 3,5% de gordura e leite corrigido para sólidos totais, nestes mesmos grupos durante o período de tratamento.

Contudo, a manutenção dos maiores valores de gordura e, consequentemente, dos outros componentes do leite correlacionado a ele após o retorno a duas ordenhas podem estar relacionadas com o aumento da ingestão de matéria seca esperado, com intuito de ajustar as novas exigências nutricionais, devido a maior produção de leite, o que levaria a maior produção de substrato para a síntese deste sólido em associação com a composição da dieta que foi baseada em alimentos volumosos, que são responsáveis pela produção principalmente de acetato e β -hidroxibutirato após fermentação rumenal, sendo estes os principais precursores para a produção de gordura pela glândula mamária. O aumento do número de células e atividade celular, sendo esta última caracterizada principalmente pela maior atividade da enzima ácido graxo sintase, estimulados pelo maior número de ordenhas apenas no início da lactação descrito respectivamente por Hillerton et al. (1990), Hale et al. (2003) e Sorensen et al. (2006), também não podem ser descartados como potenciais responsáveis pelo aumento dos valores de gordura no leite pós-tratamento, pois a glândula mamária teria maior número de células e atividade enzimática para a produção deste e dos outros componentes do leite.

Quanto aos resultados obtidos no presente estudo em relação à lactose, segundo Sutton (1989), as mudanças observadas nos teores desse componente do leite em diversos experimentos são pequenas e, inconsistentes e em alguns casos, alcançam significância estatística apenas devido ao baixo coeficiente de variação da lactose.

4.2 Avaliação do peso corporal das vacas

Os dados referentes ao peso corporal das vacas avaliados a partir do peso inicial, aos 21 dias da lactação e peso final (250 dias da lactação), estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9 - Médias de peso (kg) durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Grupos							Probabilidade		
Peso vacas, Kg	2 Ordenhas		4 Ordenhas		DP	CV	Ord	Bez	Ord*Bez
	BA	BM	BA	BM					
Peso inicial	504,5	498,8	504,5	523,8	61,7	10,4	ns	ns	ns
21 dias	492,5	494,7	502,3	491,8	52,5	5,2	ns	ns	ns
Peso final	516,4	516,5	552,1	546,4	59,1	11,1	ns	ns	ns

ns, $P > 0,05$. DP, Desvio padrão. CV, Coeficiente de variação (%). Dias PP, dias pós-parto. Ord, efeito da frequência de ordenha. Bez, efeito da amamentação do bezerro durante a ordenha. Ord*Bez, interação entre a frequência de ordenha e a amamentação do bezerro durante a ordenha. Teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Nenhuma das variáveis relatadas para peso da vacas (peso inicial, aos 21 dias e peso final) apresentaram significância para a interação da frequência de ordenha com a sucção ou não de leite pelos bezerros durante a ordenha ($P > 0,05$). Também não foi observado a influência do número de ordenha, sucção ou não do leite durante a ordenha nos 21 primeiros dias da lactação ($P > 0,05$).

Embora fosse esperado que as vacas submetidas ao aumento da frequência de ordenha no início da lactação (4BA e 4BM) tivessem maior perda de peso durante os 21 primeiros dias da lactação, devido maior mobilização de gordura corporal demandada para suprir o incremento na produção de leite, isso não foi observado no presente estudo. Resultado similar foi observado por Hale et al. (2003) e Soberón et al. (2010), que não encontraram diferença entre a condição corporal, avaliada por meio do escore de condição corporal e peso corporal, de vacas submetidas ao mesmo protocolo de ordenha utilizado nesse experimento.

Segundo Bar-Peled et al. (1985), o aumento na produção de leite em consequência do maior número de ordenha é acompanhado por aumento da ingestão de matéria seca. Dessa forma, nos grupos submetidos ao protocolo de maior frequência de ordenhas, pode ter ocorrido em associação ao aumento da produção, maior ingestão de matéria seca, não avaliado neste estudo, que por sua vez pode ter compensado o aumento da demanda de energia para a produção de leite.

4.3 Avaliação do desempenho dos bezerros

Os resultados do peso e ganho de peso dos bezerros mestiços durante a fase de cria, que correspondeu o período do nascimento a 36 semanas ou 250 dias, submetidos a diferentes manejos de amamentação estão apresentados na tabela 10.

Tabela 10 - Média do peso corporal (kg) e ganho de peso (kg/d) de bezerros mestiços, durante 36 semanas, submetidos a diferentes manejos de ordenha

semanas, subdivididos a diferentes manejos de ordenha									
	Grupos				DP	CV	Probabilidade		
	2 Ordenhas		4 Ordenhas				Ord	Bez	Ord*Bez
Peso bezerro, Kg	BA	BM	BA	BM					
Peso inicial	37,4	37,1	40,7	37,8	6,1	15,6	ns	ns	ns
21 dias	38,1	38,7	39,7	37,1	5,3	10,4	ns	ns	ns
Peso final	136,9	151,0	158,4	161,3	20,9	13,8	ns	ns	ns
Ganho de peso, kg/d									
1-21 dias	0,09	0,07	-0,22	-0,24	0,68	3,05	ns	ns	ns
22- 250 dias	0,37	0,38	0,41	0,41	0,49	0,88	ns	ns	ns
1-250 dias	0,34	0,34	0,32	0,33	0,33	1,36	<0,01	ns	ns

ns, $P>0,05$. DP, Desvio padrão. CV, Coeficiente de variação (%). Dias PP, dias pós-parto. Ord, efeito da frequência de ordenha. Bez, efeito da amamentação do bezerro durante a ordenha. Ord*Bez, interação entre a frequência de ordenha e a amamentação do bezerro durante a ordenha. Teste Tukey ($P\leq 0,05$).

Nenhuma das variáveis relatadas para desempenho dos bezerros (peso e ganho de peso) apresentaram significância para a interação da frequência de ordenha com a sucção ou não de leite pelos bezerros durante a ordenha ($P>0,05$). Também não foi observada a influência da amamentação ou não do bezerro durante a ordenha, apenas nos primeiros 21 dias da lactação sobre o peso e ganho de peso dos mesmos ($P>0,05$). No entanto, o efeito da frequência de ordenha foi significativo ($P<0,01$) para o ganho de peso na fase total de cria desses animais (1-250 dias), embora este mesmo fator não tenha influenciado o peso final dos bezerros.

Os bezerros avaliados apresentaram comportamentos semelhantes quanto ao peso corporal ao longo dos 250 dias da lactação, comportamento esse representado na figura 6. A equação de regressão para o peso dos bezerros em função das semanas foi significativa ($P<0,01$), tendo como melhor modelo de ajuste a função quadrática com $r^2 = 0,99$ representada pela seguinte equação: $Y = 0,05 (\text{semana})^2 + 1,7 (\text{semana}) + 34,2$. De acordo com o modelo de regressão proposto o peso inicial foi seguido de aumento em taxas variáveis a cada semana para todos os grupos.

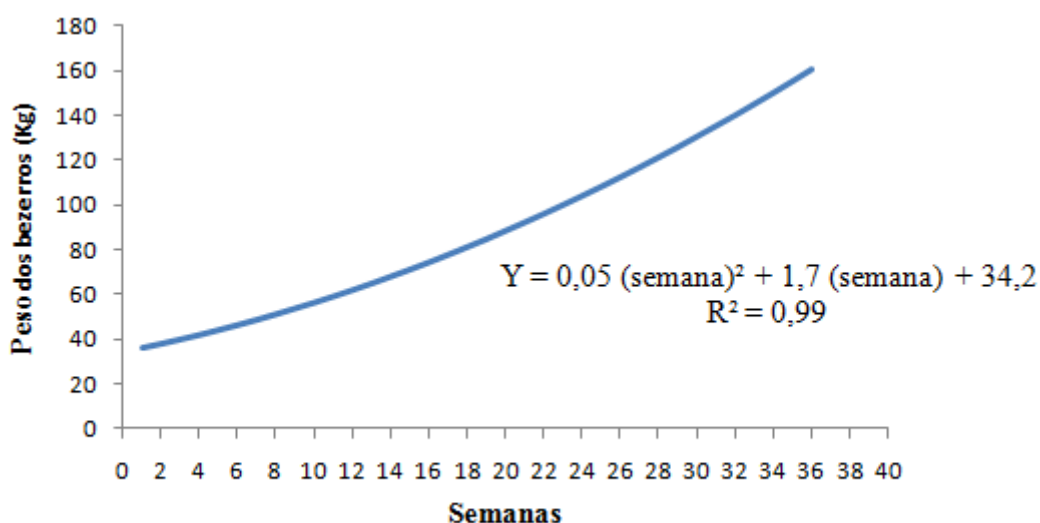


Figura 6 - Comportamento do peso corporal (kg) de bezerros mestiços submetidos a diferentes manejos de amamentação.

Neste experimento, nos primeiros 21 dias da lactação foram deixados um dos tetos anteriores sem ser ordenhado para que os bezerros dos grupos oriundos de vacas ordenhadas quatro e duas vezes ao dia (4BM e 2BM) mamassem durante e após a ordenha. Após este período todos os tetos foram ordenhados, sendo disponível para o bezerro apenas o leite residual. Segundo Combellas e Tesorero (2003), existe uma relação direta entre o consumo de leite pelos bezerros e o ganho de peso diário, que não pode ser observado no presente estudo, uma vez que nos grupos 4BM e 2BM, os bezerros tiveram acesso à maior quantidade de leite durante os primeiros 21 dias de vida. Porém, a maior ingestão de leite pelo bezerro durante esse período, que é considerado crítico para a sobrevivência dos mesmos, não resultou ($P > 0,05$) em maior peso e ganho de peso no decorrer do período de fornecimento e nem após o mesmo. Provavelmente o período de fornecimento adicional de leite não tenha sido suficiente para promover respostas positivas quanto ao desempenho dos bezerros. Resultados semelhantes, em relação ao peso corporal, foram observados por Ruas et al. (2006) em bezerros mestiços amamentados com um maior volume de leite residual devido ao aumento da frequência de ordenha.

Também foi observado que os bezerros filhos de vacas ordenhadas duas vezes ao dia (2BA e 2BM), no início da lactação, apresentaram maior ganho de peso ao longo dos 250 dias de avaliação ($P < 0,01$), do que os bezerros filhos do grupo de vacas submetidas ao aumento da frequência de ordenha (4x, 4BA e 4BM). Segundo Ferreira et al. (2001) a criação de bezerros é caracterizada por altas taxas de mortalidade e morbidade, que podem alcançar taxas de

14,9% até os 90 dias de idade (Ferreira et al., 2001). Contudo, o menor ganho de peso ao longo dos 250 dias de aleitamento para os bezerros filhos de vacas submetidas ao aumento da frequência de ordenha apenas durante os 21 dias da lactação (4x, 4BA e 4BM) pode ser consequência da maior exposição desses, à fatores estressantes e a patógenos durante esse período de vida, devido ao maior número de vezes que estes bezerros entraram em contato com as vacas na sala de ordenha e foram deslocados e manuseados pelos funcionários responsáveis por levá-los até a sala de ordenha. Logo, o baixo ganho de peso durante esse período pode ter refletido em menor ganho de peso ao longo de todo o período de aleitamento para esses grupos.

4.4 Avaliação do desempenho reprodutivo

Os resultados relativos ao período de serviço e número de coberturas por concepção avaliados durante o período experimental para vacas submetidas a diferentes manejo de ordenha e de amamentação do bezerro durante os primeiros 21 dias da lactação estão apresentados na tabela 11. Todas as vacas ficaram gestantes não sendo observada significância para a interação do número de ordenha com a sucção ou não do leite pelos bezerros para nenhuma das variáveis observadas ($P>0,05$). Também não foi observado efeito ($P>0,05$) da frequência de ordenha ou amamentação do bezerro durante as ordenhas apenas nos primeiros 21 dias da lactação sobre o período de serviço e número de coberturas por concepção ($P>0,05$).

Tabela 11 - Médias e desvios padrão (DP) do número de coberturas e período de serviço de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes com o bezerro fazendo o apoio (BA) ou mamando (BM) durante a ordenha nos 21 primeiros dias da lactação, seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Características	Grupos				DP	CV	Probabilidade		
	2 ordenhas		4 ordenhas				Ord	Bez	Ord*bez
	BA	BM	BA	BM					
Número de coberturas	1,5	1,3	1,7	1,3	0,8	-	ns	ns	ns
Período de serviços	89,0	95,4	92,8	98,6	52,5	12,7	ns	ns	ns

ns, $P>0,05$. CV, coeficiente de variação (%). Ord, efeito da frequência de ordenha. Bez, efeito do bezerro mamando. Ord*bez, interação entre o efeito da frequência de ordenha e do bezerro mamando. Teste de Kruskal-Wallis e teste Tukey ($P\leq 0,05$) para número de coberturas e período de serviço, respectivamente.

Embora haja na literatura poucos trabalhos avaliando os efeitos do protocolo do aumento da frequência de ordenha apenas no início da lactação sobre aspectos reprodutivos, Blevins et al. (2006) observaram que o aumento da frequência de ordenha (4x-2x) apenas nos

primeiros 30 dias de lactação resultou em efeitos negativos sobre a reprodução para alguns parâmetros e ausência de influência desse protocolo de ordenha para outros. Já VanBaale et al. (2005), assim como no presente estudo, não relataram diferença entre os tratamentos ao avaliarem o período de serviço e dose por concepção em vacas da raça Holandês ordenhadas 6x ao dia durante os 21 primeiros dias da lactação comparadas com o grupo controle (2x), tendo como média para estas características 126 dias e 2,32 serviços, respectivamente.

Em concordância com os resultados desse experimento, Brandão et al. (2007) e Ruas et al. (2006) também não observaram, respectivamente, o efeito do número de ordenhas (1x, 2x ou 1x-2x intercaladas a cada 14 dias) e da presença do bezerro durante a ordenha em vacas F1 Holandês/Zebu sobre período de serviço, retorno ao cio e taxas de manifestação de cio e gestação.

Para Griffith e Williams (1996) a relação mãe e cria exerce efeito negativo sobre a ovulação, sendo este efeito, segundo Yavas e Walton (2000) causado principalmente por intermédio do bloqueio da liberação do hormônio luteinizante realizados pelos opióides endógenos. Enquanto que para DePeters et al. (1985), alterações no desempenho reprodutivo estariam mais relacionadas a grandes mudanças do peso corporal ao longo da lactação em resposta a produção de leite, o que não foi observado nesse estudo, visto que apesar dos animais submetidos a maior frequência de ordenha no início da lactação terem produzido mais leite, estes animais apresentaram média de peso inicial, aos 21 e 250 dias semelhante as dos grupos duas ordenhas (Tabela 9).

Com relação ao período de serviço, foi observado durante o período experimental média entre os tratamentos de $93,8 \pm 52,4$ dias. Média essa que se encontra dentro do intervalo de 82 e 124 dias de período de serviço capaz de determinar adequada eficiência reprodutiva para vacas mestiças segundo diferentes literaturas nacionais (VASCONCELOS et al., 1989; JUNQUEIRA FILHO et al., 1992b; FREITAS et al., 2003), mesmo estando 8,84 dias acima do valor de 85 dias considerado como ideal para se obter um bezerro por ano.

Já em relação ao número de coberturas por concepção foi observado média de $1,45 \pm 0,76$. Este valor pode estar subestimado devido a ocorrência de falhas na observação da cobertura, pois segundo Valle Filho et al. (1986), cerca de 61% dos cios ocorrem entre o entardecer e amanhecer. Dessa forma como o touro permaneceu continuamente no mesmo piquete das vacas, esse pode ter efetuado a cobertura sem que tenha sido observado pelo funcionário responsável.

Amos et al. (1985) destacaram que a falta da influência de diferentes frequências de ordenhas (2x vs 3x) para características reprodutivas pode estar relacionada ao número

relativamente pequeno de animais por grupo, consistente com o fato que variáveis ligadas a comportamento reprodutivo geralmente apresentam alta instabilidade, caracterizada por coeficientes de variação maiores que 30%, como os apresentados por Carvalho (2009), necessitando muitas vezes de elevado número amostral para alcançar diferença entre tratamentos. Fator esse não encontrado no presente estudo, uma vez que o coeficiente de variação para o período de serviço foi menor do que 15%, mas que deve ser considerado.

4.5 Avaliação financeira

As receitas mensais geradas com a venda do leite foram maiores nos grupos submetidos a quatro ordenhas, em função da maior produção de leite e do maior preço por litro de leite, verificado nesses grupos (Tabela 12), sendo o grupo quatro ordenhas com o bezerro mamando durante a ordenha apresentando receita mensal numericamente superior em R\$ 628,14 quando comparado ao grupo quatro ordenhas somente com apoio. O preço médio por litro de leite foi maior, em razão da maior bonificação recebida por volume e gordura.

Tabela 12 - Receita mensal com a venda de leite estimada durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Grupos	R\$/litro	Média litros/Vaca	Litros/dia	Receita mensal
2BA	R\$ 0,73	17,2	2.339	R\$ 51.574,74
2BM	R\$ 0,73	16,7	2.271	R\$ 50.075,34
4BA	R\$ 0,74	18,9	2.570	R\$ 57.759,54
4BM	R\$ 0,74	19,0	2.584	R\$ 58.387,68

Preços referentes a 2008, não corrigidos monetariamente.

Com relação aos custos operacionais efetivos contabilizados nesta avaliação, como hora/ordenha e custo alimentar/vaca, este foram maiores nos grupos submetidos a quatro ordenhas em função das horas adicionais no processo de ordenha e ao aumento de consumo de alimento em resposta ao aumento da produção de leite (Tabela 13 e 14).

Tabela 13 - Custo mensal hora/ordenha estimado durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Grupos	hora/ordenha	Total (horas)	Horas adicionais	Custo mensal
2BA	R\$ 28,95	151,65	0	R\$ 4.390,27
2BM	R\$ 28,95	151,65	0	R\$ 4.390,27
4BA	R\$ 28,95	151,65	12,2	R\$ 4.743,45
4BM	R\$ 28,95	151,65	12,2	R\$ 4.743,45

Preços referentes a 2008, não corrigidos monetariamente.

Como pode ser observado na Tabela 13, o acréscimo no custo mensal hora/ordenha de R\$ 353,18 é inexpressivo, quando comparado ao aumento de produção de leite e receita observados nesses grupos. O pequeno incremento no custo hora/ordenha é justificado pelo fato do manejo de ordenhas adicionais acontecerem somente nos primeiros 21 dias da lactação, o que seria equivalente em média a 11 vacas a mais sendo ordenhadas por dia, considerando o rebanho de 136 vacas citado nesse exemplo, com duração média de lactação de 250 dias.

Para facilidade de cálculo, o custo alimentar vaca/dia foi calculado a partir do custo alimentar/litro de leite. Dessa forma, o custo alimentar vaca/dia aumentou proporcionalmente ao aumento de produção de leite, verificando-se maiores custos nos grupos submetidos a quatro ordenhas (Tabela 14). Este comportamento no consumo de alimentos é embasado pela literatura, onde estudos observaram aumento de consumo em ajuste ao aumento de produção de leite (BAUMAN, 1992; MCGUIRE et al., 2004; BAUMGARD et al., 2006). No entanto, é importante ressaltar que na prática, o aumento no custo alimentar vaca/dia não ocorre linearmente em resposta ao aumento de produção de leite, uma vez que se observa efeito de diluição do custo alimentar/litro de leite com aumento de produção. A explicação é simples, as exigências nutricionais para manutenção não se alteram com o aumento de produção de leite, porque são basicamente dependentes do peso do animal. Dessa forma, a vaca se torna mais eficiente porque os nutrientes consumidos a mais serão destinados a produção de leite, diluindo assim o seu “custo fixo” ou a manutenção.

Tabela 14 - Custo mensal alimentar vacas de leite durante a lactação de vacas F1 Holandês/Zebu ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Grupos	Custo dieta/ litro de leite	Custo dieta vaca/dia	Custo dieta /mês	% relação á receita
2BA	R\$ 0,30	R\$ 5,16	R\$ 21.263,33	52,85%
2BM	R\$ 0,30	R\$ 5,01	R\$ 20.645,21	54,43%
4BA	R\$ 0,30	R\$ 5,67	R\$ 23.364,94	48,10%
4BM	R\$ 0,30	R\$ 5,70	R\$ 23.488,56	47,84%

Preços referentes a 2008, não corrigidos monetariamente.

Tomando a margem bruta como indicador torna-se expressivo o incremento financeiro proporcionado pelo aumento da frequência de ordenha nos 21º dias de lactação, como pode ser verificado na tabela 15. Quando comparado os grupos submetidos a quatro e a duas ordenhas a diferença média na margem bruta foi positiva na ordem de R\$ 3.982,24, para os animais submetidos a quatro ordenhas, o que equivale ao aumento médio de R\$ 17,3% na margem bruta da atividade leite. Resultados semelhantes foram encontrados por Wall e

McFadden, (2007) e Soberón, (2008), em que estes relataram em estudo econômico/financeiro com rebanhos de composição genética holandesa maior rentabilidade para animais submetidos á maior frequência de ordenha no início da lactação (4x) e subsequente retorno a menor rotina de ordenha (2x) em comparação a duas ordenhas ao longo de toda lactação.

Tabela 15 - Margem Bruta mensal estimada para produção de leite durante a lactação de vacas ordenhadas duas ou quatro vezes durante os primeiros 21 dias da lactação com os bezerros fazendo apoio (BA) ou mamando (BM), seguido por duas ordenhas até o final da lactação

Grupos	Receita Leite	Custo h/ordenha	Custo alimentar	Margem bruta	Diferença da menor margem
2BA	R\$ 51.574,74	R\$ 4.390,27	R\$ 21.263,33	R\$ 25.921,14	R\$ 881,28
2BM	R\$ 50.075,34	R\$ 4.390,27	R\$ 20.645,21	R\$ 25.039,86	R\$ 0,00
4BA	R\$ 57.759,54	R\$ 4.743,45	R\$ 23.364,94	R\$ 29.651,15	R\$ 4.611,29
4BM	R\$ 58.387,68	R\$ 4.743,45	R\$ 23.488,56	R\$ 30.155,62	R\$ 5.115,76

Preços referentes a 2008, não corrigidos monetariamente.

Quando considerando a produção individual por lactação, observa-se aumento médio de 500 litros na lactação a favor dos grupos quatro ordenhas se comparado aos grupos duas ordenhas, equivalente a incremento de R\$ 365,00 por vaca.

5. CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho indicam que o aumento da frequência de ordenha de duas ordenhas diárias para quatro nos primeiros 21 dias da lactação, com ou sem o bezerro mamando durante a ordenha, resultou em consistente aumento da produção de leite e do componente do leite, principalmente em relação a gordura ao longo de toda a lactação e consequentemente da receita, sem aumento substancial no custo de produção, uma vez que, as ordenhas não são distribuídas igualmente ao longo do dia não sendo necessária a criação de novo turno de trabalho.

A utilização desse protocolo de ordenhas em vacas F1 Holandês/Zebu não é o principal responsável por variações no peso corporal das vacas, além de não afetar o desempenho reprodutivo mensurado a partir de número de coberturas por concepção, período de serviço e taxa de gestação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCORSI, P. A.; PACIONI, B.; PEZZI, C. et al. Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in dairy cow. *J. Dairy Sci.*, v. 85, p. 507-513, 2002.
- AKERS, R. M.; LEFCOURT, A. M. Milking- and suckling-induced secretion of oxytocin and prolactin in parturient dairy cows. *Horm. Behav.*, v. 16, p. 87-93, 1982.
- AKERS, R. M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 1222-1234, 2006.
- ALBRIGHT, L.L.; ARAVE, C.W. *The behaviour of cattle*. Wallingford: CAB International, 1997, 306p.
- ALLEN, D. B.; DEPETER, E. J.; LABEN, R. C. Three times a day milking: Effects on milk production, reproductive efficiency, and udder health. *J. Dairy Sci.*, n. 69, p. 1441-1446, 1986.
- AMOS, H. E.; KISER, T.; LOEWENSTEIN, M. Influence of milking frequency on productive and reproductive efficiencies of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 68, n. 3, p. 732-739, 1985.
- ANDERSEN, J. B., FRIGGENS, N. C.; LARSEN, T. et al. Effect of energy density in the diet and milking frequency on plasma metabolites and hormones in early lactation dairy cows. *J. Vet. Med.*, v. 51, p. 52-57, 2004.
- ANDERSEN, J. B.; MADSEN, T. G.; LARSEN, T. et al. The effects of dry period versus continuous lactation on metabolic status and performance in periparturient cows. *J. Dairy Sci.*, v. 88, p. 3530-3541, 2005.
- BAR-PELED, U.; MALTZ, E.; BRUCKENTAL, I. et al. Relations between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 78, p. 2726-2736, 1995.
- BARNES, M. A.; PEARSON, R. E.; LUKES-WILSON A. J. Influence of milking frequency and selection for milk yield on productive efficiency of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, v. 73, p. 1603-1611, 1990.
- BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.*, v. 75, p. 3433-3451, 1992.
- BAUMGARD, L. H.; ODENS, L. J.; KAY, J. K. et al. Does negative energy balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE PROCEEDINGS, 21, 2006, Tempe, Arizona.
- BEN CHEDLY, H.; BOUTINAUD, M.; BERNIER-DODIER, P. et al. Disruption of cell junctions induces apoptosis and reduces synthetic activity in lactating goat mammary gland. *J. Dairy Sci.*, v. 93, p. 2938-2951, 2010.

BLEVINS, C. A.; SHIRLEY, J. E.; STEVENSON, J. S. Milking frequency, estradiol cypionate, and somatotropin influence lactation and reproduction in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, n. 11, p. 4176-4187, 2006.

BOUTINAUD, M.; GUINARD-FLAMENT, J.; JAMMES, H. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reprod. Nutr. Dev.*, v. 44, p. 499-508, 2004.

BRANDÃO, F. Z.; RUAS, J. R. M.; SILVA FILHO, J. M. et al. Efeito do número de ordenhas diárias sobre o desempenho reprodutivo de vacas mestiças Holandês-Zebu. *R. bras. Ci. Vet.*, v. 14, n. 1, p. 28-31, 2007.

BRANDÃO, F. Z.; RUAS, J. R. M.; SILVA FILHO J.M. et al. Influência da presença do bezerro no momento da ordenha sobre o desempenho produtivo e incidência de mastite subclínica em vacas mestiças holandês-zebu e desempenho ponderal dos bezerros. *Ceres*, v. 55, n. 6, p. 525-531, 2008.

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

BRUCKMAIER R. M. Normal and disturbed milk ejection in dairy cows. *Dom. Anim. Endo.*, n. 29, p. 268-273, 2005.

CAMPOS, O. F.; LIZIEIRE, R. S.; DERESZ, F. et. al Sistemas de aleitamento natural controlado ou artificial. I Efeitos na performance de vacas mestiças holandês-zebu. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v. 22, p. 423-431, 1993.

CAMPOS, M. S.; WILCOX, C. J.; HEAD, H. H. et al. Effects on production of milking three times daily on first lactation Holsteins and Jerseys in Florida. *J. Dairy Sci.*, v. 77, p. 770-773. 1994.

CAPUCO A. V.; SMITH, J. J.; WALDO, D. R. et al. Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, n. 78, p. 2709-2725, 1995.

CAPUCO A. V.; AKERS, R. M.; SMITH, J. J. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acid and histology. *J. Dairy Sci.*, v. 80, p. 477-487, 1997.

CAPUCO, A. V.; WOOD, D. L.; BALDWIN, R. et al. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p. 2177-2187, 2001.

CARVALHO, B. C. *Parâmetros reprodutivos, metabolitos e produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu submetidas a dois manejos pré-parto*. 2008. 193f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CASTILLO, V.; SUCH, X.; CAJA, G. et al. Effect of Milking Interval on Milk Secretion and Mammary Tight Junction Permeability in Dairy Ewes. *J. Dairy Sci.*, v. 91, p. 2610-2619, 2008.

COMBELLAS, J.; TESORERO, M. Cow-calf relationship during milking and its effect on milk yield and calf live weight gain. *Liv. Res. Rural Dev.*, v. 3, p. 1-9, 2003.

CONNOR, E. E.; SIFERD, S.; ELSASSER, T. H. et al. Effects of increased milking frequency on gene expression in the bovine mammary gland. *BMC Genomics*, v. 9, n. 362, 2008.

DAHL, G. E.; WALLACE, R. L.; SHANKS, R. D. et al. Effects of frequent milking in early lactation on milk yield and udder health. *J. Dairy Sci.*, v. 87, p. 882-885, 2004.

DAHL, G. E.; AUCHTUNG, T. L.; UNDERWOOD, J. P. et al. Frequent milking in early lactation that increases milk yield also increases prolactin receptor mRNA expression. *J. Anim. Sci.* v. 80(Suppl. 1), p. 53.(Abstr.), 2002

DAVIS, S. R.; FARR, P. J.; COPEMAN, V. R. et al. Partitioning of milk accumulation between cisternal and alveolar compartments of bovine udder: relationship to production loss on once-daily milking. *J. Dairy Res.*, n. 65, p. 1-8, 1998.

DELAMAIRE, E.; GUINARD-FLAMENT, J. Increasing milking intervals decreases the mammary blood flow and mammary uptake of nutrients in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 3439-3446, 2006.

DEPETERS, E. J.; SMITH, N. E.; ACEDO-RICO, J. Three or two times daily milking of older cows and first lactation cows for entire lactations. *J. Dairy Sci.*, v. 68, p. 123-132, 1985.

DURÃES, M. C., FREITAS, A. F., TEIXEIRA, N. M. et al. Fatores de ajustamento para a produção de leite e gordura na raça Holandesa para rebanhos do Estado de Minas Gerais. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 28, p. 1248-1255, 1999.

DUY-AI D. N., MARGARET C. N. Tight Junction Regulation in the Mammary Gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, v. 3, n. 3, 1998.

ERDMAN, R. A.; VARNER, M. Fixed yield responses to increased milking frequency. *J. Dairy Sci.*, v. 78, p. 1199-1203, 1995.

FAEMG. *Diagnóstico da pecuária leiteira do estado de Minas Gerais em 2005*. Belo Horizonte, 2006. 156p.

FARR, V. C.; PROSSER, C. G.; DAVIS, S. R. Effects of mammary engorgement and feed withdrawal on microvascular function in lactating goat mammary glands. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v. 279, p. 1813-1818, 2000.

FERREIRA, F. *Fluidoterapia endovenosa e oral em bezerros com diarreia osmótica induzida*. 2001. 71p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FERNANDEZ, J.; RYAN, C. M.; GALTON, D. M. et al. Effects of milking frequency during early lactation on performance and health of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 82(Suppl. 1), p. 424. (Abstr.), 2004.

FLEET, I. R.; PEAKER, M. Mammary function and its control at the cessation of lactation in the goat. *J. Physiol.*, v. 279, p. 491–507, 1978.

FLINT, D. J.; KNIGHT, C. H. Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, v. 2, p. 41–48. 1997.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V.; Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 1ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda., 2007. 314p.

FORSYTH, I. A. The insulin-like growth factor and epidermal growth factor families in mammary cell growth in ruminants: Action and interaction with hormones. *J. Dairy Sci.*, v. 79, p. 1085–1096, 1995.

FREITAS JUNIOR, J. E.; ROCHA JUNIOR, V. R.; RENNÓ, F. P. et al. Efeito da condição corporal ao parto sobre o desempenho produtivo de vacas mestiças Holandês x Zebu. *R. Bras. Zootec.*, v. 37, n. 1, p. 116-121, 2008.

GISI, D.D.; DEPETERS, E. J.; PELISSIER, C. L. Three times daily milking of cows in California dairy herd. *J. Dairy Sci.*, n. 69, p. 863-868, 1986.

GLORIA, J. R. Fatores genéticos e ambientais que influenciam as características das curvas de lactação de quatro grupos genéticos de mestiças Holandês-Zebu. 2008. 73f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GRAVET, H.O. Breeding of dairy cattle. In: Dairy Cattle Production, Elsevier Science, New York, Gravet, p. 35-76, 1987.

GRIFFITH, M. K.; WILLIAMS, G. L. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biol. Reprod.*, v. 54, p. 761-768, 1996.

GUINARD-FLAMENT, J.; RULQUIN, H. Effect of once vs. twice daily milking on mammary blood flow (MBF) in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.*, v. 51, p. 180, 2001.

HALE, S. A.; CAPUCO, A.V.; ERDMAN, R. A. Milk yield and mammary growth effects due to increased milking frequency during early lactation, *J. Dairy Sci.*, v. 86, p. 2061-2071, 2003.

HART, I. C.; MORANT, S. V. Roles of prolactin, growth hormone, insulin and thyroxine in steroid-induced lactation in goats. *J. Endocrinol.*, n. 84, p. 343-51, 1980.

HENDERSON, A. J.; BLATCHFORD, D. R., PEAKER, M. The effects of long-term thrice-daily milking no milk secretion in the goat: Evidence for mammary growth. *Q. J. Exp. Physiol.*, v. 70, p. 557-565, 1985.

HILLERTON, J. E.; KNIGHT, C. H.; TURVEY, A. et al. Milk yield and mammary function in dairy cows milked four times daily. *J. Dairy Res.*, v. 57, p. 285-294, 1990.

IPEMA, A. H.; BENDERS, E.; ROSSING, W. Effects of more frequent daily milking on production and health of dairy cattle. In: Proc. 3rd Symp. Autom. Dairying, 1987, IMAG, Wageningen, The Netherlands. p. 283–293

JUNQUEIRA, F. S.; MADALENA, F. E.; REIS, G. L. Production and economic comparison of milking F1 Holstein_Gir cows with and without the stimulus of the calf. *Livest. Prod. Sci.*, v. 97, p. 241–252, 2005.

JUNQUEIRA FILHO, G. N.; VERNEQUE, R. S.; LEMOS, A. M. et al. Fatores fisiológicos e de meio sobre a produção de leite por vacas mestiças leiteiras no CNPGL/Embrapa. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 27, p. 153-162, 1992a.

JUNQUEIRA FILHO, G. N.; VERNEQUE, R. S.; LEMOS, A. M. Fatores fisiológicos e de meio sobre o intervalo de partos de vacas mestiças leiteiras no sistema de produção do CNPGL/Embrapa. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 27, p. 163-170, 1992b.

KADOKAWA, H.; MARTIN, B. G. A new perspective on Management of reproduction in dairy cows: the need for detailed metabolic information, an improved selection index and extended lactation, *J. Reprod. Dev.*, v. 52, n.1, p. 161-168, 2006.

KLEI, L. R.; LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M. et al. Influence of milking three times a day on milk quality. *J. Dairy Sci.*, v. 80, p. 427–436, 1997.

KNIGHT, C. H.; DEWHURST, R. J. Once daily milking of dairy cows: relationship between yield loss and cisternal milk storage. *J. Dairy Res.*, v. 61, n. 4, p. 441-449, 1994.

KNIGHT, C. H.; PEAKER, M.; WILDE, C. J. Local control of mammary development and function. *Rev. Reprod.*, v. 3, p. 104–112, 1998.

KOPROWSKI, J. A., TUCKER, H. A. Serum prolactin during various physiological states and its relationship to milk production in the bovine. *Endocrinol.*, v. 92, p. 1480–1487, 1973.

LARSON, B. L. *Lactation*. IOWA: IOWA STATE UNIVERSITY, 1985. 276p.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.*, v. 84, p. 1277–1293, 2001.

MADALENA, F. E.; LEMOS, A. M., TEODORO, R. L. et al. Dairy production and reproduction in Holstein-Friesian and Guzera crosses. *J. Dairy Sci.*, v. 73, n. 7, p. 1872-1886, 1990.

MALTZ, E.; BLATCHFORD, D. R.; PEAKER, M. Effects of frequent milking on milk secretion and mammary blood flow in the goat. *Q. J. Exp. Physiol.*, v. 69, p. 127–132, 1984.

MALTZ, E.; LIVSHIN, N.; ANTLE, A. et al. Variable milking frequency in large dairies: Performance and economic analysis – Models and experiments. *Livest. Prod. Farming*, p. 113–118, 2003.

MAREL, H. L.G. *Desempenho produtivo de vacas mestiças Holandês x Zebu criadas sob diferentes sistemas de ordenha e amamentação*. 1986. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MATOS, L.L. Do pasto ao leite com tecnologia. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E PRODUÇÃO DE GADO DE LEITE, 2, 2001, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: R. B. Reis et al., p. 50-65.

MCGRATH, M. F.; COLLIER, R. J.; CLEMMONS, D. R. et al. The direct in vitro effect of insulin like growth factors (IGFs) on normal bovine mammary cell proliferation and production of IGF binding proteins. *Endocrinol.*, v. 129, p. 671-678, 1991.

MCGUIRE, M. A.; MARK, A.; THEURER, M. et al. Controlling energy balance in early lactation. *Adv. Dairy Tech.*, v. 16, p. 241, 2004.

MORAES, A. C. A.; COELHO, S. G.; RUAS, J. R. M. et al. Estudo técnico e econômico de um sistema de produção de leite com gado mestiço F1 Holandês-Zebu. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 56, n. 6, p. 745-749, 2004.

MORAG, M. Two and three times-a-day milking of cows. *Acta Agric. Scand.*, v. 23, p. 256-260, 1973.

NEGRÃO, J. A.; MARNET, P. G. Effect of calf suckling on oxytocin, prolactin, growth hormone and milk yield in crossbred Gir x Holstein cows during milking. *Reprod. Nutr. Dev.*, v. 42, p. 373-380, 2002.

NETTO, C. L. M. P. *Aumento da frequência de ordenhas no início da lactação em vacas da raça holandês: produção, contagem de células somáticas e composição do leite*. 2010. 40f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

NEVILLE, M. C.; MCFADDEN, T. B.; FORSYTH, I. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, v. 7, p. 49-66, 2002.

NGUYEN, D. A.; NEVILLE, M. C. Tight Junction Regulation in the Mammary Gland. *J. Mammary. Gland. Biol. Neoplasia.*, v. 3, n. 3, p. 233-246, 1998.

NORGAARD, J.; SORENSEN, A.; SORENSEN, M. T. et al. Mammary cell turnover and enzyme activity in dairy cows: Effects of milking frequency and diet energy density. *J. Dairy. Sci.*, v. 88, p. 975-982, 2005.

OLIVEIRA, H. T. V. *Estudo da curva de lactação, ajustada pela função gama incompleta, de alguns fatores que influenciam a produção de leite de vacas F1 Holandês-Gir*. 2002. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ORIHUELA, A. Effect of calf stimulus on the milk yield of zebu-type cattle. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, v. 26, p. 187-190, 1990.

PATON, J.; KENNY, D. A.; MEE, J. F. et al. Effect of Milking Frequency and Diet on Milk Production, Energy Balance, and Reproduction in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 1478–1487, 2006.

POLASTRE, R.; MILAGRES, J. C.; RAMOS, A. A. et al. Fatores genéticos e de ambiente do desempenho de vacas mestiças Holandês-Zebu; V. Correlações genéticas e fenotípicas. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v. 16, p. 261-266, 1987.

PROSSER, C. G. E.; DAVIS, S. R. Milking frequency alters the milk yield and mammary blood flow response to intra-mammary infusion of insulin-like growth factor-I in the goat. *J. Endocrinol.*, v. 135, p. 311–316, 1992.

RAO, I. V.; LUDRI, R. S. Effect of increasing milking frequency on the efficiency of milk production and its organic constituents in crossbred cows. *Ind. J. Anim. Sci.*, v. 54, p. 33–37, 1984.

REIS, G. L.; ALVES, A. A.; LANA, A. M. Q. et al. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. *Ciênc. Rural*, v. 37, n. 4, p. 1134-1138, 2007.

REMOND, B.; COULON, J. B.; NICLOUX, M. et al. Effect of temporary once daily milking in early lactation on milk production and nutritional status of dairy cows. *Ann. Zootech.*, v. 48, p. 341-352, 1999.

REMOND, B.; AUBAILY, S.; CHILIARD, Y. et al. Combined effects of once-daily milking and feeding level in the first weeks of lactation on milk production and enzyme activities, and nutrition status, Holstein cows. *Anim. Res.*, v. 51, p. 101-117, 2002.

RENNISON, M. E.; KERR, M.; ADDEY, C. V. P. et al. Inhibition of constitutive protein secretion from lactating mouse mammary epithelial cells by FIL (feedback inhibitor of lactation), a secreted milk protein. *J. Cell Sci.*, v. 106, p. 641–648, 1993.

RIBAS, N. P.; RORATO, P. R. N.; LÔBO, R. B. Estimativas de parâmetros genéticos para as características da raça holandesa no estado do Paraná. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, v. 22, n. 4, p. 634-641, 1993.

RUAS, J. R. M.; BRANDÃO, F. Z.; BORGES, L. E. et al. Influência da presença do bezerro no momento da ordenha sobre o desempenho reprodutivo de vacas mestiças Holandês-Zebu. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 58, n. 4, p. 530-536, 2006b.

RUAS, J. R. M.; BRANDÃO, F. Z.; FILHO, J. M. S. et al. Influência da frequência de ordenhas diárias sobre a eficiência produtiva de vacas mestiças Holandês-Zebu e o desempenho dos seus bezerros. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 35, n. 2, p. 428-434, 2006a.

RUAS, J. R. M.; SILVA, M. A.; CARVALHO, B. C. et al. A importância da raça gir na formação do rebanho leiteiro nacional. *Informe Agropecuário*, v. 29, n. 243, p. 53-61, 2008.

SANDERS, A. H.; VARNER, M. A.; ERDMAN, R. A. The effects of six times a day milking in early lactation on milk yield, milk composition, body condition and reproduction. *J. Dairy Sci.*, v. 83(Suppl. 1), p. 242(Abstr.), 2000.

SCHIFFLER, E.A. *Análise de eficiência técnica e econômica de sistemas de produção de leite na região de São Carlos, São Paulo*. 1998. 128f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SMITH, J. W.; ELY, L. O.; GRAVES, W. M. et al. Effect of milking frequency on DHI performance measures. *J. Dairy Sci.*, v. 85, p. 3526–3533, 2002.

SOBERÓN, F. *Effect of increased milking frequency during early lactation on performance, metabolism, and mammary cell proliferation of dairy cows*. 2008. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Cornell University, Ithaca, NY.

SOBERÓN, F.; LUKAS, J. L.; VAN AMBURGH, M. E. et al. Effects of increased milking frequency on metabolism and mammary cell proliferation in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, n. 93, p. 565–573, 2010.

SORENSEN, A.; ALAMER, M.; KNIGHT, C. H. Physiological characteristics of high genetic merit and low genetic merit dairy cow: a comparison. *Proc. Br. Soc. Animal Sci.*, p. 4, 1998.

SORENSEN, M. T.; NORGAARD, J. V.; THEIL, P. K. et al. Cell turnover and activity in mammary tissue during lactation and dry period in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 4632–4639, 2006.

STELWAGEN, K.; DAVIS, S. R.; FARR, V. C. et al. Mammary epithelial cell tight junction integrity and mammary blood flow during an extended milking interval in goats. *J. Dairy Sci.*, v. 77, p. 426–432, 1994.

STELWAGEN, K.; FARR, V. C.; DAVIS, S. R. et al. EGTA-induced disruption of epithelial cell tight junctions in the lactating caprine mammary gland. *Am. J. Physiol.* v. 269, p. 848–855, 1995.

STELWAGEN, K.; KNIGHT, C. H. Effect of unilateral once or twice daily milking of cow on milk yield and udder characteristics in early and late lactation. *J. Dairy Res.*, v. 64, p. 487–494, 1997.

STELWAGEN, K. Effect of milking frequency on mammary function and shape of the lactation curve. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p. 204–211, 2001.

SUTTON, J. D. Altering Milk Composition by feeding. *J. Dairy Sci.*, v. 72, p. 2801–2814, 1989.

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K., CLAESSON, C. O.; NELSON, L. Effect of local stimulation of one quarter on milk production and milk components. *J. Dairy Sci.* v. 73, p. 970–974, 1990.

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K.; OLSSON, K. Endocrinology of milk production. *Dom. Anim. Endo.*, v. 29, p. 241–258, 2005.

TEODORO, R. L.; MADALENA, F. E. Dairy production and reproduction by crosses of Holstein, Jersey or Brown Swiss sires with Holstein-Friesian/Gir dams. *Tropical Animal Health and Production*, v. 35, p. 105–115, 2003.

TYRRELL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the energy value of the milk. *J. Dairy Sci.*, v. 48, p. 1215, 1965.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. Sistema de análises estatísticas e genéticas – SAEG. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000.142p.

VANBAALE, M. J.; LEDWITH, D. R.; THOMPSON, J. M. et al. Effect of increased milking frequency in early lactation with or without recombinant bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*, v. 88, p. 3905-3912, 2005.

VALE FILHO, V.R., PINHEIRO, L.E.L., BASRUR, P.K. Reproduction in Zebu Cattle. In: MORROW, D.A. *Current therapy in theriogenology* 2. Diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986. p. 437-442.

VASCONCELOS, J. L. M.; SILVA, H. M.; PEREIRA, C. S. et al. Aspectos fenotípicos do período de serviço em vacas leiteiras com diferentes frações de sangue Holandês. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 41, n. 6, p. 477-482, 1989.

WALL, E.H.; CRAWFORD, H. M.; ELLIS, S. E. et al. Mammary response to exogenous prolactin or frequent milking during early lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 4640–4648, 2006.

WALL, E. H.; MCFADDEN, T. B. The milk yield response to frequent milking in early lactation of dairy cows is locally regulated. *J. Dairy Sci.*, v. 90, p. 716-720, 2007.

WALL, E. H.; MCFADDEN, T. B. Use it or lose it: Enhancing milk production efficiency by frequent milking of dairy cow. *J. Anim. Sci.*, v. 86, p. 27-36, 2008.

WILDE, C. J.; HENDERSON, A. J. Lipogenic enzyme activities in goat mammary gland: changes with stage of pregnancy and lactation and frequency of milking. *Biochem. Soc. Trans.*, v. 13, p. 877-878, 1985.

WILDE, C. J.; HENDERSON, A. J.; KNIGHT, C. H. et al. Effects of long-term thrice daily milking on mammary enzyme activity, cell population and milk yield in the goat. *J. Anim. Sci.*, v. 64, p. 533-539, 1987.

WILDE, C. J.; KNIGHT, C. H. Milk yield and mammary function in goats during and after once-daily milking. *J. Dairy Res.*, v. 57, p. 441-447, 1990.

WILDE, C. J.; ADDEY, C. V. P.; BODDY, L. M. et al. Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. *Biochem. Journal*, v. 305, p. 51–58, 1995.

WILDE, C. J., ADDEY, C. V. P.; PEAKER, M. Effects of immunization against an autocrine inhibitor of milk secretion in lactating goats. *J. Physiology*, v. 49, p. 465–469, 1996.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, v. 54, p. 25-55, 2000.

7. ANEXOS

Anexo 1 - Distribuição dos animais nos grupos experimentais 4BM e 4BA quanto á ordem de lactação, composição genética, produção total de leite na lactação (kg) anterior e previsão de parto

¹ Grupo experimental – 4BM				
Nome	Ordem de lactação	Composição genética	Produção total (kg) LA	Previsão de parto
Caetana	7	H/GUZ	3074	29/09/2008
Buana	6	H/GIR	5611	11/09/2008
Debanada	4	H/GIR	3994	26/10/2008
Encanto	3	H/GIR	3709	17/10/2008
Coima	6	H/Z	4064	17/11/2008
Estaca	3	H/GIR	3913	26/10/2008
Zofina	7	H/GIR	3366	08/11/2008
Bete	6	H/GIR	3603	23/11/2008
Denandista	6	H/N	2202	10/12/2008
Argentina	5	H/GIR	4470	23/11/2008
Bolinha	7	H/GIR	3174	17/12/2008
Bonanza	6	H/GIR	4017	02/01/2009
Dioense	5	H/N	3006	07/01/2009
Média	5,5	-	3708	-
¹ Grupo experimental – 4BA				
Nome	Ordem de lactação	Composição genética	Produção total (kg) LA	Previsão de parto
Cilene	8	H/GUZ	3456	13/09/2008
Donzela	4	H/GIR	3878	27/09/2008
Ebanista	5	H/N	2914	07/10/2008
Condessa	6	H/GUZ	2700	11/10/2008
Porcelana	6	H/GIR	3424	20/10/2008
Brahma	7	H/GIR	3714	01/11/2008
Granfina	2	H/GIR	2335	06/11/2008
Botinha	5	H/GIR	5053	11/11/2008
Chiquita	6	H/GUZ	3795	18/11/2008
Bahamas	7	H/GIR	2616	26/11/2008
Grisalha	3	H/GIR	3371	26/11/2008
Campina	5	H/GIR	3590	28/12/2008
Bogota	6	H/GIR	4519	04/01/2009
Camila	5	H/GIR	4255	04/01/2009
Bolacha	7	H/GIR	3692	07/12/2008
Média	5,5	-	3554	-

LA, lactação anterior. H/Z, cruzamento Holandês com mestiço de Zebu. H/N, cruzamento Holandês com Nelore. H/GIR, cruzamento Holandês com Gir. ¹Grupos 4BM e 4BA = quatro ordenhas durante os 21 primeiros dias da lactação com bezerro mamando e fazendo o apoio.

Anexo 2 - Distribuição dos animais nos grupos experimentais 2BM e 2BA quanto á ordem de lactação, composição genética, produção total de leite na lactação (kg) anterior e previsão de parto

¹ Grupo Experimental – 2BM				
Nome	Ordem de lactação	Composição genética	Produção total (kg) LA	Previsão de parto
Himperial	2	H/GIR	1824	20/12/2008
Cirene	7	H/GUZ	3277	26/11/2008
Burarama	6	H/Z	3680	23/11/2008
Americana	7	H/GIR	3180	02/11/2008
Mamona	6	H/GIR	4558	01/11/2008
Brama	7	H/GIR	4435	26/10/2008
Distraída	5	H/GIR	3763	20/10/2008
Carangola	6	H/GUZ	3674	11/10/2008
Desconfiada	6	H/GIR	3238	27/09/2008
Gamorra	4	H/GIR	2869	15/09/2008
Dorotéia	2	H/Z	2713	04/01/2009
Demanda	5	H/N	3231	03/01/2009
Média	5,2	-	3370	-
¹ Grupo experimental – 2BA				
Nome	Ordem de lactação	Composição genética	Produção total (kg) LA	Previsão de parto
Beatriz	6	H/Z	4030	24/09/2008
Carolina	6	H/GUZ	2339	27/09/2008
Dormecia	4	H/GIR	2015	10/10/2008
Bainha	6	H/GIR	3556	12/10/2008
Cereja	6	H/GUZ	3013	23/10/2008
Dida	4	H/GIR	4203	31/10/2008
Gaga	2	H/GIR	2399	11/12/2008
Derrota	5	H/N	3024	13/11/2008
Dança	6	H/N	3344	24/11/2008
Celeide	5	H/Z	4208	29/11/2008
Belinha	6	H/GIR	4224	17/12/2008
Fazenda	6	H/GIR	5105	06/01/2009
Casaca	7	H/GUZ	3097	06/01/2009
Média	5,2	-	3427	-

LA, lactação anterior. H/Z, cruzamento Holandês com mestiço de Zebu. H/N, cruzamento Holandês com Nelore. H/GIR, cruzamento Holandês com Gir. H/GUZ, cruzamento Holandês com Guzerá.

¹Grupos 2BM e 2BA = duas ordenhas durante os 21 primeiros dias da lactação com bezerro mamando ou fazendo o apoio.

Anexo 3 - Composição do preço do leite baseados nos preços recebidos pela fazenda EPAMIG em 2008

Bonificação								
Grupos	Média/vaca	Volume/dia	Preço/Base	Volume	CCS	Proteína	Gordura	Preço final R\$/L
4BA	18,9	2570,40	0,60	0,0825	0,014	0,0150	0,0286	0,741
4BM	19,0	2585,00	0,60	0,0825	0,014	0,0195	0,0286	0,745
2BA	17,2	2339,20	0,60	0,0750	0,014	0,0180	0,0200	0,727
2BM	16,7	2271,20	0,60	0,0750	0,014	0,0180	0,0200	0,727

Anexo 4 - Cálculo do tempo de ordenha gasto por vaca

Tempo de ordenha/hora	2,5
Nº de conjuntos de teteiras	6
Nº de vacas ordenhadas em média	136
Nº de vacas ordenhas/hora	54,4
Nº de vacas ordenhadas/teteira/hora	9,1
Tempo de ordenha/vaca em horas	0,02
Tempo de ordenha/vaca em minutos	1,10

Anexo 5 - Planilha de cálculo hora/ordenha da fazenda EPAMIG Felixlândia – Dados corrigidos monetariamente referentes a 2008

Itens	Unidade	R\$/Unid.	Total(unid.) Fazenda	R\$/Fazenda	Rateio % ordenha	R\$ Total Final	R\$/hora	%/custo
Energia elétrica (custo anual)	KW	0,178	60597,9	10785,24	94%	10.099,7	5,53	19,1%
Mão-de-obra + encargos (custo anual)	Pessoas	3		33.480,00	100%	33480	18,35	63,4%
Material de limpeza ordenha detergente não clorado	frasco 5 litros	20,15	14	296,1	100%	296,1	0,16	0,5%
<i>*detergente alcalino clorado</i>	frasco 5 litros	25,78	24	618,72	100%	618,72	0,34	1,2%
<i>*detergente ácido</i>	frasco 5 litros	32,2	15	483	100%	483	0,26	0,9%
<i>*detergente limpeza externa ordenha (sabão pó e barra, água sanitária palha de aço, pano de algodão etc...)</i>	Unidade	671,33		671,33	100%	671,33	0,37	1,3%
Papel toalha não usa (despesa com pano de algodão)	Unidade	12,6	18	46,8	100%	46,8	0,03	0,1%
Luvras	Unidade		não usa				0,00	0,0%
Filtro de leite pacote de 100 unidades	4 unidade	58	4	232	100%	232	0,13	0,4%
Insufladores	Unidade	88	36	3168	100%	3168	1,74	6,0%
Mangueiras de leite	Metro	10	17,73	177,3	100%	177,3	0,10	0,3%
tubo curto de teteira (foi acrescentado)	Unidades	14,00	12	168	100%	168	0,09	0,3%
Mangueiras longa de pulsadores	Metro	18,00	12	216	100%	216	0,12	0,4%
Gerenciamento (rateio)	Pessoas	1,00	24000	24000	10%	2400	1,32	4,5%
Manutenção ordenha peças (custo anual)	Total	530,00		530	100%	530	0,29	1,0%
Assistência técnica manutenção (custo anual)	Total	250,00		250	100%	250	0,14	0,5%
Total ano						R\$ 52.837,0		
Total dia						R\$ 144,8		
Total hora (horas/dia = 5 horas)						R\$ 29,0	28,95	100%
Custo vaca/ordenha						R\$ 0,53		