LEANDRO SABEI

Fêmeas com bem-estar assegurado mitigam o impacto negativo do estresse pré-cópula do macho na prole

Pirassununga

2020

LEANDRO SABEI

Fêmeas com bem-estar assegurado mitigam o impacto negativo do estresse pré-cópula do macho na prole

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – VPS

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Adroaldo José Zanella

Co-orientadora:

Profa. Dra. Rosangela Poletto Cattani

De acordo:_____

Orientador

São Paulo
2020

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

VERSÃO CORRIGIDA

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3953
FMVZ

Sabei, Leandro
Fêmeas com bem-estar assegurado mitigam o impacto negativo do estresse pré-cópula do macho na prole / Leandro Sabei. – 2020.
76 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Pirassununga, 2020.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Adroaldo José Zanella.
Coorientadora: Profa. Dra. Rosangela Poletto Cattani.

1. Comportamento. 2. Epigenética. 3. Leitões. 4. Medo. 5. Nocicepção. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Fêmeas com bem-estar assegurado mitigam o impacto negativo doestresse pré-cópula do macho na prole", protocolada sob o CEUA nº 6555081018 (ID 006384), sob a responsabilidade de **Adroaldo José Zanella** *e equipe; Leandro Sabei* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 12/04/2019.

We certify that the proposal "Sows with positive welfare mitigate the negative impact pre-mating stress, in males, in their offspring", utilizing 24 Swines (24 females), protocol number CEUA 6555081018 (ID 006384), under the responsibility of **Adroaldo José Zanella** *and team; Leandro Sabei* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 04/12/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 10/2018 a 01/2020 Área: Epidemiologia Experimental Aplicada As Zoonoses

Origem:	Biotério do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal						
Espécie:	Suínos	sexo:	Fêmeas	idade:	1 a 3 anos	N:	16
Linhagem:	Topgen			Peso:	150 a 400 kg		
Origem:	Biotério do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal						
Espécie:	Suínos	sexo:	Fêmeas	idade:	1 a 3 anos	N:	8
Linhagem:	Topgen			Peso:	150 a 400 kg		

Local do experimento: Laboratório de Pesquisa em Suínos, Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

São Paulo, 12 de abril de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira CEP 05508-270 São Paulo/SP - Brasil - tel: 55 (11) 3091-7676
Horário de atendimento: 2ª a 5ª das 7h30 às 16h : e-mail: ceuavet@usp.br
CEUA N 6555081018

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SABEI, Leandro

Título: Fêmeas com bem-estar assegurado mitigam o impacto negativo do estresse pré-cópula do macho na prole

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof(a).Dr(a)._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof(a).Dr(a)._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof(a).Dr(a)._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, em especial minha mãe Zelinda, meu pai Genuir, minha irmã Juliane e seu esposo João, meus sobrinhos Lucas e Isaac e amigos que puderam me incentivar para que hoje pudesse estar redigido este documento.

À Professora Rosangela, que foi a pessoa que me oportunizou trilhar este caminho, juntamente com o Professor Adroaldo, que atualmente é a pessoa que me inspira a ser muito além do que um pesquisador.

À minha querida Mari, que além de uma excelente companheira de trabalho se tornou uma companheira para a vida. À Marcia, que está sempre pronta para o que vier.

Ao Professor Cesar, que nos forneceu auxílio e as instalações para o desenvolvimento do experimento.

Ao Professor Cesar Lima, que nos forneceu auxílio para melhor conduzir as análises estatísticas do experimento.

Aos meus colegas e amigos de trabalho Alex, Aline, Ana Carolina, Ana Flavia, Ana Lucia, André, Anna, Artur, Beatriz, Brenda, Bruna Campos, Bruna Stanigher, Carla Patricia, Carolina, Catalina, Claudio Vedovati, Cecilia, Cristian, Dani, Dagmar Waberski, Denis, Endily, Ester, Érica Alejandra, Fabiola, Flavia, Frederico, Gabriel, Gabriela Alves, Gabriela Marques, Giovanna, Glaucia, Harriet, Jessica, Jivago, Joice, Julia, Laís, Larissa, Laura, Leandro, Luana, Maria Eduarda, Mariana, Michelle, Natasha, Patrícia, Patricia Valandro, Rayane, Santiago, Tauana, Vinícius e Yuki. Agradeço também à Shara e Thiago que estão comigo desde o início deste trabalho, contribuído como bons pesquisadores e amigos que são. Aos Professores Lara e Rodrigo, agradeço pelas experiências compartilhadas.

Gostaria de deixar aqui também registrado meu agradecimento ao grupo do Professor André, pela ajuda fornecida, bem como ao Professor Ed.

À Prefeitura do *Campus*, ao pessoal do Hospital Veterinário, além do nosso Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo da FMVZ-VPS. Ao Senhor Danival, que sempre esteve disposto a ajudar com a máxima eficiência.

À TOPGEN, em especial ao senhor Telmo e à senhora Beate, bem como os funcionários da empresa, por abrirem não só as portas da empresa, mas também a de suas casas. A empresa IMV e ao senhor Pedro em especial.

Agradeço a Anderson e todo o pessoal que trabalha na suinocultura do *campus*.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento CAPES/PROEX 1841/2016, desta forma agradeço pela concessão da bolsa de mestrado, e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo vinculado ao processo FAPESP 2018/01082-04 pela disponibilidade de recursos para execução dele.

Enfim, ao Centro de Estudos Comparativos em Saúde, Sustentabilidade e Bem-Estar CECSBE de maneira geral, a senhora Cris que sempre deixa a sala limpa para melhorar o nosso trabalho e aos senhores José Roberto e João Metzner, que estão todos os dias conosco prestando sua ajuda. Em especial ao "Ni", que nos proporciona diariamente nada menos que o melhor café do *campus*.

"A satisfação está no esforço e não apenas na realização final. "

Mahatma Gandhi

RESUMO

SABEI, L. **Fêmeas com bem-estar assegurado mitigam o impacto negativo do estresse pré-cópula do macho na prole**. 2020. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Os sistemas suinícolas atuais, aliados aos programas de melhoramento genético avançados, trouxeram inúmeros ganhos produtivos e sanitários para a indústria. O repertório comportamental natural da espécie, importante para manter o bem-estar dos animais, é raramente priorizado nos sistemas de produção comercial de suínos. Em consequência disso, comportamentos anormais, alterações fisiológicas e emocionais, e indicadores de bem-estar comprometido são frequentemente observados. Esses comportamentos são uma tentativa dos animais de adaptação ao meio onde estão inseridos, e os sistemas emocionais 'básicos' dos animais têm funções adaptativas e fundamentais para o indivíduo. O alojamento de machos reprodutores suínos desafia o bem-estar dos mesmos pela restrição de movimento, isolamento social e falta de enriquecimento ambiental. Estudos recentes em animais de laboratório indicam que situações de estresse nos machos podem alterar características no sêmen e alterar as características da prole. O objetivo da pesquisa foi estudar o efeito do sistema de alojamento de machos suínos sobre a emocionalidade da sua prole. Foram utilizados 18 machos alojados em três sistemas: cela (C:N=6), baia (B:N=6) e baia enriquecida com o fornecimento de feno, escovação, banho (E:N=6). Submetidos à colheita de sêmen semanalmente. Na quarta semana, três *pools* de sêmen, cada *pool* representando todos os três tratamentos, com dois machos de cada tratamento (C, B e E), selecionados de acordo com métodos objetivos de avaliação do sêmen, foram utilizados para inseminar 15 marrãs alojadas em grupo no sistema ao ar livre. Foram realizadas avalições comportamentais e fisiológicas a cada terço gestacional. Os leitões foram identificados no terceiro dia de idade e seus pesos registrados aos 10º, 25º e 29º dias de idade. No 25º dia, foram realizadas as avaliações emocionais dos leitões (medo e ansiedade) (N=138) através do comportamento gravado durante os testes de campo aberto, objeto novo e labirinto em cruz elevada. No 29º dia, os leitões foram desmamados (N=138) e reagrupados por peso em três baias com feno. Imagens corporais dos leitões (N=138) foram registradas no desmame e nos quatro dias subsequentes para contabilizar as lesões de pele. No 34º dia, eles foram submetidos à avaliação nociceptiva, estimulados duas vezes consecutivas do lado direito e esquerdo da região coxofemoral e quartela. Após, amostras de pelo foram

colhidas para realização do teste de paternidade. Após o recebimento dos dados de paternidade, os leitões foram alocados nos tratamentos representando o alojamento dos pais (C, B e E). Os dados comportamentais das fêmeas foram avaliados com estatística descritiva. Na análise dos dados da prole utilizou-se a análise fatorial com o intuito de resumir em quatro fatores latentes a informação relativa à variabilidade e correlações entre as variáveis. Os escores fatoriais foram classificados como negativos, centrais e positivos, com base no primeiro e terceiro quartis. O teste de qui quadrado (alfa=0,05) foi usado para testar a homogeneidade da distribuição desses escores nos três tratamentos a que os machos foram submetidos. Uma análise de correspondência buscou associações entre as frequências de leitões nos tratamentos e categorias dos escores fatoriais. Os resultados da prole indicam a influência do ambiente herdado através dos machos; os leitões filhos de machos alojados com acesso ao enriquecimento tiveram menor número de lesões de pele (p=0,008). Leitões oriundos de machos alojados em celas apresentaram valores nociceptivos mais hipoalgésicos, em contrapartida, a prole de machos alojados nas baias sem enriquecimento foram menos hipoalgésicos (p=0,029). Compreender o mecanismo de ação de tais alterações requer futuras pesquisas associando os princípios da epigenética e sua interação na construção do comportamento animal.

Palavras-chave: Comportamento. Epigenética. Leitões. Medo. Nocicepção.

ABSTRACT

SABEI, L. **Females with insured welfare mitigate the negative impact of male pre-copulation stress on offspring**. 2020. 76 p. Dissertation (Master of Science) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, São Paulo, 2020.

Current pig production systems, combined with advanced genetic improvement programs, have brought numerous productive and health gains to the industry. However, the species' natural behavioral repertoire, which is important for maintaining good animal welfare, is rarely prioritized in commercial pig production systems. As a result, abnormal behaviors, physiological and emotional changes, all indicators of impaired welfare, are often observed. These behaviors are an attempt by animals to adapt to the environment in which they live, and the 'basic' emotional systems of animals have adaptive and fundamental functions for the individual. The housing of boars challenges their welfare as a result of movement restriction, social isolation and lack of environmental enrichment. Recent studies in laboratory animals indicate that stressful situations in males can alter characteristics in the semen and change the phenotype of their offspring. Eighteen males housed in three systems were studied: crate (C:N=6), pen (P:N=6), and enriched pen, which included the supply of hay, brushing and bathing (E:N=6). Animals were submitted to semen collection weekly. In the fourth week, three pools of semen, each pool representing two males per treatment (C, P and E), matched for objective semen quality indicators, from the animals of the three treatments was used to inseminate 15 gilts, five gilts for each different pool. Gilts were housed in group in an outdoor system. Behavioral and physiological evaluations were carried out at each third of gestation. The piglets, offspring of 13 gilts, were identified on the third day of age and their weights recorded at the 10th, 25th, and 29th days of age. On the 25th day, the piglets' emotional assessments (fear and anxiety) were carried out through the behavior recorded during the tests open field, novel object, and elevated plus maze (N=138). On the 29th day, the piglets were weaned and regrouped by weight in three pens with hay. Body images of the piglets (N=138) were recorded at weaning and in the subsequent four days to account for skin lesions (N=138). On the 34th day, they were submitted to a nociceptive evaluation, stimulated twice in a row on the right and left side of the plantar surface of the metacarpal and hip region. Afterward, hair samples were taken to perform the paternity test. After receiving the results of the paternity tests, the piglets were allocated to the experimental

groups representing the treatments applied to the boars (C, P and E). The behavioral data of the females were evaluated for descriptive statistical. In the analysis of the offspring data, factor analysis was used to summarize the information regarding the variability and correlations between the variables in four latent factors. The factor scores were classified as negative, central, and positive, based on the first and third quartiles. The chi-square test (alpha=0.05) was used to test the homogeneity of the distribution of these scores in the three treatments to which the males were submitted. A correspondence analysis sought associations between the frequencies of piglets in the treatments and categories of factor scores. The offspring results indicate the influence of the environment inherited through males; piglets born to males housed with access to enrichment had fewer skin lesions (p=0.008). Piglets from males housed in cells showed nociceptive values more hypoalgesic, in contrast, the offspring of males housed in pens without enrichment were less hypoalgesic (p=0.029). Understanding the mechanism of action of such changes requires further research associating the principles of epigenetics and their interaction in the construction of animal behavior.

Keywords: Behavior. Epigenetics. Piglets. Fear. Nociception.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Linha do tempo do protocolo experimental realizado com os machos alojados em três sistemas (N=18), fêmeas mantidas ao ar livre (N=15) e leitões testados, prole dos animais envolvidos no experimento (N=138) 32

Figura 2 – Alojamento dos machos suínos C – Cela; B – Baia individual e E – Baia individual com enriquecimento 33

Figura 3 - Alojamento das fêmeas suínas durante a gestação, com acesso para forragem, sombra natural e piscina de lama..... 34

Figura 4 - Protocolo de inseminação das 15 marrãs com os três pool de sêmen. A coleta de sêmen dos machos alojados conforme os respectivos tratamentos foram divididos de acordo com critérios de qualidade de sêmen, obtidos duas semanas antes do início do tratamento experimental 35

Figura 5 - Linha do tempo de marrãs em gestação (N=14) com os períodos de colheitas de saliva e observação comportamental 36

Figura 6 - Creep feeding usado para alimentação complementar dos leitões, construído de cerca elétrica e tapete de borracha..... 40

Figura 7 - Testes comportamentais realizados com os leitões aos 25 dias de idade. Visão da câmera utilizada para a análise das imagens. A – Campo aberto, B – Objeto novo e C – Labirinto em cruz elevada 42

Figura 8 - A - Analgesímetro digital EFF 301 (INSIGHT EQUIPAMENTOS LTDA - EPP, 2019) B - Método de segurar o leitão, C – Pontos para a estimulação mecânica nociceptiva utilizando o analgesímetro eletrônico de Von Frey 44

Figura 9 - Percentagem de leitões desmamados ou mortos totais, distribuídos pelos alojamento cela, baia e baia enriquecida dos machos suínos 50

Figura 10 - Distribuição de frequências dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 1: peso dos leitões) 53

Figura 11 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para o Fator 1: peso dos leitões..... 53

Figura 12 - Distribuição de percentuais dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 2: comportamento agonístico) 54

Figura 13 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para Fator 2: comportamento agonístico..... 55

Figura 14 - Distribuição de percentuais dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 3: indicadores de medo)..... 56

Figura 15 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para o Fator 3: indicadores de medo 57

Figura 16 - Distribuição de percentuais dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 4: indicadores de dor) 58

Figura 17 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para o Fator 4: indicadores de dor..... 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperatura e umidade relativa do ar médias do período experimental, coletada pela estação meteorológica do Campus Fernando Costa 32

Tabela 2 - Definição dos comportamentos observados durante os testes campo aberto (5 minutos) e objeto novo (5 minutos)..... 41

Tabela 3 - Regra de classificação dos escores fatoriais..... 46

Tabela 4 - Número de leitões desmamados e mortos por alojamento dos machos suínos 49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Definição dos comportamentos das fêmeas suínas gestantes..... 37

LISTA DE ABREVIATURAS

°C - Grau Celsius

AF - Análise fatorial

B - Baia

C - Cela

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

DNA - Ácido desoxirribonucleico

E – Baia com enriquecimento ambiental

Ex - Exemplo

F1 - Os primeiros descendentes da geração parental

HPA - Hipotálamo-pituitária-adrenal

IA – Inseminação artificial

Kg - Quilograma

min - Minutos

ml – Mililitro

N - Número

PCA - Análise de componentes principais

QA – Alta qualidade seminal

QM – Média qualidade seminal

QX – Baixa qualidade seminal

SISCAL - Sistema intensivo de suínos criados ao ar livre

SISCON - Sistema intensivo de suínos confinados

SNC - Sistema nervoso central

USP - Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
2. REVISÃO DE LITERATURA 21
Sistemas de produção de suínos 21
Indicadores de bem-estar animal 22
Impacto do ambiente nos indicadores de bem-estar da prole 28
3. HIPÓTESE 30
4. OBJETIVO GERAL 31
Objetivos específicos 31
5. MATERIAL E MÉTODOS 32
5.1 Alojamento dos machos suínos 33
5.2 Alojamento das fêmeas suínas 33
5.3 Colheita de sêmen e inseminação das fêmeas suínas 34
5.4 Colheitas amostrais dos suínos 36
5.4.1 Colheitas comportamentais e fisiológicas das fêmeas suínas gestantes 36
5.4.2 Avaliação comportamental das fêmeas e da sua leitegada 39
Testes comportamentais 40
5.5 Avaliações pós desmame dos leitões 42
5.6 Alocação dos leitões nos grupos experimentais representados pelo tratamento experimental machos 44
5.7 Análises estatísticas 44
6. RESULTADOS 48
Resultados das fêmeas 48
Resultados dos leitões 49
Resultados combinados das medidas produtivas com os resultados do teste de campo aberto, objeto novo, labirinto em cruz elevado, agressão e nocicepção, na prole 50
7. DISCUSSÃO 61
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS 66
REFERÊNCIAS 67
ANEXOS 75

1. INTRODUÇÃO

A suinocultura brasileira ocupa a quarta posição no ranking de produção e exportação de carne suína, contando com um rebanho de 2.017.645 matrizes alojadas (ABPA, 2020) no sistema predominantemente confinado (ABCS, 2014). Sistema este que dificulta a provisão do bem-estar animal, expondo os suínos a desafios de adaptação (BROOM et al., 1995; HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004). Os sistemas de alojamento de suínos interferem diretamente nos indicadores de estresse (BROOM et al., 1995), alterando condições da expressão comportamental do animal. O comportamento é um dos mais importantes indicadores das condições adaptativas às quais o animal está exposto (MARTIN; BATESON, 2007).

As mudanças ambientais que causam alterações na homeostase dos animais, como alteração na alimentação, estresses, infecções, alojamentos, entre outras, podem modular a trajetória neuronal no cérebro. Há estudos que demostram que o ambiente no qual fêmeas suínas gestantes estão expostas modulam o desenvolvimento da prole alterando o comportamento agressivo e do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (BERNARDINO et al., 2016; TATEMOTO et al., 2019). Por outro lado, há pouca evidencia científica, ao nosso conhecimento, de interferência ligada ao sistema de alojamento adotado para produção de machos suínos, que são mantidos em celas semelhantes à das fêmeas. Sistema este de produção adotado não atende as necessidades biológicas da espécie (FRASER, 2008), contrapondo a Associação Brasileira de Criadores de Suíno (ABCS, 2014), a qual destaca que o objetivo principal da instalação de machos suínos para reprodução deve ser proporcionar conforto e bem-estar. Problemas comportamentais e emocionais ligados ao bem-estar animal baixo estão relacionados aos sistemas de criação em confinamento, que oferece ambientes pobres em estímulos e alta densidade de alojamento. Essa falta ou até a ausência de recursos no ambiente pode ocasionar estresse aos animais, evidenciando fatores negativos para o bem-estar (HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004).

Está claro na literatura científica a existência de sistemas emocionais ‘básicos’ como medo, raiva e pânico, e estes apresentam funções adaptativas e fundamentais para sistemas biológicos, que são processadas e armazenadas em áreas específicas do cérebro (PANKSEPP, 2007; PAUL; HARDING; MENDL, 2005). Porém, estudos sobre os estados afetivos positivos estão recebendo atenção recentemente, indicando que os

eventos vivenciados pelos animais durante seu desenvolvimento podem alterar o seu estado afetivo (MENDL; PAUL, 2020). A avaliação etológica dos testes de emocionalidade validados é detalhada a fim de acessar o máximo de informações que os animais estão fornecendo. Os comportamentos de medo, ansiedade e estresse são mais explorados pelas pesquisas. Para tal, criou-se testes para acessar os valores emocionais dos animais, especialmente nos campos da psicofarmacologia e neurociência (PAUL; HARDING; MENDL, 2005). Os testes de campo aberto, objeto novo e labirinto em cruz elevada visam investigar medidas de medo e ansiedade já bem definidos por vários autores (ANDERSEN et al., 2000a, 2000b; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005; COULON et al., 2013; JANCZAK et al., 2000; PUPPE; SCHÖN; WENDLAND, 1999). Os testes de emocionalidade estão relacionados com medidas comportamentais dos animais em resposta aos ambientes e como elas são processadas pelo indivíduo.

Quando um indivíduo é exposto a eventos ambientais que desafiam os sistemas de adaptação, as mudanças observadas nos gametas e também alterações fenotípicas apresentadas pelo animal podem determinar os efeitos herdáveis. Ou seja, os mecanismos de adaptação são regulados ao longo de sua vida (BALE, 2015; CHAN et al., 2020; MEANEY; SZYF, 2005), bem como as possíveis alterações do estado afetivo do indivíduo (MENDL; OLIVER; PAUL, 2010). Desta maneira, os fatores ambientais podem alterar as características herdadas para ambos os sexos, machos e fêmeas. Os gametas masculinos transmitem informações importantes relacionadas, por exemplo, à transmissão de doenças cardiometabólicas obtidas através do impacto de exposições aos ambientes nos quais espermatozoides foram produzidos (LI et al., 2016), e esses por sua vez modulam o fenótipo dos indivíduos. A melhor compreensão desses mecanismos adaptativos pode contribuir com a melhora nas estratégias reprodutivas e do ambiente fornecido aos suínos.

Compreender a ação do ambiente na percepção e comportamento dos animais pode auxiliar no entendimento da resiliência dos mesmos. Desta forma, o objetivo da pesquisa foi verificar se o sistema de alojamento de machos suínos afeta a emocionalidade da sua prole.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Sistemas de produção de suínos

O Brasil ocupa a quarta posição como maior produtor e exportador mundial de carne suína, apresentando um rebanho de matrizes alojadas de 2.017.645 (ABPA, 2020). Os principais sistemas adotados para a criação de suínos encontram-se em condições intensivas e confinadas (ABCS, 2014). Uma característica do sistema intensivo é o alojamento dos animais em celas, tanto para fêmeas quanto para machos, o que apresenta um grande desafio para o bem-estar dos animais (HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004). Para a Associação Brasileira de Criadores de Suíno (ABCS, 2014), os alojamentos dos machos reprodutores é um assunto muito importante, contudo, relata que não existe um consenso sobre o que realmente importa na instalação, e destaca que o objetivo principal da instalação deve ser proporcionar conforto e bem-estar. A ABCS expõe que alojamentos em baias diminuem problemas locomotor, melhoram a qualidade espermática e aumentam a longevidade na produção, quando comparados à cela.

O sistema intensivo subdivide-se em sistema confinado (SISCON - convencional), sistema de suínos criados ao ar livre (SISCAL – sistema alternativo), sistema de criação em cama sobreposta (sistema alternativo) (FERREIRA et al., 2014). O SISCAL e o sistema de cama sobrepostas são considerados alternativos (FERREIRA, 2012), pois são usados em menor escala no Brasil. Porém, os mesmos apresentam propostas que possibilitam maior repertório comportamental, além de manter os índices produtivos comparáveis ao SISCON.

No sistema intensivo de suínos confinados, também conhecido como SISCON, os animais permanecem o tempo todo alojados em instalações fechadas, sendo estas baias ou celas. Esse sistema, mesmo com bons índices produtivos, impossibilita a expressão do comportamento natural e compromete as necessidades biológicas da espécie suína (FRASER, 2008), tendo impacto direto no seu bem-estar físico e mental.

No SISCAL, pouco representado na produção de suínos do Brasil, os animais são mantidos em piquetes nas fases de reprodução, maternidade e creche. Nas demais fases, crescimento e terminação, os animais são mantidos confinados em baias. Esse tipo de sistema, quando comparado com o sistema intensivo confinado, apresenta um menor custo de implantação (BONETT; MONTICELLI, 1998) e proporciona melhores condições de bem-estar para as fêmeas, pois permite a expressão do comportamento

natural de fazer ninho antes do parto, fuçar e a possibilidade da sociabilização (BROOM, 1986; LUDTKE et al., 2010; WELFARE QUALITY ®, 2009). O sistema de criação de suínos em cama sobreposta apresenta a possibilidade do animal manipular substrato, o que, por sua vez, possibilita a expressão comportamental natural de fuçar, melhorando o bem-estar (COSTA et al., 2006).

Manter os suínos em ambientes desfavoráveis para seu desenvolvimento do ponto de vista comportamental e emocional afeta não somente o bem-estar do indivíduo, como também pode afetar as futuras gerações (RUTHERFORD et al., 2014), além disso, interfere nas relações econômicas da cadeia produtiva. Sendo assim, o desenvolvimento comportamental, fisiológico e produtivo da prole pode ser utilizado como um indicador de bem-estar dos suínos, dentro da cadeia de produção (BERNARDINO et al., 2016; BROOM, 1986; CARRERAS et al., 2015; EDWARDS, 2002; FERREIRA, 2012; MENDL et al., 2009; SIEGFORD; RUCKER; ZANELLA, 2008; ZUPAN; ZANELLA, 2017a).

Além da influência materna, cuja consequência foi demostrada na prole de suínos com alteração da agressividade (BERNARDINO et al., 2016) e do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (TATEMOTO et al., 2019), há possibilidade da contribuição do macho. São raros os estudos sobre as consequências associadas aos desafios paternos (BABENKO; KOVALCHUK; METZ, 2015; BALE, 2015; BRAUN; CHAMPAGNE, 2014; CHAN et al., 2020; TRIANTAPHYLLOPOULOS; IKONOMOPOULOS; BANNISTER, 2016). Nenhum dos estudos apresentados, no nosso conhecimento, aborda o impacto do ambiente exposto aos machos suínos na sua prole, e, com muita frequência, os machos se encontram em ambientes pouco favoráveis para seu desenvolvimento tanto físico quanto comportamental. Os sistemas que estão implantados dificultam ou impossibilitam os animais a terem seu bem-estar assegurado.

Indicadores de bem-estar animal

Os indicadores de bem-estar animal, de maneira geral, podem ser avaliados no animal ou no ambiente (BROOM, 1991; FRASER, 2008). As medidas do animal trazem informações mais diretas; abaixo, estão abordados alguns indicadores em suínos.

- *Medidas comportamentais*

Os comportamentos incluem todas as ações dos animais, e podem ser divididos em inatos e aprendidos. Os comportamentos inatos estão pré-estabelecidos, o suíno já nasce com o potencial de expressar, por exemplo, a construção de ninho pelas fêmeas ou comportamento exploratório, sendo pouco afetados por experiências de vida e são particulares à espécie. Já o comportamento aprendido está diretamente relacionado às experiências vividas por cada indivíduo (LUDTKE et al., 2010).

O estudo do comportamento animal é um dos mais importantes indicadores das condições adaptativas que o animal está sendo exposto, e deve ser avaliado de maneira a atender as demandas biológicas da espécie (MANTECA et al., 2013; MARTIN; BATESON, 2007). Os comportamentos em suínos que indicam que o bem-estar está comprometido são os comportamentos anormais, como agressão excessiva, mordedura de cauda, canibalismo, medo, comportamento repetitivo, entre outros (BROOM, 1986). Por outro lado, comportamentos como brincar e outras interações sociais positivas são indicadores positivos de bem-estar (MANTECA et al., 2013).

O sistema de criação em confinamento oferece ambientes pobres em estímulos e alta densidade de alojamento, podendo trazer problemas comportamentais e emocionais aos animais (HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004). Um método adotado como forma de diminuir a monotonia dos animais é o enriquecimento ambiental (HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004). Prover enriquecimento ambiental pode melhorar o bem-estar, acrescentando a oportunidade de expressar comportamentos típicos das espécies ou evitando comportamentos indesejáveis (TAROU; BASHAW, 2007). Quando marrãs são criadas em ambiente enriquecido, elas gastam mais tempo explorando (comportamento natural) a baia quando em confinamento, comparado as fêmeas que não tiveram exposição a enriquecimento (BEATTIE; WALKER; SNEDDON, 1995). Temple et al. (2011) reportaram que suínos mantidos em sistemas ao ar livre gastaram mais tempo realizando comportamento exploratório do que suínos de sistemas intensivos de criação. Além disso, manter animais em ambientes sem enriquecimento aumenta a ocorrência de comportamentos anormais como a mordedura de cauda (MOINARD et al., 2003). Para suínos, o enriquecimento ambiental pode ser ofertado com o objetivo de melhorar as condições de alojamento que os sistemas de produção atualmente adotados fornecem, os quais não proporcionam condições para os animais expressarem seus comportamentos naturais.

- *Medidas de ativação do eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal*

A definição mais aceita de bem-estar animal refere-se "ao estado de um indivíduo durante suas tentativas de se ajustar ao ambiente" (BROOM, 1986). Deste modo, na tentativa de manter a homeostase, há ativação do sistema nervoso central (SNC) e a consequente ação do eixo HPA, que cumpre um papel fundamental secretando substâncias endógenas como neurotransmissores e glicocorticoides (ex. cortisol) (BROOM et al., 1995; ELOY, 2007). Estas mudanças fisiológicas podem ser quantificadas, para indicar o nível de estresse em que os animais foram expostos e sua habilidade de se adaptar ao meio (SIEGFORD; RUCKER; ZANELLA, 2008). Através do estudo dessas variáveis, pode-se entender e melhorar o ambiente e o manejo dos animais e assim, possivelmente, gerar níveis de bem-estar mais adequados e de melhor produtividade.

A compreensão dos mecanismos de percepção e respostas ao ambiente que os animais utilizam pode direcionar a melhor escolha de um sistema de alojamento para eles. Exemplos disso são o estudo realizado por Edwards (2002), sobre o comportamento da matriz, auxiliando na compreensão dos índices de mortalidade perinatal. A pesquisa de Weaver et al. (2000) observou que os manejos neonatais em machos suínos que envolvem a separação materna causam redução no ganho de peso e evidência de desregulação do eixo HPA, processo mediado pela ação do cortisol.

O cortisol é um importante indicador de estresse nos animais. Ele é um hormônio sintetizado nas glândulas adrenais a partir do colesterol em resposta a cascata que envolve a liberação do fator liberador corticotrópica pelo hipotálamo e da adrenocorticotrófica pela pituitária (SOARES; ALVES, 2006). Após a sua síntese, o cortisol é liberado na corrente sanguínea, e por ser uma molécula altamente lipossolúvel, difunde através das membranas celulares e chega à saliva (SARAIVA; FURTUNATO; GAVINA, 2005; SOARES; ALVES, 2006).

A ação geral do cortisol é catabólica, participando da produção de energia pela degradação proteica, lipólise e gliconeogênese, bem como seus efeitos anti-inflamatório e imunossupressor. Além disso, o cortisol tem importante função no SNC modulando memória, atenção, sono, estado emocional, entre outros (SARAIVA; FURTUNATO; GAVINA, 2005). Esses eventos são mediados pelo ritmo circadiano do cortisol e é influenciado por fatores como luz, temperatura, alimentação, entre outros. Entender estes

processos fisiológicos dos animais pode auxiliar na melhor identificação das condições de bem-estar animal.

A mensuração do cortisol e seus metabólitos pode ser feita através de variadas amostras biológicas, como urina, sangue, saliva (SOARES; ALVES, 2006), bem como a mensuração em placenta (glicocorticoides) (TATEMOTO et al., 2019). Métodos de coletas de amostras menos invasivos, como a coleta de saliva, apresentaram-se mais fáceis, rápidos, confiáveis, pouco estressantes aos animais e relativamente mais baratos (SOARES; ALVES, 2006). Para a coleta de saliva em suínos, a utilização de roletes de algodão e fio dental já está bem consolidada na literatura (BROOM et al., 1995; LIMA, 2016; SIEGFORD; RUCKER; ZANELLA, 2008; ZUPAN; ZANELLA, 2017).

Apesar do cortisol ser um excelente indicador de níveis de estresse animal, ele pode ser produzido durantes comportamentos naturais como o estro ou excitação (KLUIVERS-POODT et al., 2010). Desta maneira, ele não deve ser avaliado individualmente, pois como visto na revisão de Manteca et al. (2013), existem vários indicadores de bem-estar do indivíduo ou da população, e eles demandam uma visão multidimensional, por exemplo, unindo a esta a avalição comportamental explicada anteriormente e as avaliações emocionais que serão abordadas a seguir.

- *Estados Afetivos*

As pesquisas sobre o estado afetivo ou emocional dos animais se encontra em expansão, principalmente aquelas ligadas aos estados afetivos positivos (MENDL; PAUL, 2020). Isso é de extrema relevância, considerando que o estado emocional dos animais é uma das bases do bem-estar animal (DAWKINS, 2017; FRASER, 2008). A existência de sistemas emocionais ‘básicos’ como o medo, a raiva ou o pânico apresentam funções adaptativas e fundamentais, e estas são processadas e armazenadas em áreas especificas do cérebro (amígdala; hipotálamo) (PANKSEPP, 2007; PAUL; HARDING; MENDL, 2005). Sendo assim, os eventos vivenciados pelos animais durante seu desenvolvimento podem alterar o seu estado afetivo.

Os estados afetivos ou emocionais têm suas definições abordadas na revisão de Paul et al. (2005), onde relatam que eles são uma resposta às informações oriundas do ambiente, as quais são processadas e armazenadas pelos animais, de forma a evitar danos ou punições ou ainda obter recompensas valiosas. A classificação em diferentes níveis da emocionalidade é apresentado por Mendl et al. (2010) em um espaço bidimensional,

podendo ser ele positivo ou negativo, vinculado ao sistema biológico de recompensa ou de punição. O medo, por exemplo, é uma resposta ao potencial perigo de predação ou lesão, independente da causa, e é uma condição aversiva (BROOM, 1991).

Gieling et al. (2011) relatam que alguns critérios de avaliação das emoções são mais relevantes que outros, geralmente dependendo das questões específicas da pesquisa. Para isso, as pesquisas realizadas com suínos apresentam oito critérios sobre as características mensuráveis em testes emocionais apresentados por Gieling et al. (2011), e listados de forma resumida abaixo:

- Animais saudáveis e capazes de executar a tarefa;
- A tarefa deve permitir uma análise detalhada do comportamento;
- A tarefa deve ser o mais livre de estresse possível;
- A tarefa deve tocar preferencialmente comportamentos ecologicamente relevantes;
- A tarefa deve ser padronizada para permitir comparações entre estudos;
- A tarefa deve, sempre que possível, ser automatizada, a fim de eliminar a variabilidade entre os observadores e permitir análises aperfeiçoadas;
- A tarefa deve permitir a investigação dos efeitos do desenvolvimento e deve preferencialmente adequada para testes repetidos, a fim de permitir estudos longitudinais;
- A tarefa deve ser complexa e sensível o suficiente para capturar diferenças sutis nas habilidades cognitivas.

As emoções negativas como comportamentos de medo, ansiedade e estresse são mais exploradas na pesquisa. Para tal, criou-se testes para determinar objetivamente estes estados emocionais dos animais, especialmente nas áreas da psicofarmacologia e neurociência (PAUL; HARDING; MENDL, 2005). Estes testes comportamentais têm sido adotados por vários autores, a fim de avaliar o medo e ansiedade em animais, nos testes de campo aberto, objeto novo e labirinto em cruz elevada (ANDERSEN et al., 2000a, 2000b; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005; COULON et al., 2013; JANCZAK et al., 2000; PUPPE; SCHÖN; WENDLAND, 1999). Esses testes estão baseados numa avaliação etológica detalhada do animal a fim de determinar variáveis respostas e as correlacionar com o objeto pesquisado.

Os testes de emocionalidade estão intimamente relacionados com as informações recebidas do ambiente e como elas são processadas pelo indivíduo. Compreender a ação

do ambiente na percepção dos animais pode auxiliar no entendimento da emocionalidade dos mesmos (ISON et al., 2016; SNEDDON, 2004).

- *Dor e nocicepção*

A dor é definida pela *International Association for the Study of Pain* como uma "experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano real ou potencial ao tecido, ou descrita em termos de tal dano" (IASP, 1986). A dor inclui um processamento sensorial mais complexo, discriminativo dos estímulos recebidos, envolvendo aspectos afetivos e emocionais (ISON et al., 2016). A sua percepção difere entre os sexos, pois o gênero masculino apresenta um limiar maior de tolerância à dor comparado ao feminino (WIESENFELD-HALLIN, 2005).

A exposição aos desafios que causam dor em animais pode alterar o limiar de resposta a estímulos nociceptivos na prole (RUTHERFORD et al., 2014; SANDERCOCK et al., 2011). A nocicepção é o mecanismo pelo qual os estímulos periféricos aversivos são conduzidos ao SNC. Os aspectos relacionando a sensibilidade animal aos efeitos da dor foram observados como possíveis sinais de impacto em medidas de emocionalidade ligadas à angústia em leitões (GOUMON; ŠPINKA, 2016).

Os suínos respondem com processos adaptativos semelhantes aos observados em outras espécies animais, quando deparados com doenças ou procedimentos dolorosos apresentando baixa especificidade em relação à espécie (HERSKIN; DI GIMINIANI, 2017). Os suínos, mesmo sem receber a ação direta (conter o animal), apresentaram respostas comportamentais diferentes quando em presença de outros animais que receberam a ação (GOUMON; ŠPINKA, 2016).

Práticas na suinocultura tais como a castração, corte de dentes, corte de cauda e mossa podem causar dor nos animais, alterando a modulação do sistema de respostas (ISON et al., 2016). A pesquisa realizada por Ison e Rutherford (2014) demostrou que profissionais da área de produção suína reconhecem que há estímulos dolorosos causados aos suínos, porém apresentam uma carência educacional nesta área. Deste modo, destacamos a importância de estudar a relação entre dor e emocionalidade dos suínos, nas diversos etapas dos sistemas de produção.

Padronização de leitegada, desmame, mistura de marrãs e porcas são outros exemplos em que processos de dor podem acontecer em função de brigas. Os comportamentos agonísticos tem como consequência inúmeras lesões físicas, diminuindo

o grau de bem-estar dos animais. As lesões de pele são parâmetros validados para mensurar os níveis de agressão dos animais (AREY; EDWARDS, 1998; BERNARDINO et al., 2016; GUY et al., 2009; TATEMOTO et al., 2019; TURNER et al., 2006). Embora a nocicepção e a dor sejam consideradas distintas, a dor da lesão não ocorre sem a nocicepção (SNEDDON, 2018).

Impacto do ambiente nos indicadores de bem-estar da prole

Os comportamentos de adaptação podem ser definidos como a capacidade de sobrevivência de um indivíduo (BROOM et al., 1995). Eles devem apresentar características desejáveis para que o processo de seleção sexual, quando possível, favoreça a disseminação dos genes, nos descendentes viáveis, e com isso ocorra a propagação da espécie.

Os fatores ambientais que causam estresse podem afetar a expressão das características genéticas para ambos os sexos através de mecanismos epigenéticos (SULLIVAN; SAEZ, 2013). Fatores ambientais envolvidos com as áreas bastante pesquisadas da subnutrição e obesidade em humanos tem como objetivo encontrar os mecanismos reguladores associados à exposição dos progenitores utilizando modelos animais (SCHAGDARSURENGIN; STEGER, 2016). Os possíveis impactos das experiências dos machos nos mecanismos epigenéticos que possam alterar o comportamento e bem-estar da prole são menos conhecidos.

Quando o indivíduo é exposto a uma experiência ambiental, pode-se determinar se há efeitos epigenéticos ou não (SULLIVAN; SAEZ, 2013) nos fenótipos da prole. Alterações epigenéticas se referem a alterações na expressão gênica que ocorrem sem uma alteração na sequência de DNA (Ácido desoxirribonucleico; do inglês *deoxyribonucleic acid*) (JIRTLE; SKINNER, 2007). As alterações epigenéticas abrangem uma série de modificações moleculares no DNA e na cromatina (LI, 2002), as mais extensivamente investigadas são a metilação do DNA, que ocorre na posição 5’ do carbono da citosina nos dinucleotídeos CpG (Citosina adjacente a guanina) e alterações no pacote de DNA da cromatina por modificações histônicas pós-traducionais (TALBERT; HENIKOFF, 2006).

Os machos apresentam variabilidade na contribuição de efeitos ambientais para as mudanças epigenéticas nos gametas, e esta variabilidade é influenciada pelos diversos

estágios da espermatogênese (LI et al., 2016). O processo de espermatogênese inicia quando o animal atinge maturidade sexual e o ciclo da espermatogênese de um suíno é de 43 dias (HAFEZ; HAFEZ, 2004; O'DONNELL et al., 2001). Não obstante, as marcas epigenéticas são incorporadas nas células germinativas, ou seja, os efeitos podem ser transmitidos para as gerações seguintes através de mecanismos transgeracionais (BALE, 2015). Os mecanismos epigenéticos que causam pequenas alterações possuem um papel importante na reprogramação e desenvolvimento neurológico (BALE, 2015) e, por consequência, afetam o comportamento animal. Um bom exemplo é fornecido pelos estudos de Lacal e Ventura (2018) que demonstraram que condições estressantes vivenciadas pelos pais podem influenciar a vulnerabilidade da prole a muitas condições patológicas, incluindo psicopatologias principalmente relacionadas a interrupções em mecanismos de resposta ao estresse.

3. HIPÓTESE

As condições de alojamento de machos suínos impactam nos indicadores de bem-estar da sua prole.

4. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do alojamento de machos suínos na emocionalidade da prole.

Objetivos específicos

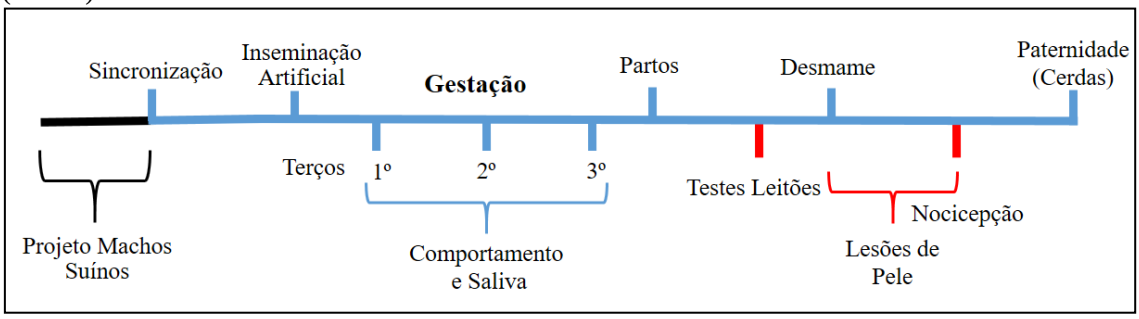
- Verificar se os sistemas de alojamentos dos machos alteram os níveis de medo e ansiedade da prole;
- Verificar se os sistemas de alojamentos dos machos alteram os comportamentos agonísticos da prole;
- Verificar se os sistemas de alojamentos dos machos alteram a nocicepção da prole.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado na Universidade de São Paulo (USP) *Campus* Fernando Costa, Pirassununga - São Paulo, aprovada pelo Comitê de Ética em Uso de Animais, número de protocolo CEUA 6555081018. Esta pesquisa foi financiada pelo projeto regular FAPESP 2018/01082-4, conduzido de forma simultânea com o projeto de doutorado FAPESP (2017/05604-2) realizado pelo bolsista Thiago Bernardino com o número de protocolo CEUA 3612010616. O objetivo principal da referida pesquisa de doutorado é avaliar o efeito de diferentes alojamentos de machos suínos nos indicadores de bem-estar animal dos machos e marcadores moleculares no sêmen.

O experimento foi realizado de maio a outubro de 2019 e consistiu em vários procedimentos desde a sincronização das fêmeas à colheita de material para o teste de paternidade, como pode ser visualizado na Figura 1.

Figura 1 – Linha do tempo do protocolo experimental realizado com os machos alojados em três sistemas (N=18), fêmeas mantidas ao ar livre (N=15) e leitões testados, prole dos animais envolvidos no experimento (N=138)



Os dados meteorológicos apresentados na Tabela 1 foram obtidos da Estação do *Campus* Fernando Costa em Pirassununga, SP, cerca de 500 m de distância do alojamento dos animais.

Tabela 1 - Temperatura e umidade relativa do ar médias do período experimental, coletada pela estação meteorológica do *Campus* Fernando Costa

Meses 2019	**Temperatura (°C)**			**Umidade Relativa do Ar (%)**		
	Max	**Média**	**Min**	**Max**	**Média**	**Min**
Maio	32,6	21,2	7,2	93	71,6	22
Junho	30,6	18,9	8,2	92	67,1	26
Julho	30,7	17,5	3,9	94	62,1	18
Agosto	33,2	19.4	9,6	89	59,6	17
Setembro	38,3	23,4	13	90	57,7	10

Outubro	37,3	25,3	13,9	89	54,4	8

Fonte: Estação meteorológica *Campus* Fernando Costa, 2019.

5.1 Alojamento dos machos suínos

Os galpões de alojamento eram de alvenaria, com cobertura de telhas de barro e estrutura metálica, sem sistema de cortinas, e sua localização segue a orientação sol leste/oeste (longitude: 21°56'57.8"S e latitude: 47°27'17.1"W). Os manejos bem como a distribuição dos machos suínos nas instalações foram realizados pelo doutorando Thiago Bernardino.

Foram utilizados para o estudo 18 machos suínos F1 (Landrace × Large White), de uma população experimental de 27 indivíduos (projeto do doutorando Thiago Bernardino), com idade média de um ano, submetidos a três sistemas de alojamento. Os tratamentos foram: cela (C; N=6), baia individual (B; N=6) e baia individual com enriquecimento ambiental (E; N=6) (escovação, banho e feno de tifton). O enriquecimento com a escovação foi realizado duas vezes ao dia (manhã e tarde) por dois minutos interruptos, da mesma maneira que o banho, porém com menor tempo (30 segundos), e o feno foi fornecido logo após o banho, durante todo período experimental. Seis animais foram distribuídos para cada alojamento, no período de quatro semanas (Figura 2).

Figura 2 – Alojamento dos machos suínos C – Cela; B – Baia individual e E – Baia individual com enriquecimento

5.2 Alojamento das fêmeas suínas

Quinze fêmeas suínas, linhagem Afrodite®, Topgen, foram alojadas em um único piquete com acesso a aproximadamente 400 m^2 por fêmea, localizado de acordo com as

coordenadas latitude = 21°56'56.5"S longitude = 47°27'21.0"W. O piquete tinha cercas elétricas, com dois portões de acesso, piscina de lama e sombra natural (área aproximada de 500 m^2; Figura 3). A água foi fornecida por dois bebedouros tipo chupeta e as fêmeas receberam concentrado no chão. O arraçoamento foi realizado diariamente, às 07:00h e às 13:00h, com concentrado de gestação no volume de aproximadamente 2,5 Kg/dia/fêmea.

Figura 3 - Alojamento das fêmeas suínas durante a gestação, com acesso para forragem, sombra natural e piscina de lama

De forma a padronizar os procedimentos com os leitões no parto, foi realizado um protocolo de sincronização utilizando Altrenogest (Regumate®, MSD Saúde Animal) com dosagem de 5 ml por animal durante 18 dias consecutivos via oral. As marrãs foram condicionadas a receber um pedaço de pão umedecido com água por três dias e posteriormente o pão foi fornecido com o Altrenogest.

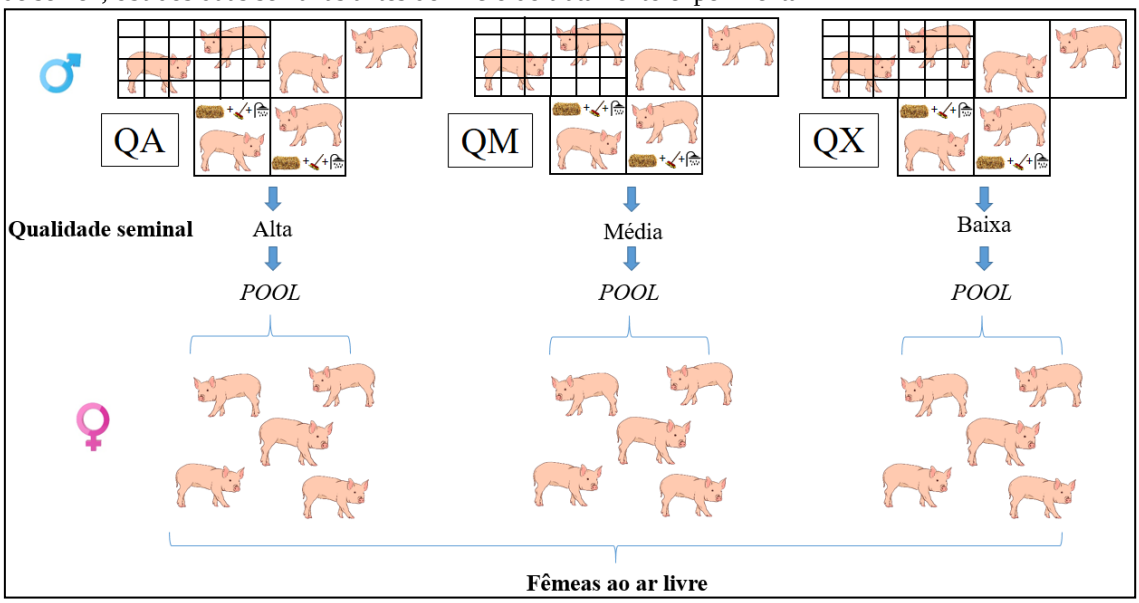
5.3 Colheita de sêmen e inseminação das fêmeas suínas

Colheita de sêmen foi efetuada em 18 machos suínos por quatro semanas após o início dos tratamentos, conforme descrito no item anterior. As amostras de sêmen foram mantidas em diluente comercial (Androstar® Plus) a uma temperatura de 17° C até o momento da inseminação. No momento da inseminação, foi preparado um *pool* com sêmen de seis machos, os quais foram designados aos pares de acordo com o seu alojamento: celas, C (N = 2); baias, B (N = 2) e baias enriquecidas, E (N = 2). Os animais foram divididos em três grupos dentro de cada tratamento, como pode ser observado na Figura 4, usando os critérios de qualidade de sêmen: alta-QA (N = 6), média-QM (N = 6) e baixa-QX (N = 6), ao final contemplado os 18 reprodutores em três *pools*. A seleção por qualidade de sêmen observou a sua concentração, motilidade, vigor e volume

mensurados nas duas semanas anteriores à alocação dos animais e seus respectivos alojamentos.

As 15 fêmeas suínas F1, nulíparas, alojadas ao ar livre, foram distribuídas ao acaso em três grupos de cinco animais para serem inseminadas com o *pool* de sêmen dos três grupos de qualidade de sêmen (QA, QM e QX) conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4 - Protocolo de inseminação das 15 marrãs com os três *pool* de sêmen. A coleta de sêmen dos machos alojados conforme os respectivos tratamentos foram divididos de acordo com critérios de qualidade de sêmen, obtidos duas semanas antes do início do tratamento experimental



Nota: Cada *pool* representando seis machos alojados em celas (N = 2), baias (N = 2) e baias enriquecidas (N = 2) visualizado na parte superior da imagem e por critérios de qualidade de sêmen: alta-QA (N = 6), média-QM (N = 6) e baixa-QX (N = 6).

Para a inseminação artificial (IA) das 15 marrãs, foi utilizado o segundo estro após a sincronização. Para o diagnóstico de gestação foi monitorada a ausência do comportamento de estro por volta dos 21 dias após a IA, e feito exame ultrassonográfico, no dia 35 após a IA. Uma fêmea repetiu o cio e não fez parte do estudo (sêmen de média qualidade). Aos 80 dias de gestação a vacinação polivalente (SUIVEN®) e pesagem foram realizadas nas fêmeas suínas. Neste dia também se colheu as cerdas da região dorsal dos machos suínos, para o teste de paternidade.

5.4 Colheitas amostrais dos suínos

Durantes o período experimental foi realizado colheitas de amostras fisiológicas, comportamentais e produtivas a cada terço de gestação, maternidade e início da creche, que serão melhor apresentadas a seguir.

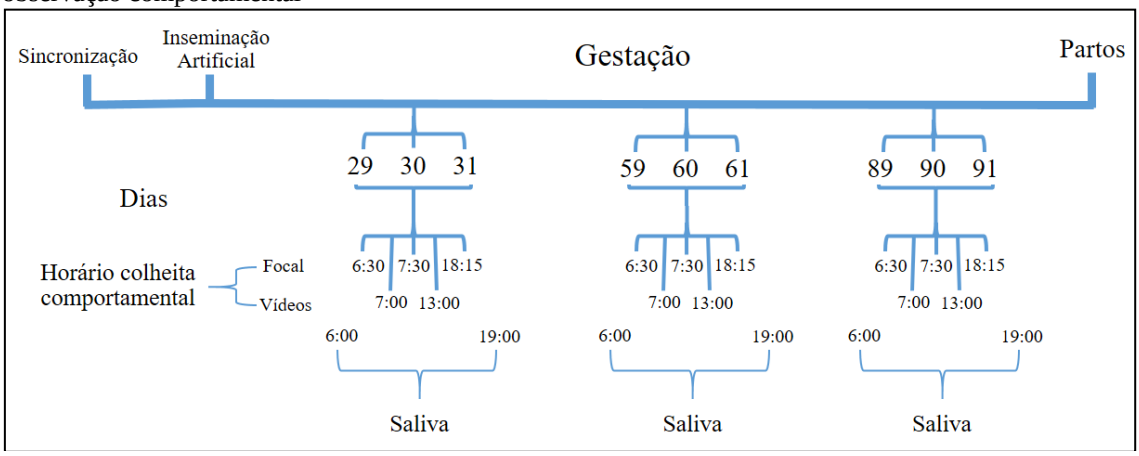
5.4.1 Colheitas comportamentais e fisiológicas das fêmeas suínas gestantes

As fêmeas suínas foram identificadas com números no dorso com bastão de marcação animal. A observação direta ocorreu por três dias a cada terço de gestação, sendo que os horários foram às 06h30min, 07h30min e às 18h30min, correspondendo aos períodos antes da alimentação pela manhã, logo após a alimentação e ao final do dia. A observação foi realizada por duas pessoas previamente treinadas. Os treinamentos foram realizados antes do início do experimento e consistiram em observação individual dos animais com a utilização do etograma apresentado no Quadro 2.

As fêmeas foram observadas através do método de animal focal e observação contínua (MARTIN; BATESON, 2007). As observações tiveram duração de dois minutos contínuos em três momentos a cada coleta, sendo esta realizada três vezes ao dia.

Para a coleta dos vídeos, os animais foram filmados após dois minutos do início da alimentação por 10 minutos, às 07:00h da manhã e às 13:00h da tarde, nos mesmos dias da observação direta (Figura 5). Com isso, se obteve o somatório diário de 28 minutos de observação por animal.

Figura 5 - Linha do tempo de marrãs em gestação (N=14) com os períodos de colheitas de saliva e observação comportamental



A avaliação comportamental (frequência e duração) ocorreu de duas formas, a observação direta (duas pessoas) e a observação de vídeos (individual) com uso do software livre Boris v.7.9.7 (FRIARD; GAMBA, 2016). Os comportamentos foram definidos e registrados no etograma, após três segundos do início da coleta de dados. Após a colheita, os dados foram comparados e os pontos divergentes foram revistos quanto a sua descrição e observação, até que os valores fossem concordantes em 95%.

As definições comportamentais foram baseadas nos trabalhos de Bernardino (2016) e Mendl et al. (1992), de modo que foram feitas algumas alterações para melhor caracterizar alguns comportamentos de maior interesse do estudo (Quadro 1).

Quadro 1 - Definição dos comportamentos das fêmeas suínas gestantes

Comportamento	**Descrição**
Sono	Olhos fechados, dormindo.
Ajoelhar	Apoiada com o membro torácico, não usando os cascos e sim os cotovelos.
Deitar ventralmente	Decúbito ventral.
Deitar lateralmente	Decúbito lateral.
Sentar	Corpo suportado pelos membros torácicos, membros pélvicos e pernil no solo.
Em pé	Animal em posição anatômica.
Caminhar	Se locomover com os quatro membros ao solo, dado mais que dois passos.
Comportamento estereotipado	Ranger de dentes, mastigação em falso, movimentação da língua de forma repetida.
Fuçando o chão	Focinho toca o chão seguido de movimentos com a cabeça.
Forrageando	Ato de pastejar ingerir vegetação do piquete.
Beber água	Manipulando o bebedouro e ingerindo água.
Manipular bebedouro	Manipulando o bebedouro sem ingerir água.
Interagir com a cerca	Se coçando ou fuçar o mourão.
Vocalizar*	Emissão de sons vocais pelo animal.
Defecar*	Ato de defecar.
Urinar*	Ato de urinar.

Inativo	Animal em qualquer posição, com olhos abertos e sem movimentação.
Grooming	Limpeza de superfície do corpo de outro animal (lamber, mordiscar, e outras manipulações gentis).
Belly nosing	Movimento do focinho, de forma persistente, na barriga de outro animal (às vezes há sucção dos tetos, fricção do flanco).
Interação social amistosa	Interação social entre os animais, sem nenhum tipo de agressividade, (exceto compartilhar alimento).
Agredir*	Brigas, disputa por algum recurso.
Outros	Realizar qualquer outro comportamento que não esteja definido no etograma.
Comer	Ingerir concentrado com a boca
Comer e compartilhar	Ingerir concentrado com a boca no mesmo local, compartilhando o alimento com uma ou mais (fêmeas 40cm de distância entre uma cabeça e outra).
Recuar*	Animal recebe fisicamente agressão de outro, com mordidas ou empurrões.
Ameaçar*	Animal afugenta o outro sem contato físico.
Evitar*	Animal foge do local de comer, sem contato físico.

*Comportamento computado em frequência.
Fonte: Adaptado de Bernardino (2016) e Mendl (1992).

Além do comportamento, foram colhidas amostras de saliva das fêmeas a cada terço gestacional, por três dias consecutivos, totalizando nove dias amostrais. Foram colhidas amostras de saliva de manhã (06h00) e à tarde (19h00). Para cada terço (três dias) foram agrupadas amostras de cada indivíduo, mantendo separado os períodos da manhã e tarde, deste modo, obtendo duas amostras por fêmea por terço.

Para a coleta da saliva, foi utilizado o método descrito em Siegford et al. (2008). Foram utilizados dois roletes de algodão amarrados por um pedaço de fio dental de aproximadamente 60 cm de comprimento. Os roletes de algodão foram fornecidos ao animal de forma que ele mastigue e umedeça com saliva. Para facilitar o manejo as fêmeas foram condicionadas com roletes de algodão cobertos com açúcar, antes de iniciar o experimento. O primeiro rolete é descartado e o procedimento é repetido, para garantir que a saliva colhida seja recém produzida, diferente da saliva acumulada na cavidade

bucal. Em seguida, os roletes de algodão são guardados em tubo *falcon* de 15 ml, armazenados em caixas de isopor para transporte, submetidos à centrifugação 1.000 x g, por cinco minutos, para extração do conteúdo e armazenado em microtubos de 1,5 ml a -20° C até as análises laboratoriais. As amostras foram processadas de forma a obter os valores de cortisol utilizando-se radioimunoensaio (COA-A Count).

5.4.2 Avaliação comportamental das fêmeas e da sua leitegada

No período pré-parto, as fêmeas tiveram contatos diários com os manejadores que acompanharam os partos através de um protocolo de interações humanas positivas.

As fêmeas foram divididas em duplas nos piquetes maternidade (800m^2 área) e permaneceram assim por 10 dias após o parto. Uma das fêmeas ficou sozinha por este período. Em seguida retornaram para dois grupos de indivíduos (N=6 e N=7; uma fêmea foi retirada do estudo). Os piquetes tinham bebedouros, sombra artificial e construiu-se um abrigo de bambu e tapetes de borracha, e forneceu-se fenos para os ninhos antes, durante e após os partos. A partir deste momento foi fornecido o concentrado de lactação às 7:00h e 16:00h, evitando horários mais quentes do dia, também disposta sobre um tapete de borracha (Figura 6).

Os partos foram assistidos e as fêmeas receberam assistência quando necessário. Durante o parto, uma das fêmeas necessitou de auxílios veterinários para cesariana. Dois leitões que nasceram de parto normal foram realocados em outra fêmea, os sete demais e a fêmea vieram a óbito. Os dados referentes a esta fêmea no pós-parto foram retirados das análises estatísticas. As placentas foram avaliadas para identificar a presença de embriões ou fetos que não completaram o seu desenvolvimento.

Durante os partos sete leitões vieram a óbito e oito eram mumificados. Os leitões com menos de 600g ao nascimento foram eutanasiados (N=2). Os demais (N = 169) foram orientados à primeira mamada, realizado o corte e desinfecção umbilical, e identificação com brinco ao terceiro dia de vida. Estes leitões não receberam manejos rotineiros de produção, como inoculação de ferro dextrano, desgastes dos dentes e caudectomia. Além disso, os machos não foram castrados. Foi construído *creep feeding* para os leitões junto ao local de alimentação das fêmeas suínas (Figura 6). Ao décimo dia todos os leitões foram pesados, já aos 25 dias de idade, além da pesagem, 138 leitões passaram por todos

os testes de emocionalidade descritos a baixo, os demais leitões (N = 31) morreram por esmagamento.

Figura 6 - *Creep feeding* usado para alimentação complementar dos leitões, construído de cerca elétrica e tapete de borracha

Testes comportamentais

Para a condução dos testes comportamentais as fêmeas e sua leitegadas ficaram alojadas em uma baia de 9 m^2, próximo ao local do teste, durante o período experimental de cerca de 12h. Foram conduzidos os testes de campo aberto, objeto novo (BERNARDINO et al., 2016; PUPPE et al., 2007; TATEMOTO et al., 2020; ZUPAN; ZANELLA, 2017b) e labirinto em cruz elevado (ANDERSEN et al., 2000b, 2000a; RODGERS et al., 1997; RODGERS; JOHNSON, 1995). Todos os leitões foram avaliados sem o conhecimento de quem eram seus progenitores.

Todos os testes foram filmados e para a avaliação comportamental, um único observador utilizou o software Boris (FRIARD; GAMBA, 2016) para registrar o tempo e frequência dos comportamentos (Tabela 2). Para isso, realizou-se um treinamento utilizando o software, o etograma e os vídeos, que consistia em memorizar os comados de cada comportamento pré-estabelecido. Para treinamento foram avaliados em torno de 15 animais (4h) no dia anterior ao início da avalição.

- *Testes de campo aberto e objeto novo*

Foi conduzido uma combinação de testes de campo aberto e objeto novo, para determinar os níveis de medo e motivações exploratórias de cada leitão (N = 138) (PUPPE et al., 2007; ZUPAN; ZANELLA, 2017a). Os animais foram testados individualmente na arena (2,75 m x 2,75 m), com demarcações formando quadrantes em toda a extensão do

piso, e as quatro paredes (altura de 2,2 m) apresentavam janelas em formato de alçapão para introduzir o animal ao teste (Figura 7; A-B).

Cada um dos testes, campo aberto e objeto novo, teve duração de cinco minutos, totalizando 10 minutos totais. Cada leitão foi colocado gentilmente em um local predeterminado na arena e filmado durante o período de teste. A partir das filmagens, foram registrados os comportamentos definidos no etograma descrito na Tabela 2. Após esse teste, um objeto novo, representado por um cone de sinalização de trânsito foi inserido por um sistema de roldanas no centro da baia (Figura 7 – A e B). Foram registrados todos os comportamentos subsequentes por cinco minutos, a contagem de vocalização ocorreu durante os testes. Após cada teste, a baia foi desinfetada com álcool para reduzir possíveis pistas químicas, bem como retiradas as fezes e urina.

Tabela 2 - Definição dos comportamentos observados durante os testes campo aberto (5 minutos) e objeto novo (5 minutos)

Comportamento	**Definição**
Saltar	Saltar contra as paredes tentando fugir.
Vocalizações	Emissão de sons vocais pelo animal.
Exploração	Caminhar pela arena.
Tempo na lateral	Tempo de permanência nos quadrantes laterais.
Tempo no centro	Tempo de permanência nos quadrantes centrais.
Cruzar o centro	Número de vezes que cruzou o centro.
Latência	Tempo total até interagir com o objeto.
Explorando o objeto	Animal interage com o objeto.
Fisiológicos	Urinar e defecar.

Fonte: Adaptado de Andersen et al. (2000a); Andersen et al. (2000b) e Bernardino et al. (2016).

- *Teste utilizando o labirinto em cruz elevado*

O teste de labirinto em cruz elevada (ANDERSEN et al., 2000a, 2000b) foi disposto em sala revestida por lonas azuis em formato de cortinas. O labirinto em cruz elevada foi disposto a 1 m do chão, apresentando quatro braços de igual comprimento, largura e altura (1,2 m; 0,6 m e 0,45 m respectivamente). Dois destes braços eram fechados e dois abertos (Figura 7 - C). Também foram realizadas filmagens com uma câmera durante o período de cinco minutos para cada leitão (N = 138).

Figura 7 - Testes comportamentais realizados com os leitões aos 25 dias de idade. Visão da câmera utilizada para a análise das imagens. A – Campo aberto, B – Objeto novo e C – Labirinto em cruz elevada

Cada leitão foi apanhado nas baias de lactação individualmente e transportado por 30 segundos no colo até a sala experimental onde foi identificado com bastão marcador e colocado no centro do labirinto em cruz elevada. Para diminuir as possíveis pistas químicas que os leitões podiam deixar no labirinto em cruz elevada, foi realizada higienização com toalha e álcool. Também foram alocados tapetes de borracha ao redor do labirinto em cruz elevada, no caso de alguma queda ou salto. O procedimento foi realizado uma única vez. Posteriormente, o animal foi devolvido à baia com a fêmea.

Os comportamentos avaliados no teste foram baseados em trabalhos já publicados (ANDERSEN et al., 2000b, 2000a; RODGERS et al., 1997; RODGERS; JOHNSON, 1995). Nestes testes, avaliam-se vocalizações (realizada contagem durante o teste), o tempo para sair do centro, tempo parado ou explorando cada braço, tempo no centro, urinar ou defecar e tentativas/êxitos de saltar ou descer.

5.5 Avaliações pós desmame dos leitões

Os leitões foram desmamados com média de 29 dias de idade, sendo separados pelo peso aferido aos 25 dias. Foram divididos em três grupos, os leves (N=46; 5,0 ±0,10kg), os médios (N=44; 6,0±0,12kg) e os pesados (N=48; 7,0±0,13kg) dentro da mesma leitegada e alojados por categoria de peso respectivamente em três baias com feno (25 m^2 por baia). Receberam concentrado para a idade quatro a cinco vezes ao dia, água *ad libitum*, além de também receberem água com acidificante orgânico (Selko-pH®), pois eles apresentaram diarreia.

- *Comportamento agressivo*

Para avaliar a agressividade dos leitões (N = 138), utilizou-se o protocolo baseado nas pesquisas de Bernardino et al. (2016), Guy et al. (2009) e Tatemoto et al. (2019b). Esse é um método indireto de avaliação da agressividade que consiste em coletar seis imagens da superfície corporal dos leitões no dia do desmame e nos quatro dias consecutivos. No primeiro dia as fotos foram registradas na maternidade e 24h após o desmame realizou-se a segunda coleta, isso se repetiu até o quarto dia após o desmame, sempre no mesmo horário. Foram coletadas um total de 30 imagens por animal. Em seguida, foram contabilizados os números de lesões da pele de cada imagem obtida, por duas pessoas. Utilizou-se a soma total de lesões de pele de cada leitão e as médias entre os observadores para as análises estatísticas.

- *Indicadores de nocicepção*

Os leitões foram submetidos à estimulação mecânica para avaliação do limiar nociceptivo, utilizando o analgesímetro eletrônico de Von Frey (máx. 10N), que consiste em um transdutor de força portátil equipado com uma ponta de polipropileno (Figura 8 - A). Os animais foram estimulados duas vezes consecutivas do lado direito e esquerdo da região coxofemoral e quartela, como pode ser observado na Figura 8 – C (HERSKIN; RASMUSSEN, 2010). Para a análise de dados, utilizou-se o valor médio de todos os pontos, bem como o seu tempo médio.

Os leitões (N = 138) foram mantidos em grupo na baia e suspensos no colo durante a avaliação que ocorreu aos 34 dias de idade (Figura 8 – B). Eles foram habituados previamente ao manejo de contenção no colo, uma vez por dia durante 10 dias. Além da avalição realizada pelo aparelho nos letões, foi coletado o tempo de resposta aos estímulos.

Figura 8 - A - Analgesímetro digital EFF 301 (INSIGHT EQUIPAMENTOS LTDA - EPP, 2019) B - Método de segurar o leitão, C – Pontos para a estimulação mecânica nociceptiva utilizando o analgesímetro eletrônico de Von Frey

5.6 Alocação dos leitões nos grupos experimentais representados pelo tratamento experimental machos

O teste de paternidade foi realizado ao termino da avaliação comportamental dos leitões. Para tal, foram colhidas amostras de cerdas da região lombar de cada macho explicado anteriormente e dos leitões (possíveis proles), e enviadas ao laboratório NEOGEN®. Dos leitões que morreram durante o experimento foram coletados amostra de tecido (pele) para a atestar paternidade.

Os leitões, após o resultado da paternidade, ficaram distribuídos da seguinte maneira: 34 leitões pertencentes ao tratamento da cela (C), 39 leitões ao tratamento da baia (B) e 65 leitões do tratamento baias com enriquecimento ambiental (E); essas informações foram utilizadas para a análise estatística.

5.7 Análises estatísticas

- *Preparação dos dados dos leitões para a análise*

Os dados referentes aos leitões foram organizados de acordo com o tratamento dos machos. Dos 195 leitões nascidos totais, 189 tiveram sua paternidade atestada, de modo que os seis indivíduos que não puderam ser identificados eram fetos mumificados e a qualidade da amostra era baixa para averiguar a paternidade.

Para as análises estatísticas, também não foram consideradas as informações amostrais pós-parto obtidas da fêmea que passou pelo procedimento de cesariana. Os

valores obtidos desta fêmea foram: nove leitões, cinco machos (dois sobreviventes) e quatro fêmeas. Estes foram distribuídos por tratamento da seguinte maneira; dois leitões do macho C2, tratamento cela, um leitão do macho B1, tratamento baia e cinco leitões do macho E2 e um leitão do macho E1, do tratamento baia com enriquecimento ambiental (Tabela 5).

Para a análise estatística foi utilizado um total 26 variáveis e suas respostas originais de cada leitão, sendo que somente para os dados de lesões de pele e nociceptivos utilizou-se a média como explicado anteriormente. As variáveis analisadas foram:

- Pesos dos leitões aos 10, 25 e 29 dias de idade;
- Teste de campo aberto: tempo explorando e tempo nos quadrantes laterais, eventos de cruzar o centro, saltar, vocalizar e fisiológicos (urinar e defecar);
- Teste de objeto novo: tempo explorando, tempo na região central, latência, interação com o objeto, eventos de vocalizar, saltar e fisiológicos (urinar e defecar);
- Teste de labirinto em cruz elevada: tempo total de teste, latência e evento sem “escapar”;
- Número de lesões da pele dos leitões do 29º ao 33º dia de idade;
- Valores médios de nocicepção e tempo de reação do leitão.

- *Avaliação dos dados das fêmeas*

Os dados referentes aos progenitores passaram inicialmente por análise estatística descritiva, após teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Os dados comportamentais das fêmeas foram analisados por correlação de Spearman e *Two way* ANOVA a um nível de significância de 0,05.

- *Avaliação dos dados dos leitões*

O delineamento experimental utilizado no experimento mostrou uma alta robustez quanto à mínima interferência do técnico durante a coleta dos dados, devido à impossibilidade de saber a paternidade dos leitões nos momentos do trabalho experimental.

Com o objetivo de simplificar a estrutura dos dados observados, porém sem perder a informação original dos mesmos (GONÇALVES; SANTOS, 2009), foram utilizadas técnicas de análise de estatística multivariada, que são aplicadas geralmente em cenários onde inúmeras variáveis são avaliadas simultaneamente em cada elemento amostral (HÄRDLE; SIMAR, 2015).

A análise fatorial (AF) foi utilizada para tentar descrever a estrutura de dependência entre as variáveis através da criação de fatores (não observados) que podem expressar construtos subjacentes aos dados (MINGOTI, 2013). O número de fatores foi escolhido com base nos resultados de uma análise de componentes principais (PCA), realizada preliminarmente. Para melhorar a interpretação das cargas fatoriais foi utilizada rotação Varimax.

Na análise fatorial foi utilizada um conjunto de variáveis relativas a aspectos produtivos (peso aos 10, 25 e 29 dias de idade), comportamentais (número de vocalização durante os testes de campo aberto e objeto novo, e lesões de pele; tempo de permanência no teste labirinto em cruz elevada e tempo de reação nociceptiva) e fisiológico (valor nociceptivo). Do grupo inicial de variáveis foram mantidas no estudo somente aquelas com valores de comunalidade superiores a 0,500.

Posteriormente, os escores fatoriais de cada leitão foram classificados em três classes: duas classes de valores mais extremos (negativos ou positivos) e outra classe central, como indicado na Tabela 3. Como limites dessas classes foram utilizados os valores do primeiro (Q_1) e terceiro (Q_3) quartis do conjunto de escores de cada fator.

Tabela 3 - Regra de classificação dos escores fatoriais

Classificação	Regra	Porcentagem de valores
Negativo	$Escore \leq Q_1$	25%
Central	$Q_1 < Escore \leq Q_3$	50%
Positivo	$Escore > Q_3$	25%

O teste qui quadrado foi utilizado para testar a hipótese de homogeneidade dos escores em cada um dos tratamentos (C, B e E) a que os machos foram submetidos. Posteriormente, cada uma das tabelas de contingência (Classes de escores *versus* Tratamentos) a que os pais dos leitões foram submetidos foi submetida a uma análise de correspondência. Esta análise visa à determinação de um sistema de associação entre os

elementos das linhas e colunas da tabela, buscando explicar uma possível estrutura de associação entre elas (MINGOTI, 2013). Foram construídos gráficos com as componentes principais das linhas e das colunas que permitem a visualização do grau de interação entre elas, onde a proximidade dos pontos referentes às linhas e às colunas indicam associação e o distanciamento entre os pontos, uma repulsão (INFANTOSI; COSTA; DE ALMEIDA, 2014).

Desta forma, os resultados referentes as proles devem ser interpretados por proximidades ou distanciamento dos pontos de Tratamento × Classes.

.

6. RESULTADOS

Resultados das fêmeas

Neste tópico serão apresentados os valores produtivos, comportamentais e fisiológicos das fêmeas.

- *Resultados produtivos fêmeas e suas leitegadas*

Do total de 15 fêmeas que foram inseminadas, 14 ficaram prenhes obtendo taxa de prenhez de 93,3%.

Foi obtido um total de 186 leitões nascidos, sendo que a médias de nascidos foi 14,3 (N = 18 leitões máximo por fêmea e N = 4 leitões mínimo por fêmea) e a taxa de mortalidade no parto foi de 3,76%. Dois animais foram eutanasiados por apresentarem baixa vitalidade e peso (0,6kg), correspondendo a 1,08% dos nascidos totais. O percentual de mumificados foi de 4,3%. As demais mortes durante a maternidade ocorreram por esmagamento, obtendo a taxa de 18,4%. Totalizando, a mortalidade pré-desmame foi de 19,5%.

O peso médio dos leitões aos 10 dias foi de 2,696±0,05kg, aos 25 dias 6±0,01kg e aos 29 dias 7,867±0,11kg. Foram desmamados uma média de 10,6 leitões por fêmea. As fêmeas tiveram peso médio aos 80 dias de gestação de 209,9 ±6,4kg, e após o período de maternidade 216,2±4,5kg.

- *Resultados comportamentais e fisiológicos*

Durante a gestação, as fêmeas suínas não apresentaram comportamentos anormais nos terços gestacionais avaliados, e puderam realizar o comportamento de construção de ninho e interações sociais nos piquetes. Houve correlação negativa entre os comportamentos de comer e caminhar durante todos os períodos gestacionais (primeiro terço -0,752; segundo terço -0,732 e último terço -0,719; p <0,001). Houve uma correlação positiva entre comportamentos de evitar e caminhar durante o primeiro e o segundo terços da prenhez (1º terço 0,526 e 2º terço 0,577; p <0,001). Demostrou-se uma correlação negativa entre alimentação e outros comportamentos durante o segundo (-0,649; p <0,001) e o último terço da prenhez (-0,726; p <0,001), com o teste de *Two way*

foi observado que, durante o primeiro terço da prenhez, as fêmeas suínas caminharam mais do que durante o segundo e o último terço (p <0,001) e caminharam mais no segundo que no último terço da prenhez (p <0,001). Verificou-se também que, durante o primeiro terço da prenhez, elas passaram mais tempo se alimentando (p = 0,009), mais vezes se ameaçando, recuando e evitando (p = 0,05). Durante o segundo terço da prenhez, comportamentos de ameaça (p = 0,007), recuar (p = 0,005) e evitar (p <0,001) foram mais frequentes do que no último terço.

Os valores médios de concentração de cortisol salivar por fêmea, nos períodos da manhã (6h00) e tarde (19h00), avaliados durante os terços gestacionais, apresentando a média de concentração no período da manhã de 0,073±0,019 mg/dl e para o período da tarde de 0,067±0,033 mg/dl.

Resultados dos leitões

Neste tópico serão apresentados os resultados produtivos, comportamentais e fisiológicos dos leitões.

- *Resultados dos leitões*

Na Tabela 4 estão dispostos os quantitativos dos leitões e sua distribuição por tratamento. Do total desmamado em relação à paternidade, 34 leitões pertenciam ao grupo da cela (C), 39 leitões aos das baias (B) e 65 leitões das baias com enriquecimento ambiental (E). Quanto aos mortos totais, foram 14 leitões do tratamento C, 16 leitões do tratamento B e 12 leitões do tratamento E.

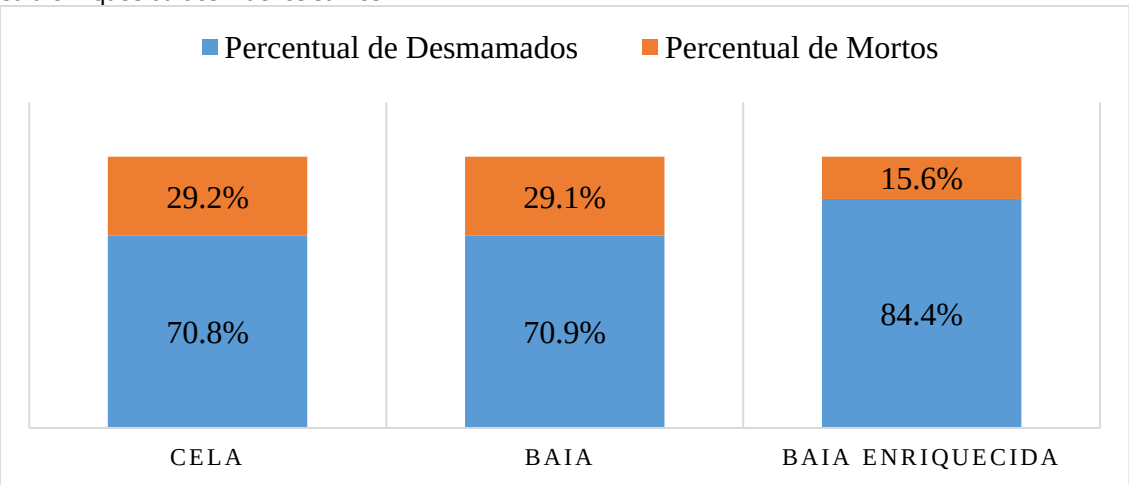
Tabela 4 - Número de leitões desmamados e mortos por alojamento dos machos suínos

Alojamento Cela (C)			
Machos suínos	Leitões desmamados	Mortos totais	Total (%)
C1	7	3	5,6
C2	5	4	5,0
C3	8	2	5,6
C4	8	0	4,4
C5	6	5	6,1
C6	0	0	0,0
Total	34	14	27
Alojamento Baia (B)			

B1	1	3	2,2
B2	4	2	3,3
B3	1	0	0,6
B4	6	1	3,9
B5	27	10	20,6
B6	0	0	0,0
Total	39	16	30
Alojamento Baia Enriquecida (E)			
E1	12	3	8,3
E2	8	2	5,6
E3	16	2	10,0
E4	5	0	2,8
E5	19	5	13,3
E6	6	0	3,3
Total	65	12	43

Na Figura 9 pode ser observado os valores referentes aos percentuais de desmamados e mortos totais por tratamento.

Figura 9 - Percentagem de leitões desmamados ou mortos totais, distribuídos pelos alojamento cela, baia e baia enriquecida dos machos suínos



Resultados combinados das medidas produtivas com os resultados do teste de campo aberto, objeto novo, labirinto em cruz elevado, agressão e nocicepção, na prole

O estudo visando a análise fatorial utilizou somente 13 das 26 variáveis provenientes das amostras produtivas, fisiológicas e comportamentais colhidas dos leitões, que foram escolhidas por apresentarem comunalidade superior a 0,500. A PCA com essas 13 variáveis indicou o uso de quatro fatores que juntos explicaram 75,1% da variabilidade das variáveis. Em decorrência da ausência de alguma variável, sete leitões foram retirados da análise total. Esta então ficou com 34 leitões proveniente do tratamento C, 36 leitões do tratamento B e 61 leitões do tratamento do E, totalizando 131 leitões.

A Tabela 5 apresenta os escores limites (Q1 e Q3) usados na construção das três classes de valores (Negativo, Central e Positivo), além dos valores mínimos, máximos e da mediana (Q2), de acordo com os critérios estabelecidos na Tabela 6.

Tabela 5 - Quartis dos escores fatoriais

Fator	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1	-5.052	-1.326	-0.067	1.184	5.929
2	-3.381	-1.051	-0.097	1.078	5.276
3	-3.153	-0.972	-0.195	0.761	4.142
4	-2.999	-0.931	-0.086	0.880	3.079

Legenda: Q1 = Primeiro quartil; Q3 = Terceiro quartil.

Todas as variáveis escolhidas para esta análise tiveram comunalidades superiores a 0,600, indicando que os quatro fatores explicam mais de 60% de cada uma dessas variáveis (Tabela 6). Na Tabela 6 também estão destacadas em negrito as cargas fatoriais superiores a 0,60 e que caracterizam melhor os fatores.

Tabela 6- Cargas fatoriais rotacionadas (rotação Varimax) e comunalidade

Variável	Fator1	Fator2	Fator3	Fator4	Comunalidade
Peso aos 10 dias	**0,846**	-0,149	-0,044	0,119	0,755
Peso aos 25 dias	**0,909**	-0,055	0,050	0,171	0,861
Peso aos 29 dias	**0,864**	-0,163	0,030	0,203	0,815
Vocalização objeto novo	-0,461	-0,166	**-0,626**	0,235	0,688
Vocalização campo aberto	-0,374	-0,093	**-0,666**	0,321	0,696
Tempo no labirinto em cruz elevada	-0,170	-0,136	**0,805**	0,219	0,743
Saltar do labirinto em cruz elevada	0,156	0,089	**-0,801**	-0,273	0,748
1º Dia lesões de pele	0,163	**-0,833**	0,023	0,129	0,738
2º Dia lesões de pele	-0,035	**-0,794**	0,095	-0,057	0,645
3º Dia lesões de pele	0,562	**-0,666**	-0,101	0,127	0,786
4º Dia lesões de pele	0,085	**-0,871**	-0,015	-0,050	0,769
Valor de nocicepção	0,148	-0,039	0,069	**0,868**	0,781

Tempo de reação nocicepção	0,271	0,025	0,078	**0,812**	0,739
Variância	3,1418	2,6438	2,1616	1,8149	9,7621
% Variância	24,2	20,3	16,6	14,0	75,1

O primeiro fator explicou 24,2% da variabilidade das variáveis no estudo e está alta e positivamente correlacionado com os pesos dos leitões aos 10, 25 e 29 dias de idade. Escores altos e positivos do fator 1 estão associados a leitões mais pesados.

O segundo fator explicou 20,3% da variabilidade inicial e está alta e negativamente correlacionado com os números médios de lesões de pele do primeiro ao quarto dia de avaliação pós-desmame. Escores altos e negativos do fator 2 estão associados a leitões com muitas lesões de pele nos quatro dias avaliados.

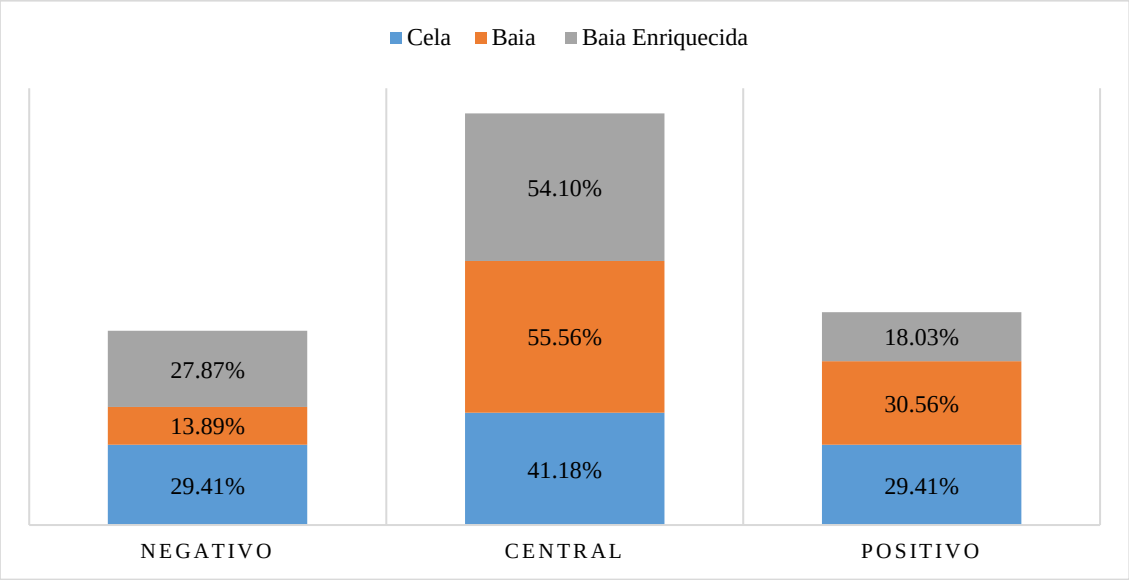
O terceiro fator explicou 16,6% da variabilidade inicial e está alta e negativamente correlacionado com os números de vocalização nos testes de campo aberto e objeto novo e o número de leitões que permaneceram sem "escapar" no teste de labirinto em cruz elevada, positivamente correlacionado com o tempo total de permanência no teste de labirinto em cruz elevada. Escores altos e positivos do fator 3 estão associados a leitões que permaneceram mais tempo no teste de labirinto em cruz elevada e apresentaram menores números de vocalização nos testes de campo aberto e objeto novo. Características antagônicas a esta estão associadas com os leitões com altos escores negativos neste fator.

Já o quarto e último fator explicou somente 14% da variabilidade inicial e está alta e positivamente correlacionado com os valores de nocicepção e o tempo de reação comportamental dos leitões durante a avaliação. Escores altos e positivos do fator 4 estão associados a leitões com maiores valores do tempo de reflexo durante a avaliação nociceptiva e com os valores efetivos de nocicepção.

- *Fator 1: peso dos leitões*

Avaliando a distribuição em percentual dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C, B e E nas três classes de escores (Figura 10) referentes ao Fator 1: peso dos leitões e admitindo que na inexistência de efeito dos tratamentos, as porcentagens esperadas de leitões com escores negativos, centrais ou positivos devem ser de 25%, 50% e 25% respectivamente. Pode-se perceber um maior percentual de leitões dos tratamentos no centro da distribuição e menor nos extremos positivo e negativo.

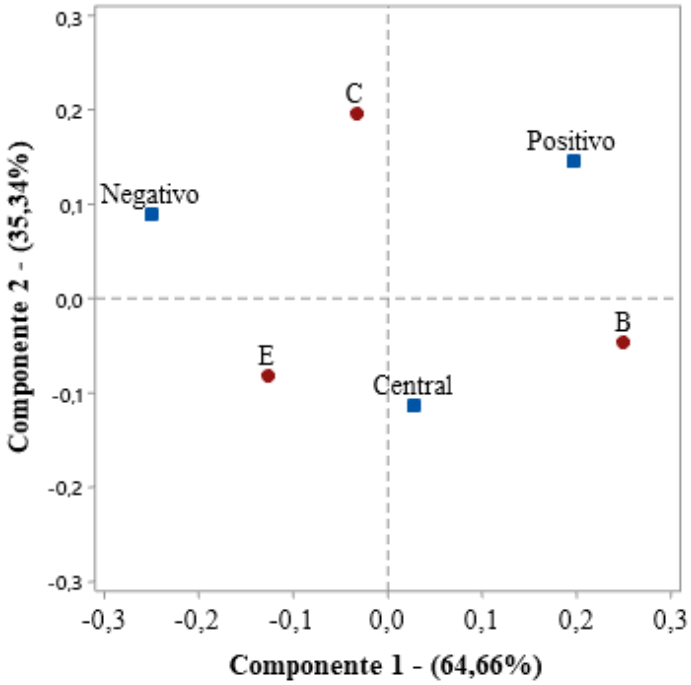
Figura 10 - Distribuição de frequências dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 1: peso dos leitões)



Apesar do teste qui quadrado indicar que ocorreu uma distribuição homogênea (p = 0,277) dos escores negativos, centrais e positivos dos leitões filhos dos pais submetidos aos tratamentos C, B e E, realizou-se uma análise de correspondência da tabela de contingência com as frequências dos tratamentos × classes de escores.

Os dois componentes da análise de correspondência para Tratamento × Classes explicaram 64,7% e 35,3% da inércia total, respectivamente. A distribuição dos pontos no gráfico de correspondência não evidenciou associações fortes entre os tratamentos e as classes de escore (Figura 11). Os leitões de pais submetidos ao tratamento E estão mais associados aos escores centrais (pesos medianos); os submetidos ao tratamento B estão mais associados aos escores centrais e positivos (pesos medianos ou maiores) e os submetidos ao C estão igualmente associados às duas classes de escores mais extremos que incluem animais com pesos bem menores ou bem maiores.

Figura 11 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para o Fator 1: peso dos leitões

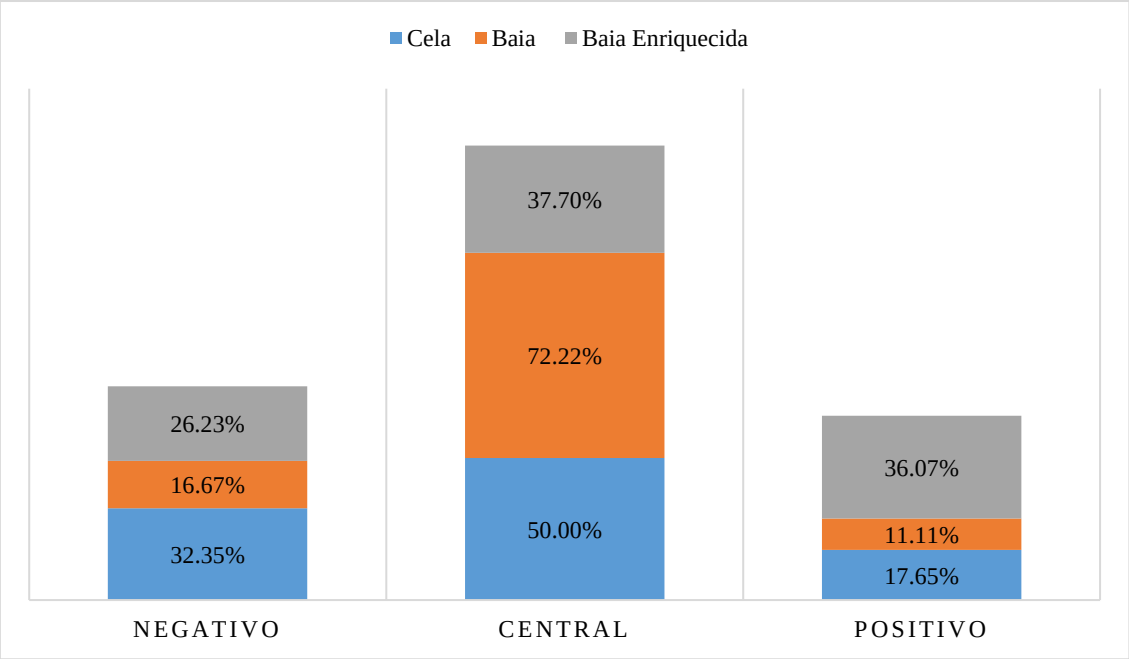


- *Fator 2: comportamento agonístico*

A distribuição do percentual do Fator 2: comportamento agonísticos apresentada na Figura 12 evidencia que houve uma maior distribuição de leitões providos do tratamento C na parte negativa. Os leitões do tratamento B tiveram maiores percentuais ficaram na parte central, enquanto que para os leitões do tratamento E ficaram mais positivos.

O teste qui quadrado para homogeneidade aplicado à tabela com as frequências do Fator 2: comportamento agonístico resultou significativo (p = 0,008), indicando uma distribuição heterogênea dos leitões por tratamento.

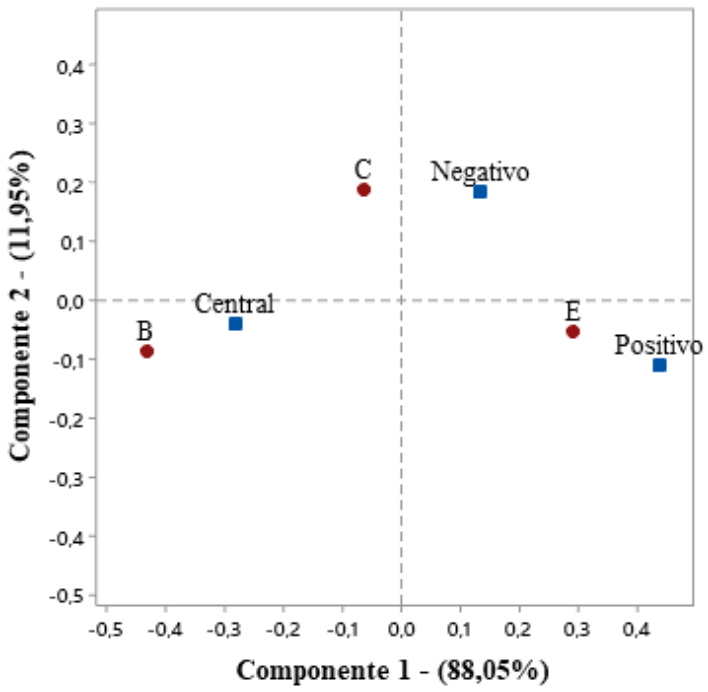
Figura 12 - Distribuição de percentuais dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 2: comportamento agonístico)



Os componentes resultantes da análise de correspondência dos dados do Fator 2 explicam 88,05% e 11,95% da inércia total. O Fator 2: comportamento agonístico refere-se ao número de lesões de pele de quatro dias subsequentes ao desmane e um escore mais negativo indica maior número de lesões.

Na Figura 13 observa-se a associação do tratamento C com escores mais negativos, do tratamento B com escores centrais e do tratamento E com escores mais positivos. Isso indica que os leitões do tratamento C apresentam os maiores números de lesões de pele; os leitões do tratamento E apresentam os menores números de lesões de pele e os leitões do tratamento B, números intermediários.

Figura 13 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para Fator 2: comportamento agonístico

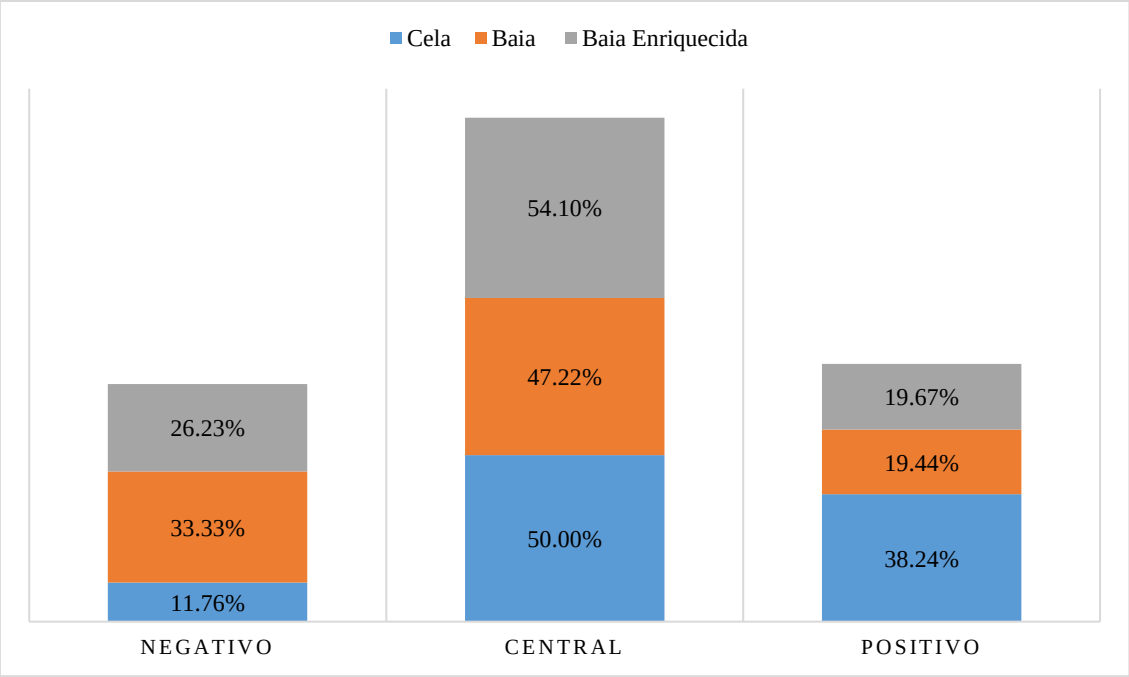


- *Fator 3: indicadores de medo*

A disposição dos percentuais do Fator 3: indicadores de medo observado na Figura 14 mostra um percentual maior de leitões providos do tratamento C na parte positiva, para os leitões do tratamento B o percentual é maior na parte negativo, enquanto os leitões do tratamento E obtiveram maiores distribuição central.

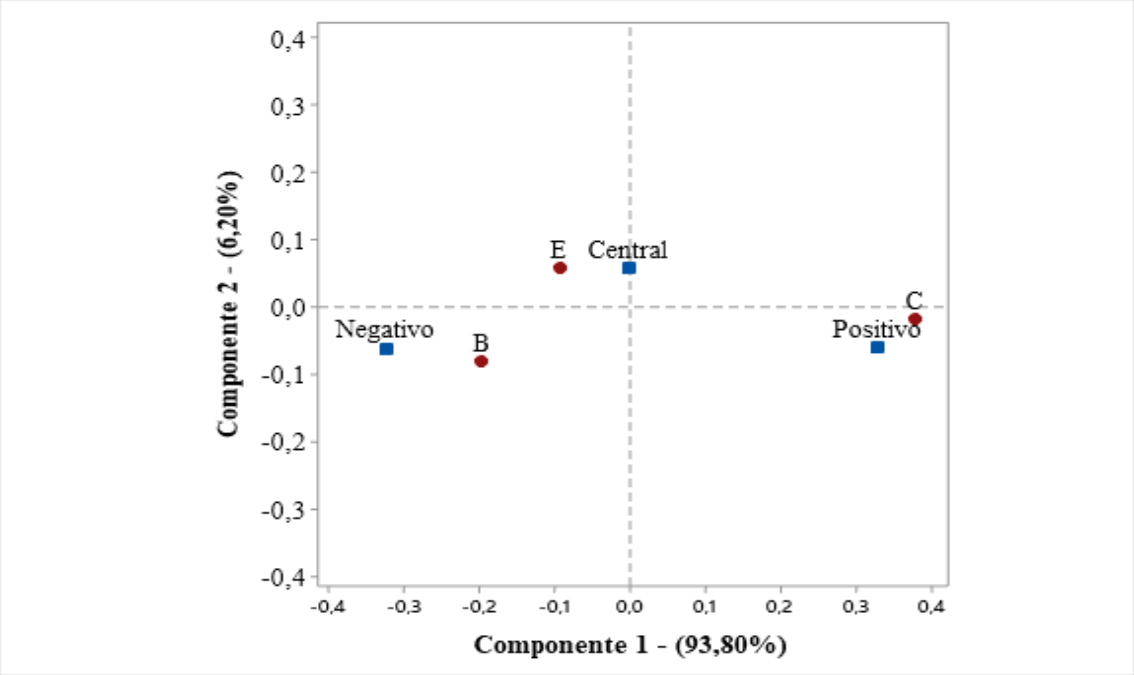
O teste qui quadrado para homogeneidade resultou não significativo (p = 0,121) para os escores do Fator 3: indicadores de medo, indicando que ocorreu uma distribuição homogênea (Figura 17) dos escores negativos, centrais e positivos dos leitões filhos dos pais submetidos aos tratamentos C, B e E.

Figura 14 - Distribuição de percentuais dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 3: indicadores de medo)



Os dois componentes da análise de correspondência para Tratamento × Classes explicaram 93,8% e 6,2% da inércia total, respectivamente. Apesar da distribuição homogênea indicada pelo teste de qui quadrado, esta análise de correspondência evidenciou associações entre as frequências de leitões nascidos em cada tratamento. Sendo assim, a possível observação de formação de grupos, ao qual os leitões do tratamento C apresentaram valores mais próximos aos positivos, indicando menores número de vocalização e leitões sem escapar do teste labirinto em cruz elevada. Porém, com menor tempo total do teste labirinto em cruz elevada para os leitões do tratamento B que ficaram próximos ao negativo, indicado maior número de vocalização e mais leitões escaparam do teste, enquanto que os leitões do tratamento E obtiveram valores centrais (Figura 15).

Figura 15 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para o Fator 3: indicadores de medo

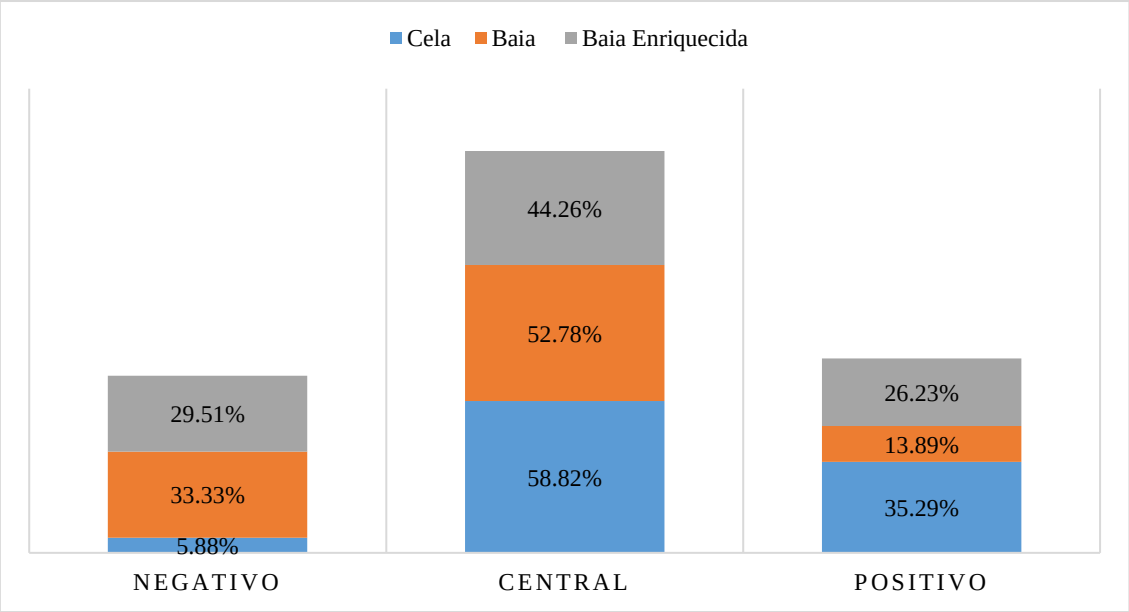


- *Fator 4: Indicadores de dor*

Para a distribuição percentual do quarto e último fator, observa-se na Figura 16 maior porcentagem de leitões do tratamento C no extremo positivo, para o tratamento B os leitões apresentaram maior percentual negativos, já para o tratamento E os valores dos leitões ficaram mais centrais.

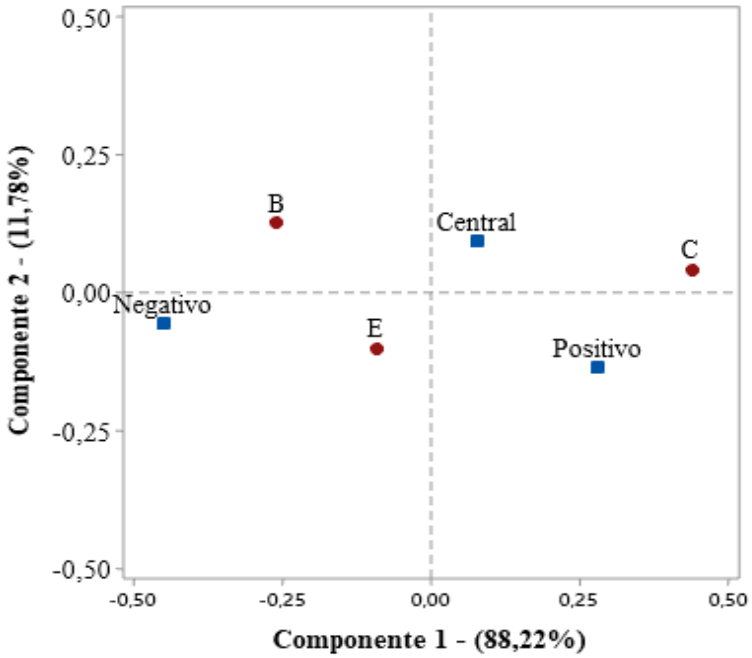
No teste de qui quadrado para homogeneidade resultou em significativo (p = 0, 029) para os escores do Fator 4: indicadores de dor, sugerindo que ocorreu uma distribuição heterogênea dos escores negativos, centrais e positivos dos leitões filhos dos pais submetidos aos tratamentos C, B e E.

Figura 16 - Distribuição de percentuais dos leitões filhos de pais submetidos aos tratamentos C (cela), B (baia) e E (baia enriquecida) nas três classes de escores (Fator 4: indicadores de dor)



Na análise de correspondência o primeiro e segundo componentes explicaram 88,22% e 11,78% da inércia total da tabela, respectivamente. Na Figura 17 percebe-se as mesmas associações visualizadas com o terceiro fator, correspondendo a tempo de reflexo durante a avaliação nociceptiva e seu valor efetivo. Conforme visualizado no Figura 18, os leitões oriundos do tratamento C apresentaram maior proximidade aos valores positivos indicando fortes associações do maior tempo de reação com maior valor nociceptivo. Enquanto os leitões do tratamento B apresentaram menor tempo de reação e menor valor nociceptivo, permanecendo os leitões provenientes do tratamento E próximos aos valores centrais.

Figura 17 - Gráfico de correspondência das classes de escores e tratamentos para o Fator 4: indicadores de dor


0,50
0,25
0,00
-0,25
-0,50
Componente 2 - (11,78%)
B
Central
C
Negativo
E
Positivo
-0,50
-0,25
0,00
0,25
0,50
Componente 1 - (88,22%)

7. DISCUSSÃO

O comportamento e fisiologia das fêmeas, bem como os dados produtivos, apresentaram resultados comparáveis com a literatura (BAXTER; LAWRENCE; EDWARDS, 2012; EDWARDS, 2002; NICOLAISEN et al., 2019; WEAVER et al., 2000). Os indicadores de bem-estar das fêmeas mantidas no sistema ao ar-livre atenderam às expectativas do experimento de maneira que as fêmeas puderam executar comportamentos naturais como a construção de ninhos e interações sociais, e não realizaram comportamento anormais (TAROU; BASHAW, 2007). Contrário à expectativa do projeto, o bem-estar das fêmeas durante a gestação não eliminou o efeito do tratamento experimental aplicado aos machos.

É conhecido que o ambiente durante o processo de gestação fornece informações importantes para a continuidade da espécie, alterando o desenvolvimento fisiológico, cognitivo e emocional da prole (BAXTER et al., 2016; BERNARDINO et al., 2016; COULON et al., 2013; HENRIQUE, 2015; TATEMOTO et al., 2019). De acordo com os resultados apresentados, com o avanço da prenhez, as fêmeas suínas apresentaram uma diminuição geral de sua atividade comportamental durante a alimentação. Além disso, mudanças comportamentais do grupo, como diminuir o tempo de caminhada e a frequência de ameaçar, recuar e evitar dos primeiros terços de gestação para o último terço da prenhez podem ser uma consequência do estágio gestacional e da aclimatação social das fêmeas.

O resultado dos parâmetros seminais, que estão sendo avaliados num outro estudo paralelo (trabalho do doutorando Thiago Bernardino), vai completar a lacuna de informações sobre os possíveis mecanismos mediados/carreados pelos espermatozoides quais são responsáveis pelos resultados observados. Várias variáveis estão sendo estudadas como qualidade do acrossoma e da membrana plasmática, composição do plasma seminal (vesículas extracelulares, metabólitos, proteínas) (MORGAN et al., 2012), morfologia espermática, espécies reativas de oxigênio e pH (AURICH et al., 1996; KNOX et al., 2008; SCHULZE et al., 2014). Além destes, parâmetros fisiológicos e comportamentais dos machos reprodutores, os quais são os mesmos usados no presente estudo, também serão abordados pelo doutorando. Sabe-se que ambientes enriquecidos propiciam o maior repertório comportamental aos animais, melhoram o estado afetivo e diminuem os comportamentos anormais (BEATTIE; WALKER; SNEDDON, 1995; HÖTZEL; MACHADO FILHO, 2004; MOINARD et al., 2003; TAROU; BASHAW,

2007; TEMPLE et al., 2011). Também, machos mantidos em zona de conforto térmico apresentam melhora na produção espermática (DONIN e NEI MOREIRA, 2007), tal qual quando em contato não aversivo com humanos, o qual induz nos animais indicadores comportamentais e fisiológicos de bem-estar positivo (BAXTER et al., 2016; COULON et al., 2013; RUSHEN; TAYLOR; DE PASSILLÉ, 1999). As questões ambientais podem ter influenciado a distribuição do número de leitões nascidos por tratamento.

Por outro lado, é plausível argumentar que as informações contidas no sêmen modulam as respostas das fêmeas, através de marcadores nos espermatozoides, que contribuem para o sucesso da fertilização (ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ et al., 2020; ZIGO et al., 2020). Uma parte importante mediada pelo processo da fecundação acontece nas fêmeas, como a capacitação espermática e a preparação do sistema reprodutor feminino para responder a presença do sêmen.

Apesar de não ser o foco central do trabalho, a coleta de valores produtivos também é importante, contudo, o número pequeno de animais e o sistema de produção adotado (similar ao SISCAL) dificultam uma abordagem efetiva dos valores produtivos. Este sistema é utilizado no Brasil em poucas pesquisas, ou para produção de subsistência sem coleta de informações. Os valores produtivos referentes às fêmeas são similares aos encontrados na produção brasileira intensiva confinada (média das taxas de prenhez 92,1%, percentuais médios de mumificado 2,57%, mortalidade intraparto 3,76%) (ABCS, 2014), excluída a taxa de esmagamento. Esta apresentou um valor semelhante ao de Nicolaisen et al. (2019), que avaliou diferentes sistemas de parição e constatou o valor de 19,9% desta taxa para parição em grupo, semelhante ao encontrado por Baxter et al. (2012) em sistemas de criação ao ar livre (16,8% de esmagamento). Mesmo não fazendo parte dos objetivos inicialmente propostos no projeto, a análise dos percentuais de mortalidade quando divididos por tratamento, mostrou que os leitões filhos de machos alojados na baia com enriquecimento apresentaram a metade da mortalidade quando comparado aos leitões filhos de machos alojados em celas e baias. Estas taxas produtivas são muito interessantes e devem ser exploradas em futuros estudos, podem estar ligadas a vários outros fatores, como fêmeas nulíparas, genética, manejo e instalação (ABCS, 2014).

Os resultados provenientes da avaliação da prole indicaram uma influência do ambiente nos quais os machos foram mantidos, na resposta dos leitões aos testes realizados.

Na revisão de Babenko et al. (2015), além das alterações epigenéticas oriundas das fêmeas e ocorridas durante a gestação, os autores relataram a possibilidade de serem herdadas através dos machos. Morgan et al. (2019) relatam que durante a gametogênese masculina há barreiras e oportunidades para a transmissão hereditária da experiência paterna. Estas alterações, bem como a sua transmissão hereditária e modulação ambiental (BALE, 2015; FERRAZ, 2011; MEANEY; SZYF, 2005; SCHAGDARSURENGIN; STEGER, 2016) ou a emocionalidade em animais (MENDL; OLIVER; PAUL, 2010; PAUL; HARDING; MENDL, 2005), envolvem vários processos complexos permitindo realizar novas abordagens de estudos futuros.

O fenótipo que engloba a adaptação do indivíduo ao ambiente e altera características visíveis como o comportamento e fisiologia (ALBERTS et al., 2017) pode ser observado nas alterações (epigenética) fenotípicas herdáveis dos pais, como em camundongos a mudança da cor da cauda (CUZIN; GRANDJEAN; RASSOULZADEGAN, 2008; RASSOULZADEGAN et al., 2006), o aumento do coração (WAGNER et al., 2008), a alteração do eixo HPA (RODGERS et al., 2013), o maior tamanho corporal ao nascimento (GRANDJEAN et al., 2009), comportamento paterno filial (BRAUN; CHAMPAGNE, 2014) e várias características referentes à modulação ambiental são transmitidas também em humanos através de machos, abordadas na revisão de Li et al. (2016). Entre essas, fatores como: a obesidade e subnutrição; privação de alimento; dieta rica em carboidratos; hábitos alimentares adversos; dieta rica em gordura ou com pouca proteína; diabetes mellitus tipo 2 e exposição a substâncias tóxicas ou radiação ionizante, são exemplos de possíveis efeitos.

Os valores de peso dos leitões não foram afetados significativamente pelo sistema de alojamento adotado nos tratamentos. Sabe-se que a genética dos machos tem grande influência no ganho de peso dos leitões, bem como valores produtivos das fêmeas, como a produção de leite, número de tetos, balanço energético, produção hormonal e processos fisiológicos (HORTA et al., 2007). Como os machos apresentavam a mesma genética F1 (Landrace × Large White) e as fêmeas foram mantidas em condições de semelhantes, isso pode ter contribuído para este resultado homogêneo.

O grupo formado da avaliação de menor número de lesões de pele indica que os leitões filhos dos pais alojados em baias enriquecidas envolveram-se menos em eventos agonísticos (brigas) pós desmame. O menor número de lesões de pele em leitões misturados pós desmame foi observado por Turner et al. (2006) como maior êxito em evitar brigas. Por outro lado, o maior número contabilizado de lesões de pele foi

proveniente dos leitões filhos do tratamento cela. Turner et al. (2006) abordam que isso não indica que eles brigaram mais, pois eles podem ter sido alvo de maiores ataques, também relata a possibilidade de ligação com peso vivo dos animais, esclarecendo que leitões maiores possuem mais força para luta e maior crescimento dos dentes caninos. Isso também pode estar associado aos maiores valores nociceptivos encontrados nos leitões oriundos dos machos alojados em cela. Apesar de não ter havido diferença significativa entre os pesos dos leitões, foi observado na Figura 12 um distanciamento entre os pesos dos leitões, sendo mais pesados os nascidos do tratamento cela. Entretanto, Broom (1991) aborda que mesmo por um curto período de tempo, as dificuldades de lidar com as mudanças ou até a incapacidade podem estar associadas a dor ou outro "sofrimento". Deste modo, houve o maior comprometimento dos indicadores do bem-estar dos leitões filhos do tratamento cela, pois os filhos provenientes do tratamento baias enriquecidas apresentaram menor números de lesões de pele. É importante abordar que, de forma consistente, esses indivíduos (filhos de machos em celas) também apresentaram menor número de vocalização, maior tempo na resposta ao analgesímetro e valores mais hipoalgésicos, indicando uma generalizada atenuação das respostas sensoriais.

As observações dos valores referentes ao medo dos testes de campo aberto, objeto novo (vocalização) e do labirinto em cruz elevado (tempo e saltar do teste) não tiveram diferença significativas. No estudo realizado por Tatemoto et al. (2020), a prole oriunda de fêmeas suínas que receberam enriquecimento ambiental demonstrou redução nos indicadores de medo nos testes de campo aberto e objeto novo. Para o teste de labirinto em cruz elevada, Janczak et al. (2000) também não evidenciou diferença comportamental em suínos após receberem manejo aversivo. Apesar de não ter diferenças significativas o estudo mostra indícios de alterações comportamentais nos filhos provenientes dos diferentes tratamentos.

As proles nascidas de machos alojados nas celas apresentaram valores mais hipoalgésicos, o que indica que são menos sensíveis. Ao nosso conhecimento, não há estudos que correlacionam esta variável com os sistemas de alojamento dos machos reprodutores. Bernardino et al. (2016) demonstraram que leitões nascidos de fêmeas suínas que recebem fibra na gestação, apresentam um menor número de lesões, antes do desmame. Parada et al. (2019) demonstraram que as proles de fêmeas que claudicam apresentaram maiores valores na resposta a testes de nocicepção.

Quando observado os valores para os leitões filhos dos machos mantidos em baias, há indícios de que eles demonstraram uma atividade sensorial mediana, pois apresentaram

maior número de vocalização, menor tempo na resposta ao analgesímetro e valores menos hipoalgésicos. Porém diferente dos leitões oriundos do tratamento cela, que apresentaram maior número de lesões de pele, estes tiveram seus valores medianos.

Ao analisar de forma mais abrangente os valores da prole provenientes do tratamento de baia enriquecida, nota-se que 75% dos fatores analisados permaneceram em região medial. Com isso, se especula uma possível "estabilidade" fenotípica. Os machos mantidos em baia com enriquecimento não precisam transmitir informações de expectativas ambientais tão adversas para sua prole, pois o ambiente estava mais "adequado" suprindo às necessidades da espécie, melhorando o grau de bem-estar. Isso está de acordo com Broom (1986), quando relata que o bem-estar é o estado de um indivíduo durante suas tentativas de se ajustar ao ambiente. Além disso, prover enriquecimento ambiental pode melhorar o bem-estar acrescentando a oportunidade de expressar comportamentos típicos da espécie (TAROU; BASHAW, 2007). A descoberta de tais alterações, quando comprovadas através dos mecanismos moleculares candidatos para a modulação comportamental relatada, apoia a possibilidade de as condições ambientais modularem o fenótipo dos indivíduos e potencialmente poderão transmitir estas alterações para gerações seguintes.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ambiente no qual o macho é alojado altera as características da prole associadas à agressão e à nocicepção. Especificamente, alojamento dos progenitores machos em celas fazem com que a prole seja menos sensível em resposta aos testes de nocicepção, enquanto que prole de machos alojados em baias são demonstra maior sensibilidade ao teste de nocicepção. A prole de machos suínos alojadas em baias com enriquecimento demonstram menos comportamento de briga. A garantia do bem-estar das fêmeas suínas, durante a gestação, não eliminou o efeito dos desafios ambientais dos machos sobre a sua prole.

Compreender o mecanismo de ação que modulam o impacto do bem-estar do macho suíno nas respostas da prole, requer futuras pesquisas associando os princípios da epigenética, entre outros mecanismos, e suas interações na consolidação das características de desenvolvimento, comportamento e bem-estar dos leitões. Para isso, é fundamental compreender o funcionamento de seus mecanismos de adaptação em diferentes sistemas de alojamento. Tal abordagem permitirá que sejam tomadas as melhores decisões no sistema produtivo, a fim de melhorar o bem-estar dos animais nas diferentes fases de vida. Sendo assim, a utilização de ambientes com maior capacidade de expressão natural da espécie é indicada, pois além de oportunizar o progenitor a expressão de comportamentos típicos da espécie faz com que suas proles briguem menos melhoram do o grau de bem-estar.

REFERÊNCIAS

ABCS. Produção de suínos: teoria e prática. **Produção de teoria e prática**, v. 1, p. 1–980, 2014.

ABPA. Associação brasileira de proteina animal. Relatório anual 2020. 2020.

ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 6ª ed. [s.l: s.n.].

ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, M. et al. The role of semen and seminal plasma in inducing large-scale genomic changes in the female porcine peri-ovulatory tract. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 5061, 2020.

ANDERSEN, I. L. et al. Behavioural evaluation of methods for assessing fear responses in weaned pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 69, n. 3, p. 227–240, 2000a.

ANDERSEN, I. L. et al. Effects of diazepam on the behaviour of weaned pigs in three putative models of anxiety. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 68, n. 2, p. 121–130, 2000b.

AREY, D. S.; EDWARDS, S. A. Factors influencing aggression between sows after mixing and the consequences for welfare and production. **Livestock Production Science**, v. 56, n. 1, p. 61–70, 1998.

AURICH, J. E. et al. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. **Theriogenology**, v. 46, n. 5, p. 791–797, 1996.

BABENKO, O.; KOVALCHUK, I.; METZ, G. A. S. Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 48, p. 70–91, 2015.

BALE, T. L. Epigenetic and transgenerational reprogramming of brain development. **Nature Publishing Group**, v. 16, n. 6, p. 332–344, 2015.

BAXTER, E. M. et al. Positive and negative gestational handling influences placental traits and mother-offspring behavior in dairy goats. **Physiology and Behavior**, v. 157, p. 129–138, 2016.

BAXTER, E. M.; LAWRENCE, A. B.; EDWARDS, S. A. Alternative farrowing accommodation: Welfare and economic aspects of existing farrowing and lactation systems for pigs. **Animal**, v. 6, n. 1, p. 96–117, 2012.

BEATTIE, V. E.; WALKER, N.; SNEDDON, I. A. Effect of rearing environment and change of environment on the behaviour of gilts. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 46, n. 1–2, p. 57–65, 1995.

BERNARDINO, T. et al. Piglets Born from Sows Fed High Fibre Diets during Pregnancy Are Less Aggressive Prior to Weaning. **PLoS ONE**, p. 1–11, 2016.

BONETT, L. P.; MONTICELLI, C. J. **Suínos: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2ª ed. Brasília: [s.n.].

BRAUN, K.; CHAMPAGNE, F. A. Paternal Influences on Offspring Development : Behavioural and Epigenetic Pathways Neuroendocrinology. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 26, n. 11, p. 697–706, 2014.

BROOM, D. Indicators of poor welfare MEASURES OF ANI... read. **British Veterinary Journal**, v. 142, p. 524–526, 1986.

BROOM, D. M. Animal welfare concepts and measurement. **Journal of animal science**, v. 69, n. 10, p. 1–9, 1991.

BROOM, D. M. et al. A comparison of the welfere of sows in different housing conditions. n. September 2010, p. 369–385, 1995.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193–1205, 2005.

CARRERAS, R. et al. Cognitive bias in pigs: Individual classification and consistency over time. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 10, n. 6, p. 577–581, 2015.

CHAN, J. C. et al. Reproductive tract extracellular vesicles are sufficient to transmit intergenerational stress and program neurodevelopment. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2020.

COSTA, O. A. D. et al. Sistema Alternativo de Criação de Suínos em Cama Sobreposta para Agricultura Familiar. 2006.

COULON, M. et al. Early adverse experience alters dendritic spine density and gene expression in prefrontal cortex and hippocampus in lambs. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 7, p. 1112–1121, 2013.

CUZIN, F.; GRANDJEAN, V.; RASSOULZADEGAN, M. Inherited variation at the epigenetic level: paramutation from the plant to the mouse. **Current Opinion in Genetics and Development**, v. 18, n. 2, p. 193–196, 2008.

DAWKINS, M. S. Animal welfare and efficient farming: Is conflict inevitable? **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p. 201–208, 2017.

EDWARDS, S. A. Perinatal mortality in the pig : environmental or physiological solutions ? v. 78, p. 3–12, 2002.

ELOY, Â. M. X. **Estresse na Produção Animal**SobralEmbrapa Caprinos, , 2007.

FERRAZ, M. R. **Manual de Comportamento Animal**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2011.

FERREIRA, A. H. et al. **Produção de Suínos Teoria e Prática**. 1ª ed. Brasília: [s.n.].

FERREIRA, R. A. **Suninocultura Manual Prático de Criação**. 1ª ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2012.

FRASER, D. Understanding animal welfare. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 50, n. SUPPL. 1, p. 1–7, 2008.

FRIARD, O.; GAMBA, M. <scp>BORIS</scp> : a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 11, p. 1325–1330, 28 nov. 2016.

GIELING, E. T.; NORDQUIST, R. E.; VAN DER STAAY, F. J. Assessing learning and memory in pigs. **Animal Cognition**, v. 14, n. 2, p. 151–173, 2011.

GONÇALVES, M. T.; SANTOS, S. R. DOS. Aplicação da Análise de Correspondência à Avaliação Institucional da FECILCAM. **IV Encontro de Produção Científica e Tecnológica**, p. 1–14, 2009.

GOUMON, S.; ŠPINKA, M. Emotional contagion of distress in young pigs is potentiated by previous exposure to the same stressor. **Animal Cognition**, v. 19, n. 3, p. 501–511, 2016.

GRANDJEAN, V. et al. The miR-124-Sox9 paramutation: RNA-mediated epigenetic control of embryonic and adult growth. **Development**, v. 136, n. 21, p. 3647–3655, 2009.

GUY, J. H. et al. Reducing post-mixing aggression and skin lesions in weaned pigs by application of a synthetic maternal pheromone. **Animal Welfare**, v. 18, n. 3, p. 249–255, 2009.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Kiawash: [s.n.].

HÄRDLE, W. K.; SIMAR, L. **Applied multivariate statistical analysis, fourth edition**. [s.l: s.n.].

HENRIQUE, F. L. **Estresse durante a gestação e desmama e sua influência no desempenho de cordeiros**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2015.

HERSKIN, M. S.; DI GIMINIANI, P. **Pain in pigs: Characterisation, mechanisms and indicators**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017.

HERSKIN, M. S.; RASMUSSEN, J. S. Pigs in pain—Porcine behavioural responses towards mechanical nociceptive stimulation directed at the hind legs. **Scandinavian Journal of Pain**, v. 1, n. 3, p. 175–176, 23 jul. 2010.

HORTA, F. D. C. et al. Desenvolvimento da glândula mamária na fêmea suína e suas implicações (Mamogênese). n. 28, p. 21–24, 2007.

HÖTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. Bem-estar Animal na Agricultura do

Século XXI. **Revista de Etologia**, v. 6, p. 3–15, 2004.

IASP, I. A. FOR THE S. OF P. **CLASSIFICATION OF CHRONIC PAIN**. [s.l: s.n.]. v. 23

INFANTOSI, A. F. C.; COSTA, J. C. DA G. D.; DE ALMEIDA, R. M. V. R. Análise de Correspondência: Bases teóricas na interpretação de dados categóricos em ciências da saúde. **Cadernos de Saude Publica**, v. 30, n. 3, p. 473–486, 2014.

ISON, S. H. et al. A review of pain assessment in pigs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, n. NOV, p. 1–16, 2016.

ISON, S. H.; RUTHERFORD, K. M. D. Attitudes of farmers and veterinarians towards pain and the use of pain relief in pigs. **Veterinary Journal**, v. 202, n. 3, p. 622–627, 2014.

JANCZAK, A. M. et al. No effect of variation in handling on behaviour in a porcine elevated plus-maze- A brief report. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 69, n. 2, p. 169–173, 2000.

JIRTLE, R. L.; SKINNER, M. K. Environmental epigenomics and disease susceptibility. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 4, p. 253–262, 2007.

KLUIVERS-POODT, M. et al. Cortisol profiles in sows submitted to an intermittent suckling regime compared with that of abruptly weaned sows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. 3, p. 377–382, 2010.

KNOX, R. et al. An update on North American boar stud practices. v. 70, p. 1202–1208, 2008.

LACAL, I.; VENTURA, R. Epigenetic Inheritance: Concepts, Mechanisms and Perspectives. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 11, n. September, p. 1–22, 2018.

LI, E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 9, p. 662–673, 2002.

LI, J. et al. Paternal programming of offspring cardiometabolic diseases in later life. **Journal of Hypertension**, v. 34, n. 11, p. 2111–2126, 2016.

LIMA, B. M. **Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias São Paulo**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2016.

LUDTKE, C. B. et al. **Abate Humanitário de Suínos**. Rio de Janeiro: [s.n.].

MANTECA, X. et al. Bem-estar animal: Conceitos e formas práticas de avaliação dos sistemas de produção de suínos. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 34, n. 6 SUPPL. 2, p. 4213–4230, 2013.

MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring Behaviour an Introductory Guide**.

Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

MEANEY, M. J.; SZYF, M. Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? **Trends in Neurosciences**, v. 28, n. 9, p. 456–463, 2005.

MENDL, M. et al. Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, n. 3–4, p. 161–181, 1 maio 2009.

MENDL, M.; OLIVER, H. P.; PAUL, E. S. An integrative and functional framework for the study of animal emotion and mood. **The Royal Society**, n. August, p. 2895–2904, 2010.

MENDL, M.; PAUL, E. S. Animal affect and decision-making. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 112, n. December 2019, p. 144–163, 2020.

MENDL, M.; ZANELLA, A. J.; BROOM, D. M. Physiological and reproductive correlates of behavioural strategies in female domestic pigs. **Animal Behaviour**, v. 44, n. 6, p. 1107–1121, dez. 1992.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada - uma abordagem aplicada.** Belo Horizonte: UFMG, 2013.

MOINARD, C. et al. A case control study of on-farm risk factors for tail biting in pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 81, n. 4, p. 333–355, 2003.

MORGAN, C. P. et al. Driving the Next Generation: Paternal Lifetime Experiences Transmitted via Extracellular Vesicles and Their Small RNA Cargo. **Biological Psychiatry**, v. 85, n. 2, p. 164–171, 2012.

MORGAN, C. P.; CHAN, J. C.; BALE, T. L. Driving the Next Generation: Paternal Lifetime Experiences Transmitted via Extracellular Vesicles and Their Small RNA Cargo. **Biological Psychiatry**, v. 85, n. 2, p. 164–171, 2019.

NICOLAISEN, T. et al. The effect of sows' and piglets' behaviour on piglet crushing patterns in two different farrowing pen systems. **Animals**, v. 9, n. 8, p. 1–17, 2019.

O'DONNELL, L. et al. Estrogen and Spermatogenesis. v. 22, n. JUNE, p. 289–318, 2001.

PANKSEPP, J. Neurologizing the Psychology of Affects: How Appraisal-Based Constructivism and Basic Emotion Theory Can Coexist. **Perspectives on Psychological Science**, v. 2, n. 3, p. 281–296, 2007.

PARADA, M. et al. **Lameness in sows during pregnancy impacts welfare outcomes in their offspring**. Proceedings of the 53ª Congress of the ISAE. **Anais**...Bergen: 2019

PAUL, E. S.; HARDING, E. J.; MENDL, M. Measuring emotional processes in animals: The utility of a cognitive approach. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 3, p. 469–491, 2005.

PUPPE, B. et al. Cognitive enrichment affects behavioural reactivity in domestic pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 105, n. 1–3, p. 75–86, 2007.

PUPPE, B.; SCHÖN, P. C.; WENDLAND, K. Monitoring of piglets' open field activity and choice behaviour during the replay of maternal vocalization: A comparison between Observer and PID technique. **Laboratory Animals**, v. 33, n. 3, p. 215–220, 1999.

RASSOULZADEGAN, M. et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. **Nature**, v. 441, n. 7092, p. 469–474, 2006.

RODGERS, A. B. et al. Paternal Stress Exposure Alters Sperm MicroRNA Content and Reprograms Offspring HPA Stress Axis Regulation. **Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 21, p. 9003–9012, 22 maio 2013.

RODGERS, R. J. et al. **Animal models of anxiety: An ethological perspectiveBrazilian Journal of Medical and Biological Research**Associacao Brasileira de Divulgacao Cientifica, , 1997.

RODGERS, R. J.; JOHNSON, N. J. T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 1995.

RUSHEN, J.; TAYLOR, A. A.; DE PASSILLÉ, A. M. Domestic animals' fear of humans and its effect on their welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 65, n. 3, p. 285–303, 1999.

RUTHERFORD, K. M. D. et al. Physiology & Behavior Prenatal stress produces anxiety prone female offspring and impaired maternal behaviour in the domestic pig. **Physiology & Behavior**, v. 129, p. 255–264, 2014.

SANDERCOCK, D. A. et al. Physiology & Behavior The impact of prenatal stress on basal nociception and evoked responses to tail-docking and in fl ammatory challenge in juvenile pigs. **Physiology & Behavior**, v. 104, n. 5, p. 728–737, 2011.

SARAIVA, E. M.; FURTUNATO, J. M. S.; GAVINA, C. OSCILAÇÕES DO Cortisol na Depressão e Sono / Vigília. **Revista Portugues de Psicossomática**, 2005.

SCHAGDARSURENGIN, U.; STEGER, K. Epigenetics in male reproduction : effect of paternal diet on sperm quality and offspring health. **Nature Publishing Group**, v. 13, n. 10, p. 584–595, 2016.

SCHULZE, M. et al. Influences on semen traits used for selection of young AI boars. **Animal Reproduction Science**, v. 148, n. 3–4, p. 164–170, 2014.

SIEGFORD, J. M.; RUCKER, G.; ZANELLA, A. J. Effects of pre-weaning exposure to a maze on stress responses in pigs at weaning and on subsequent performance in spatial and fear-related tests. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, n. 1–2, p. 189–202, 2008.

SNEDDON, L. U. Evolution of nociception in vertebrates: Comparative analysis of lower vertebrates. **Brain Research Reviews**, v. 46, n. 2, p. 123–130, 2004.

SNEDDON, L. U. Comparative physiology of nociception and pain. **Physiology**, v. 33, n. 1, p. 63–73, 2018.

SOARES, A. J. DE A.; ALVES, M. DA G. P. Cortisol como variável em psicologia da saúde. v. 7, n. 2, p. 165–177, 2006.

SULLIVAN, R.; SAEZ, F. Epididymosomes, prostasomes, and liposomes: Their roles in mammalian male reproductive physiology. **Reproduction**, v. 146, n. 1, 2013.

TALBERT, P. B.; HENIKOFF, S. Spreading of silent chromatin: Inaction at a distance. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, n. 10, p. 793–803, 2006.

TAROU, L. R.; BASHAW, M. J. Maximizing the effectiveness of environmental enrichment: Suggestions from the experimental analysis of behavior. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 102, n. 3–4, p. 189–204, 2007.

TATEMOTO, P. et al. Environmental enrichment for pregnant sows modulates HPA-axis and behavior in the offspring. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 220, 1 nov. 2019.

TATEMOTO, P. et al. Stereotypic Behavior in Sows Is Related to Emotionality Changes in the Offspring. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. March, p. 1–7, 2020.

TEMPLE, D. et al. Assessment of animal welfare through behavioural parameters in Iberian pigs in intensive and extensive conditions. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 131, n. 1–2, p. 29–39, 2011.

TRIANTAPHYLLOPOULOS, K. A.; IKONOMOPOULOS, I.; BANNISTER, A. J. Epigenetics and inheritance of phenotype variation in livestock. **Epigenetics & Chromatin**, p. 1–18, 2016.

TURNER, S. P. et al. The accumulation of skin lesions and their use as a predictor of individual aggressiveness in pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 96, n. 3–4, p. 245–259, 2006.

WAGNER, K. D. et al. RNA Induction and Inheritance of Epigenetic Cardiac Hypertrophy in the Mouse. **Developmental Cell**, v. 14, n. 6, p. 962–969, 2008.

WEAVER, S. A. et al. Neonatal handling permanently alters hypothalamic – pituitary – adrenal axis function , behaviour , and body weight in boars. p. 349–359, 2000.

WELFARE QUALITY ®. Welfare Quality® assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). **Welfare Quality® Consortium, Lelystad, the …**, p. 21–59, 2009.

WIESENFELD-HALLIN, Z. Sex Differences in Pain Perception Zsuzsanna. **Gender Medicine**, v. 2, p. 113–122, 2005.

ZIGO, M. et al. Porcine model for the study of sperm capacitation, fertilization and male fertility. **Cell and Tissue Research**, 2020.

ZUPAN, M.; ZANELLA, A. J. Peripheral regulation of stress and fear responses in pigs from tail-biting pens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 1, p. 33–38, 2017a.

ZUPAN, M.; ZANELLA, A. J. Peripheral regulation of stress and fear responses in pigs from tail-biting pens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 1, p. 33–38, 1 jan. 2017b.

ANEXOS

ANEXO – A Imagem recebida da fábrica de ração do *Campus* Fernando Costa da Universidade de São Paulo, referendes a ração de suínos para a Gestação, Lactação e Pré-inicial. 2019.

RAÇÃO SUÍNO PRÉ-INICIAL		
INSUMOS	%	QUANT./KG
FUBA DE MILHO	40,00%	100,00
FARELO DE SOJA	20,00%	50,00
AÇUCAR	0,00%	0,00
OLEO DE SOJA	0,00%	0,00
NUCLEO SUINO PRÉ-INICIAL Uniq	40,00%	100,00
TAXA OPERACIONAL FARELADA		0,25
TOTAL	100%	250,00
TOTAL DA BATELADA		250,00
PREÇO P/QUILO		

RAÇÃO SUINO GESTAÇÃO		
INSUMOS	%	QUANT./KG
FUBA DE MILHO	59,500%	148,75
FARELO DE SOJA	14,000%	35,00
FARELO DE TRIGO	24,000%	60,00
NUCLEO SUINO GESTAÇÃO UNIQUI	2,500%	6,25
TAXA OPERACIONAL FARELADA		0,25
TOTAL	100,000%	250,00
TOTAL DA BATELADA		250,00
PREÇO P/QUILO		

RAÇÃO SUÍNO LACTAÇÃO		
INSUMOS	%	QUANT./KG
FUBA DE MILHO	64,00%	160,00
FARELO DE SOJA	30,00%	75,00
OLEO DE SOJA	3,00%	7,50
NUCLEO SUINO LACTAÇÃO UNIQ	3,00%	7,50
TAXA OPERACIONAL FARELADA		0,25
TOTAL	100%	250,00
TOTAL DA BATELADA		250,00
PREÇO P/QUILO		