

Rolnei Ruã Darós

**Efeitos do sistema de criação na capacidade cognitiva e estado emocional de bezerros leiteiros**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Agroecossistemas

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria José Hötzel

Co-orientador: Prof. Dr. Daniel M. Weary

Florianópolis  
2014



Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Darós, Rolnei Ruã

Efeitos do sistema de criação na capacidade cognitiva e estado emocional de bezerros leiteiros / Rolnei Ruã Darós ; orientador, Maria Jose Hötzel ; coorientador, Daniel Martin Weary. - Florianópolis, SC, 2014.

67 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas.

Inclui referências

1. Agroecossistemas. 2. viés cognitivo. 3. aprendizagem reversa. 4. separação bezerro-vaca. 5. bem-estar animal. I. Hötzel, Maria Jose. II. Weary, Daniel Martin. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas. IV. Título.



*“Efeitos do sistema de criação na  
capacidade cognitiva e estado  
emocional de bezerros leiteiros”*

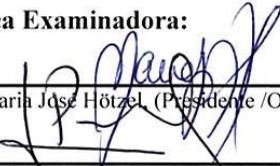
*Por*

**Rolnei Ruã Darós**

Dissertação julgada adequada, em 27 de março de 2014, e aprovada em sua forma final, pela Orientadora e Membros da Banca Examinadora, para obtenção do título de Mestre em Agroecossistemas. Área de Concentração Agroecologia, no Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias/UFSC.

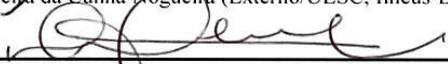
  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ademar Antonio Cazella (Coordenador do Programa)

**Banca Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_  
Dr<sup>a</sup> Maria José Hötzel (Presidente /Orientadora)

\_\_\_\_\_  
Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado Filho (Titular/PGA-UFSC)

  
\_\_\_\_\_  
Dr<sup>a</sup> Selene Siqueira da Cunha Nogueira (Externo/UDESC, Ilhéus-BA)

  
\_\_\_\_\_  
Dr<sup>a</sup> Denise Pereira Leme (Externo/DZDR-UFSC)

**Candidato ao título:**

  
\_\_\_\_\_  
Rolnei Ruã Darós

Florianópolis, 27 de março de 2014.



## **AGRADECIMENTOS**

*À minha família e minha namorada, sem eles eu não teria chegado até aqui.*

*Aos mestres, pelos ensinamentos na vida acadêmica.*

*Aos amigos, pelo apoio incondicional.*

*Agradecimentos especiais àqueles que participaram diretamente nos trabalhos e desenvolvimento dessa dissertação, os orientadores Maria José Hötzel, Daniel Weary e à professora Marina von Keyserlingk, aos alunos de graduação e pós-graduação da UFSC e da UBC e de outras instituições, João Henrique Cardoso Costa, Heather Neave, Rebecca Meagher, Eraldo Drago Filho e Tatiane Camilotti.*

*Aos financiadores das bolsas, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Emergent Leadership of America Program (ELAP e University of British Columbia (UBC).*



## RESUMO

São recorrentes os questionamentos da sociedade em relação ao atual sistema de produção de alimentos. Em relação à produção animal, muitos criticam a forma artificial de produção, que se distancia cada vez mais da vida natural desses animais. A maior parte das espécies zootécnicas são gregárias, ou seja, vivem em um grupo social desde os primeiros dias após o nascimento. Entretanto em sistemas de produção de leite a separação precoce entre a vaca e o bezerro seguida da criação de bezeros em isolamento social são práticas comuns. Essas ocorrem geralmente nas primeiras semanas ou meses de vida, uma fase da vida fundamental para o desenvolvimento neurofisiológico relacionado a aspectos cognitivos e do controle emocional dos animais. No experimento 1 avaliou-se o impacto da separação da mãe sobre o estado emocional de bezeros da raça holandês aos 42 d de idade; no experimento 2 avaliou-se o efeito do isolamento social desde o nascimento sobre a capacidade cognitiva de bezeros comparados a capacidade cognitiva dos bezeros criados em grupo utilizados no primeiro experimento. No experimento 1 foi aplicada a metodologia dos vieses cognitivos. Esta postula que um animal será mais otimista ou pessimista perante a um estímulo ambíguo de acordo com seu estado emocional. Cada bezerro foi testado antes e após a retirada da sua mãe do recinto onde o bezerro estava alojado com um grupo de 4 a 8 vacas e seus bezeros. A separação afetou os bezeros negativamente: em média, os bezeros responderam positivamente aos estímulos ambíguos em  $72,9 \pm 3,6\%$  e  $61,9 \pm 3,6\%$  das vezes antes e após a separação, respectivamente ( $F_{1,7}=6.3$ ,  $p=0.04$ ). Esses resultados foram interpretados como uma mudança negativa no estado emocional dos bezeros após a separação. No experimento 2, quinze bezeros foram criados em dois tratamentos: *isolado*, onde os bezeros eram separados da vaca até 12 h após o parto e transferidos para baias individuais de 1 x 1,2m, e *enriquecido*, onde os bezeros ficavam com as vacas 48 h após o nascimento, quando o par era transferido para um ambiente de criação em grupo, onde tinha acesso a mãe durante a noite. Os bezeros de ambos os tratamentos foram treinados a discriminar as cores vermelho do branco por meio de uma tarefa de “ir ou não-ir”. Após aprenderem a discriminar as cores, eles foram submetidos a uma tarefa de aprendizagem reversa, que consiste na extinção do comportamento previamente aprendido em resposta a um dado estímulo, e a realização de um novo comportamento para o mesmo estímulo. Os bezeros de ambos os tratamentos aprenderam a tarefa de discriminação em  $9,3 \pm$

2,3 DP ( $P=0.16$ ) sessões de treinamento. Os bezerros criados isoladamente não conseguiram aprender a tarefa de aprendizagem reversa, enquanto os bezerros do tratamento enriquecido conseguiram aprender em uma média de  $10,3 \pm 2,4$  DP sessões de treinamento. Défices em aprendizagem reversa podem estar relacionados a falhas no desenvolvimento neurofisiológico. Em conjunto, os dois experimentos trazem as primeiras evidências de problemas relacionados à cognição e estado emocional em bezerros em decorrência de práticas de criação comuns em sistemas comerciais. Isso sugere que o atual sistema de produção enfrenta sérios problemas relacionados ao bem-estar animal.

**Palavras-chave:** Emoções, cognição, viés cognitivo, aprendizagem reversa, separação bezerro-vaca, ética na produção animal, bem-estar animal.

## ABSTRACT

Society has urged for animal production systems that are close related or even mimic animals' natural life. Among farming animals most species are social, living in large groups or herds since soon after birth. In the other hand, in farms it is a common practice to separate these animals from the dam soon after birth and rear them in isolation. Early isolation or even maternal care deprivation has been proven to affect neuropsychological development, impairing cognition and emotional control. Experiment 1, addressed the impact of maternal separation on emotional state of Holstein bulls calves at 42 d of age and in experiment 2 the effect of social isolation since birth on calves' cognitive abilities compared to calves used in the first experiment, which were kept with their dams for 42 d. In experiment 1 we used the cognitive bias paradigm, i.e. an animal experiencing a negative emotional state would expect a negative outcome from an ambiguous stimuli. We tested these animals before and after separation from the dam and found that separation affected these animals negatively ( $F_{1,7}=6.3$ ,  $p=0.04$ ). Calves responded positively to ambiguous stimuli in  $72,9 \pm 3,6\%$  and  $61,9 \pm 3,6\%$  in testing sessions before and after separation, respectively. We interpreted these results as a negative shift on calves' emotion after separation. In experiment 2, fifteen calves were reared in two distinct systems: *isolated*, where the animals were separated from dam up to 12 h after birth and taken to individual pens (1 x 1,2 m), and in a *enriched environment*, where the calves were kept with the cow in the calving pen for approximately 48 h and then were moved together to a group housing pen where the calves had access to their dams during the night. Calves from both treatments were trained simultaneously to discriminate between red and white using a "go/no-go" task. After reached the learning criteria for the colour discrimination phase calves were tested in a reversal learning task, where they had to extinct a behaviour previously learned to respond to a given stimulus and learn other behaviour to respond to this given stimulus. Calves from both treatments took an average of  $9,3 \pm 2,3$  ( $p=0.16$ ) training sessions to achieve learning criteria for the colour discrimination task. However calves reared individually did not achieve learning criterion on the reversal learning while group reared calves learned this task in  $10,3 \pm 2,4$  (SD) training sessions. Reversal learning abilities may be caused by impairment on the neurological development. Together these results brings the first direct evidence that the way we rear animals in most of the commercial farms is affecting negatively calves emotional state and

cognition. It suggests that we are having an ethical problem since farming systems is thought to promote animal welfare.

**Keywords:** Emotion, cognition, cognitive bias, reversal learning, cow-calf separation, animal production ethics, animal welfare.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estados emocionais enquadrados de acordo com sua intensidade e valência.....	23
Figura 2: Representação da baía experimental.....	33
Figura 3: Representação da baía de treinamento.....	34
Figura 4: Respostas positivas à estímulos projetados durante as sessões de teste antes e após descorna e separação da vaca.....	39
Figura 5:Respostas positivas para os estímulos ambíguos nas sessões de teste antes da descorna e separação e após descorna e separação da vaca .....	39
Figura 6: Sucesso na aprendizagem do estímulo negativo ao longo das sessões de treinamento na fase de Discriminação.....	47
Figura 7: Sucesso na aprendizagem do estímulo negativo ao longo das sessões de treinamento na fase de aprendizagem reversa.....	47



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

DP: Desvio Padrão

SD: Standard Deviation

EP: Erro Padrão

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

UBC: University of British Columbia

ELAP: Emergent Leadership of America Program



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
2.1 Comportamento de bovinos em vida livre .....	15
2.2 Sistemas de produção de gado leiteiro .....	16
2.4 Formação da ligação materno-filial.....	19
2.5 Isolamento social e desmame precoce .....	20
2.6 Avaliação do estado emocional de animais .....	22
2.6.1 Vieses de memória.....	25
2.6.2 Vieses de atenção.....	25
2.6.3 Vieses de julgamento .....	26
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
<b>4. EXPERIMENTO 1 – Separação da mãe causa viés negativo de julgamento em bezerros leiteiros</b> .....	<b>30</b>
4.1 Resumo .....	30
4.2 Introdução .....	30
4.3 Materiais e métodos .....	32
4.3.1 Animais e alojamento .....	32
4.3.2 Treinamento .....	33
4.3.3 Sessões de teste.....	35
4.3.4 Procedimento de Descorna.....	35
4.3.5 Procedimento de separação.....	36
4.3.6 Análise estatística .....	36
4.4 Resultados.....	37
4.5 Discussão.....	39
<b>5. EXPERIMENTO 2 – Criação em grupo melhora desempenho cognitivo de bezerros leiteiros</b> .....	<b>43</b>
5.1 Resumo .....	43
5.2 Introdução .....	43
5.3 Materiais e métodos .....	45
5.3.1 Tratamentos .....	45

5.3.2 Treinamento.....	45
5.3.3 Análise estatística .....	46
<b>5.4 Resultados .....</b>	<b>46</b>
<b>5.5 Discussão .....</b>	<b>48</b>
<b>5.6 Conclusão .....</b>	<b>49</b>
<b>6. DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>51</b>
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>55</b>
<b>Referências.....</b>	<b>56</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Existem evidências de que os bovinos começaram ser domesticados há mais de 8 mil anos (Bradley et al. 1996). De lá para cá a relação entre humanos e animais mudou drasticamente. O aumento da demanda por produtos animais *in natura* ou processados de fácil acesso e baratos levou que houvesse uma grande transformação na agricultura moderna. Para os sistemas de produção de carne e leite bovina, uma das saídas foi a concentração de animais em pequenas áreas, com aporte nutricional externo, proporcionado pela alta produtividade de grãos resultantes da revolução verde (Evenson & Gollin 2003).

Apesar de se adaptar a ambientes diversos, os bovinos são animais gregários; vivem em grupos desde o nascimento e assim permanecem até a juventude, no caso dos machos, ou até a velhice, no caso das fêmeas. Antagonicamente, a rotina de uma granja leiteira em sistema confinado-intensivo é muito diferente. Frequentemente, já nos primeiros dias de vida os bezerras machos são descartados; já as fêmeas são separadas das mães nos primeiros dias de vida. Algumas granjas fazem a separação logo após o nascimento, enquanto outras deixam as bezerras por até três dias junto às vacas para permitir que mamem o colostro. Após a separação as bezerras são alojadas em baias individuais, sistema esse utilizado mesmo por produtores que criam animais a pasto e/ou de forma extensiva (Cardoso et al, 2013). O tempo que as bezerras são mantidas nessa baia varia de acordo com o tempo de aleitamento, que em geral é até os 60 ou 90 dias de idade. Após essa fase as bezerras são desaleitadas e reagrupadas para a fase de recria, onde ficam até serem cobertas ou inseminadas. Em vida natural as bezerras não seriam desmamadas antes dos 8 meses de vida e continuariam no rebanho com sua mãe por, provavelmente, toda sua vida (Reinhardt & Reinhardt, 1981).

Hoje são considerados alguns problemas chave na questão do bem-estar animal: a separação bezerro-vaca, o sistema de criação e a idade e forma do desaleitamento. Em um estudo feito por Ventura et al. (2013) avaliou-se a percepção de diferentes públicos ligados à produção de leite na América do Norte a respeito da separação bezerro-vaca. Participantes ligados à indústria de produção foram mais favoráveis à separação imediata, enquanto os consumidores foram contra, opinando que além de permanecerem por mais tempo com suas mães, ambos deveriam ser criados de forma mais “natural”.

Apesar do anseio dos consumidores por um sistema mais próximo ao natural, pouco se sabe sobre os efeitos da separação precoce bezerro-

vaca. Alguns estudos apontam para os benefícios da separação precoce (Flower & Weary 2003); entretanto esses autores apenas mencionam os efeitos a curto prazo, por exemplo, a alteração de comportamentos que indicam estresse de separação. Nenhum desses trabalhos ousou extrapolar seus resultados para o campo dos estados emocionais. Em 2004, foi publicada uma metodologia, proveniente da psicologia humana, para avaliar estados emocionais em animais por meio do componente cognitivo das emoções (Harding et al. 2004; Paul et al. 2005). Posteriormente essa metodologia foi validada e amplamente empregada para avaliar mudanças no estado emocional de animais (Mendl et al. 2009). A partir desse arcabouço teórico decidimos fazer um trabalho para avaliar o efeito da separação bezerro-vaca no estado emocional dos bezerros (Experimento 1).

Além dos efeitos em curto prazo, existem evidências de que a separação precoce afeta o desenvolvimento neurofisiológico e expressão de comportamentos de animais e seres humanos a longo prazo (Rutter, 1979). Animais que foram separados de suas mães precocemente e em seguida isolados socialmente mostraram problemas de desenvolvimento cognitivo, neurofisiológico, de controle emocional e desordens comportamentais (Jones et al. 1991; Poletto et al. 2006b). Com base na hipótese de que o sistema de criação afeta a capacidade cognitiva dos bezerros, desenvolvemos um experimento para comparar a capacidade cognitiva de bezerros criados em grupo e com a presença das mães e bezerros separados precocemente da mãe e criados em isolamento social (Experimento 2).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Nesta seção serão revisados os conhecimentos sobre as áreas chave para o desenvolvimento e entendimento da problemática levantada, assim como o embasamento teórico dos experimentos realizados.

### 2.1 Comportamento de bovinos em vida livre

Entender a estrutura social e a maneira que os animais se comportam em vida livre pode nos dar pistas de como moldar os sistemas de produção. O estudo do comportamento animal tem sido de grande importância para o desenvolvimento da agropecuária. Como exemplo, destaca-se o comportamento de cio de vacas; o seu reconhecimento é fundamental para o uso da inseminação artificial, uma das técnicas de melhoramento genético mais empregada na pecuária mundial (Foote 2002).

Em condições naturais os bovinos (*Bos taurus*) são animais gregários e vivem em grandes rebanhos em áreas de pastagem; para manter o grupo coeso os bovinos necessitam de estratégias comportamentais tais como plasticidade e sincronia entre os membros do grupo que lhes permita diminuir a probabilidade de serem atacados por predadores, e também para evitar brigas desnecessárias dentro do grupo. O grupo é geralmente formado por animais jovens de ambos os sexos, um touro e fêmeas adultas, o que permite a formação de uma hierarquia social. Em geral o touro do rebanho é o dominante seguido das fêmeas mais velhas enquanto os animais mais jovens são subordinados. Os touros jovens vivem em rebanhos mais afastados e eventualmente disputam o harém contra o touro dominante (Phillips 2002).

Para parir, as vacas, como típico de espécies escondedoras, se afastam do rebanho e procuram áreas com maior proteção, como por exemplo locais com arbustos mais altos, ou mesmo bosques. A fêmea mantém sua cria afastada do grupo por aproximadamente três dias, nesse período ela se junta ao rebanho para pastar voltando para amamentar sua cria algumas vezes ao dia, portanto, é normal que os recém nascidos passem por períodos de solidão nessa fase (Vitale et al. 1986; von Keyserlingk & Weary 2007). Após esse período, quando o recém-nascido possui melhor coordenação motora, vaca e bezerro(a) se integram ao grupo.

Nas primeiras semanas de vida os bezerros apresentam em torno de 8 eventos de mamada por dia, sendo que a maior parte desses

ocorrem ao amanhecer e ao entardecer (Reinhardt & Reinhardt, 1981). O período de amamentação pode durar entre 8 a 12 meses e o desmame acontece de forma gradual; a vaca aumenta o número de eventos agonísticos contra seu bezerro à medida em que esse fica mais velho (Weary et al. 2008). Desta forma a fêmea consegue um melhor balanço energético, em detrimento de uma menor produção de leite, o qual permite um novo ciclo e uma possível prenhez (Ball & Peters 2004). Mesmo após o desmame, a vaca e sua cria continuam interagindo positivamente por meio de comportamentos como lambe um ao outro. Um estudo mostrou que a relação comportamental bezerro-vaca permaneceu constante, sem mudanças, mesmo 3 semanas após o desmame, o que indica que a relação entre bezerro-vaca permaneceu inalterada nos aspectos observados (Veissier & Le Neindre 1989).

Outro fator importante é o aprendizado social. Alguns estudos mostram que ruminantes aprendem com animais mais experientes o que fazer (De Paula Vieira et al. 2012b) e o que comer (Ramos & Tennesen 1992; Provenza et al. 2003). No último caso a mãe é considerada uma das principais influências para que ocorra esse aprendizado (Provenza & Balph 1987). Acredita-se que a aprendizagem social é uma forma do animal gastar menos tempo e energia para aprender, já que a estratégia “tentativa e erro” não funciona nos casos em que a primeira tentativa pode levar o animal à morte; um exemplo é a ingestão de alimentos altamente tóxicos (Nicol 2006).

## **2.2 Sistemas de produção de gado leiteiro**

Apesar de não conseguirmos reproduzir o ambiente natural em um sistema comercial, poderíamos identificar as principais características que mais influenciam o desenvolvimento e o bem-estar dos animais, e adapta-las às condições de criação. Entretanto, observa-se que diversos sistemas de produção são empregados em granjas leiteiras, como a base de pasto, extensivo, confinado, semi-confinado, podendo esses, ainda, terem certificação orgânica, selos de proteção aos animais, comércio justo e solidário. Apesar dessa grande variação nos tipos de sistemas, alguns são mais amplamente empregados. O sistema confinado, em estabulação livre ou em *tie stall*, é o sistema mais utilizado na América do norte e Europa, que juntas em 2012 possuíam mais de 33 milhões de vacas em lactação (FAOSTAT 2014).

Esses sistemas consistem na utilização de alta suplementação nutricional, uso intensivo de maquinário e infraestrutura, uma vez que todo o alimento é fornecido no cocho e os animais são mantidos em galpões. Nesse sistema o bezerro recém-nascido é separado da vaca até

o segundo ou terceiro dia de vida, e alojado em baias ou casinhas individuais para a fase de aleitamento por um período, em geral, entre 60 a 90 dias (Fulwider et al. 2008; Vasseur et al. 2010). Esse isolamento afeta o comportamento desses animais e pode afetar o seu desempenho no período de desaleitamento (Jensen et al. 1997; De Paula Vieira et al. 2012a, 2012b). Nesse período, esses bezerros recebem diariamente entre 4 a 6 litros de leite, divididos em duas refeições ao amanhecer e ao entardecer; essa dieta é restrita, já que bezerros podem ingerir quantias em torno de 13 litros por dia quando têm acesso livre ao leite (Khan et al. 2011).

No final da fase de aleitamento os animais entram na fase de transição da dieta, de leite para alimentos sólidos. Quando são desaleitados em geral os bezerros perdem peso e mudam o padrão comportamental, o que indica uma piora no bem-estar nessa fase. Isso ocorre porque os bezerros são desaleitados antes de terem o rúmen completamente desenvolvido e preparado para viver exclusivamente de alimentos sólidos (Weary et al. 2008; Khan et al. 2011). Somado a isso, os bezerros são transferidos da baia individual e alojados em grupo, fase de recria, onde ficam até o final da primeira prenhez. Após o primeiro parto a novilha torna-se vaca e passa a produzir leite. Nesta fase as vacas recebem dietas diferenciadas para pico e fim da lactação ou quando estão secas. Devido a essa dinâmica, as vacas são constantemente transferidas de uma baia para outra. Em todos os casos o reagrupamento pode ser um problema, já que a introdução de novos indivíduos em um grupo gera brigas até que se estabeleça novamente uma hierarquia social (Grant & Albright 2001; von Keyserlingk et al. 2008; Schirmann et al. 2011).

Há ainda, com a modernização das granjas, a introdução de novas máquinas como comedouros automáticos e ordenha robótica, as quais desafiam os animais a se adaptarem às mesmas (De Paula Vieira et al. 2012b), pois envolvem mudanças no comportamento de rotina, ou seja, comportamentos já aprendidos pelos animais.

### **2.3 Bem-estar animal**

Com a grande discrepância entre os sistemas de produção e a vida natural dos bovinos, cresceu muito a preocupação com o bem-estar desses animais. O conceito de bem-estar animal foi definido por vários autores (Broom 1991; Fraser et al. 1997). Apesar de divergências, todos tem um aspecto em comum: são pautados em valores éticos e morais, a partir de que os animais são seres sencientes (Duncan 2006). Como sabemos, esses valores variam de acordo com o tempo e espaço. Por

exemplo, na década de 60 quando se iniciou o debate sobre bem-estar animal na Inglaterra, foram criados conceitos que contemplavam as condições daquela época, como estar livre de fome e sede. Passado o tempo definições mais amplas surgiram; animais devem estar livres de fome e sede e também não estar sujeitos a estados emocionais negativos, e devem ter a oportunidade de experimentar estados emocionais positivos (Fraser et al. 1997). Não será surpresa se novos conceitos mais taxativos surgirem daqui a um tempo, já que é a sociedade que julga os valores éticos e morais. Um exemplo interessante foi o estudo de Ventura et al. (2013), que mostrou que, na percepção de atores ligados à produção de leite, vários aspectos de manejo recorrentes são vistos como positivos, enquanto consumidores não ligados à produção leiteira condenaram muitas das práticas.

Desta forma os consumidores são capazes de pressionar para que os sistemas de produção sejam modificados. Com o avanço das pesquisas que vem mostrando que animais são capazes de experimentar sentimentos além da dor (Mendl et al. 2010), como por exemplo sentimentos complexos como ‘felicidade’, parece inevitável a necessidade de uma mudança nos sistemas de produção. Essa mudança já está começando a acontecer nos sistemas de produção de suínos e frangos, principalmente na Europa (Appleby 2003; Tuytens et al. 2011).

Apesar de alguns estudos indicarem que animais podem ter experiências emocionais, não existe consenso entre pesquisadores quanto à consciência dessas experiências (Panksepp 2005; Dawkins 2012) o que pode influenciar a maneira como interpretamos os resultados de vários estudos. Contradições à parte, na última década houve um aumento significativo de publicações sobre o estado emocional dos animais, talvez influenciadas por alguns estudos de caso, como o de Douglas-Hamilton et al. (2006), que descreve o comportamento de elefantes perante a morte de uma elefante fêmea mais velha. Então, assumimos que os animais são capazes de ter experiências emocionais, já que existem fortes evidências para isso (Panksepp 2005a, 2005b). É nesse contexto que a separação materna precoce passa a ser objeto de estudo também dos pesquisadores em bem-estar animal (Newberry & Swanson 2008).

Além dos estados emocionais, existe outra área que recebe muita atenção dos pesquisadores da área de bem-estar animal: a qualidade e complexidade do ambiente onde o animal está inserido. Cronney & Newberry (2007) comentam que o tamanho e a complexidade do grupo em que o animal está inserido influenciam a sua capacidade cognitiva, isto é, a sua capacidade de lidar com novas situações. A introdução de

enriquecimento ambiental pode ajudar a aumentar a complexidade e qualidade de vida desses animais, fazendo com estes estejam mais aptos a lidar com as mudanças ambientais (van Praag et al. 2000).

## **2.4 Formação da ligação materno-filial**

São recorrentes os comentários do público citando o quão cruel é a separação precoce entre mãe-cria em sistemas de produção (Boogaard et al. 2010; Ventura et al. 2013). Talvez isso envolva certo grau de antropomorfismo, já que nos colocamos no lugar do animal e “tomamos suas dores”. Cientificamente, por outro lado, pouco se sabe sobre o aspecto emocional da relação materno-filial em animais zootécnicos, já que os pesquisadores não extrapolam seus resultados para o campo das emoções, e se limitam ao campo da fisiologia e comportamento (Newberry & Swanson 2008).

Duas estratégias de sobrevivência são descritas na literatura (Newberry & Swanson 2008): animais considerados “estrategistas r” produzem uma grande quantidade de filhotes, porém com baixa taxa de sobrevivência; dessa forma não seria eficaz canalizar energia para a formação de uma ligação materno-filial muito forte. Por outro lado, animais considerados “estrategistas K” têm poucos filhotes, com alta taxa de sobrevivência, provavelmente por terem desenvolvido uma forte ligação materno-filial. Podemos considerar que, assim como os humanos, os bovinos de forma geral são um bom exemplo disso, já que produzem apenas uma cria por ano e existe uma forte relação materno-filial durante o desenvolvimento do bezerro.

Newberry & Swanson (2008) descrevem a relação materno-filial como uma ligação mútua com caráter emocional, que envolve comportamentos de acariciamento, de proteção e aquecimento, e onde os animais se mantém próximos e têm suas atividades sincronizadas. Segundo essas autoras, essa relação é persistente mesmo a períodos de separação. Num estudo piloto, Hudson & Mullord (1977) avaliaram a persistência da ligação entre vaca e bezerro após períodos de separação. Esses autores sugeriram que 5 minutos logo após o parto são suficientes para a formação dessa ligação, que persiste por um período de separação entre 12 a 24h, após esse período de separação a vaca não reconhece mais a sua cria. Os mesmos autores relataram sinais de estresse nas vacas no período de separação, resultados que foram corroborados por Flower & Weary (2001).

Vários fatores podem influenciar a intensidade e qualidade da ligação materno-filial; nesse caso os ovinos são os animais mais estudados. Em ovinos, por exemplo sabe-se que a ingestão de colostro

influencia no desenvolvimento da ligação entre mãe-cria, possivelmente por sua função nutritiva e também por gerar saciedade, o que influencia regiões do cérebro relacionadas com memória, aprendizagem e emoções (Goursaud & Nowak 1999; Val-Laillet et al. 2009). Alguns hormônios foram identificados como responsáveis para o estabelecimento e manutenção dessa ligação (Insel & Young 2001). Em ovelhas a presença de ocitocina intracerebral é fundamental para que se desenvolvam os comportamentos maternos descritos acima; além disso, a ocitocina intracerebral modula outros comportamentos, por exemplo, reduzindo a agressividade e aversão a um cordeiro recém-nascido (Kendrick et al. 1997). A liberação da ocitocina intracerebral é influenciada pelas contrações pré-parto; à medida que o parto se aproxima a sua concentração aumenta, desencadeando todo o processo para que haja um repertório comportamental singular logo após o parto que permite que se forme e estabeleça a ligação materno-filial (Kendrick et al. 1997).

Após o nascimento a vaca lambe a sua cria para limpar as primeiras excreções do bezerro recém-nascido, estimular a respiração e também impregnar o bezerro com saliva que contém feromônios essenciais para a formação da ligação materno-filial (Broom e Fraser, 2007). O bezerro, por sua vez, após levantar-se suga qualquer protuberância da vaca a fim de encontrar o teto para mamar. A frequência de mamadas pode ser um fator que influencia a manutenção dessa ligação por parte do bezerro, já que ele depende do leite materno para sobreviver (da Costa et al. 2008).

## **2.5 Isolamento social e desmame precoce**

Eventos que aconteceram na infância do indivíduo influenciam o seu comportamento na vida adulta (Bolwby, 1969). A teoria do apego foi amplamente divulgada por Bolwby a partir da metade do século XX, e explica por que muitos indivíduos adultos têm comportamento violento e falta de controle emocional. Uma das áreas estudadas por Bolwby foi a ausência de contato entre mãe e filho logo após o nascimento. Os efeitos são adversos e podem não ser percebidos até a idade adulta (Rutter, 1979), como por exemplo, maior propensão em desenvolver esquizofrenia.

Por sua vez, a partir dessas descobertas, alguns animais, particularmente cobaias de laboratório, foram utilizados para estudar os efeitos da separação mãe-cria e isolamento social precoce. Em diversos estudos, ratos foram isolados socialmente após o nascimento a fim de avaliar as possíveis causas da esquizofrenia. Uma das principais características é que animais que foram isolados socialmente apresentam

déficit em aprendizagem reversa (Jones et al. 1991; Schrijver & Würbel 2001). A aprendizagem reversa envolve a extinção de um comportamento previamente aprendido seguido da realização de um novo comportamento, isto é, resolver uma tarefa previamente aprendida de uma outra maneira. Tarefas que utilizam esse paradigma são utilizadas para aferir a flexibilidade comportamental dos animais (Fone & Porkess 2008).

O déficit em aprendizagem reversa pode ser gerado por problemas de desenvolvimento neurológico. Existem indícios de que o isolamento social e a idade de desmame podem ser uns dos principais fatores que prejudicam o desenvolvimento neurológico. Por exemplo, Poletto et al. (2006a, 2006b) submeteram leitões a curtos períodos de separação da mãe e concluíram que a separação influenciou a expressão de genes ligados ao funcionamento neuronal, desenvolvimento e proteção do córtex pré-frontal. Em roedores sabe-se que o córtex pré-frontal é a região do cérebro responsável pelo controle comportamental, tomada de decisões, e inibição de comportamentos (Dalley et al. 2004), controles esses indispensáveis para o sucesso em tarefas de aprendizagem reversa.

Apesar de nenhum experimento em bezerros ter avaliado aspectos neurofisiológicos ligados a expressão dos comportamentos, alguns experimentos indicam que bezerros criados junto com as vacas possuem maior controle em situações causadoras de estresse. Em um experimento, bezerros que tinham tido acesso às vacas apresentaram menor taxa de cortisol em um teste de isolamento social, sugerindo maior controle ao estresse em relação a bezerros que tinham sido criados em grupo, porém sem acesso às vacas (Wagner et al. 2013). Outro trabalho também sugeriu que animais criados com as vacas possuem maior controle em situações de estresse. Duve & Jensen (2012) avaliaram a resposta comportamental de bezerros criados com as vacas quando colocados em um tronco de contenção e encontraram que esses animais apresentavam menor taxa de comportamentos indicadores de estresse do que animais criados individualmente, enquanto animais de idade similar criados aos pares apresentaram respostas intermediária a esses dois tratamentos. Gaillard et al. (2014) encontraram que bezerros criados em pares tiveram maior sucesso em uma tarefa de aprendizagem reversa, comparados com bezerros criados individualmente. Esses autores argumentaram que essa diferença era proveniente de uma maior capacidade cognitiva, influenciada por motivos já discutidos acima.

## 2.6 Avaliação do estado emocional de animais

Avaliar o estado emocional dos animais vem sendo foco de muitas pesquisas e discussões, pois é de grande relevância para as discussões sobre bem-estar animal. Entender como o animal se sente pode ter grande impacto na forma de como a sociedade vê os animais e, conseqüentemente, nos sistemas de criação e manejo.

Não existe consenso entre os cientistas sobre a definição de emoções (Kleinginna & Kleinginna 1981), assim usarei a definição mais genérica, descrita por Panksepp (1998), que propôs que as emoções são mecanismos que permitem ao animal evitar perigos e punições e buscar benefícios e recompensas. Duas dimensões para as emoções são propostas por Russell (2003): intensidade (maior, menor) e valência (positivo, negativo), que se cruzam perpendicularmente formando 4 quadrantes (Figura 1).

Os quadrantes Q1 (ex: ansioso) e Q3 (calmo), correspondem a estados emocionais negativos e positivos, respectivamente ligados ao sistema de recompensas. Desta forma indivíduos em Q3 têm maiores expectativas de conseguir recompensas perante eventos ambíguos, enquanto indivíduos em Q1 não possuem expectativas de conseguir tais recompensas perante o mesmo estímulo. Os quadrantes Q2 (ex: feliz, excitado) e Q4 (ex: depressivo, triste), correspondem a estados emocionais relacionados ao sistema de punição. Indivíduos em Q2 tem expectativas de não serem punidos, enquanto indivíduos em Q4 antecipam o pior, ou seja, a punição (Mendl et al. 2010).

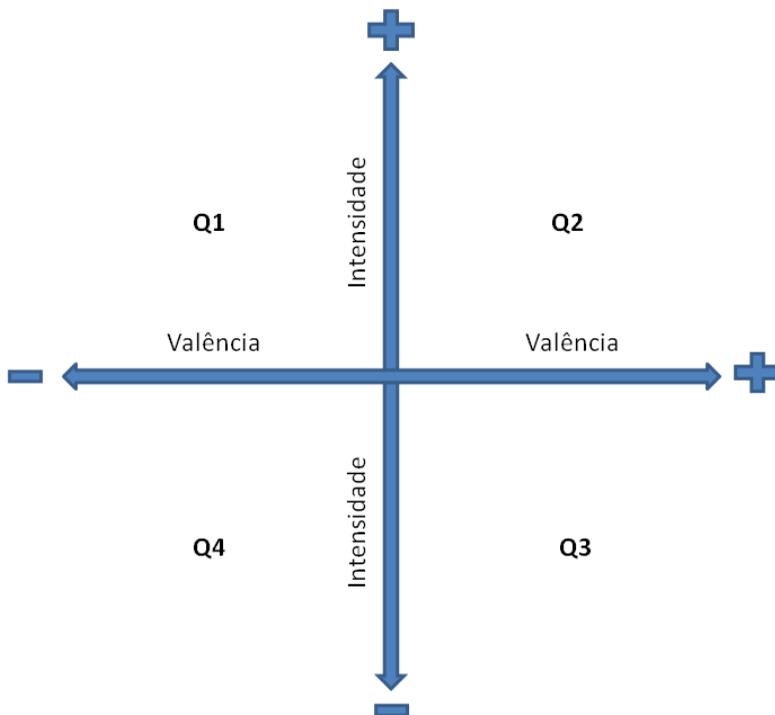


Figura 1: Estados emocionais podem ser enquadrados de acordo com sua intensidade e valência, ou seja se o estado emocional é positivo ou negativo e qual sua intensidade. Exemplos: ansioso (Q1), excitação, felicidade (Q2), calmo (Q3) e depressivo (Q4). Adaptado de Russel (2003).

Estados emocionais são influenciados pelo ambiente; entretanto, o estado emocional em que o indivíduo se encontra pode ser proveniente de um evento agudo pontual ou de eventos acumulados ao longo do tempo. Esse último se refere à base do estado emocional, ao qual o indivíduo retorna após passar por um evento de curta duração que pode ter influenciado momentaneamente seu estado emocional (Mendl et al. 2010).

Para avaliar o estado emocional dos animais, pesquisadores usaram parâmetros fisiológicos (Boissy & Le Neindre 1997) e comportamentais (Sandem & Braastad 2005), e relacionaram essas respostas a sentimentos. Porém, essas variáveis impedem de concluir a respeito da valência daquelas emoções, subjetivamente interpretadas como boas ou ruins pelos animais (Paul et al. 2005). Quanto aos

parâmetros fisiológicos, por exemplo observa-se um pico da taxa de cortisol no sangue em casos que se presumem ser prazerosos (ex. cópula) e não prazerosos (ex. luta). Assim como a avaliação de comportamentos em testes de labirinto, testes de campo aberto, ou nado forçado (Cryan & Holmes 2005) nem sempre são confiáveis para concluir sobre a valência dos estados emocionais (Paul et al. 2005). Por exemplo, caso o indivíduo apresente um retardamento em parar de nadar em um teste de nado forçado, seria por que ele está depressivo ou simplesmente uma tentativa de adaptação ao ambiente? Além disso, alguns estudos mostram que há uma variação na resposta comportamental entre linhagens, ou seja um fator genético, nos diferentes testes aplicados, o que pode prejudicar os resultados. O estado físico do animal no momento do teste também pode afetar os resultados (Hogg 1996; Crabbe et al. 1999). Outro problema é que poucos testes foram desenvolvidos para avaliar estados emocionais positivos (Boissy et al. 2007). A maioria das metodologias foram desenvolvidas para estudar indivíduos em situação de depressão e/ou ansiedade (Ramos & Mormède 1998).

As emoções são compostas por vários componentes, fisiológicos, comportamentais, cognitivos e subjetivos. Esse último é utilizado para avaliação da valência emocional, ou seja, como o indivíduo percebe essa emoção. Porém esse componente dificilmente pode ser avaliado em animais, pois eles carecem de uma linguagem (Paul et al. 2005). Entretanto o componente cognitivo das emoções pode nos indicar sobre a valência emocional. Trabalhos baseados no paradigma dos vieses cognitivos mostram como a mente humana pode raciocinar de maneira ilógica ou distorcida (Tversky & Kahneman 1974) de acordo com o estado emocional. Porém, essas distorções têm valor adaptativo, pois serviriam para que fossem tomadas decisões mais rápidas, imediatas – intuitivamente. Diversos autores concluíram que essas distorções, no caso de seres humanos, seguem um padrão, sendo assim, previsíveis. Diversos trabalhos na área da psicologia foram feitos para avaliar as respostas de pessoas em diferentes estados emocionais a certas perguntas ou estímulos. Nesses estudos, foram encontrados alguns padrões como: pessoas depressivas ou ansiosas, quando questionadas ou deparadas com algum estímulo neutro tendem a responder (julgar) de maneira menos otimista ou mais pessimista, esses questionamentos, enquanto pessoas em estado emocional positivo tendem a ser mais otimistas (Mathews & MacLeod 2005), ou seja interpretar o estímulo ambíguo de forma positiva ou negativa.

Essa teoria foi aplicada para animais e obteve sucesso em avaliar o estado emocional dos animais e pela primeira vez os cientistas puderam concluir sobre a valência emocional em animais, como teorizado por Paul et al. (2005).

Podemos dividir a teoria dos vieses cognitivos em três tipos de vieses: de memória, de atenção e de julgamento, que são descritos abaixo.

### **2.6.1 Vieses de memória**

O estado emocional de um indivíduo influencia o acesso às memórias desse mesmo indivíduo. Alguns trabalhos relatam que seres humanos sob estados emocionais negativos lembram mais facilmente eventos históricos negativos (Gotlib & Krasnoperova 1998). Apesar de extensamente estudado em humanos, esse paradigma é muito difícil de ser utilizado em animais e poucos estudos foram desenvolvidos. Mendl (2001) encontrou que ratos que receberam doses de hormônios como cortisol e adrenalina em níveis moderados – o que se acredita que mudaria o estado emocional desses animais – tiveram sua capacidade de memória melhorada. Já em outro estudo, ratos tiveram sua memória prejudicada após passarem por um evento que lhes causava medo, a exposição a um predador (Woodson et al. 2003).

### **2.6.2 Vieses de atenção**

Em humanos, os vieses de atenção estão relacionados a estados emocionais negativos, como a ansiedade e depressão. Pacientes depressivos tendem a prestar mais atenção e responder mais rapidamente a estímulos negativos do que a estímulos neutros (Peckham et al. 2010).

Em animais, testes que avaliam o comportamento perante uma situação negativa e positiva poderiam indicar o estado emocional desses animais. Por exemplo, animais em estado emocional negativo apresentariam comportamentos de defesa mais rapidamente perante um estímulo como, por exemplo, o acender de uma luz. Outro exemplo seria avaliar o estado de alerta desses animais perante situações ambíguas mais próximas a um evento negativo. Bethell et al. (2012) concluíram que macacos que passaram por eventos negativos tinham um viés de atenção ao serem deparados com imagens de faces de outros macacos que expressavam sentimentos negativos: os macacos desviavam o olhar mais rapidamente para essas imagens do que para imagens de macacos que expressavam sentimentos neutros.

### 2.6.3 Vieses de julgamento

O viés de julgamento tem sido o mais utilizado para avaliar o estado emocional de animais, pois a operacionalização dos experimentos é mais fácil, já que podem ser criadas tarefas onde o animal se depara facilmente com uma situação em que deve tomar uma decisão binária. Por outro lado, no caso dos vieses de memória e atenção, outras áreas de estudo ainda conflituosas teriam que ser discutidas. Por exemplo, a capacidade que um animal têm de lembrar um evento e quais fatores além dos estados emocionais influenciam essa memória.

O primeiro estudo testando a hipótese de que o estado emocional pode afetar a maneira que os animais fazem julgamentos e tomam decisões foi testada por Harding et al. (2004). Para comprovar essa hipótese esses autores condicionaram um grupo de ratos a responderem a estímulos positivos e negativos (tom sonoro frequência 4 ou 2Hz), sendo a recompensa positiva grânulos de ração e a negativa um sinal sonoro; para responder ao estímulo positivo os ratos deveriam pressionar uma alavanca, e para evitar a punição deveriam evitar de pressioná-la. Após o período de treinamento os ratos foram distribuídos randomicamente em dois tratamentos: gaiolas com ambiente previsível ou imprevisível. O segundo tratamento teve por objetivo criar um estado de estresse nos animais, pois a qualquer momento a gaiola poderia sofrer alguma modificação (mudança na posição, cama suja, mudança no ritmo circadiano). Na fase de teste esses animais foram submetidos novamente aos estímulos positivos e negativos, porém foram introduzidos tons sonoros intermediários, ambíguos para os animais, os quais não eram recompensados. Os ratos criados no ambiente imprevisível, ao serem deparados com estímulos neutros (tom sonoro ambíguo), responderam de maneira mais pessimista, da mesma forma que humanos (MacLeod & Byrne 1996), levando à conclusão de que os ratos criados em ambientes imprevisíveis estavam sob um estado emocional negativo (Harding et al. 2004).

Após a publicação desse trabalho, vários outros foram desenvolvidos baseados no mesmo paradigma, usando diferentes espécies, como ratos (Burman et al. 2008), pássaros (Bateson & Matheson 2007; Matheson et al. 2008), cães (Burman et al. 2011), suínos (Douglas et al. 2012), ovinos (Doyle et al. 2010a; Sanger et al. 2011), caprinos (Briefer & McElligott 2013), bovinos (Neave et al. 2013). Alguns desses trabalhos foram revisados por Mendl et al. (2009), com o intuito de validar essas metodologias para a avaliação do estado emocional dos animais.

Alguns cuidados devem ser tomados quanto à utilização dessas metodologias. Mendl et al. (2009) alertam para metodologias que usam tarefas de ir/não-ir (responder ao estímulo positivo com uma tarefa, pressionar uma alavanca por exemplo e não realizar tarefa alguma ao estímulo negativo) que podem enviesar os resultados, pois seria evidente que os animais tendessem ou tenderiam a não realizar a tarefa (não pressionar a alavanca, por exemplo), já que essa resposta não envolveria gasto de energia. Isso, talvez, seria mais evidente quanto menor a motivação para acessar a recompensa. O nível de atividade dos animais também poderia afetar os resultados se este fosse afetado pelo tratamento; por exemplo, animais do tratamento A que tivessem seu nível de atividade reduzido em relação ao grupo B iriam naturalmente responder menos aos estímulos negativos ou ambíguos. Para resolver esses problemas em alguns trabalhos posteriores (Matheson et al. 2008; Burman et al. 2008), foi desenvolvida a metodologia de escolha ativa. Nela, os animais deveriam realizar uma determinada tarefa para ambos estímulos para serem recompensados ou evitar punição (ex. sinal positivo pressionar botão direito, sinal negativo pressionar botão esquerdo), indicando que animais sob tratamentos diferentes estariam com motivação e nível de atividade semelhantes (Mendl et al. 2009).

Outro problema inerente a ambas as metodologias é a capacidade que os animais têm de aprender rapidamente sobre os estímulos ambíguos. Esse problema foi investigado por Doyle et al. (2010), usando ovelhas. Esses autores observaram que, com o passar do tempo (semana 1, semana 2 e semana 3), as ovelhas deixavam de responder aos estímulos ambíguos, indicando aprendizado. Algumas estratégias para evitar ou retardar a aprendizagem foram utilizadas por Bateson & Matheson (2007) e Matheson et al. (2008), que utilizaram recompensas intermediárias para os estímulos ambíguos e Douglas et al. (2012), que faziam sessões de treinamento entre as sessões de teste para reforçar o aprendizado. Outra estratégia que pode ser utilizada para adiar a aprendizagem é não recompensar o estímulo positivo todas as vezes. Desta forma, quando os animais fossem expostos a estímulos não recompensados na fase de testes interpretarem que é normal, às vezes, não receber recompensa alguma.

Na tentativa de confirmar suas hipóteses, diversos autores criaram os mais variados tipos de tarefas. Alguns utilizaram sinais sonoros, como proposto inicialmente por Harding et al. (2004); outros utilizaram a localização espacial que envolve o reconhecimento de certa área como positiva e outra como negativa (Sanger et al. 2011); ou visual

(Neave et al. 2013), que relaciona diferentes cores com estímulos positivos ou negativos.

O número de estímulos ambíguos, ou seja, estímulos intermediários entre os estímulos positivo e negativo, também variou nos estudos, entre 1 a 9. A posição dos estímulos ambíguos, isto é, se é mais parecido com o estímulo positivo ou negativo, pode nos dizer sobre o estado emocional do indivíduo (Mendl et al. 2009). Em humanos, indivíduos mais depressivos apresentam viés aos estímulos ambíguos mais parecidos com o estímulo positivo enquanto indivíduos ansiosos apresentam viés aos estímulos ambíguos parecidos com o estímulo negativo (MacLeod & Byrne 1996). Alguns autores interpretaram seus resultados dessa forma, indicando que os animais estavam em estados emocionais similares à ansiedade, já que apresentaram viés cognitivo perante os estímulos ambíguos mais parecidos com o estímulo negativo (Burman et al. 2008; Pomerantz et al. 2012; Neave et al. 2013).

### **3. OBJETIVOS**

#### **Geral**

- Avaliar os impactos de práticas recorrentes no sistema de criação no estado emocional e cognição de bezerros leiteiros com vistas a promover uma discussão sobre o atual sistema de produção

#### **Específicos**

- Avaliar o efeito da separação da mãe sobre o estado emocional do bezerro recém separado.
  
- Comparar os efeitos da separação da mãe e da descorna a ferro quente sobre o estado emocional do bezerro.
  
- Comparar a capacidade cognitiva de bezerros isolados socialmente desde o nascimento com bezerros criados num ambiente enriquecido.

## **4. EXPERIMENTO 1 – Separação da mãe causa viés negativo de julgamento em bezerros leiteiros**

### **4.1 Resumo**

Seres humanos em estados emocionais negativos tendem a responder de forma negativa (pessimista) a estímulos ambíguos durante processos de tomada de decisão. Assim como humanos, animais passam por eventos negativos durante a vida; em geral animais criados em granjas de produção de leite são separados de suas mães logo nas primeiras horas, dias ou semanas após o nascimento, muito mais cedo do que ocorreria se estivessem em vida livre. O objetivo desse estudo foi avaliar a influencia da separação da mãe no estado emocional de bezerros por meio da metodologia dos vieses cognitivos. Treze bezerros machos foram criados com suas mães e treinados a discriminar as cores vermelha de branca projetadas num monitor de computador por meio de uma tarefa de “ir/não-ir”. Os bezerros então foram testados em sessões com a apresentação de estímulos ambíguos (cores intermediárias entre vermelho e branco). Os bezerros responderam positivamente (“ir”) a esses estímulos em  $72,9 \pm 3,6\%$  (EP) das vezes nas sessões teste que ocorrem antes da separação, enquanto responderam a  $61,9 \pm 3,6\%$  das vezes nas sessões teste após a separação. Essa diferença foi semelhante a diferenças apresentadas antes e após o procedimentos de descorna. Esse é o primeiro experimento que evidencia a existência de viés cognitivo em animais recentemente separados de suas mães, e são indicativos de que tanto a separação quanto a descorna influenciam negativamente o estado emocional desses animais.

### **4.2 Introdução**

Os animais zootécnicos são geralmente separados de suas mães precocemente quando comparados aos animais em vida livre. Por exemplo, em uma granja de produção de leite o bezerro é separado de sua mãe nas primeiras horas após o nascimento. Quando os bezerros permanecem com suas mães forma-se uma forte relação entre eles (Enríquez et al. 2011), que se mantém mesmo após curtos períodos de separação (Hudson & Mullord 1977). Essa relação tipicamente se enfraquece com o passar do tempo quando a dieta do bezerro se torna mais rica em forragem (Martin 1984; von Keyserlingk & Weary 2007). Por outro lado a separação imediata dificulta a formação dessa relação, o que minimiza a resposta ao estresse no ato da separação (Flower & Weary 2003; Stěhulová et al. 2008). Entretanto, em algumas granjas a

separação é feita dias ou semanas após o nascimento, e geralmente de forma abrupta, o que causa uma intensa resposta comportamental e fisiológica no animal (Haley et al. 2005; Loberg et al. 2008; Enríquez et al. 2010).

Podemos dizer que, para o bezerro, a separação da mãe significa perder o acesso ao leite materno e ao contato social com sua mãe. Entretanto, em alguns experimentos esses dois fatores foram avaliados separadamente (Weary et al. 2008; Enríquez et al. 2011). A resposta ao estresse dos bezerros em relação à separação é geralmente reduzida quando o bezerro é separado da mãe quando já não é mais nutricionalmente dependente dela. Por exemplo, Haley et al. (2005) utilizaram tabuletas para prevenir que bezerros pudessem mamar, porém esses animais continuaram em contato direto com as suas mães; esses, após serem separados das vacas, vocalizaram muito menos em comparação com bezerros que sofreram separação e desmame no mesmo momento.

A resposta comportamental descrita acima é um indicativo de resposta emocional à separação. Entretanto, novas definições de emoções e estado emocional incluem além de componentes comportamentais, componentes fisiológicos, cognitivos e subjetivos (Paul et al. 2005). A avaliação direta do componente subjetivo é complexa, já que os animais não são aptos a reportar verbalmente seus estados emocionais. Portanto, como revisados por Mendl et al. (2009), diversos autores avaliaram o componente cognitivo dos estados emocionais. Em seres humanos alguns aspectos do funcionamento cognitivo, como atenção e memória, são afetados pelo estado emocional do indivíduo (Paul et al. 2005). Atenção e memória influenciam na capacidade do indivíduo fazer julgamentos, uma área que tem sido muito estudada para avaliar como o estado emocional influencia a tomada de decisão de indivíduos. Um padrão de resposta tem sido descrito em seres humanos: indivíduos depressivos julgam estímulos ambíguos de forma mais negativa que indivíduos em estado emocional positivo (Mathews & MacLeod 2005).

Esse viés de julgamento tem sido utilizado em várias espécies animais, por exemplo: pássaros (Matheson et al. 2008), ovelhas (Doyle et al. 2010a), ratos (Brydges et al. 2011), abelhas (Bateson et al. 2011), suínos (Douglas et al. 2012), primatas (Pomerantz et al. 2012) e também bezerros (Neave et al. 2013). Vieses negativos de julgamento, isto é, situações em que o indivíduo responde de forma negativa ou pessimista a um estímulo ambíguo/neutro, têm sido observados em animais criados

em ambientes imprevisíveis (Harding et al. 2004) e sob estresse crônico (Destrez et al. 2013).

Nenhuma pesquisa até o momento avaliou o efeito da separação mãe-cria no estado emocional dos animais recém separados. O primeiro objetivo desse trabalho foi comparar as respostas de bezerros a estímulos ambíguos antes e após a separação da vaca. Um recente estudo mostrou que bezerros respondiam negativamente a estímulos ambíguos logo após a descorna (Neave et al. 2013), portanto o objetivo secundário foi avaliar a resposta dos bezerros aos estímulos ambíguos antes e após a descorna para podermos comparar o viés de julgamento causado pela separação e descorna.

### **4.3 Materiais e métodos**

#### **4.3.1 Animais e alojamento**

Foram usados 13 bezerros machos da raça holandês a suas respectivas mães alojados na University of British Columbia Dairy Education and Research Centre (Agassiz, British Columbia, Canada). O experimento foi conduzido durante o ano de 2012 e foi aprovado pelo Canadian Council on Animal Care (Número do protocolo: A12-0337).

Após o nascimento, os bezerros foram mantidos com suas respectivas mães na baia de parição por aproximadamente 24 horas. Após esse período ambos eram movidos para um grupo dinâmico, que variou em número de animais de 4 a 8 pares (bezerro-vaca) no decorrer do experimento. A baia experimental incluía 12 camas para vacas em estabulação livre, área de comedouros e bebedouros para as vacas e, adjacente, uma área livre com piso coberto com maravalha, bebedouros e comedouros que só os bezerros tinham acesso (Figura 2). Os bezerros tinham acesso à área das vacas das 19 às 7 horas, enquanto nas outras horas ficavam restritos à área adjacente; entretanto os bezerros podiam interagir fisicamente com as vacas através da cerca que separava a área adjacente da baia das vacas. Durante todo o experimento as vacas usavam um aparato no úbere que impedia os bezerros de mamar. Os bezerros recebiam uma dieta de 8 litros por dia de leite integral pasteurizado até os 28 dias de idade e, a partir desta idade, recebiam 6 litros por dia até o desaleitamento gradual aos 56 dias de idade. Os bezerros tinham acesso livre a água, concentrado e uma mistura de concentrado, feno e silagem. Uma vez por semana os bezerros eram submetidos a avaliações clínicas e, em caso de moléstia, recebiam cuidados veterinários.

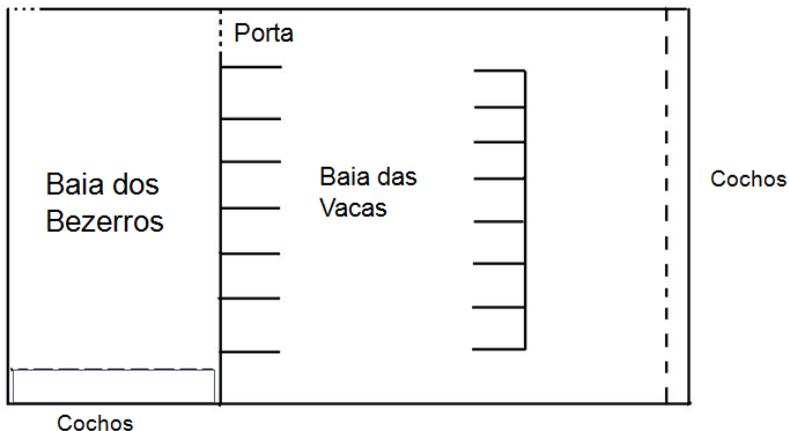


Figura 2: Representação da baia experimental. Bezerros tinham acesso à baia das vacas das 19 às 7 horas diariamente. A cerca que dividia as baias permitia contato visual e físico entre os animais.

#### 4.3.2 Treinamento

A partir dos 5 dias de idade os bezerros eram amamentados somente durante as sessões de treinamento, que ocorriam duas vezes ao dia, às 7:00 e às 16:30 horas, em uma baia de 1 x 1,2 metros. Os bezerros foram treinados a discriminar as cores vermelho e branco projetadas num monitor de computador de 15 polegadas posicionado no fundo da baia, na altura dos olhos dos bezerros (Figura 3).

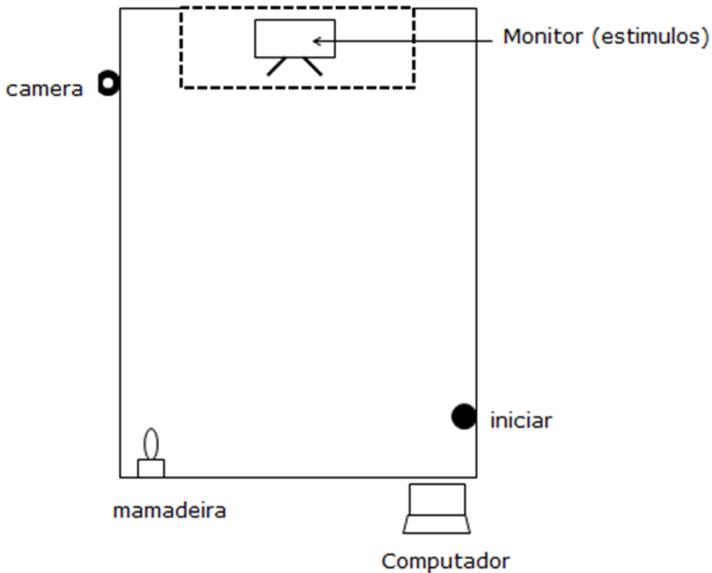


Figura 3: Representação da baía de treinamento. Ao fundo (parte superior da figura) o monitor era posicionado em cima de uma mesa a altura dos olhos dos animais. O controle da projeção das imagens era feita manualmente por meio de um computador portátil colocado próximo ao treinador, já que esse recompensava manualmente os animais com leite com o auxílio de uma mamadeira. Uma câmera foi posicionada na linha da mesa para auxiliar na coleta de dados.

Para discriminar as cores os bezerros foram treinados numa tarefa de “ir/não-ir”; “ir”, significa que os bezerros tinham que se aproximar o mínimo de 20 cm do monitor enquanto era projetada a cor branca, para ser recompensados com leite na outra extremidade da baía. “Não-ir” significa que o bezerro não poderia se aproximar do monitor enquanto era projetado a cor vermelha; caso contrário, seria punido com o soar de um apito (máximo de 1 segundo) e um minuto de tempo de espera, durante o qual a tela ficava desligada. Nas primeiras sessões de treinamento apenas a cor branca era projetada na tela do monitor e, com auxílio do treinador, o bezerro era manualmente orientado a aproximar-se do monitor até que o animal o fizesse por si. Nesta primeira etapa, cada sessão consistia na projeção de 20 estímulos da cor branca. Após os bezerros obterem acima de 90% de acerto nessa fase, estímulos negativos (projeção da cor vermelha no monitor) foram gradualmente

introduzidos, indo de 2 a 6 estímulos negativos em 3 sessões de treinamento consecutivas. As sessões de treinamento continuaram até que os bezerros obtivessem 90% de respostas corretas para a cor branca e 100% de respostas corretas para a cor vermelha por 2 sessões de treinamento consecutivas. Após essa fase era introduzido o botão “iniciar” (figura 3); para que o monitor fosse ligado, agora o animal tinha que tocar com o focinho no botão. Após os bezerros terem aprendido a utilizar o botão, mais estímulos negativos foram introduzidos passando para 8, 12, 16 e 20 estímulos negativos. Uma vez alcançado o mesmo critério de acertos o número de estímulos positivos recompensados foi reduzido de 100% para 50% no decorrer de 3 sessões de treinamento. No final as sessões de treinamento consistiam em 20 estímulos negativos (cor vermelha) e 20 estímulos positivos (cor branca), sendo que apenas dez eram recompensados com leite. Nessa fase, quando os bezerros alcançavam o critério de 85% de resposta corretas para ambos os estímulos os bezerros eram considerados totalmente treinados e aptos para prosseguir às sessões de teste.

#### **4.3.3 Sessões de teste**

Cada sessão de teste consistia na projeção de 60 estímulos: 23 positivos, 22 negativos e 15 estímulos ambíguos. Desses 15 estímulos ambíguos, 5 eram mais avermelhados, 5 eram exatamente a cor intermediária entre vermelho e branco e 5 eram mais esbranquiçados. Obteve-se assim as cores/tonalidades rosa forte, rosa e rosa fraco, ajustadas pelo programa Adobe Photoshop Elements® a partir de 100% de saturação da cor vermelha, o que permitiu proporcionalidade entre as cores/tonalidades. Assim como nas sessões de treinamentos a sequência de projeção das cores foi pseudo-aleatorizada: estímulos ambíguos não eram projetados em sequência, a mesma categoria de estímulo não se repetia por mais do que duas vezes em sequência e, a cada quatro estímulos, pelo menos uma vez o animal recebia a recompensa. Durante as sessões de testes os bezerros não recebiam punição caso respondessem errado aos estímulos ambíguos, e tampouco eram recompensados caso se aproximassem do monitor quando os estímulos ambíguos eram projetados. Sessões de teste foram realizadas antes e após o procedimento de descorna e antes e após o procedimento de separação da vaca, como descritos abaixo.

#### **4.3.4 Procedimento de Descorna**

Os bezerros eram descornados às 10:30 do seu 36° dia de vida. Os bezerros eram primeiramente sedados via injeção intramuscular com

xylazina (Rompun, 2%, Bayer Inc., Ontario; 0.25 mg/kg PV). Após a sedação eram feitas as anestésias locais (5 mL para cada chifre com 2% de Lidocaina; Ayerst Veterinary Labs, Ontario). Após 5 minutos o ferroquente elétrico era aplicado em cada chifre, por um tempo total de 30 segundos em cada chifre.

#### **4.3.5 Procedimento de separação**

Entre as ordenhas da manhã e da tarde as vacas permaneciam na baía experimental normalmente e quando as vacas retornavam da ordenha da tarde os bezerros tinham acesso a área das vacas. Quando o bezerro atingia os 42° dias de idade a sua mãe era conduzida para a ordenha da tarde normalmente, porém após a ordenha essa vaca era realocada em outra baía num galpão distante da baía experimental, não alterando a rotina do experimento. As sessões de testes pré-separação ocorriam na manhã e tarde antes da vaca deixar a baía experimental. As sessões de testes pós-separação ocorriam nas três manhãs seguintes, isto é, em torno de 12, 36 e 60 horas após a remoção da vaca.

#### **4.3.6 Análise estatística**

Todas as análises foram feitas usando o modelo misto Proc Mixed, no SAS 9.3, especificando o bezerro como efeito aleatório e sessão\*estímulo como repetição. Em análises preliminares as sessões de testes descritas abaixo entre parênteses foram comparadas entre si: pré-descorna (tarde e manhã), pós-descorna (tarde e manhã), pré-separação (manhã e tarde) e pós-separação (manhã 12, 36 e 60 h). Como estas não diferiram entre si os dados foram agrupados em uma só média. Desta forma foram obtidas médias para pré e pós descorna e separação. Foram testados o efeito da tonalidade dos estímulos ambíguos, fases (pré e pós procedimento) e a interação entre tonalidade e fase. Essa análise foi repetida para os estímulos positivos e negativos, para avaliar se a resposta a esses estímulos tinha mudado de acordo com as fases. Para testar se os bezerros tinham aprendido a discriminar os estímulos ambíguos entre os procedimentos, a resposta aos estímulos ambíguos entre as fases pré-descorna e pré-separação foi comparada. Finalmente, para testar se o viés cognitivo que houve após os procedimentos (descorna e separação) foi semelhante, foram comparadas as fases pós-descorna e pós-separação.

Só foram incluídos nas análises os dados de bezerros sadios (sem sinais de diarreia e/ou febre) imediatamente antes das sessões de teste. Para os testes antes e após a descorna, 12 do 13 bezerros foram

incluídos, e para os testes antes e após a separação apenas 8 dos 13 bezerros foram incluídos.

#### 4.4 Resultados

Todos os bezerros conseguiram discriminar entre os estímulos positivos e negativos. Após uma média, de  $32 \pm 5,2$  (DP) sessões de treinamento os bezerros foram considerados completamente treinados às sessões teste. As respostas aos estímulos positivos e negativos não diferiram entre as fases de teste. As taxas de resposta durante as sessões pré e pós-descorna foram em média  $\pm$  EP,  $98 \pm 0,5\%$  para o estímulo positivo e  $1 \pm 0,5\%$  para o estímulo negativo; para as sessões pré e pós-separação foram  $99 \pm 0,5\%$  para estímulos positivos e  $2 \pm 0,5\%$  para estímulos negativos.

Os bezerros responderam menos aos estímulos ambíguos após a descorna ( $F_{1,11}=6.4$ ,  $p=0.03$ ), aproximando-se do monitor em 66% das vezes contra 73% das vezes nas sessões pré-descorna. A tonalidade do estímulo ambíguo influenciou a resposta dos bezerros, que se aproximaram mais do estímulo ambíguo de tonalidade mais clara (cor mais parecida ao do estímulo positivo) enquanto se aproximaram menos do estímulo de tonalidade mais escura (cor mais parecida ao do estímulo negativo) ( $F_{2,22}=371.6$   $p<0.001$ )(Figura 4a). Não houve interação entre as fases (pré e pós-descorna) e estímulos ambíguos ( $F_{2,22}=2.4$ ,  $p=0.12$ ), porém numericamente a diferença (viés) entre a média das respostas pré e pós-descorna aos estímulos de tonalidade rosa-forte foi maior.

A separação da vaca também afetou negativamente a resposta dos bezerros aos estímulos ambíguos ( $F_{1,7}=6.3$ ,  $p=0.04$ ); os bezerros aproximaram-se do monitor em 73% das vezes antes da separação contra 62% das vezes nas sessões pós separação (Figura 4b). Novamente, a tonalidade do estímulo ambíguo influenciou a resposta dos bezerros ( $F_{2,14}=88.9$   $p<0.001$ ) (Figura 4b). Não houve interação entre as fases (pré e pós-separação) e estímulos ambíguos ( $F_{2,14}=0.8$ ,  $p=0.47$ ), porém numericamente a diferença (viés) entre a média das respostas pré e pós-separação aos estímulos de tonalidade rosa e rosa-forte foi maior.

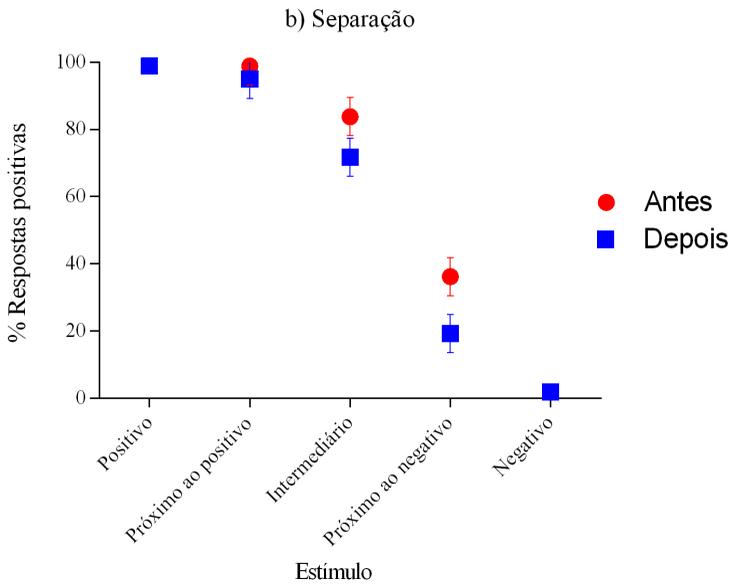
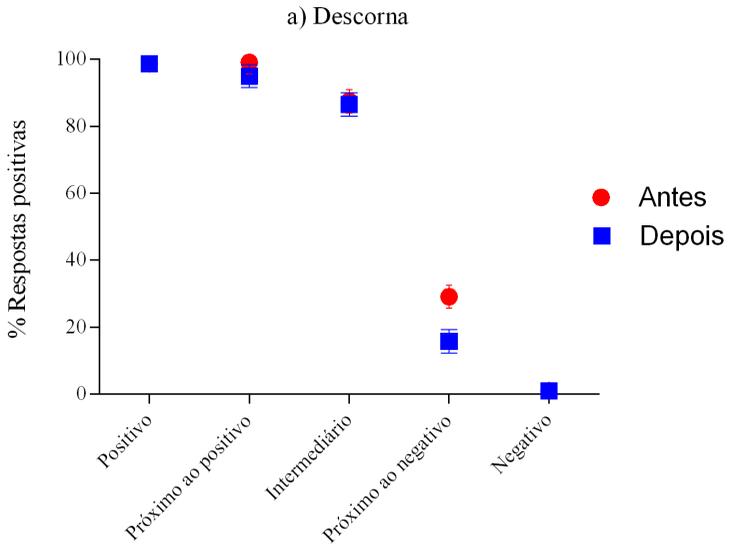


Figura 4: Média  $\pm$  EP % respostas positivas à estímulos projetados durante as sessões de teste antes e após a) descorna (n=12 bezerros) e b) separação da vaca (n=8 bezerros). As respostas são apresentadas separadamente para cada estímulo (positivo, negativo e as três categorias de estímulos ambíguos). Foi utilizada a média das respostas entre os três estímulos ambíguos nas análises estatísticas. Respostas aos estímulos positivo e negativo se sobrepõem na imagem.

As respostas dos bezerros aos estímulos ambíguos foram semelhantes nas fases pré-descorna e pré-separação ( $F_{1,6}=0.0$   $p=0.97$ ; Figura 5), sugerindo que os mesmos não aprenderam a evitar esses estímulos durante os testes. Da mesma forma a resposta aos estímulos ambíguos pós-descorna e pós-separação foram similares ( $F_{1,6}=1.5$   $p=0.27$ ; Figura 5), sugerindo que a magnitude do viés de julgamento foi similar para os dois procedimentos.

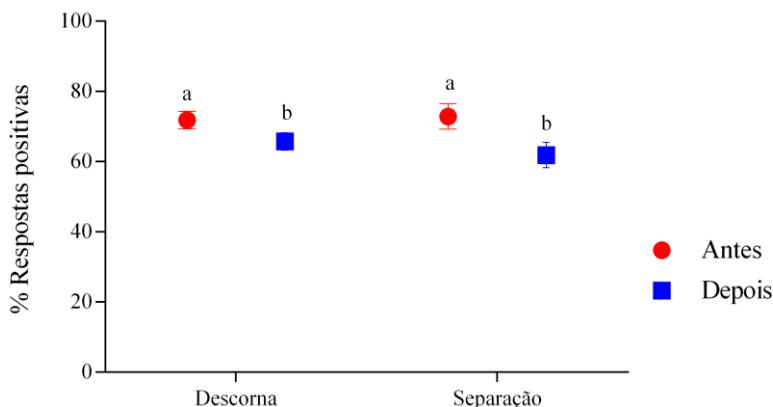


Figura 5: Média  $\pm$  EP % respostas positivas para os estímulos ambíguos nas sessões de teste antes da descorna e separação (círculo) e após descorna e separação da vaca (quadrado). Letras diferentes indicam diferença estatística ( $p>0.05$ ).

#### 4.5 Discussão

Os bezerros apresentaram um viés negativo de julgamento aos estímulos ambíguos após a separação da mãe. Essa resposta é condizente com a hipótese de que a separação da mãe afeta

negativamente o estado emocional de um indivíduo (Weary & Chua 2000; Flower & Weary 2001). Este é o primeiro trabalho a relatar a influência da separação da mãe na capacidade cognitiva e relacioná-la com o estado emocional do bezerro. Este resultado soma-se a trabalhos anteriores que tinham mostrado que a separação materna é acompanhada de comportamentos e respostas fisiológicas que indicam estresse, como aumento de vocalizações, atividade locomotora, cortisol e noradrenalina (Hickey et al. 2003; Haley et al. 2005; Hötzel et al. 2010; Veissier et al. 2013).

Em bovinos a separação bezerros-vaca tipicamente envolve o desmame somado a mudanças no âmbito social e físico (Enríquez et al. 2011). Em situações experimentais, separar esses fatores acaba se tornando difícil (Weary et al. 2008). O desenho experimental utilizado neste experimento permitiu que o bezerro fosse separado da vaca enquanto eram mantidos constantes outros fatores, como grupo social, espaço físico e suprimento de leite, já que desde o nascimento os bezerros sempre tinham mamado leite através de mamadeiras. Esse desenho experimental permite atribuir o viés de julgamento estritamente à separação da vaca.

O presente estudo também foi o primeiro a avaliar o efeito de dois procedimentos distintos em processos cognitivos que envolvem tomada de decisão e julgamento por parte dos animais utilizando a metodologia dos vieses cognitivos (Paul et al. 2005). Um trabalho anterior mostrou que bezerros julgaram negativamente estímulos ambíguos após a descorna (Neave et al. 2013), quando os animais expressam comportamentos e respostas fisiológicas que indicam dor (Stafford & Mellor 2011). No presente estudo foi comparado o viés de julgamento perante os procedimentos de descorna e separação; os bezerros mostraram viés de julgamento após a descorna, assim como os resultados encontrados por Neave et al (2013), e também mostraram viés de julgamento similar perante o procedimento de separação. É incerto se a amplitude do viés de julgamento pode ser usada para medir a magnitude do efeito no estado emocional nos animais. Entretanto, se isso for verdadeiro, pode-se dizer que a separação da vaca influencia negativamente o estado emocional do bezerro tanto quanto o procedimento de descorna a ferro quente.

Em 2003 foi levantada a hipótese de que áreas do cérebro que são ativadas quando sentimos dor também são ativadas quando somos excluídos socialmente ou sofremos uma perda social (Panksepp 2003). Essas informações vão ao encontro daquelas que encontramos no experimento 1. Apesar de não podermos traduzir explicitamente que a

experiência emocional sofrida pelos bezerros após a descorna foi a mesma experiência pós separação da mãe, o estudo citado acima nos ajuda a inferir que essas emoções podem ser semelhantes, já que os procedimentos influenciaram de maneira similar as respostas dos bezerros aos estímulos ambíguos.

Uma explicação para a redução nas respostas aos estímulos ambíguos nas fases posteriores aos procedimentos poderia ser que os animais tivessem aprendido que estímulos ambíguos não eram recompensados e simplesmente parassem de responder positivamente a esses. Por exemplo, Doyle et al. (2010b) encontraram que ovelhas respondiam menos a estímulos ambíguos com o passar do tempo, o que provavelmente ocorreu, segundo os autores, porque houve aprendizado. No presente estudo foram tomadas precauções para evitar que os bezerros aprendessem que os estímulos ambíguos não eram recompensados. Os estímulos ambíguos foram apresentados aos bezerros poucas vezes por sessão e 50% dos estímulos positivos não eram recompensados desde o final da fase de treinamento o que fazia com que os bezerros estivessem acostumados a não receber recompensas em 50% das vezes que o estímulo positivo era apresentado. Três evidências sugerem que não houve aprendizagem no presente estudo: 1) não foram encontradas diferenças nas respostas aos estímulos ambíguos entre a primeira e a segunda sessão pré-descorna e a primeira e a segunda sessão pré-separação; 2) não foram encontradas diferenças nas respostas aos estímulos ambíguos entre as fases pré-descorna e pré-separação, e 3) tampouco foram encontradas diferenças nas respostas aos estímulos ambíguos entre as fases pós-descorna e pós-separação.

Outra explicação para que os resultados encontrados não fossem causados pela separação ou descorna que poderia ser levada em conta é que os bezerros estariam menos motivados a receber o leite após a descorna e separação. Entretanto, a resposta aos estímulos positivos e negativos foram similares durante todas as fases de teste, sugerindo que a motivação para beber o leite não foi afetada.

Estudos feitos com humanos têm mostrado que indivíduos clinicamente ansiosos tendem a ter um viés de julgamento a estímulos ambíguos mais parecidos com estímulos negativos (no caso do presente estudo, viés de julgamento maior para a tonalidade rosa-forte); por outro lado, indivíduos clinicamente depressivos têm maior viés de julgamento a estímulos ambíguos mais parecidos com estímulos positivos (MacLeod & Byrne 1996). Por isso Burman et al. (2008) e Pomerantz et al. (2012) interpretaram que os animais que apresentaram viés de julgamento para estímulos ambíguos mais parecidos com os estímulos

negativos estavam sob estado emocional mais similar à ansiedade do que à depressão. No presente estudo os bezerros responderam numericamente menos aos estímulos ambíguos mais parecidos com o estímulo negativo nas fases pós-procedimentos, sendo o resultado para o procedimento de descorna similar ao encontrado por Neave et al. (2013). Assim, sugere-se que os procedimentos aqui descritos induzem os animais a um estado emocional similar a ansiedade.

Em conclusão, a separação da vaca induziu um viés de julgamento negativo nos bezerros; essa resposta foi similar ao viés induzido pela descorna. Esses resultados sugerem que tanto a dor causada pela descorna quanto a separação social, duas práticas corriqueiras na produção leiteira, produzem uma resposta emocional negativa em bezerros leiteiros.

## **5. EXPERIMENTO 2 – Criação em grupo melhora desempenho cognitivo de bezerros leiteiros**

### **5.1 Resumo**

Existem amplas evidências de que a criação em grupo melhora o desempenho cognitivo de bezerros leiteiros. Entretanto, em granjas de produção de leite, geralmente os bezerros são criados individualmente. Até o momento nenhum experimento avaliou o efeito desse sistema de criação no desempenho cognitivo desses animais. Neste estudo comparou-se a capacidade de aprendizagem de bezerros criados individualmente ou em grupo, por meio de uma tarefa de discriminação de cores e aprendizagem reversa. Os bezerros foram treinados a partir dos 5 dias de idade a discriminar a cor vermelha de branca projetadas em um monitor de computador por meio de uma tarefa de ir/não-ir. Os bezerros alcançaram o critério de aprendizagem numa média de  $9,3 \pm 2,3$  (DP) sessões de treinamento, sem diferença entre os sistemas de criação ( $p=0.16$ ). Na tarefa de aprendizagem reversa os estímulos-resposta previamente aprendidos foram invertidos e o treinamento continuou por 13 sessões. Sete de 8 bezerros criados em grupo alcançaram o critério de aprendizagem em  $10,3 \pm 2.4$  (DP) sessões de treinamento, enquanto apenas 1 dos 7 bezerros criados individualmente alcançou o critério, em 10 sessões de treinamento (teste exato de Fisher;  $p=0.008$ ). Os resultados desse experimento mostram as primeiras evidências de que a criação em grupo melhora o desempenho cognitivo de bezerros. O déficit cognitivo em bezerros pode tornar os animais menos aptos a se adaptar à novas rotinas e manejo.

### **5.2 Introdução**

O contato social desde o nascimento é essencial para o desenvolvimento de seres humanos, uma área que tem sido extensivamente estudada. Indivíduos que sofrem isolamento social ou privação social durante a infância tendem a apresentar distúrbios psicológicos e comportamentais durante a vida (Rutter, 1979). Na produção animal os impactos do isolamento social precoce são ainda pouco estudados, entretanto estudos (De Paula Vieira et al. 2010, 2012b) sugerem que o isolamento social na fase de aleitamento afeta negativamente o crescimento e a capacidade de aprendizagem de bezerras criadas isoladamente comparadas a bezerras criadas aos pares desde o nascimento.

Sob condições naturais, bovinos jovens mamam nas suas respectivas mães entre 8 a 14 meses (Reinhardt e Reinhardt, 1981).

Porém mesmo após esse período esses animais mantêm contato social frequente com suas mães e outros animais do grupo, o que demanda um repertório comportamental complexo. Em contrapartida, em unidades de produção de leite que utilizam sistemas intensivos os bezerros são separados logo após o nascimento e são mantidos isolados, por exemplo, em casinhas ou baias, por um período entre 4 a 10 semanas após o nascimento.

O principal argumento dos produtores e técnicos no que diz respeito à separação precoce e isolamento social é que a criação individual favorece o controle da alimentação e o manejo sanitário, e diminui a transmissão de doenças (Ventura et al. 2013). Entretanto, a criação individual evita que os animais tenham contato social com os demais, o que pode trazer desvantagens comportamentais e psicológicas para os animais (Flower & Weary 2003; Duve & Jensen 2012; Wagner et al. 2012). Além disso, para bovinos o contato social durante as primeiras semanas de vida diminui a resposta ao estresse perante o desaleitamento e melhora o desempenho pós desaleitamento (De Paula Vieira et al. 2012a).

A criação em grupo também pode beneficiar o desenvolvimento cognitivo dos bezerros. Trabalhos feitos com outras espécies mostram que o isolamento social pós-nascimento causa déficit de cognição em ratos (Fone & Porkess 2008). Por exemplo, os ratos que foram criados isoladamente mostram a mesma taxa de aprendizado para uma tarefa de discriminação, porém quando essa tarefa se torna uma tarefa de aprendizagem reversa, isto é, o animal tem que inibir um comportamento previamente aprendido e realizar outro comportamento para executar a mesma tarefa, os ratos criados isoladamente mostram problemas no aprendizado (Jones et al. 1991; Schrijver et al. 2004). A metodologia da aprendizagem reversa permite que seja avaliada a capacidade de aprendizado (Sappington et al. 1997) e a flexibilidade comportamental de indivíduos (Bolhuis et al. 2004).

Embora em alguns experimentos bezerros tenham conseguido desempenhar tarefas bastante complexas (Neave et al. 2013), poucos trabalhos têm investigado o desempenho cognitivo de bezerros (Lensink et al. 2006; Gaillard et al. 2014). Um estudo recente mostrou que bezerros criados individualmente demoram mais para aprender a usar um comedor automático (De Paula Vieira et al. 2012b), o que os autores atribuíram a uma baixa capacidade dos bezerros criados individualmente em resolver problemas.

O objetivo do presente estudo foi comparar o desempenho de bezerros criados individualmente e em um grupo complexo, em uma tarefa de discriminação e aprendizagem reversa.

### **5.3 Materiais e métodos**

Este experimento foi conduzido na granja experimental da University of British Columbia Dairy Education and Research Centre (Agassiz, BC, Canada) no ano de 2012. Os animais foram tratados de acordo com as recomendações do Canadian Council on Animal Care e do National Farm Animal Care Council (NFAAC, 2009).

#### **5.3.1 Tratamentos**

Quinze bezerros machos da raça holandês foram utilizados no experimento. Logo após o nascimento, alternadamente, cada bezerro era identificado e alocado em um dos dois tratamentos; criação individual ou criação em grupo. Sete bezerros foram designados à criação individual que consistia na separação bezerro-vaca até 6 horas após o parto e alojamento em baia individual de 1 x 1,2 m revestida com maravalha. Os outros 8 bezerros foram designados à criação em grupo, e mantidos como descrito no Experimento 1. Todos os bezerros eram alimentados conforme descrito no Experimento 1.

#### **5.3.2 Treinamento**

Os bezerros foram treinados conforme descrito no experimento 1. Entretanto, metade dos animais foram treinados a associar a cor vermelha como o estímulo positivo e branca como o estímulo negativo, enquanto os demais bezerros foram treinados de forma oposta. Após o aprendizado completo (conforme descrito para o Experimento 1), os estímulos eram invertidos, ou seja, o estímulo positivo agora se tornava negativo e vice-versa. Nessa fase, chamada de aprendizagem reversa, os bezerros foram treinados por até 13 sessões, antes do desaleitamento. A primeira sessão de treinamento consistia na projeção do estímulo positivo por 20 segundos, para incentivar os animais ao aprendizado precoce, já que havia limitações quanto ao número de sessões de treinamento. A partir da segunda sessão eram introduzidos o estímulos negativos introduzidos da mesma forma descrita anteriormente. Como todos os animais obtinham sucesso na resposta aos estímulos positivos, o critério para aprendizagem nessa fase foi de duas sessões consecutivas com 100% de sucesso nas respostas aos estímulos negativos.

### 5.3.3 Análise estatística

Para a fase de discriminação o efeito do tratamento no número de sessões de treinamento para atingir o critério de aprendizagem foi testado através de um T-teste. Já para a fase de aprendizagem reversa utilizou-se um teste de ranqueamento (teste exato de Fisher), já que vários animais não alcançaram o critério de aprendizagem. Todos os dados foram analisados por meio do programa SAS 9.3.

### 5.4 Resultados

Não houve diferença entre os tratamentos ( $p=0.16$ ) para a fase de discriminação, embora os bezerros criados em grupo alcançaram o critério de aprendizado em (média  $\pm$  EP)  $8,9 \pm 0,9$ ; (máximo = 13; mínimo = 7) sessões de treinamento, enquanto os bezerros criados individualmente alcançaram o mesmo critério em  $10,6 \pm 0,6$  sessões de treinamento.

Na fase de aprendizagem reversa 7 dos 8 bezerros criados em grupo alcançaram o critério de aprendizagem, o que levou uma média de  $10,3 \pm 2,4$  DP sessões de treinamento; o único bezerro desse tratamento que não alcançou o critério respondeu errado a apenas dois estímulos negativos na penúltima sessão de treinamento. Em comparação, os bezerros criados individualmente não obtiveram o mesmo sucesso (teste exato de Fisher;  $p=0.008$ ). Apenas 1 dos 7 bezerros alcançou o critério de aprendizagem, alcançado em 10 sessões de treinamento. Entre os que não alcançaram o critério, três bezerros não obtiveram sucesso na resposta, sequer a um estímulo negativo, em todas as sessões de treinamento dessa fase.

O desempenho de aprendizado ao longo das sessões de treinamento podem ser visualizadas nas Figuras 6 e 7.

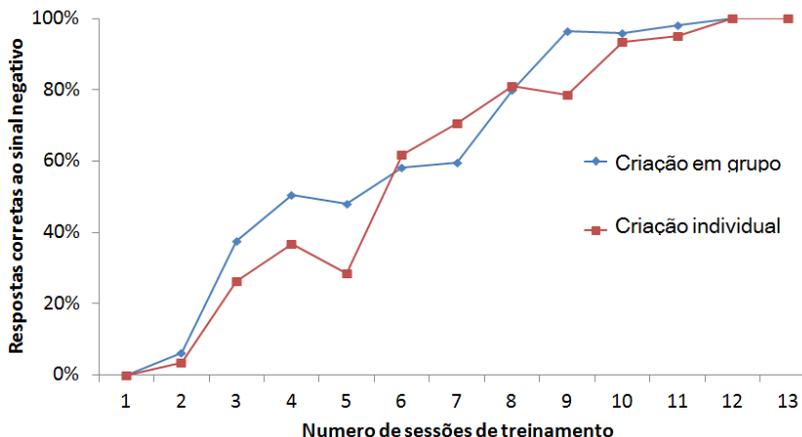


Figura 6: Sucesso na aprendizagem do estímulo negativo ao longo das sessões de treinamento na fase de discriminação. Linha azul representa o desempenho dos bezerros criados em grupo; linha vermelha representa o desempenho dos bezerros criados de forma individual. Os animais de ambos os grupos experimentais alcançaram o critério de aprendizagem em 9,3 ( $\pm 2,3$  DP) sessões de treinamento.

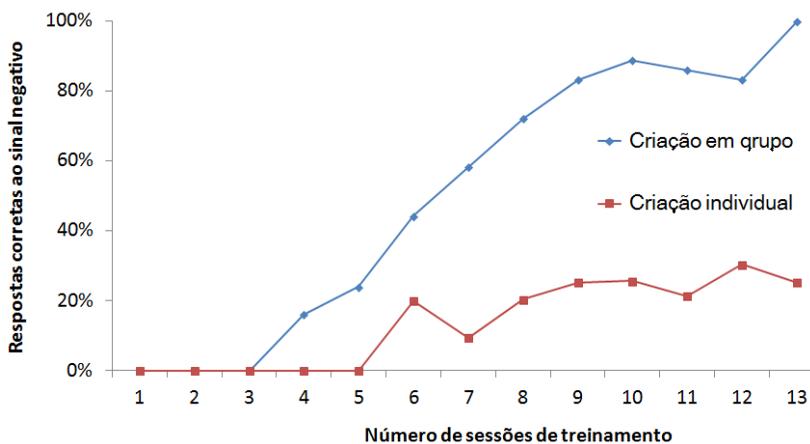


Figura 7: Sucesso na aprendizagem do estímulo negativo ao longo das sessões de treinamento na fase de aprendizagem reversa. Linha azul representa o desempenho dos bezerros criados em grupo; linha vermelha representa o desempenho dos bezerros criados de forma individual. Os animais criados em

grupo atingiram 100% de respostas corretas, enquanto apenas 20% de acerto foi observado nos animais criados individualmente com 13 sessões de treinamento.

## 5.5 Discussão

Bezerros criados individualmente não alcançaram o critério de aprendizagem na fase de aprendizagem reversa no mesmo período de tempo que os bezerros criados em grupo. Esse resultado corrobora os encontrados por Gaillard et al. (2014), que encontraram que bezerros de 1 a 2 meses de idade alojados em pares desde o nascimento obtiveram melhor desempenho do que bezerros criados individualmente numa tarefa de aprendizagem reversa. Os nossos resultados também corroboram a conclusão de De Paula Vieira et al. (2010), que sugeriram que bezerros criados individualmente tinham déficit cognitivo comparados a bezerros criados em pares, já que esses aprendiam a utilizar um alimentador automático mais rapidamente.

Os déficits em aprendizagem reversa podem ser interpretados como falta de flexibilidade comportamental (Bolhuis et al. 2004), isto é, uma incapacidade de modular ou alterar o comportamento perante um determinado estímulo (ver Coppens et al. 2010 como exemplo). Segundo alguns autores essa incapacidade pode ser resultante de uma vida monótona, em ambientes muito previsíveis (Jones et al. 2011). Cronney & Newberry (2007) argumentam que o tamanho e a complexidade do grupo social são fundamentais para o desenvolvimento cognitivo dos animais, pois viver em grupo possibilita que os animais deparem com situações novas frequentemente. Com o nosso desenho experimental os bezerros criados em grupo tiveram acesso a um grupo social complexo que envolvia a entrada e saída de animais jovens e adultos de forma imprevisível. Isso pode ter sido uma das causas da grande diferença de aprendizagem encontrada no nosso experimento. As consequências do isolamento social logo após o nascimento têm sido amplamente descritas em várias espécies como um fator estressante que pode ter impactos a curto e longo prazo no desenvolvimento neurológico, hormonal e comportamental. Por exemplo, um curto período de isolamento social nas primeiras semanas de vida foi suficiente para alterar o comportamento, hormônios ligados ao estresse e o desenvolvimento neurológico em leitões (Poletto et al. 2006a, 2006b). Os autores desse estudo argumentaram que o sistema neurofisiológico dos animais jovens não está totalmente desenvolvido e não consegue lidar com altas concentrações de hormônios, como o cortisol, o que acaba causando danos a algumas regiões do cérebro, principalmente regiões ligadas à memória e ao controle comportamental. Em ratos

foram identificadas as estruturas cerebrais que em geral estão associadas a diferentes formas de flexibilidade comportamental (Coppens et al. 2010). Duas estruturas que influenciam diretamente a capacidade de aprendizagem reversa foram identificadas: o córtex orbital pré-frontal, responsável por simples mudanças comportamentais e o córtex pré-frontal medial que está ligado a mudanças nas estratégias comportamentais (Dalley et al. 2004).

Além do desenvolvimento neurológico, alguns outros fatores podem ter influenciado os resultados do nosso experimento. Em um estudo piloto em bezerros, Lensink et al. (2006) encontraram que animais recém desmamados aprenderam mais rápido uma tarefa de aprendizagem reversa do que bezerros que haviam sido desmamados um mês antes do teste. Esses autores sugeriram que bezerros recém desmamados tinham melhor controle comportamental, pois ainda não estavam sofrendo do estresse pós-desmame. Em outro estudo foi encontrado que ovelhas que estavam cronicamente estressadas levaram mais sessões de treinamento para aprender uma tarefa de discriminação (Destrez et al. 2013).

Em uma tarefa de aprendizagem reversa, ratos criados em grupo obtiveram maior sucesso do que ratos criados isoladamente (Jones et al. 1991); os autores atribuíram essa resposta a um déficit de atenção dos ratos criados isoladamente, que poderia ter sido causada por diferenças no estado emocional desses animais. Recentes estudos mostram que bezerros sofrem emocionalmente após a descorna (Neave et al. 2013), e após a separação da vaca (mãe) (capítulo 4). Esses estudos nos fazem pensar que, se mesmo procedimentos pontuais são capazes de influenciar o estado emocional a curto prazo desses animais, ser criado isoladamente desde o nascimento deveria também mudar o seu estado emocional. Existe uma relação entre estado emocional e cognição que não é muito estudada, entretanto, alguns trabalhos têm explorado essa relação (Burman et al. 2011; Pomerantz et al. 2012; Briefer & McElligott 2013) e mostrado como o empobrecimento do ambiente pode afetar o estado emocional dos animais e consequentemente a capacidade cognitiva (Destrez et al. 2013).

## **5.6 Conclusão**

Os bezerros de ambos os tratamentos foram capazes de aprender a discriminar as cores vermelha de branco em um mesmo número de sessões de treinamento. Entretanto, os bezerros criados em grupo foram capazes de mudar o seu comportamento perante a inversão dos estímulos, mostrando maior flexibilidade comportamental. Isso

sugere que a criação individual de bezerros influencia negativamente a capacidade de aprendizado desses animais. Os resultados aqui descritos têm implicações éticas (será que devemos criar animais de maneira que prejudique sua cognição?) e práticas, como por exemplo, animais criados em grupos parecem ser mais aptos a se adequarem a novas mudanças de rotina e manejo.

## 6. DISCUSSÃO GERAL

Em conjunto, os dois experimentos trazem as primeiras evidências de que práticas recorrentes no sistema de criação prejudicam a capacidade cognitiva e afetam o estado emocional de bezerros leiteiros. A capacidade que o bezerro possui de perceber o ambiente, interpretá-lo e se comportar de forma apropriada lhe dá flexibilidade para lidar com situações novas ou desafiadoras. A partir do momento que criamos os bezerros de formas que prejudicam essa capacidade, estamos piorando o nível de bem-estar desses bezerros. Por exemplo, atualmente há uma discussão muito grande sobre a forma mais eficaz de se desenhar os corredores e as baias de granjas que possuem ordenhadeiras robóticas, para encorajar que as vacas sejam ordenhadas voluntariamente. Mesmo assim as granjas com ordenhadeiras robóticas descartam várias vacas por não se adaptarem comportamentalmente a esses sistemas (Jacobs & Siegford 2012a, 2012b). Segundo o que mostramos em nossos resultados esse problema pode estar relacionado com a forma de criação das bezerras nessas granjas.

A mudança no estado emocional dos bezerros causada pela separação da mãe traz evidências de que essa prática empobrece o bem-estar desses animais, se assumirmos a definição de bem-estar animal proposta por Fraser et al. (1997). Um sistema de produção que a ligação materno-filial se desenvolva plenamente e termine de forma gradual parece corresponder aos desejos do público (Boogaard et al. 2010; Ventura et al. 2013) e além do mais pode trazer outros benefícios ainda não estudados para a cadeia de produção leiteira. Os impactos positivos da ligação materno-filial dentro de um sistema de produção infelizmente não podem ser amplamente estudados pois não existem, ou são muito raros, sistemas que combinem o pleno desenvolvimento da relação materno-filial com produtividade e escala.

Difícilmente podem ser aplicadas nos sistemas de produção todas as práticas que permitiriam aos bezerros elevados níveis de bem-estar, pelo menos de forma rápida e abrupta. Como exemplo, podemos citar os sistemas de criação de bezerros em grupo, que tem sido amplamente divulgados, porém são empregadas em número ainda reduzido. Vasseur et al. (2010), relataram que apenas 12% das granjas canadenses avaliadas e 23% das granjas estadunidenses criavam os bezerros em grupo. Mesmo em Santa Catarina onde os sistemas de produção de leite são menos intensificados somente 28% das propriedades avaliadas no estudos de Cardoso et al (2013) criavam os bezerros em grupo.

Entretanto diversos autores alertam para os benefícios desse modelo de criação (Jensen et al. 1997; Chua et al. 2002; De Paula Vieira et al. 2012a), que devido ao grande número de argumentos a favor desses sistemas de criação devem ser adotados em larga escala futuramente.

Como exemplo podemos citar um caso interessante da medicina humana. Há 50 anos atrás já se discutia a capacidade de humanos recém-nascidos sentirem dor (revisado por: Fitzgerald & McIntosh 1989). Apesar da crença de que recém nascidos não necessitam de analgésicos ainda se perpetuar (Simons et al. 2003), hoje existe consenso da comunidade médica e científica de que bebês sentem dor e essa deve ser mitigada. Esse exemplo citado acima também serve para ilustrar o que está passando em torno da capacidade dos animais sentirem emoções. Apesar de ser impossível avaliar se o que os animais sentem possui ou não o mesmo valor subjetivo que atribuímos ao nosso estado emocional, assumimos que eles são capazes de sentir emoções (Panksepp 2005b), e que isso os influencia positiva ou negativamente.

Em 2004 o primeiro estudo sobre a influência do estado emocional na cognição dos animais foi publicado (Harding et al. 2004) seguido de uma revisão (Paul et al. 2005), e a partir desses um grande número de estudos utilizaram o mesmo paradigma. Entretanto essa metodologia pretendia avaliar a mudança no estado emocional de um animal após esse ter passado por um período contínuo de estresse, conforme comentado por Paul et al. (2005). Em estudos posteriores a manipulação, remoção ou adição de enriquecimento ambiental foram utilizados para causar essa mudança nos estados emocionais dos animais (Bateson & Matheson 2007; Brydges et al. 2011; Douglas et al. 2012). No experimento 1 encontramos que a metodologia dos vieses cognitivos mostrou-se eficaz para determinar a flutuação no estado emocional após eventos pontuais como a descorna e a separação da mãe. Todos os experimentos feitos até 2009 usando essa metodologia induziram a mudança no estado emocional dos animais por meio de metodologias que utilizavam métodos contínuos (Mendl et al. 2009, 2010). A evidência aportada por este estudo reforça a metodologia dos vieses cognitivos e abre caminho para que mais estudos sobre influência de eventos pontuais sobre o estado emocional de animais. Um exemplo de tema particularmente de interesse para a pesquisa de bem-estar animal seria o efeito no estado emocional dos métodos de castração, uma vez que milhões de animais de diversas espécies são castrados anualmente em diferentes sistemas de produção.

Apesar dos nossos resultados focarem na resposta emocional do bezerro perante a separação da vaca, alguns estudos mostram que as

vacas também sofrem. Por exemplo, Sandem & Braastad (2005) mostraram que no momento da separação, as vacas expõem mais a parte branca do olho, o que, segundo eles é um indicativo de frustração. Eles também comentaram que no momento da separação as vacas mostravam comportamentos que indicam frustração, como por exemplo o aumento no número de vocalizações e atividade locomotora. Esse mesmo resultado também foi encontrado em estudos com vacas leiteiras (Weary & Chua 2000) e de corte (Ungerfeld et al. 2011). Apesar de não termos coletados nenhum dado sobre o comportamento das vacas após a separação, os participantes do projeto relataram que, ao serem levadas a nova baía, essas vacas vocalizavam muito e realizavam comportamento exploratório acentuado, como se estivessem à procura de algo. Isso indica a necessidade de mais estudos abordando as consequências da separação para a vaca.

A descorna é um procedimento que causa dor (Stafford & Mellor 2011). Entretanto, até recentemente apenas um estudo tinha avaliado o efeito da descorna no estado emocional dos bezerros (Neave et al. 2013). O experimento 1 corroborou com os resultados encontrados por esses autores e, juntos, esses trabalhos apresentam fortes evidências de efeito negativo causado pela descorna no estado emocional dos bezerros. Poderia ser argumentado que esses estudos deveriam ser acompanhados de um grupo controle, ou seja, que sofressem uma descorna fictícia e fossem testados pois existem evidências que após procedimentos cirúrgicos, pacientes mostram sinais de delírio e estresse, provavelmente por efeitos dos sedativos e anestésias (Tripi et al. 2004) e não pela dor ou desconforto. Por curiosidade nós desenvolvemos um projeto piloto avaliando o efeito da xylazina (sedativo utilizado no procedimento de descorna) na capacidade cognitiva dos animais utilizando a mesma metodologia do experimento 1 e não encontramos qualquer efeito da mesma (dados não publicados).

Algumas questões remanescentes sobre o experimento 2 devem ser investigadas no futuro. Que fatores contribuíram para o déficit de aprendizagem reversa em bezerros criados individualmente? Essa resposta também não foi respondida no trabalho de Gaillard et al. (2014). Alguns experimento deveriam focar no desenvolvimento neurológico desses animais, enquanto outros experimentos poderiam avaliar a diferença no estado emocional desses indivíduos. Para esse último talvez um experimento que utilizasse a metodologia dos vieses cognitivos fosse a mais indicada. Hoje na UBC está se desenvolvendo um trabalho similar ao experimento dois, entretanto com o uso de tratamentos intermediários, criação em pares desde o nascimento e

criação em pares após 40 dias de idade. O objetivo principal é entender melhor qual o papel do enriquecimento ambiental e “quanto” e “quando” o enriquecimento ambiental influencia a capacidade de aprendizagem de bezerros.

A maneira como nós humanos criamos os animais mudou muito com o passar do tempo. Apesar da maior produtividade, essa mudança trouxe profundos impactos na qualidade de vida desses animais. Com a inclusão sistemática da questão do bem-estar animal nas pautas de discussão entre governos, órgãos reguladores de comercialização mundial e consumidores, os nossos resultados têm implicações éticas e trazem elementos importantes para essa discussão. Não tratam de incrementos na produtividade, ou maior lucratividade, mas expõe questões como “devemos criar animais de forma que prejudique o desenvolvimento e capacidade cognitiva dos animais?” Ou ainda, “devemos separar os animais jovens de suas mães tão cedo?” Apesar das soluções para esses problemas parecerem distantes, elas podem ser construídas de forma sistemática ao longo do tempo.

## 7. CONCLUSÕES

A separação materno-filial causa uma mudança negativa no estado emocional dos bezerros. Essa mudança é similar àquela causada pela descorna, um procedimento doloroso. A metodologia empregada neste estudo mostrou-se eficaz para detectar diferenças no estado emocional dos animais causadas por fatores pontuais como a dor e a separação social.

Os bezerros são capazes de aprender uma tarefa complexa e discriminar entre as cores vermelho de branco. A criação individual de bezerros afeta negativamente a capacidade cognitiva dos bezerros, pois bezerros criados em um ambiente enriquecido com acesso à mãe e um grupo de vacas e bezerros mostram um melhor desempenho numa tarefa de aprendizagem reversa do que bezerros criados isoladamente. Isso pode ser traduzido como uma maior flexibilidade comportamental. É essencial que um animal consiga mudar seu comportamento para garantir que suas motivações sejam satisfeitas ainda mais em sistemas de produção totalmente artificiais que desafiam os animais a lidarem com novas situações várias vezes durante a vida.

Em suma, os resultados descritos nessa dissertação contribuem efetivamente para a discussão sobre o bem-estar de bezerros leiteiros e trazem evidências de que os sistemas de criação empregados hoje nas granjas comerciais empobrecem o bem-estar desses animais.

## Referências

- Appleby, M. C.** 2003. The European Union ban on conventional cages for laying hens: history and prospects. *Journal of applied animal welfare science : JAAWS*, **6**, 103–21.
- Ball, P. J. H. & Peters, A. R.** 2004. *Reproduction in cattle*. third edn. Wiley-Blackwell.
- Bateson, M. & Matheson, S.** 2007. Performance on a categorisation task suggests that removal of environmental enrichment induces “pessimism” in captive European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Animal welfare*, **16**, 33–36.
- Bateson, M., Desire, S., Gartside, S. E. & Wright, G. a.** 2011. Agitated honeybees exhibit pessimistic cognitive biases. *Current biology : CB*, **21**, 1070–3.
- Bethell, E. J., Holmes, A., Maclarnon, A. & Semple, S.** 2012. Evidence that emotion mediates social attention in rhesus macaques. *PLoS one*, **7**, e44387.
- Boissy, a & Le Neindre, P.** 1997. Behavioral, cardiac and cortisol responses to brief peer separation and reunion in cattle. *Physiology & behavior*, **61**, 693–9.
- Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M. B., Moe, R. O., Spruijt, B., Keeling, L. J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I. & Aubert, A.** 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology & behavior*, **92**, 375–97.
- Bolhuis, J. E., Schouten, W. G. P., de Leeuw, J. a, Schrama, J. W. & Wiegant, V. M.** 2004. Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioural flexibility in pigs. *Behavioural brain research*, **152**, 351–60.
- Boogaard, B., Bock, B., Oosting, S. & Krogh, E.** 2010. Visiting a Farm : An Exploratory Study of the Social Construction of Animal Farming in Norway and the Netherlands Based on Sensory Perception. *International journal of Sociology of Agriculture & food*, **17**, 24–50.

**Bradley, D. G., MacHugh, D. E., Cunningham, P. & Loftus, R. T.** 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 5131–5.

**Briefer, E. F. & McElligott, A. G.** 2013. Rescued goats at a sanctuary display positive mood after former neglect. *Applied Animal Behaviour Science*, **146**, 45–55.

**Broom, D.** 1991. Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of animal science*, 4167–4175.

**Brydges, N. M., Leach, M., Nicol, K., Wright, R. & Bateson, M.** 2011. Environmental enrichment induces optimistic cognitive bias in rats. *Animal Behaviour*, **81**, 169–175.

**Burman, O. H. P., Parker, R., Paul, E. S. & Mendl, M.** 2008. A spatial judgement task to determine background emotional state in laboratory rats, *Rattus norvegicus*. *Animal Behaviour*, **76**, 801–809.

**Burman, O., McGowan, R., Mendl, M., Norling, Y., Paul, E., Rehn, T. & Keeling, L.** 2011. Using judgement bias to measure positive affective state in dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, **132**, 160–168.

**Chua, B., Coenen, E., van Delen, J. & Weary, D. M.** 2002. Effects of Pair Versus Individual Housing on the Behavior and Performance of Dairy Calves. *Journal of Dairy Science*, **85**, 360–364.

**Coppens, C. M., de Boer, S. F. & Koolhaas, J. M.** 2010. Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **365**, 4021–8.

**Crabbe, J., Wahlsten, D. & Dudek, B.** 1999. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science*, 1670–1672.

**Cronney, C. C. & Newberry, R. C.** 2007. Group size and cognitive processes. *Applied Animal Behaviour Science*, **103**, 215–228.

**Cryan, J. F. & Holmes, A.** 2005. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature reviews. Drug discovery*, **4**, 775–90.

**Da Costa, M. J. R. P., Schmidk, A. & Toledo, L. M.** 2008. Mother-offspring interactions in zebu cattle. *Reproduction in domestic animals*, **43 Suppl 2**, 213–6.

**Dalley, J., Cardinal, R. & Robbins, T.** 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience & Biobehavioral ...*, **28**, 771–84.

**Dawkins, M.** 2012. *Why animals matter: Animal Consciousness, Animal Welfare, and Human Well-being*. first edn. Oxford University Press.

**De Paula Vieira, a, von Keyserlingk, M. a G. & Weary, D. M.** 2010. Effects of pair versus single housing on performance and behavior of dairy calves before and after weaning from milk. *Journal of dairy science*, **93**, 3079–85.

**De Paula Vieira, a, von Keyserlingk, M. a G. & Weary, D. M.** 2012a. Presence of an older weaned companion influences feeding behavior and improves performance of dairy calves before and after weaning from milk. *Journal of dairy science*, **95**, 3218–24.

**De Paula Vieira, a, de Passillé, a M. & Weary, D. M.** 2012b. Effects of the early social environment on behavioral responses of dairy calves to novel events. *Journal of dairy science*, **95**, 5149–55.

**Destrez, A., Deiss, V., Lévy, F., Calandreau, L., Lee, C., Chaillou-Sagon, E. & Boissy, A.** 2013. Chronic stress induces pessimistic-like judgment and learning deficits in sheep. *Applied Animal Behaviour Science*,

**Douglas, C., Bateson, M., Walsh, C., Bédoué, A. & Edwards, S. a.** 2012. Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, **139**, 65–73.

**Douglas-Hamilton, I., Bhalla, S., Wittemyer, G. & Vollrath, F.** 2006. Behavioural reactions of elephants towards a dying and deceased matriarch. *Applied Animal Behaviour Science*, **100**, 87–102.

**Doyle, R. E., Fisher, A. D., Hinch, G. N., Boissy, A. & Lee, C.** 2010a. Release from restraint generates a positive judgement bias in sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, **122**, 28–34.

**Doyle, R. E., Vidal, S., Hinch, G. N., Fisher, A. D., Boissy, A. & Lee, C.** 2010b. The effect of repeated testing on judgement biases in sheep. *Behavioural processes*, **83**, 349–52.

**Duncan, I. J. H.** 2006. The changing concept of animal sentience. *Applied Animal Behaviour Science*, **100**, 11–19.

**Duve, L. R. & Jensen, M. B.** 2012. Social behavior of young dairy calves housed with limited or full social contact with a peer. *Journal of dairy science*, **95**, 5936–45.

**Enríquez, D. H., Ungerfeld, R., Quintans, G., Guidoni, a. L. & Hötzel, M. J.** 2010. The effects of alternative weaning methods on behaviour in beef calves. *Livestock Science*, **128**, 20–27.

**Enríquez, D., Hötzel, M. J. & Ungerfeld, R.** 2011. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta veterinaria Scandinavica*, **53**, 28.

**Evenson, R. E. & Gollin, D.** 2003. Assessing the impact of the green revolution, 1960 to 2000. *Science (New York, N.Y.)*, **300**, 758–62.

**Fitzgerald, M. & McIntosh, N.** 1989. Pain and analgesia in the newborn. *Archives of disease in childhood*, **64**, 441–3.

**Flower, F. C. & Weary, D. M.** 2001. Effects of early separation on the dairy cow and calf: 2. Separation at 1 day and 2 weeks after birth. *Applied animal behaviour science*, **70**, 275–284.

**Flower, F. & Weary, D.** 2003. The effects of early separation on the dairy cow and calf. *Animal welfare*, 339–348.

**Fone, K. C. F. & Porkess, M. V.** 2008. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **32**, 1087–102.

- Foote, R.** 2002. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science*, 1–10.
- Fraser, D., Weary, D., Pajor, E. & Milligan, B.** 1997. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. *Animal welfare*, 187–205.
- Fulwider, W. K., Grandin, T., Rollin, B. E., Engle, T. E., Dalsted, N. L. & Lamm, W. D.** 2008. Survey of dairy management practices on one hundred thirteen north central and northeastern United States dairies. *Journal of dairy science*, **91**, 1686–92.
- Gaillard, C., Meagher, R. K., von Keyserlingk, M. a. G. & Weary, D. M.** 2014. Social Housing Improves Dairy Calves' Performance in Two Cognitive Tests. *PLoS ONE*, **9**, e90205.
- Gotlib, I. & Krasnoperova, E.** 1998. Biased information processing as a vulnerability factor for depression. *Behavior Therapy*, 603–617.
- Goursaud, a P. & Nowak, R.** 1999. Colostrum mediates the development of mother preference by newborn lambs. *Physiology & behavior*, **67**, 49–56.
- Grant, R. J. & Albright, J. L.** 2001. Effect of Animal Grouping on Feeding Behavior and Intake of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, **84**, E156–E163.
- Haley, D., Bailey, D. & Stookey, J.** 2005. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. *Journal of Animal Science*, **83**, 2205–2214.
- Harding, E. J., Paul, E. S. & Mendl, M.** 2004. Cognitive bias and affective state. *Nature*, **427**, 312–312.
- Hickey, M., Drennan, M. & Earley, B.** 2003. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *Journal of animal science*, **81**, 2847–2855.

**Hogg, S.** 1996. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **54**, 21–30.

**Hötzel, M., Ungerfeld, R. & Quintans, G.** 2010. Behavioural responses of 6-month-old beef calves prevented from suckling: influence of dam's milk yield. *Animal Production Science*, **50**, 909–915.

**Hudson, S. & Mullord, M.** 1977. Investigations of maternal bonding in dairy cattle. *Applied Animal Ethology*, **3**, 271–276.

**Insel, T. R. & Young, L. J.** 2001. The neurobiology of attachment. *Nature reviews. Neuroscience*, **2**, 129–36.

**Jacobs, J. A. & Siegford, J. M.** 2012a. Lactating dairy cows adapt quickly to being milked by an automatic milking system. *Journal of dairy science*, **95**, 1575–84.

**Jacobs, J. A. & Siegford, J. M.** 2012b. Invited review: The impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. *Journal of dairy science*, **95**, 2227–47.

**Jensen, M. B., Vestergaard, K. S., Krohn, C. C. & Munksgaard, L.** 1997. Effect of single versus group housing and space allowance on responses of calves during open-field tests. *Applied Animal Behaviour Science*, **54**, 109–121.

**Jones, G. H., Marsden, C. a & Robbins, T. W.** 1991. Behavioural rigidity and rule-learning deficits following isolation-rearing in the rat: neurochemical correlates. *Behavioural brain research*, **43**, 35–50.

**Jones, M. a., Mason, G. J. & Pillay, N.** 2011. Correlates of birth origin effects on the development of stereotypic behaviour in striped mice, *Rhabdomys*. *Animal Behaviour*, **82**, 149–159.

**Kendrick, K. M., Da Costa, a P., Broad, K. D., Ohkura, S., Guevara, R., Lévy, F. & Keverne, E. B.** 1997. Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. *Brain research bulletin*, **44**, 383–95.

- Khan, M. a, Weary, D. M. & von Keyserlingk, M. a G.** 2011. Invited review: effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. *Journal of dairy science*, **94**, 1071–81.
- Kleinginna, P. R. & Kleinginna, A. M.** 1981. A categorized list of emotion definitions, with suggestions for a consensual definition. *Motivation and Emotion*, **5**, 345–379.
- Lensink, J., Veissier, I. & Boissy, A.** 2006. Enhancement of performances in a learning task in suckler calves after weaning and relocation: Motivational versus cognitive control? *Applied Animal Behaviour Science*, **100**, 171–181.
- Loberg, J. M., Hernandez, C. E., Thierfelder, T., Jensen, M. B., Berg, C. & Lidfors, L.** 2008. Weaning and separation in two steps—A way to decrease stress in dairy calves suckled by foster cows. *Applied Animal Behaviour Science*, **111**, 222–234.
- MacLeod, A. K. & Byrne, A.** 1996. Anxiety, depression, and the anticipation of future positive and negative experiences. *Journal of abnormal psychology*, **105**, 286–9.
- Martin, P.** 1984. The meaning of weaning. *Animal behaviour*, **32**, 1257 – 1258.
- Matheson, S. M., Asher, L. & Bateson, M.** 2008. Larger, enriched cages are associated with “optimistic” response biases in captive European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Applied Animal Behaviour Science*, **109**, 374–383.
- Mathews, A. & MacLeod, C.** 2005. Cognitive vulnerability to emotional disorders. *Annual review of clinical psychology*, **1**, 167–95.
- Mendl, M., Burman, O. H. P., Parker, R. M. a. & Paul, E. S.** 2009. Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. *Applied Animal Behaviour Science*, **118**, 161–181.
- Mendl, M., Burman, O. H. P. & Paul, E. S.** 2010. An integrative and functional framework for the study of animal emotion and mood. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **277**, 2895–904.

**Neave, H. W., Daros, R. R., Costa, J. H. C., von Keyserlingk, M. A. G. & Weary, D. M.** 2013. Pain and Pessimism: Dairy Calves Exhibit Negative Judgement Bias following Hot-Iron Disbudding. *PLoS ONE*, **8**, e80556.

**Newberry, R. C. & Swanson, J. C.** 2008. Implications of breaking mother–young social bonds. *Applied Animal Behaviour Science*, **110**, 3–23.

**Nicol, C.** 2006. How animals learn from each other. *Applied Animal Behaviour Science*, **100**, 58–63.

**Panksepp, J.** 1998. *Affective Neuroscience: The Foundations of Human and Animal Emotions*. 1st edn. Oxford University Press, USA.

**Panksepp, J.** 2003. Neuroscience. Feeling the pain of social loss. *Science (New York, N.Y.)*, **302**, 237–9.

**Panksepp, J.** 2005a. Affective consciousness: Core emotional feelings in animals and humans. *Consciousness and cognition*, **14**, 30–80.

**Panksepp, J.** 2005b. Toward a science of ultimate concern. *Consciousness and cognition*, **14**, 22–9.

**Paul, E. S., Harding, E. J. & Mendl, M.** 2005. Measuring emotional processes in animals: the utility of a cognitive approach. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **29**, 469–91.

**Peckham, A. D., McHugh, R. K. & Otto, M. W.** 2010. A meta-analysis of the magnitude of biased attention in depression. *Depression and anxiety*, **27**, 1135–42.

**Phillips, C.** 2002. *Cattle behaviour and welfare*. second edn. Wiley-Blackwell.

**Poletto, R., Steibel, J. P., Siegford, J. M. & Zanella, a J.** 2006a. Effects of early weaning and social isolation on the expression of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 mRNAs in the frontal cortex and hippocampus of piglets. *Brain research*, **1067**, 36–42.

- Poletto, R., Siegford, J. M., Steibel, J. P., Coussens, P. M. & Zanella, a J.** 2006b. Investigation of changes in global gene expression in the frontal cortex of early-weaned and socially isolated piglets using microarray and quantitative real-time RT-PCR. *Brain research*, **1068**, 7–15.
- Pomerantz, O., Terkel, J., Suomi, S. J. & Paukner, A.** 2012. Stereotypic head twirls, but not pacing, are related to a “pessimistic”-like judgment bias among captive tufted capuchins (*Cebus apella*). *Animal cognition*, **15**, 689–98.
- Provenza, F. & Balph, D.** 1987. Diet learning by domestic ruminants: theory, evidence and practical implications. *Applied Animal Behaviour Science*, **18**, 211–232.
- Provenza, F. ., Villalba, J. ., Dziba, L. ., Atwood, S. . & Banner, R. .** 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research*, **49**, 257–274.
- Ramos, A. & Mormède, P.** 1998. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **22**, 33–57.
- Ramos, A. & Tennessen, T.** 1992. Effect of previous grazing experience on the grazing behaviour of lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, **33**, 43–52.
- Russell, J. a.** 2003. Core affect and the psychological construction of emotion. *Psychological Review*, **110**, 145–172.
- Sandem, A.-I. & Braastad, B. O.** 2005. Effects of cow–calf separation on visible eye white and behaviour in dairy cows—A brief report. *Applied Animal Behaviour Science*, **95**, 233–239.
- Sanger, M. E., Doyle, R. E., Hinch, G. N. & Lee, C.** 2011. Sheep exhibit a positive judgement bias and stress-induced hyperthermia following shearing. *Applied Animal Behaviour Science*, **131**, 94–103.
- Sappington, B. K. F., McCall, C. a., Coleman, D. a., Kuhlert, D. L. & Lishak, R. S.** 1997. A preliminary study of the relationship between discrimination reversal learning and performance tasks in yearling and 2-year-old horses. *Applied Animal Behaviour Science*, **53**, 157–166.

**Schirmann, K., Chapinal, N., Weary, D. M., Heuwieser, W. & von Keyserlingk, M. A. G.** 2011. Short-term effects of regrouping on behavior of prepartum dairy cows. *Journal of dairy science*, **94**, 2312–9.

**Schrijver, N. C. & Würbel, H.** 2001. Early social deprivation disrupts attentional, but not affective, shifts in rats. *Behavioral Neuroscience*, **115**, 437–442.

**Schrijver, N. C. a, Pallier, P. N., Brown, V. J. & Würbel, H.** 2004. Double dissociation of social and environmental stimulation on spatial learning and reversal learning in rats. *Behavioural brain research*, **152**, 307–14.

**Simons, S. H. P., Dijk, M. Van, Anand, K. S., Roofthoof, D., Lingen, R. A. Van & Tibboel, D.** 2003. Do We Still Hurt Newborn Babies ? *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, **157**, 1058–1064.

**Stafford, K. J. & Mellor, D. J.** 2011. Addressing the pain associated with disbudding and dehorning in cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, **135**, 226–231.

**Stěhulová, I., Lidfors, L. & Špinka, M.** 2008. Response of dairy cows and calves to early separation: Effect of calf age and visual and auditory contact after separation. *Applied Animal Behaviour Science*, **110**, 144–165.

**Tripi, P. a, Palermo, T. M., Thomas, S., Goldfinger, M. M. & Florentino-Pineda, I.** 2004. Assessment of risk factors for emergence distress and postoperative behavioural changes in children following general anaesthesia. *Paediatric anaesthesia*, **14**, 235–40.

**Tuytens, F. a M., Van Gansbeke, S. & Ampe, B.** 2011. Survey among Belgian pig producers about the introduction of group housing systems for gestating sows. *Journal of animal science*, **89**, 845–55.

**Tversky, A. & Kahneman, D.** 1974. Judgment under Uncertainty: Heuristics and Biases. *Science (New York, N.Y.)*, **185**, 1124–31.

**Ungerfeld, R., Hötzel, M. J., Scarsi, a & Quintans, G.** 2011. Behavioral and physiological changes in early-weaned multiparous and primiparous beef cows. *Animal : an international journal of animal bioscience*, **5**, 1270–5.

- Val-Laillet, D., Meurisse, M., Tillet, Y. & Nowak, R.** 2009. Behavioural and neurobiological effects of colostrum ingestion in the newborn lamb associated with filial bonding. *The European journal of neuroscience*, **30**, 639–50.
- Van Praag, H., Kempermann, G. & Gage, F. H.** 2000. Neural consequences of environmental enrichment. *Nature reviews. Neuroscience*, **1**, 191–8.
- Vasseur, E., Borderas, F., Cue, R. I., Lefebvre, D., Pellerin, D., Rushen, J., Wade, K. M. & de Passillé, A. M.** 2010. A survey of dairy calf management practices in Canada that affect animal welfare. *Journal of dairy science*, **93**, 1307–15.
- Veissier, I. & Le Neindre, P.** 1989. Weaning in calves: Its effects on social organization. *Applied Animal Behaviour Science*, **24**, 43–54.
- Veissier, I., Caré, S. & Pomiès, D.** 2013. Suckling, weaning, and the development of oral behaviours in dairy calves. *Applied Animal Behaviour Science*, **147**, 11–18.
- Ventura, B. a, von Keyserlingk, M. a G., Schuppli, C. a & Weary, D. M.** 2013. Views on contentious practices in dairy farming: the case of early cow-calf separation. *Journal of dairy science*, **96**, 6105–16.
- Vitale, A., Tenucci, M., Papini, M. & Lovari, S.** 1986. Social behaviour of the calves of semi-wild Maremma cattle, *Bos primigenius taurus*. *Applied Animal Behaviour ...*, **16**, 217–231.
- Von Keyserlingk, M. a G. & Weary, D. M.** 2007. Maternal behavior in cattle. *Hormones and behavior*, **52**, 106–13.
- Von Keyserlingk, M. A. G., Olenick, D. & Weary, D. M.** 2008. Acute behavioral effects of regrouping dairy cows. *Journal of dairy science*, **91**, 1011–6.
- Wagner, K., Barth, K., Palme, R., Futschik, A. & Waiblinger, S.** 2012. Integration into the dairy cow herd: Long-term effects of mother contact during the first twelve weeks of life. *Applied Animal Behaviour Science*, **141**, 117–129.

**Wagner, K., Barth, K., Hillmann, E., Palme, R., Futschik, A. & Waiblinger, S.** 2013. Mother rearing of dairy calves: Reactions to isolation and to confrontation with an unfamiliar conspecific in a new environment. *Applied Animal Behaviour Science*, **147**, 43–54.

**Weary, D. & Chua, B.** 2000. Effects of early separation on the dairy cow and calf. 1. Separation at 6 h, 1 day and 4 days after birth. *Applied animal behaviour science*, **69**, 177–188.

**Weary, D. M., Jasper, J. & Hötzel, M. J.** 2008. Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, **110**, 24–41.

**Woodson, J., Macintosh, D., Fleshner, M. & Diamonds, D.** 2003. Emotion-induced amnesia in rats: working memory-specific impairment, corticosterone-memory correlation, and fear versus arousal effects on memory. *Learning & memory*, 326–336.