BEATRICE MORRONE LIMA

Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias

São Paulo

2016

BEATRICE MORRONE LIMA

Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias

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

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Adroaldo José Zanella

São Paulo

2016

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.3294
FMVZ

Morrone Lima, Beatrice
Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias / Beatrice Morrone Lima. -- 2016.
84 f. il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde animal, São Paulo, 2016.

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

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Adroaldo José Zanella.

1. Bem-estar animal. 2. Coespecífico mais velho. 3. Comportamento agressivo. 4. Redução de estresse. 5. *Buffer* social. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Formas de mitigar o estresse em leitões no desmame de 28 dias", protocolado sob o CEUA nº 6240230114, sob a responsabilidade de **Adroaldo José Zanella** *e equipe; Beatrice Morrone Lima* - 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) - encontra-se 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, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMZV) em reunião de 15/10/2014.

We certify that the proposal "título em inglês", utilizing 109 Swines (52 males and 57 females), protocol number CEUA 6240230114, under the responsibility of **Adroaldo José Zanella** *and team; Beatrice Morrone Lima* - 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) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, 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 University of São Paulo (CEUA/FMZV) in the meeting of 10/15/2014.

Vigência da Proposta: de 08/2014 a 08/2015 Área: Epidemiologia Experimental Aplicada As Zoonoses

Procedência:	Não aplicável biotério						
Espécie:	Suínos	sexo:	Machos	idade:	21 dias	N:	48
Linhagem:	Mista			Peso:	6 kg		
Procedência:	Não aplicável biotério						
Espécie:	Suínos	sexo:	Fêmeas	idade:	21 dias	N:	48
Linhagem:	Mista			Peso:	6kg		
Procedência:	Não aplicável biotério						
Espécie:	Suínos	sexo:	Machos	idade:	4 meses	N:	4
Linhagem:	Mista			Peso:	60 kg		
Procedência:	Suinocultura da Prefeitura do Campus da USP, Pirassununga						
Espécie:	Suínos	sexo:	Fêmeas	idade:	28 dias	N:	9
Linhagem:	Comercial			Peso:	7.0 Kg		

Resumo: Avaliar se a presença de um animal mais velho na creche, logo após o desmame, pode diminuir o estresse nos leitões nesta fase, utilizando 120 suínos.

São Paulo, 06 de janeiro de 2016

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MORRONE LIMA, Beatrice

Título: **Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicado 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. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação a Deus, por me dar forças para sempre continuar em frente.

Aos meus pais e minha avó por todo o apoio e ajuda.

Ao meu orientador de graduação Prof. Dr. Wilmar Sachetin Marçar por acreditar em mim e me mostrar as possibilidades e caminhos para crescer.

Ao meu orientador de pós-graduação Prof. Dr. Adroaldo José Zanella pela paciência e por acreditar nas minhas capacidades.

Aos animais usados para meu experimento, pois sem eles não teria chego aos resultados aqui mostrados.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e minha avó pois sem o apoio deles esse mestrado não seria possível.

Agradeço aos meus colegas de laboratório por toda a ajuda durante o experimento. Sem Patricia, Fred e Thiago esse experimento seria impossível. Também agradeço a todos os alunos e estagiário que passaram por aqui, Dorsa, Scott, CRis, Anna e alunos do GEBEA que trabalhando junto comigo durante esses dois anos.

Aos Zanellas pelas conversas e risadas e pelo acolhimento durante esse tempo. Realmente me senti parte da família!!

A senhora Beate von Staa e seu marido Arie Willem Bronkhorst, por acreditar e apoiar nosso grupo em todas as nossa ideias mirabolantes!

Aos funcionários da suinocultura da prefeitura, Agnaldo, Anderson, Sertão e Sr Mario, pelos ensinamentos, ajuda e confiança.

Aos funcionários do VPS de Pirassununga, Ni, João, Xavier e Suellen.

Aos professores Rodrigo e Lara, pela ajuda na parte laboratorial e conselhos.

A CNPq pela concessão da bolsa.

“A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que seus animais são tratados.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

MORRONE LIMA, B. **Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias.** [Ways to mitigate the stress of piglets weaned at 21 days of age]. 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Leitões desmamados em sistema comercial passam por um intenso estresse devido a separação materna, alteração brusca na alimentação e reagrupamento de leitegadas, exacerbado pelas intensas interações agonísticas. Nós investigamos se a presença de um suíno mais velho na baia da creche, logo após o desmame, seria capaz de diminuir as interações agonísticas e a concentração de cortisol, tornando os leitões mais adaptados para lidar com o desafio imposto. Noventa e seis leitões de 21 dias de vida foram desmamados e divididos em 8 baias, das quais, 4 tinham um suíno mais velho. Foram feitas coletas de saliva em 48 animais (24 de cada tratamento), filmagem de comportamentos para posterior análise de interações agonísticas (48 animais, sendo 24 de cada tratamento), contagem total de lesão (96 animais) e um desafio de LPS e coleta de sangue para testar a hipótese. A presença do suíno mais velho diminuiu interações agressivas (p = 0,0419), porcentagem de tempo total gasto em interações agonísticas (p = 0,0289) e quantidade de lesões (p = 0,0001). Não houve diferença na concentração de cortisol na saliva nem no soro sanguíneo, em resposta ao desafio de LPS entre os tratamentos. O suíno mais velho diminuiu a quantidade de interações agoníticas e a somatória de lesões, podendo ter melhorado a adaptação dos leitões ao momento de desmame.

Palavras-chave: Bem-estar animal. Coespecífico mais velho. Comportamento agressivo. Redução de estresse. *Buffer* social.

ABSTRACT

MORRONE LIMA, B. **Ways to mitigate the stress of piglets weaned at 21 days of age**. [Formas de mitigar o estresse de leitões desmamados com 21 dias]. 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Piglets weaned under commercial systems experience an intense stress due to maternal separation, abrupt changes in the diet and mixing of litters, exacerbated by intensive agonistic interactions. We investigated whether the presence of an older swine in the nursery pen, after weaning, would be able to reduce agonistic interactions and the concentration of cortisol, making the piglets most adapted to deal with the challenge. Ninety-six 21 days old piglets were weaned and housed into 8 pens, of which 4 had an older swine. Saliva samples were taken from 48 animals (24 per treatment), vídeo for analysis of agonistic interactions (48 animals, 24 of each treatment), total count of lesion (96 animals) and a challenge of LPS and collection of blood was carried to test the hypothesis. The presence of the older swine decreased aggressive interactions ($p = 0.0419$), percentage of total time spent in fights ($p = 0.0289$) and number of lesions ($p = 0.0001$). There was no difference in the concentration of cortisol in saliva or in serum in response to LPS challenge. The older swine decreased the amount of agonistics interactions and the amount of lesions, thus it may have improved adaptation of piglet at weaning.

Keywords: Animal welfare. Older coespecifc. Aggressive behavior. Stress reduction. Social buffer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fotografia para contagem de lesão, posição dorsal 31

Figura 2 - Fotografia para contagem de lesão, posição lateral direita 31

Figura 3 - Fotografia para contagem de lesão, posição orelha posterior direita ...31

Figura 4 - Fotografia para contagem de lesão, posição orelha anterior e face direita.....31

Figura 5 - Fotografia para contagem de lesão, posição lateral esquerda 31

Figura 6 - Fotografia para contagem de lesão, posição orelha posterior esquerda 31

Figura 7 - Fotografia para contagem de lesão, posição orelha anterior e face esquerda 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média da frequência das interações agonísticas de cada dia 35

Tabela 2 - Resultados da correlação entre somatória de lesão e frequência das interações agonísticas 42

Tabela 3 - Resultados da correlação entre somatória de lesão e duração das interações agonísticas dos dados paramétricos.....42

Tabela 4 - Resultados da correlação entre somatória de lesão e duração das interações agonísticas dos dados não paramétricos.....42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Categoria e unidades de medidas comportamentais 30

Quadro 2 - Score das interações agonísticas 59

Quadro 3 - Postura do suíno mais velho durante interações agonísticas 59

Quadro 4 - Comportamento do suíno mais velho durante intervenção de interações agonísticas.....60

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Frequência de interações agonísticas 34

Gráfico 2 - Frequência de interações agonísticas entre gêneros 35

Gráfico 3 - Porcentagem de tempo gasto em interações agonísticas 36

Gráfico 4 - Porcentagem de tempo gasto em interações agonísticas de acordo com o gênero 37

Gráfico 5 - Duração total de interações agonísticas 38

Gráfico 6 - Porcentagem de sucesso total nas interações agonísticas 39

Gráfico 7 - Duração média de interações agonísticas 40

Gráfico 8 - Somatória de lesões 41

Gráfico 9 - Tempo de vocalização 43

Gráfico 10 - Frequência de vocalizações 44

Gráfico 11 - Avaliação de peso 61

Gráfico 12 - Porcentagem de alteração na concentração de cortisol frente a desafio de LPS 62

Gráfico 13 - Concentração de cortisol salivar 63

Gráfico 14 - Concentração de cortisol salivar por baia – Tratamento 64

Gráfico 15 - Concentração de cortisol salivar por baia - Controle 64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16

2 REVISÃO DE LITERATURA 18

2.1 DESMAME 18

2.1.1 **Desafios para o leitão** 18

2.1.2 **Problemas comportamentais** 19

2.1.3 **Comportamento social de suínos (*Sus scrofa*) em sistema seminatural e natural** 20

2.1.4 **Estresse do desmame** 21

2.2 IMPORTÂNCIA DO CONTEXTO SOCIAL 23

3 ARTIGO 1 – SUÍNO MAIS VELHO REDUZ COMPORTAMENTOS AGONÍSTICOS NO DESMAME DE LEITÕES 25

3.1 INTRODUÇÃO 25

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS 27

3.2.1 **Sujeitos do estudo** 27

3.2.2 **Delineamento Experimental** 28

3.2.3 **Observação comportamental** 29

3.2.4 **Contagem de lesão** 30

3.2.5 **Vocalização** 32

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA 33

3.4 RESULTADOS 33

3.4.1 **Análise de comportamento** 33

3.4.3 **Correlação entre somatória de lesão e comportamento agonísticos** 41

3.4.4 **Vocalização** 43

3.5 DISCUSSÃO 44

REFERÊNCIAS 49

4 ARTIGO 2 – CONSEQUÊNCIAS DA PRESENÇA DE UM SUÍNO MAIS VELHO NO DESEMPENHO E INDICADORES DE ATIVIDADE DO EIXO HIPOTALAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM LEITÕES DESMAMADOS 52

4.1 INTRODUÇÃO 52

4.2 MATERIAL E MÉTODOS 54

4.2.1 **Sujeitos do estudo** 54

4.2.2 **Delineamento Experimental** 55

4.2.3 **Coletas de saliva** 56

4.2.3 **Desafio de LPS / Coleta de sangue** 57

4.2.4 **Análise de comportamento do suíno mais velho** 58

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA 60

4.4 RESULTADOS 61

4.4.1 **Ganho de peso** 61

4.4.2 **LPS** 61

4.4.3 **Cortisol Salivar** 62

4.4.4 **Análise de comportamento** 65

4.5 DISCUSSÃO 65

REFERÊNCIAS 69

5 CONCLUSÃO 71

REFERÊNCIAS 74

ANEXOS 78

1 INTRODUÇÃO

A partir do final da Segunda Guerra Mundial, tornou-se necessário que a criação de animais fosse intensificada, a fim de atender a demanda do mercado consumidor. Atualmente, continua sendo de extrema importância que a criação de animais para abate seja eficiente e produtiva diante do grande aumento de consumo de proteína animal. No ano de 2015 foram produzidos no mundo, 112 milhões de toneladas de carne suína (USDA, 2016), que equivale à criação de aproximadamente 1,3 bilhões de suínos para abate. Além dos animais criados para consumo, há uma crescente busca do suíno como um modelo para diversas pesquisas de biomedicina e agricultura. Para conseguir aumentar a eficiência e atender a demanda, produtores adotaram práticas de manejo e instalações que mudaram o ambiente físico e social dos suínos. Existem evidências de que certas práticas de manejo causam alterações comportamentais e fisiológicas nos animais, indicando problemas para lidar com as condições de vida, e consequentemente no bem-estar (SOUZA et al., 2006).

Dentro deste contexto, torna-se de suma importância considerar quais são os desafios encontrados por esses animais, a fim de mitigar o estresse e melhorar a qualidade de vida.

Na produção comercial, o desmame é considerado um dos momentos mais estressantes na vida de um suíno. Os leitões passam por uma mudança social e ambiental de forma abrupta, além de mudanças na dieta em um período em que, na vida natural, eles não enfrentariam tais mudanças (GARDNER et al., 2001).

Na América do Norte e do Sul os leitões são desmamados de duas formas principais. Na primeira com 21 – 28 dias para o desmame convencional (mais usado pelos produtores), e com 10 – 15 dias para desmame segregado, que consiste em retirar o leitão do contato materno mais cedo, evitando transmissão de patógenos ao colocar os leitões em um ambiente o mais estéril possível (ROBERT *et al.,* 1999). Em contraste ao período de desmame citado acima, em ambientes naturais e criações seminaturais, o desmame ocorre entre 77 e 112 dias de vida (FRASER et al., 1998). Outras fases naturais do desenvolvimento do suíno a serem consideradas são a transição de alimento líquido para sólido, bem como a transição de ambiente,

no momento em que os leitões deixam o ninho e passam a integrar-se com o grupo. Essas mudanças ocorrem de forma gradual e na presença de outros coespecíficos, como a mãe e outros membros do grupo (JENSEN; STANGEL, 1992).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DESMAME

O desmame de mamíferos consiste na transição de dependência materna e do leite para se alimentar, para a independência social e nutricional. Em condições naturais, o desmame envolve uma gradual redução na ingestão de leite, acompanhada de aumento da independência social e aumento da ingestão de alimentos sólidos (WEARY et al., 2008).

O desmame comercial ocorre antes do desmame natural e de forma abrupta, para que a quantidade anual de leitões por fêmea seja maximizada, gerando assim maior lucro para o produtor. Em termos de custos e benefícios, reduzir o intervalo entre partos da fêmea suína gera mais vantagens ao produtor em comparação aos impactos gerados pelo desmame precoce nos leitões.

A resposta de estresse em animais desmamados pode ser vista como uma adaptação desenvolvida para sinalizar a necessidades do indivíduo por recursos como o leite. Desse ponto de vista ele pode ser entendido como a necessidade do leitão por cuidado materno. O ambiente social e psicológico com o qual os animais desmamados em condições comerciais devem se ajustar, podem ter importantes efeitos no bem-estar (WAERY et al., 2008).

A resposta dos leitões está condicionada com seus comportamentos naturais, que devem ser levados em consideração para que seja possível avaliar a melhor formar de minimizar esse estresse durante o desmame.

2.1.1 Desafios para o leitão

Em condições naturais, a quantidade de vezes que os leitões se alimentam de leite diminui durante seu crescimento, sendo até 30 vezes ao dia na primeira semana, diminuindo gradualmente nas semanas seguintes até que os leitões

estejam completamente estabelecidos com a alimentação sólida (WEARY et al., 2008). Na criação comercial, os leitões tem acesso ao alimento sólido desde o nascimento. No entanto, demonstram pouco interesse, refletindo em baixa ingestão. Logo após o desmame, leitões com 21 ou 28 dias de vida mostram interesse crescente no alimento sólido porém, passam a maior parte do tempo deitados ou realizando comportamentos direcionados aos parceiros da baia, (e.g. manipular outros leitões). Após os primeiros dias os leitões passam a mostrar gradativo interesse pelo alimento sólido e a ingestão passa a aumentar (METZ; GONYOU, 1990).

Os ambientes físicos e sociais são grandes desafios para os leitões que, além da perda materna são frequentemente separados de seus irmãos, reagrupados com leitões de outras leitegadas e submetidos a uma maior densidade. Nesse novo ambiente das granjas comerciais muitas vezes há diferença na forma de disponibilização de água e alimento, além do espaço físico, que pode implicar em problemas de interações sociais. Nicol et al. (2005), mostrou que potros separados das éguas e levados para outro ambiente, defecaram com maior frequência, foram mais ativos e passaram menos tempo forrageando em comparação a potros que tiveram suas mães removidas e permaneceram no mesmo paddock.

Além desses desafios, o transporte imediatamente após o desmame é um estressor adicional frequentemente imposto aos leitões. Muitas vezes esses leitões são transportados de 4 a 20 horas, podendo levar a uma perda de peso corpóreo devido à desidratação e falta de ingestão alimentar, que por sua vez pode ser agravada pela ocorrência de doenças como diarreia (Berry e Lewis, 2001).

2.1.2 Problemas comportamentais

A privação precoce de contato materno é relatada como uma das condições para o aparecimento de comportamentos estereotipados (LATHAM; MASON, 2008), descritos como “comportamento repetitivo, invariável e sem função aparente” (ODBERG, 1978). Inúmeros estudos demonstram um aumento proporcional em relação à precocidade do desmame e um comportamento denominado belly nosing,

que consiste em focinhar e sugar o flanco ou a barriga de outro companheiro, semelhante ao movimento de massagem do aparelho mamário feito pelos leitões na fêmea lactante (FRASER, 1978; WEARY et al., 1999; WOROBEC et al., 1999).

Ao contrário do que é encontrado em sistemas semi-naturais, a socialização de leitões em sistemas comerciais não ocorre de forma lúdica e causa lesões de pele como consequência da interação agonística entre animais de leitegadas diferentes (WATTANAKUL et al., 1997), comprometendo o bem-estar dos leitões (MENDL *et al*., 1992). As interações agressivas entre leitões consistem em uma série de ameaças, troca mútua de mordidas, empurrões, cabeçadas e perseguição (JENSEN; YNGVESSON, 1998). Essas interações podem ser breves e com pouco contato ou mais severas e durar por mais tempo (COLSON et al., 2006b). Estudos encontraram diferentes tempos de duração dessas interações, podendo parar 5 a 10 dias após a reagrupamento das leitegadas, mas sendo mais intensa nas primeiras 48 horas (MEESE; EWBANK, 1973; SOUZA et al., 2006; YUAN et al., 2004).

2.1.3 Comportamento social de suínos (*Sus scrofa*) em sistema seminatural e natural

Suínos selvagens e domésticos são extremamente sociais e gregários e usam olfato, audição e visão para se comunicarem com coespecíficos (GRAVES, 1984). Em sistemas naturais e seminaturais, um grupo social consiste primariamente em duas a quatro fêmeas em idade reprodutiva, suas leitegadas mais recentes e suínos juvenis (7 a 9 meses de idade) de leitegadas anteriores (GRAVES, 1984). O número de fêmeas em período reprodutivo depende da disponibilidade de recursos, sendo o principal deles o alimento. Além disso, a hierarquia no grupo é bem estabelecida entre as classes (KEELING; GONYOU, 2005).

Durante a época de acasalamento, um macho adulto se une ao grupo e assume a dominância, enquanto as fêmeas fora da época reprodutiva e os juvenis se mantêm na periferia do grupo (GRAVES, 1984; BLASETTI et al., 1988). No período pré-parto a fêmea se afasta do grupo, constrói um ninho e dá a luz aos leitões. Quando os leitões têm por volta de 10 dias de vida, a fêmea e sua leitegada

deixam o ninho e voltam para o grupo. Nesse momento, os leitões são “apresentados” para os outros membros do grupo (GRAVES, 1984; JENSEN; STANGEL, 1992; NEWBERRY; WOOD-GUSH, 1986). As interações dos leitões nesse período ocorrem principalmente com seus irmãos, porém, quando ocorrem com outros membros, raramente envolvem interações agonísticas e frequentemente são brincadeiras. Conforme os leitões crescem, animais de leitegadas diferentes são vistos juntos com mais frequência realizando longas expedições sem a presença materna. Com dois meses de idade, as interações sociais com animais de outra leitegada são mais frequentes em relação a animais da mesma leitegada (PETERSEN et al., 1989).

Os suínos tem a possibilidade de interagir livremente com coespecíficos e desenvolvem de forma natural padrões de comportamento social, levando a formação de hierarquias por dominância e estabilidade do grupo (MAUGET, 1981). A dominância é determinada por idade e força, e a hierarquia social é mantida evitando-se interações agonísticas de animais subordinados, ao invés de coação por parte do dominante (JENSEN; WOOD-GUSH, 1984).

2.1.4 Estresse do desmame

O desmame está associado a impactos na morfologia intestinal e nas respostas imunológicas que podem impactar na eficiência produtiva dos leitões, como crescimento, ingestão de alimentos, morbidade e mortalidade, além de alterações comportamentais (CAMPBELL et al., 2013). Todas essas alterações implicam em problemas de bem-estar animal.

Nas primeiras semanas de vida, diferente do ambiente seminatural, leitões confinados só tem contato social materno e com animais da mesma leitegada (SOUZA, et al., 2006). Foi relatado que o desmame e o excesso de interações agonísticas decorrentes do desmame, causam uma elevação na quantidade de cortisol circulante (SIEGFORD et al., 2008; SOUZA et al., 2006; YUAN et al., 2004). Essa elevação na concentração de cortisol é usada como um dos maiores indicadores fisiológicos de estresse (RUIS et al., 1997). O cortisol é um dos produtos

decorrentes da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), e tem por sua vez um papel crítico no ajuste e na homeostase do organismo.

Respostas agudas de estresse facilitam o reajustamento de respostas comportamentais e fisiológicas. Através da aprendizagem de um processo, ele permite uma resposta mais adequada em situações futuras semelhantes (MCEWEN, 2001). Porém, se o animal apresenta problemas em se ajustar a uma determinada situação de estresse constante e severo, estresse crônico, uma ativação constante do eixo HPA irá causar uma variedade de problemas fisiológicos e comportamentais e aumentará a susceptibilidade do animal a doenças (WIEPKEMA; KOOLHAAS, 1993).

Embora o cortisol seja importante para o bom funcionamento do organismo, quando encontrado em excesso, causa inadequado funcionamento do sistema imunológico, deixando o organismo mais susceptível a infecções (JEFFERIES, 1991). Em casos de estresse agudo, Ruis et al. (1997) relataram que o aumento do cortisol é encontrado em maior amplitude no dia seguinte ao desafio e que não há diferença na quantidade de cortisol encontrada entre machos e fêmeas. Devido ao nível de ativação da resposta ao estresse ser relacionado com a saúde geral do animal, sua mensuração pode refletir os efeitos combinados da saúde, restrições fisiológicas, alocação de energia, qualidade do ambiente e distúrbios no indivíduo ou na população como um todo (ROMERO, 2004).

Dentro deste contexto, o estresse crônico, bem como os níveis de cortisol circulante, podem afetar o sistema imunológico e a forma como os indivíduos lidam com doenças. O comportamento de doença, incluindo redução de ingestão alimentar, inatividade e febre são induzidos em suínos por administração de lipopolissacarídeo (LPS) (JOHNSON; VON BORELL, 1994), comumente conhecido por endotoxina. A ativação do eixo HPA pela administração de LPS e consequente liberação de cortisol é bem estabelecida (WRIGHT et al., 2000). Parrott et al. (1995) relatou um aumento de cortisol em suínos atingindo seu pico após 2 horas e 40 minutos da administração de LPS em uma concentração de 20µl/kg, com retorno ao nível basal após 6 horas. Porém, outros estudos mostram diferentes intervalos de tempo de acordo com a concentração administrada (MATTERI et al., 1998; PARROTT et al., 1997; WRIGHT et al., 2000;). A administração de LPS é muito

usada para avaliar a resposta imunológica e de cortisol do indivíduo frente a um desafio de doença.

2.2 IMPORTÂNCIA DO CONTEXTO SOCIAL

A socialização evoluiu como uma estratégia adaptativa para enfrentar desafios ambientais (WILSON, 2000). O comportamento social tem um papel determinante no bem-estar de animais de produção que evoluíram como espécies gregárias (KEELING; GONYOU, 2001). Cohen e Wills (1985) mostram as duas maiores teorias que explicam o conceito de suporte social. A teoria de “efeito direto ou principal” defende que o suporte social provê efeitos benéficos ao indivíduo, sendo ele desafiado ou não. A teoria de “tampão de estresse” define o suporte social como a habilidade dos parceiros sociais em modularem ou diminuírem o impacto do estresse na homeostasia do indivíduo.

A simples presença física de um coespecífico nem sempre é o suficiente para que o suporte social ocorra (EPLEY, 1974). Fatores como familiaridade e estado emocional do parceiro modulam a intensidade do suporte social (RAULT, 2012). Por vezes, o suporte social pode não precisar que todos os sentidos sejam ativados, mas sim ativar sentidos importantes, de acordo com as particularidades de cada espécie, como oferecer fotos de pares familiares para ovinos (DA COSTA et al., 2004) ou vocalização de familiares para macacos arborícolas (RUKSTAILS; FRENCH, 2005). Porém, em situações estressantes em ratos, a presença e interação com um outro animal são mais efetivas que apenas o odor em casos de situações estressantes (NAKAYASU; KATO, 2011).

Suínos são animais de olfato altamente desenvolvido, com inúmeras células sensoriais na região olfatória, podendo ter a capacidade de tato parecida com a da mão humana. Podemos supor então, que a presença de um coespecífico e a possibilidade de interagir livremente para o suíno é muito mais importante e efetivo que apenas a ativação de um sentido como o olfato. Além disso, o suporte social provê uma grande variedade de resultados positivos em animais de produção, gerando contribuição positiva para melhorar o bem-estar. Ainda há dificuldade para

discernir estratégias que possam ser usadas por produtores (RAULT, 2010). Tais estratégias devem maximizar a eficiência do suporte social para os animias sem acarretar em problemas na produção.

3 ARTIGO 1 – SUÍNO MAIS VELHO REDUZ COMPORTAMENTOS AGONÍSTICOS NO DESMAME DE LEITÕES

3.1 INTRODUÇÃO

Leitões produzidos em granjas comerciais são desmamados com idade de 21 a 28 dias. Esse período é considerado precoce, uma vez que o desmame natural ocorreria à partir de 91 dias de vida e de forma gradual (JENSEN; STANGEL, 1992). Colson et al. (2006a) mostraram que desmamar leitões com 21 ou 28 dias traz consequências negativas para a taxa de crescimento e respostas endócrinas ao estresse. Os estressores enfrentados pelos leitões decorrentes do desmame são: alteração brusca da dieta líquida para a sólida; mudança de ambiente; reagrupamento de leitegadas diferentes; separação materna abrupta (CAMPBELL, et al., 2013).

Muitos estudos foram feitos para tentar mensurar o estresse durante a separação materna, com o objetivo de diminuir esse desafio. As consequências do desmame prematuro foram relatadas como comprometimento no desenvolvimento dos leitões (COLSON, *et al*., 2006a), gerando problemas imunológicos (CAMPBELL, *et al*., 2013), e prejuízos para o produtor. No entanto, uma atenção especial foi dada para a agressividade causada pela reagrupamento de leitegadas (ERHARD et al., 1997; MCGLONE, 1985; TURNER et al., 2006; OCZAK et al., 2013). Estudos anteriores caracterizaram agressividade entre os leitões desmamados (JENSEN; YNGVESSON, 1998; STUKENBORG et al., 2011; YUAN et al., 2004; SOUZA et al., 2006). Fatores como idade no desmame (COLSON et al., 2006b; PITTS et al., 2000), uniformidade dos animais (JENSEN; YNGVESSON, 1997) contribuem para a ocorrência de agressão, enquanto que, socialização das leitegadas antes do desmame (D'EATH, 2005) e enriquecimento das baias (MELOTTI et al., 2011) contribuem para a diminuição da agressão. Porém, até o momento, nenhum experimento levou em conta a importância de um contexto social mais complexo no desmame.

Ao se reagrupar animais não familiares pela primeira vez, eles irão primeiramente definir a hierarquia antes de estabelecer laços sociais (RAULT, 2012). Ainda, nessas condições, a presença de apenas alguns familiares mantidos no mesmo grupo, pode não ser suficiente para ocorrer um efeito de tampão no estresse, não levando a uma melhora do bem-estar dos animais (RAULT, 2012).

Graves (1984) relatou que, durante a movimentação do grupo de suínos em ambiente seminatural, forma-se uma fila em que primeiro vão as mães, seguidas pelos leitões e no final vão as fêmeas sem leitões e/ou os machos juvenis. Esse mesmo autor também relatou momentos em que as mães se afastam dos leitões para forragear, porém, sempre um indivíduo mais velho fica por perto monitorando os letões. Em ambos os casos, temos um animal mais velho como referência de segurança para os leitões.

Newberry e Wood-Gush (1986) demonstraram que, quando os leitões de uma mesma leitegada são apresentados aos membros do grupo, despendem grande parte do seu tempo com outros indivíduos da mesma idade, além de passarem parte significativa de seu tempo interagindo e cheirando as outras fêmeas, os juvenis e até mesmo o macho reprodutor do grupo. Esse comportamento indica que os leitões tem conhecimento dos outros membros do grupo e socializam com os mesmos.

Em leitões criados em um complexo ambiente social, é possível especular que a presença de animais adultos tem um papel modulador no comportamento agressivo entre os mais jovens. Essa informação nos leva a hipótese de que um suíno mais velho nas baias das creches diminuiria comportamentos agressivos no momento do desmame e reagrupamento de leitegadas.

Evidências do complexo papel de um animal mais velho ou adulto regulando o comportamento social dos mais jovens são bem disseminadas. Animais mais velhos podem ser essenciais, promovendo um modelo de aprendizado de comportamento social e ingestão de alimento e, acima de tudo, um modelo para demonstrar e reproduzir sinais sociais de forma adequada (equinos: HENRY et al., 2012; BOURJADE et al., 2009) (bovinos: DE PAULA VIEIRA et al., 2012) (elefantes: BRADSHAW et al., 2005).

A agressividade em leitões tem sido estudada por décadas, porém, ainda é considerado um problema persistente, o que enfatiza a necessidade de uma nova abordagem (CAMERLINK et al., 2014). Nesse estudo, observamos se a presença de

um suíno mais velho na baia de creche junto com os leitões é capaz de diminuir a agressividade entre eles.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Sujeitos do estudo

Noventa e seis leitões Landrace x Large White de peso médio 6,2 ±1,5 kg, provenientes de 24 matrizes diferentes foram adquiridos da Fazenda Araporanga (Topgen) – Jaguariaíva, Paraná. As matrizes (3 nulíparas e 21 entre 2 a 8 ciclos) eram mantidas em sistemas de produção comercial e inseminadas de acordo com o planejamento da propriedade. Todos os animais foram submetidos ao manejo convencional da propriedade após o nascimento que inclui, corte de cauda e dentes e marcação de orelha por sistema de mossa australiana. Os leitões foram escolhidos pelo veterinário responsável da fazenda e o processo de seleção levava em consideração gênero, sendo sempre dois machos e duas fêmeas por matriz. Aos 21 dias de vida (D 0), os leitões foram marcados com números de 1 a 96 de forma aleatória entre as leitegadas, com tintura permanente para cabelo (Wellaton®, cor preto 1.0 – Wella – Protector & Gamble Co.), e a sequência de cada 4 números indicava um grupo de irmãos.

Em seguida foi feito o desmame e os leitões foram separados por leitegada em caixas de papelão de um metro cúbico, forradas com maravalha e transportados por caminhão com caçamba fechada por lona até a Universidade de São Paulo, campus Fernando Costa em Pirassununga, onde chegaram por volta das 4h da manhã do dia seguinte (D 1), totalizando 7 horas de viagem (459 km de distância). Não foi feita a coleta de temperatura do micro ambiente dos leitões durante o transporte. Os animais foram transportados em dois lotes, o primeiro em novembro de 2014, sendo a temperatura média do período 23,9°C, tendo como máxima 33,7°C e mínima 18,5°C e o segundo lote em janeiro de 2015, sendo a temperatura média 25,9°C com máxima de 34,2°C e mínima de 19,3°C (dados obtidos da Estação

Meteorológica do Campus Fernando Costa). Todos os animais chegaram em boas condições e foram alojados nas baias da suinocultura da prefeitura do Campus Fernando Costa. Para colocação dos animais nas baias seguiu a sequência da baia 1 para a 4 para os dois lotes, sendo que no primeiro lote a baia 1 e 3 foram controle e a 2 e 4 foram tratamento, enquanto que no segundo lote a baia 1 e 3 foram tratamento e a 2 e 4 foram controle. Os machos mais velhos, que também foram transportados em dois lotes de dois animais, eram colocados nas baias antes dos leitões.

Quatro machos castrados cirurgicamente, com 4 meses de vida e peso médio de 96±8 kg também foram adquiridos na Fazenda Araporanga. Esses animais foram embarcados no mesmo caminhão que os leitões, porém em outra partição, não tendo contato com os leitões.

Os animais foram colocados em baias de 3x4 metros que possuíam chão de concreto e metade do piso era forrado com bagaço de cana. Água e comida eram oferecidos *ad libitum* em comedouros circulares (Suin®668) com silo de capacidade para 20 kg e bandeja economizadora (Suin® Creche). A ração foi fabricada na Fábrica de Ração da Prefeitura do Campus Fernando Costa e era constituída por farelo de milho, farelo de soja, pre-mix para fase inicial de suíno (Uniquímica), adsorvente (Altec) e plasma suíno (Despros AS.).

As baias eram varridas e lavadas duas vezes ao dia (manhã e final do dia) e nesse mesmo período era completado o silo dos comedouros. Os animais eram inspecionados individualmente todas as manhãs visando monitorar se haviam leitões que precisassem de atenção veterinária.

3.2.2 Delineamento Experimental

Para testar a hipótese, os leitões foram divididos em dois lotes de 48 leitões e 2 suínos mais velhos, formando em cada repetição, 4 baias, sendo que cada grupo de leitões nas baias era constituído por 3 leitegadas diferentes, totalizando 12 animais por baia. Em duas das baias foram colocados o um suíno mais velho junto com cada grupo dos leitões.

Foram feitas análises comportamentais e contagem de lesão para avaliação de agressividade, e análise de vocalização durante manipulação como avaliação de nível de estresse e bem-estar dos leitões (WEARY; FRASER, 1995).

3.2.3 Observação comportamental

Foram analisados vídeos dos 4 dias após desmame (D 1, D 2, D 3 e D 4), de quatro baias diferentes, sendo duas baias controle e duas tratamento, totalizando 48 leitões. Por problemas na rede elétrica, os vídeos dos animais do segundo lote foram perdidos. A análise dos comportamentos foi efetuada nos vídeos por 4 horas seguidas, das 05 às 09 horas de todos os dias. Esse horário foi escolhido após notar ser esse o período de maior atividade dos leitões. No restante das horas foram analisados 10 minutos corridos, sempre dos 30 aos 40 minutos de cada hora. Foram analisados 440 minutos de vídeo por baia.

As câmeras usadas para filmagem foram ShowCam Segurança® CRI 30W e as imagens gravadas em HD externo até momento da análise que foi realizada por apenas um observador. Registramos a frequência e duração de todos os eventos em que ocorriam interações agonísticas com o uso de um etograma e cronômetro (MARTIN; BATESON, 2008). As unidades comportamentais consideradas estão descritas no Quadro 1. Foi considerada também a frequência das interações agonísticas, sendo necessário um intervalo maior de 5 segundos entre as interações para ser considerada uma nova interação (MOORE et al., 1993).

Quadro 1 - Categoria e unidades de medidas comportamentais

Comportamento analisado	Descrição do comportamento
Interação agonística	Ato marcado por troca de mordidas, cabeçadas ou empurrões entre dois leitões com uma duração de mais de dois segundos. O início é indicado quando um leitão dá uma cabeçada, morde ou empurra outro leitão que por sua vez responde com uma das ações citadas. Seu termino se dá quando ambos animais param de revidar e/ou se afastam
Duração da interação agonística	Intervalo de segundos entre o início e o termino de uma interação agonistica
Frequência de interações agonística	Quantidade de interações agonísticas que se iniciam e terminam durante o período de análise comportamental
Leitão de iniciou a interação agonística	Leitão que desferiu mordida, empurrão ou cabeçada em outro leitão, acarretando em uma interação agonistica
Leitão que perdeu a interação agonística	Leitão que se afasta no meio das investidas de um outro leitão ou após emparelhamento prolongado, ou ainda, leitão que deita ou senta e para de revidar, gerando desinteresse e afastamento do outro leitão
Interação agonística sem vencedor	Quando ambos os leitões se afastam ao mesmo tempo ou param de realizar mordidas, empurrões e cabeçadas por mais de cinco segundos e depois se afastam

Legenda: Descrição dos comportamentos avaliados.

3.2.4 Contagem de lesão

Foram realizadas fotos (Sonny CyberShot® αHX1 semi-profissional) de todos os leitões nos dias D 1, D 2, D 3 e D 4. Todas as fotos foram obtidas da mesma forma e na mesma sequência: dorso, lateral direita, parte posterior da orelha direita, parte anterior da orelha direta e face direita, lateral esquerda, parte posterior da orelha esquerda, parte anterior da orelha esquerda e face esquerda (Figuras 1 a 7). Todas as fotos foram obtidas por volta das 18 horas de cada dia.

Figura 1-Fotografia para contagem de lesão, posição dorsal

Fonte: O autor.

Figura 2-Fotografia para contagem de lesão, posição lateral direita

Fonte: O autor.

Figura 3-Fotografia para contagem de lesão, posição orelha posterior direita

Fonte: O autor.

Figura 4-Fotografia para contagem de lesão, posição orelha anterior direita e face direita

Fonte: O autor.

Figura 5-Fotografia para contagem de lesão, posição lateral esquerda

Fonte: O autor.

Figura 6-Fotografia para contagem de lesão, posição orelha posterior esquerda

Fonte: O autor.

Figura 7-Fotografia para contagem de lesão, posição orelha anterior esquerda e face esquerda

Fonte: O autor.

Dois observadores realizaram a contagem de lesões em todos os animais, de forma independente, de acordo com o método de Guy et al. (2009) em que foram consideradas lesões caracterizadas como um corte ou arranhão parcialmente cicatrizado e lesões recentes, caracterizadas pela coloração vermelha-rosa. A média dos resultados da contagem foi submetida à análise estatística.

3.2.5 Vocalização

Durante a contenção dos animais do segundo lote (n= 48) para realização das fotos, foram avaliadas a frequência (número de eventos de vocalização, em que era necessária uma pausa de dois segundos para ser considerada nova vocalização) e duração (tempo total de cada evento) das vocalizações dos leitões. Ainda, o período total da contenção foi cronometrado para saber se a duração da mesma era diferente para cada animal.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS 9.3. Para as variáveis comportamentais, o delineamento em fatorial 4 x 2 x 2 foi utilizado, sendo dois tratamentos (presença ou ausência do suíno mais velho), em quatro dias de análise comportamental (D 1, D 2, D 3 e D 4) e para dois gêneros diferentes (machos e fêmeas). Foram considerados o efeito de tratamento, efeito do dia e efeito do gênero, assim como a interação entre tratamento e dia, tratamento e gênero, gênero e tempo e a interação tripla tratamento, dia e gênero. O resíduo A foi obtido pelo efeito interação entre bloco e tratamento. A metodologia de Akaike foi utilizada para determinar a melhor matriz de covariância. A significância foi considerada ao nível de 5%.

As observações que se encontravam três desvios padrões, abaixo ou acima da média, foram consideradas “outlier” e removidas das análises. As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas por logaritmo (Logx+1), raiz (x+1/2) ou arco-seno (((raiz(x/100)) *57,2957795131).

Para análise da correlação, após avaliar a normalidade dos dados, foi realizado o método de Pearson para dados paramétricos e método de Sperman para dados não paramétricos.

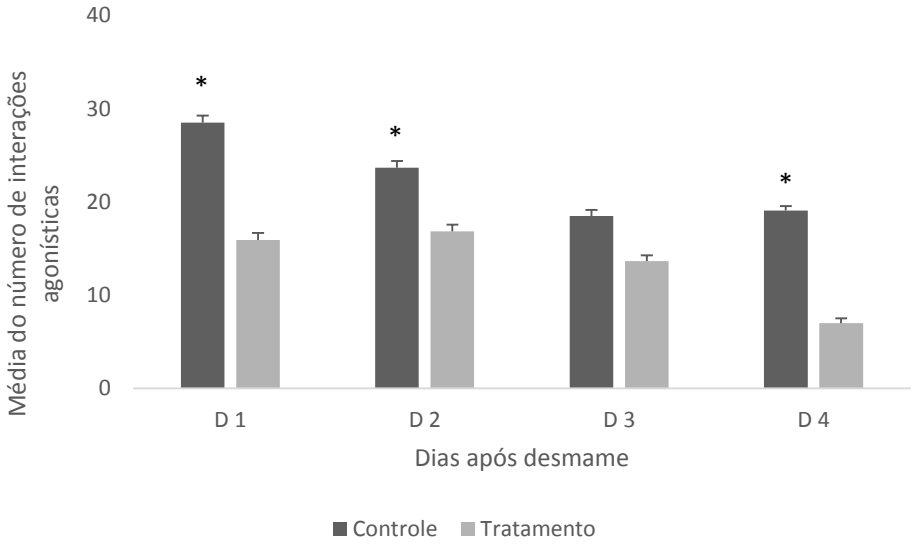
3.4 RESULTADOS

3.4.1 Análise de comportamento

O Gráfico 1 mostra que a frequência de interações agonísticas foi diferente entre tratamento e controle nos dias D 1 p = 0,0002, D 2 p = 0,0226 e D 4 p = 0,0001. Houve interação tripla, com valor de p = 0,0419. Os leitões do tratamento tiveram menos interações agonísticas em relação ao controle, indicando que a presença do suíno mais velho foi o suficiente para diminuir as interações agonísticas entre os

leitões. É possível ver ainda, que a frequência de interações agonísticas reduz, tanto para controle quanto para tratamento no decorrer do tempo.

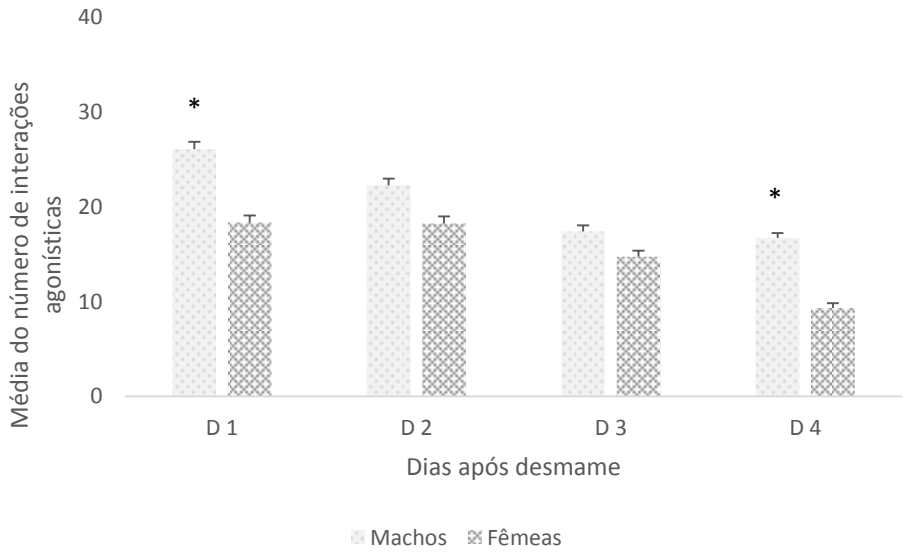
Gráfico 1 - Frequência de interações agonísticas



Legenda: Frequência de interações agonísticas observadas em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento, n = 24) ou ausência (controle, n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação indireta. O reagrupamento de leitegadas foi realizado no D 1. Valor da média (±SD) de 24 animais para cada tratamento independente. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia (análise fatorial, interação tripla tempo x tratamento x gênero p = 0,0419 e EPM = 0,405 e diferença entre controle e tratamento para D 1 p = 0,0002 e EPM = 0,759, para D 2 p = 0,0226 e EPM = 0,723 e para D 4 p = 0,0001 e EPM = 0,506).

O Gráfico 2 mostra a diferença na frequência de interações agonísticas entre machos e fêmeas, que ocorreu nos dias D 1 p = 0,0143 e D 4 p = 0,0006. Os machos controle apresentam uma maior motivação para interações agonísticas do que as fêmeas, principalmente no primeiro dia após a reagrupamento e no D 4.

Gráfico 2 - Frequência de interações agonísticas entre gêneros



Legenda: Frequência de interações agonísticas entre gêneros em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1Dados obtidos por observação indireta. Valor da média (±SD) de 24 animais para cada gênero. * Indica diferença entre gêneros em um mesmo dia (análise fatorial, interação tripla tempo x tratamento x gênero p = 0,0419 e EPM = 0,405 e diferença entre machos e fêmeas para D 1 p = 0,0143 e EPM = 0,759, para D 4 p = 0,0006 e EPM = 0,506).

Tabela 1 - Média da frequência das interações agonísticas de cada dia

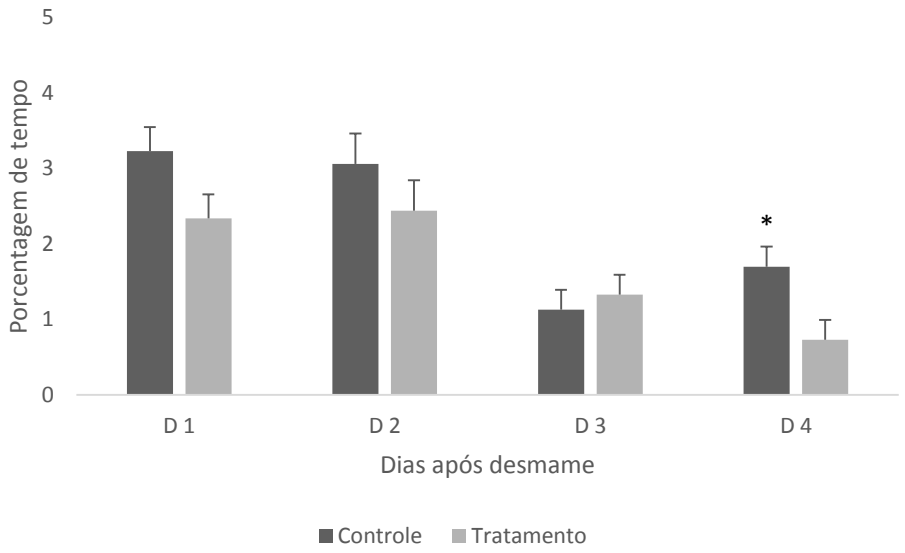
	Fêmeas		Machos	
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento
D 1	11,5	6,83	17	9,08
D 2	10,75	7,5	12,92	9,33
D 3	8,67	6,07	9,83	7,58
D 4	6,08	3,25	12,98	3,75

Legenda: média das interações agonísticas de cada dia, separada por gênero e tratamento

No Gráfico 3 temos a porcentagem de tempo total de cada dia gasto em interações agonísticas para tratamento e tempo. Houve interação tripla, sendo p = 0,0289, e interação entre tratamento e tempo, p = 0,0169. A diferença significativa entre tratamento e tempo foi encontrada no D 4 p = 0.0059, indicando que os leitões

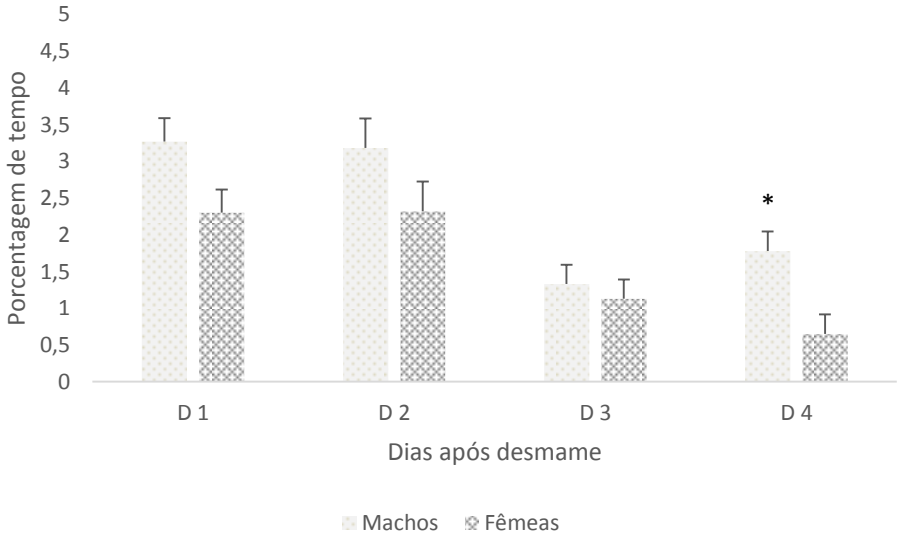
do grupo controle passaram mais tempo realizando interações agonísticas do que os leitões do grupo tratamento. No gráfico 4 temos a porcentagem de tempo total gasto em interações agonísticas, em relação ao dia e ao gênero, indica que os machos gastaram mais tempo realizando interações agonísticas que as fêmeas *p* = 0,0462.

Gráfico 3 - Porcentagem de tempo gasto em interações agonísticas



Legenda: Porcentagem de tempo gasto em interações agonísticas em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação indireta. Valor da média (±SD) de 24 animais para cada tratamento independente. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia (análise fatorial, interação tripla tempo x tratamento x gênero *p* = 0,0289 e EPM=0,266 e diferença entre controle e tratamento para D 4 *p* = 0,0001 e EPM=0,506).

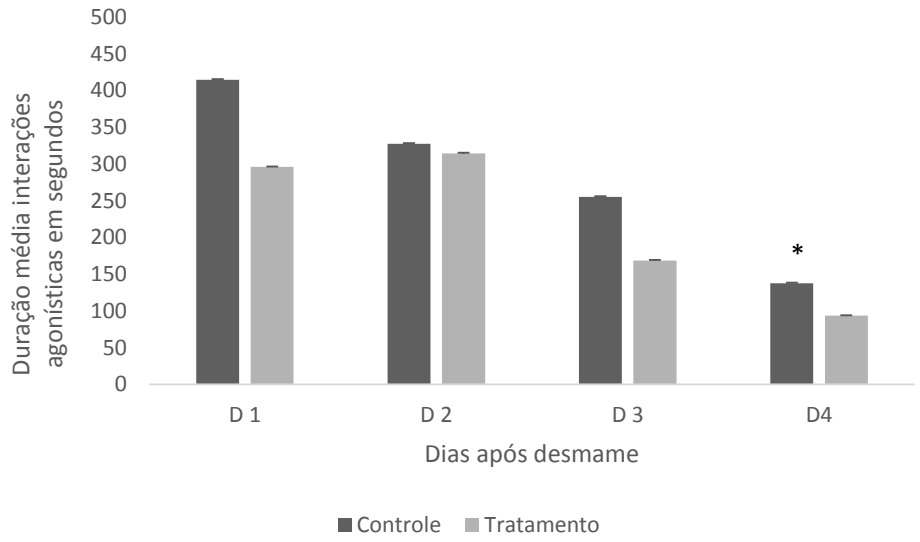
Gráfico 4 - Porcentagem de tempo gasto em interações agonísticas de acordo com o gênero



Legenda: Porcentagem de tempo gasto em interações agonísticas de acordo com o gênero em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1. Dados obtidos por observação indireta. Valor da média (±SD) de 24 animais para cada gênero. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia (análise fatorial, interação tripla tempo x tratamento x gênero p = 0,0289 e EPM = 0,266 e diferença entre macho e fêmea para D 4 p = 0,0003 e EPM = 0,266).

No Gráfico 5 temos a duração total de interações agonísticas. Houve interação entre o tempo e o tratamento, com valor de p = 0,0037, indicando que o controle teve interações agonísticas mais duradouras do que o tratamento. A significância foi observada no D 4, com valor de p = 0,0005.

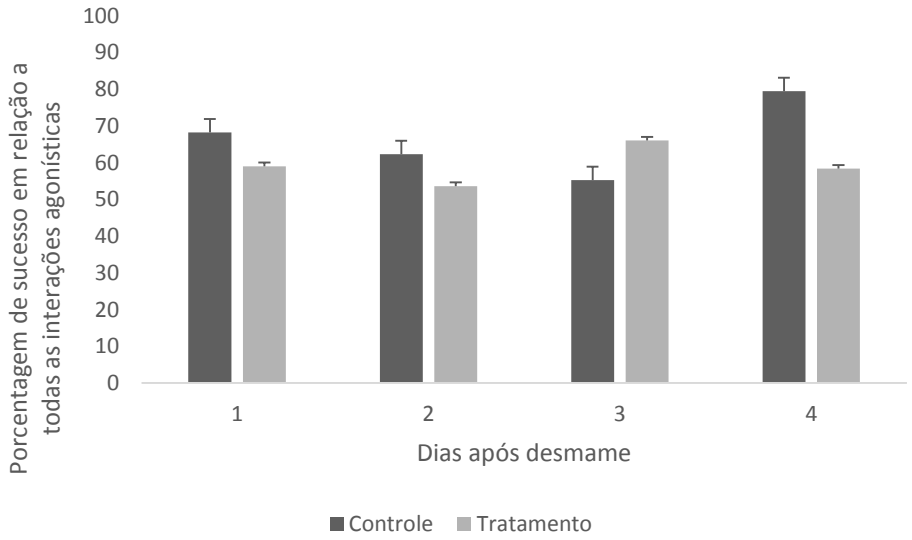
Gráfico 5 - Duração total de interações agonísticas



Legenda: Duração total de interações agonísticas em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação indireta. Valores médios (±SD) de 24 animais em cada tratamento independente. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia (análise fatorial, interação dupla tempo x tratamento p = 0,0037, EPM = 17,7 e para D 4 p = 0,0005 e EPM = 0,7).

Não houve diferenças significativas para porcentagem de sucesso total de interações agonísticas entre controle, tratamento ou gêneros como mostrado pelo Gráfico 6.

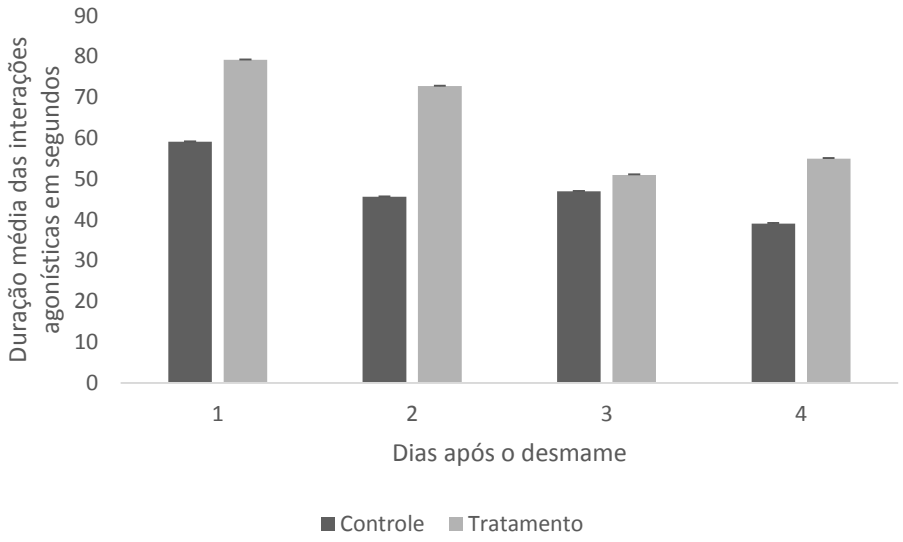
Gráfico 6 - Porcentagem de sucesso total nas interações agonísticas



Legenda: Porcentagem de sucesso total nas interações agonísticas em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação indireta. Valores médios (±SD) de 24 animais em cada tratamento independente. Não houve diferença significativa, sendo valor da interação *p* = 0,4941 e EPM = 1,811.

Não houve resultado significativo para duração média de interações agonísticas entre controle, tratamento e gêneros como mostrado no Gráfico 7.

Gráfico 7 - Duração média de interações agonísticas

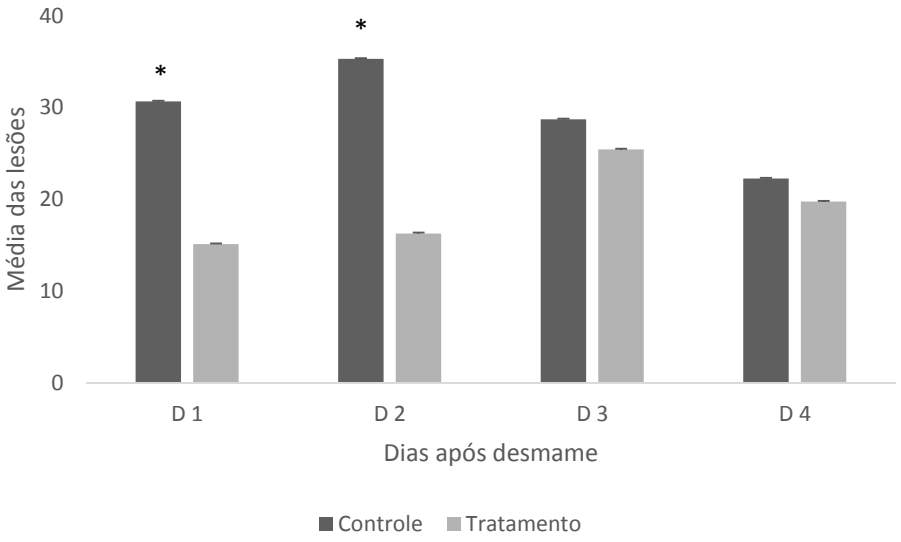


Legenda: Duração média de interações agonísticas em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação indireta. Valores médios (±SD) de 24 animais em cada tratamento independente. Não houve diferença significativa, sendo valor da interação *p* = 0,0879 e EPM = 1,55.

3.4.2 Contagem de lesão

O Gráfico 8 mostra que após o desmame a somatória de lesões foi maior para os leitões controle no primeiro e segundo dia, evidenciando que o suíno mais velho teve efeito para que a quantidade de lesões nos leitões do tratamento fosse menor.

Gráfico 8 - Somatória de lesões



Legenda: Somatória de lesões em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação indireta. Valores médios (±SD) de 48 animais em cada tratamento independente. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia (análise fatorial, interação dupla tempo x tratamento p = 0,0001 e EPM = 0,882, para D 1 p = 0,0001 e EPM = 0,064 e D 2 p = 0,0001 e EPM = 0,074).

3.4.3 Correlação entre somatória de lesão e comportamento agonísticos

A Tabela 2 mostra os resultados da correlação entre somatória de lesão e frequência das interações agonísticas nos leitões desmamados. Houve correlação apenas no dia D 4 com valor de *p* = 0,0200.

Tabela 2 - Resultados da correlação entre somatória de lesão e frequência das interações agonísticas

	D 1	D 2	D 3	D 4
Valor de *p*	0,1682	0,1075	0,0923	0,0200
Valor de R^2	0,0409	0,0553	0,0636	0,1121

Legenda: Resultado da correlação entre contagem de lesões e frequência de interações agonísticas desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento, n = 24) ou ausência (controle, n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por análise indireta.

A Tabelas 3 e 4 mostra a correlação entre somatória de lesão e duração das interações agonísticas. Houve interação para os dias D 2 *p* = 0,0119 e D 3 *p* = 0,0216.

Tabela 3 - Resultados da correlação entre somatória de lesão e duração das interações agonísticas dos dados paramétricos

	D 1	D 2
Valor de *p*	0,1008	0,0119
Valor de R^2	0,0575	0,1296

Legenda: Resultado da correlação entre contagem de lesões e frequência de interações agonísticas desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento, n = 24) ou ausência (controle, n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por análise indireta.

Tabela 4 - Resultados da correlação entre somatória de lesão e duração das interações agonísticas dos dados não paramétricos

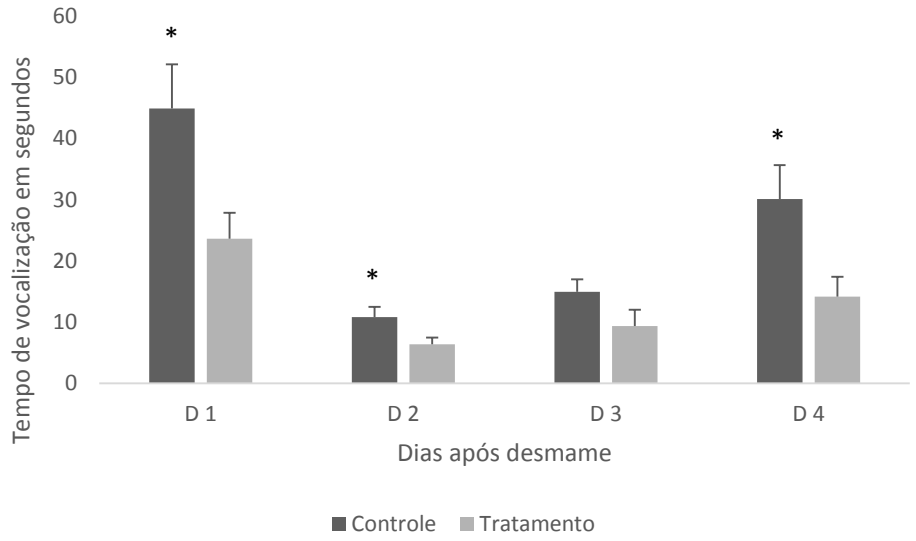
	D 3	D 4
Valor de *p*	0,0216	0,2755
Valor de r	0,3308	0,1606

Legenda: Resultado da correlação entre contagem de lesões e frequência de interações agonísticas desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento, n = 24) ou ausência (controle, n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por análise indireta.

3.4.4 Vocalização

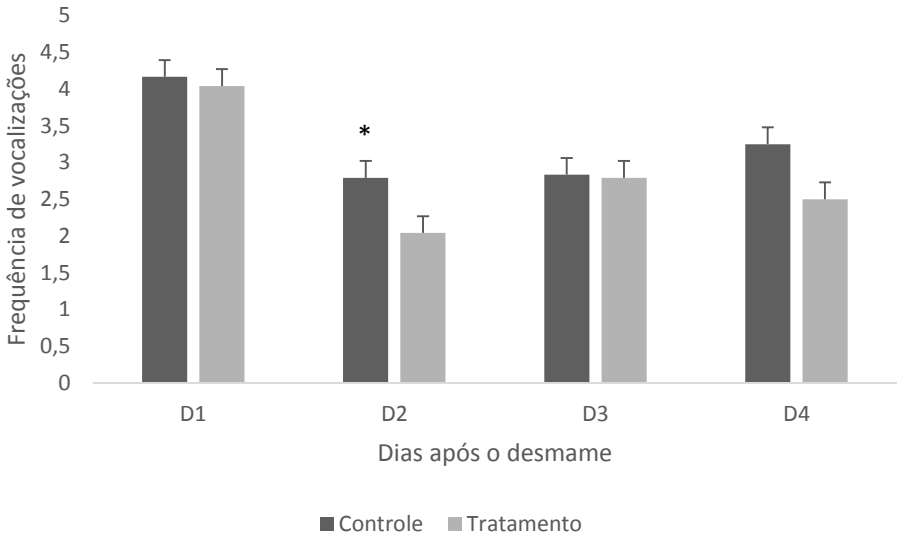
O Gráfico 9 mostra que o tempo de vocalização dos leitões do tratamento foi menor em comparação com o controle para os dias D 1, D 2 e D 4 tendo como valores p = 0,0143, p = 0,0284, p = 0,0170, respectivamente. O gráfico 10 mostra a diferença entre a frequência de vocalização dos leitões controle e tratamento. Houve diferença significativa para o D 2 com p = 0,0459.

Gráfico 9 - Tempo de vocalização



Legenda: Tempo de vocalização dos leitões durante contenção. Leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação direta. Valores médios (±SD) de 24 animais em cada tratamento independente. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia. Para D 1 p = 0,0143 e EPM = 5,719, D 2 p = 0,0284 e EPM = 1,368, D 4 p = 0,0170 e EMP = 4,408.

Gráfico 10 - Frequência de vocalizações



Legenda: Frequência de vocalizações durante contenção em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por observação direta. Valores médios (±SD) de 24 animais em cada tratamento independente. * Indica diferença entre tratamentos em um mesmo dia. Para D 2 p = 0,0459 e EPM = 0,229.

3.5 DISCUSSÃO

Demonstramos que um suíno mais velho reduz agressividade dos leitões no desmame. Tal redução difere em relação ao gênero e no decorrer do tempo. A frequência de interações agonísticas foi menor na presença do suíno mais velho em relação ao controle. Esse resultado mostra possíveis estratégias de manejo para melhorar o bem-estar dos leitões durante o desmame através da presença de um animal mais velho, e consequentemente mais experiente, na organização social de suínos, que são animais de hábito gregário.

Em outros animais gregários foi relatado a importância do contexto social no período de separação materna. Um exemplo clássico são os elefantes, animais que vivem em uma hierarquia matriarcal, mas que muitas vezes os filhotes se tornam órfãos devido ao comércio ilegal de marfim. Foi demonstrado que esses órfãos apresentam sérios problemas de socialização e agressividade, uma vez que não tiveram toda a complexidade de um ambiente social com animais de diferentes

idades e status no grupo. Em uma reserva de órfãos, elefantes adolescentes investiram contra filhotes de rinocerontes e mataram diversos deles, esse comportamento foi cessado como resultado da colocação de machos mais velhos junto com um grupo de animais mais jovens no mesmo recinto (BRADSHAW et al., 2005).

Henry et al. (2012), mostrou que a presença de um equino mais velho e sem parentesco nos paddocks de desmama de potros diminuiu vocalização, aumentou locomoção, e reduziu a concentração de cortisol nos potros desmamados. Ainda, apenas nos potros sem a presença do equino mais velho foi observado comportamentos anormais e agressivos.

Neste trabalho a frequência de interações agonísticas reduziu ao longo do período de observação tanto para animais do tratamento quanto do controle. A redução ao longo do tempo é esperada, tendo em vista que a hierarquia é estabelecida nos primeiros dias após a reagrupamento das leitegadas (PUPPE et al. 1997; YUAN et al., 2004). As interações agonísticas ocorrem principalmente e com maior intensidade nas primeiras 48 horas após a reagrupamento das leitegadas, porém, elas podem continuar por mais tempo, até que esteja estabelecida uma nova hierarquia (MEESE; EWBANK, 1973; SOUZA et al., 2006; YUAN et al., 2004). No D 4 houve uma diferença entre as interações agonísticas dos machos controle em relação as fêmeas controle quando comparado ao D 3. Tal resultado está de concordância com os dados já relatados por Colson et al. (2006b), machos tendem a participar de mais interações agonísticas em relação à fêmeas. É plausível que o mesmo não tenha ocorrido nos machos do tratamento devido à presença do suíno mais velho contribuindo para diminuir o estresse dos leitões.

Mostramos que o tratamento é eficaz para diminuir a frequência de interações agonísticas nos dia D 1, D 2 e D 4. No D 3 houve tendência (p = 0,0620) na diminuição de interações agonísticas. Essa tendência pode indicar que um aumento no número de réplicas seria o suficiente para gerar valores de p significativos. O aumento na frequência de interações agonísticas no D 4 para os machos do grupo controle pode ser decorrente da incerteza na nova hierarquia nos primeiros dias. O cansaço da extensa viagem ou déficit de memória devido à grande quantidade de situações estressoras presentes na desmama (BERRY; LEWIS, 2001; WEARY et al., 2008) podem ter contribuído para esta demora no estabelecimento da hierarquia. O impacto do estresse do desmame na memória social de suínos já foi estudado

(SOUZA et al., 2006). Estes dados não estão de acordo com os encontrados na literatura, mostrando que a formação de hierarquia ocorre logo nas primeiras 48 horas (MEESE; EWBANK, 1973; YUAN, et al., 2004; SOUZA et al., 2006).

O suíno mais velho não alterou a porcentagem de sucesso total e a duração média das interações agonísticas. Esse resultado pode indicar que o suíno mais velho não alterou as estratégias de interações agonísticas dos leitões, e que, por serem animais da mesma linhagem genética e mesmo manejo pré e neonatal o metabolismo provavelmente é comparável. Esse conjunto de fatores pode ser o fator que leva à interações agonísticas semelhantes em relação à porcentagem de sucesso, bem como a duração média.

Além das interações agonísticas, o número de lesões foi menor no tratamento nas primeiras 48 horas, sendo mais uma evidência da positiva influência que o suíno mais velho exerceu sobre os leitões. Esse dado entra em concordância com os evidenciados por Parratt et al. (2006), onde o *score* de lesões (somatória de lesões) é usado para avaliar o grau de agressão e injúrias causadas por comportamentos agonísticos em suínos e mostrou que há uma diminuição na quantidade de lesões com o decorrer dos dias. O uso de contagem de lesão já foi identificado como um potencial método para acessar agressividade em leitões, sendo uma forma de estimar a agressividade individual dos animais (TURNER et al., 2006). Porém, a correlação encontrada entre a somatória de lesões com a frequência ou duração das interações agonísticas foi moderada. Um dos fatores que pode explicar essa limitada correlação é o método de contagem de lesões, que considerou os valores totais em dias consecutivos. Sendo assim, o número gerado resultou em um valor cumulativo, ao passo que a frequência e duração de interações agonísticas consideraram apenas o dia analisado, obtendo então, valores de apenas um período de análise de vídeo.

A vocalização pode indicar estados particulares de humor ou emoção, que pode, por sua vez, acompanhar comportamentos específicos (MANTEUFFEL et al., 2004). Sendo assim, é considerada uma ferramenta útil para julgar o estado de bem-estar ou estresse de um indivíduo (WEARY; FRASER, 1995). Seyfarth e Cheney (2003) apresentam evidências que em suínos, um som muito alto e tonal, é usado como um sinal associado a contextos de medo, enquanto que sons de baixa frequência e ásperos são atribuídos a emoções mais agressivas. Observamos que, no primeiro lote, durante a contenção dos leitões para as fotografias para a

contagem de lesões, os animais do tratamento pareciam ter vocalizações de frequências mais baixas e por menos tempo que os animas do controle. Embora não tenhamos acesso a equipamentos específicos como o decibelímetro, foi possível avaliar que a duração da vocalização foi maior para os leitões do controle do que do tratamento durante as contenções. Manteuffel et al. (2004) mostrou que para uma análise mínima de vocalização são necessários avaliar média e padrão das variações de energia, duração, sequência e altura das vocalizações. Essa diferença na duração da vocalização pode indicar que os leitões do tratamento estejam em melhor bem-estar do que os leitões do controle, indicando que, a existência de um ambiente social mais complexo no desmame é importante. Estudos com análise mais detalhada das vocalizações durante contenção de leitões mantidos em um ambiente social mais complexo devem ser feitos.

Do ponto de vista evolutivo, faz sentido que um indivíduo mais velho colabore na organização social em animais gregários, pois esse é um contexto que mais se aproxima às situações que os animais estão adaptados.

A presença do suíno mais velho reduziu agressividade em leitões desmamados que sofreram reagrupamento de leitegada. Mais experimentos devem ser conduzidos para avaliar se os efeitos são duradouros e quais seriam os efeitos futuros dessa interação, como no estresse, imunidade e parâmetros zootécnicos (ganho de peso, qualidade de carcaça). No entanto, o uso e o aprimoramento desta técnica apresentam vantagens produtivas promissoras, por ser de baixo custo. Muitas granjas comerciais possuem diferentes fases produtivas, sendo fácil realocar um indivíduo mais velho para introduzir nas baias de creche. Porém, estudos devem ser feitos para avaliar a transmissão de patógenos entre os suínos mais velhos e os leitões.

A preocupação com o bem-estar de suínos, bem como de todos os animais que estão sob nossa responsabilidade é crescente, devido às preocupações morais e éticas decorrentes de estudos que demonstram senciência nesses indivíduos. Outro fato que contribui para essa preocupação é o aumento crescente da produção de produtos de origem animal, e, com isso, o aumento do número de indivíduos mantidos em ambientes que desafiam com os estressores impostos em tais condições. É imprescindível a realização de estudos que procurem reduzir o estresse em tais situações, bem como estudos que visem auxiliar os indivíduos a lidar com os desafios impostos.

O desenvolvimento de novos sistemas e estratégias que levem em consideração o bem-estar animal podem significar uma melhoria não apenas na qualidade de vida do animal, mas também em melhorias na produção.

REFERÊNCIAS

BERRY, R. J.; LEWIS, N. J. The effect of duration and temperature of simulated transport on the performance of early-weaned piglets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2 p. 199-204, 2001.

BOURJADE, M.; ROCHES, A. B.; HAUSBERGER, M. Adult-young ratio, a major fator regulating social behaviour of Young: A horse study. **Plos One**, v.6, 2009.

BRADSHAW, G. A.; SCHORE, A. N.; BROWN, J. L.; POOLE, J. H.; MOSS, C. J. Elephant breakdown. **Nature**, v. 433, p. 807, 2005.

COLSON, V.; ORGEUR, P.; FOURY, A.; MORMÈDE, P. Concequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 98, p. 70-88, 2006a.

COLSON, V.; ORGEUR, P.; COURBOULAY, V.; DANTEC, S.; FOURY, A.; MORMÈDE, P. Grouping piglets by sex at weaning reduces aggressive behaviour. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 97, p. 152-171, 2006b.

CAMERLINK, I.; TURNER, S. P.; URSINUS, W. W.; REIMERT, I.; BOLHUIS, J. E. Aggression and affiliation during social conflict in pigs. **Plos One**, v. 9, 2014.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, 2013.

DA COSTA, A. P.; LEIGHT, A. E.; MAN, M. S.; KENDRICK, K. M. Face pictures reduce behaviour, autonomic, endocrine and neural indices of stress and fear in sheep. **Biological Sciences**, v. 271, p. 2077-2084, 2004.

D'EATH. Socialising piglets before weaning improves social hierarchy formation when pigs are mixd post-weaning. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 93, p. 199-211, 2005.

DE PAULA VIEIRA, A.; KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Presence of an older weaned companion influences feeding behaviour and improves performance of dairy calves before and after weaning from milk. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3218-3224, 2012.

ERHARD, H. W.; MENDL, M.; ASHLEYC, D.D. Individual aggressiveness of pigs can be measured and used to reduce aggression after mixing. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 54, p. 137-151, 1997

GRAVES, H. B. Behavior and ecology of wild and feral swine (*Sus scrofa*). **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 482-492, 1984.

GUY, J. H.; BUNRS, S. E.; BARKER, J. M.; EDWARDS, S. A. Reducing post-mixing agression and skin lesions in weaned pigs by application of a synthetic maternal pheromone. **Animal Welfare**, v. 18, p. 249-255, 2009.

HENRY, S.; ZANELLA, A. J.; SNAKEY, C.; RICHARD-YRIS, M.; MARKO, A.; HAUSBERGER. Adults may be used to alleciate weaning stress in domestic foals (*Equus caballus*). **Physiology & Behavior**, v. 106, p. 428-438, 2012.

JESEN, P.; STANGEL, G. Behaviour of piglets during weaning in a seminatural enclosure. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 33, p. 227-238, 1992.

JENSEN, P.; YNGVESSON, J. Aggression between unacquainted pigs – sequential assessment and effects of familiarity and weight. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 58, p. 49-61, 1998.

MANTEUFFEL, G.; PUPPE, B.; SCHÖN, P. C. Vocalization of farm animals a measure of welfare. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 88, p. 163-182, 2004.

MARTIN, P.; BETESON, P. **Measuring Behaviour**: An introductory guide. 3ª edição. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. Pag 33 – 40.

MCGLONE, J. J.; CURTIS, S. E. Behavior and performance of weanling pigs in pens equipped with hide areas. **Journal of Animal Science**, v. 60, p. 20-24, 1985.

MEESE, G.B., EWBANK, R. The establishment and nature of the dominance hierarchy in the domesticated pig. **Animal Behaviour**, v. 21, p. 326–334, 1973.

MELOTTI, L.; OOSTINDJER, M.; BOLHUIS, J. E.; HELD, S.; MENDL, M. Coping personality type and environmental enrichment affect aggression at weaning in pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 133, p. 144-153, 2011.

MOORE, A. S.; GONYOU, H. W.; STOOKEY J. M.; MCLAREN, D. G. Effect of group composition and pen size on behavior, productivity and immune response of growing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 40, p. 13-30, 1994.

NEWBERRY, R. C.; WOOD-GUSH, D. G. M. Social relationships of piglets in a seminatural environment. **Animal Behaviour**, v. 34, p. 1311-1318, 1986.

OCZAK, M.; ISMAYILOVA, G.; COSTA, A.; VIAZZI, S.; SONODA, L. T.; FELS, M.; BAHR, C.; HARTUNG, J.; GUARINO, M.; BERCKMANS, D.; VRANKEN, E. Analysis of aggressive behaviours of pigs by automatic video recordings. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 99, p. 209-217, 2013.

PARRATT, C. A.; CHAPMAN, K. J.; TURNER, C.; JONES, P. H.; MENDL, M. T.; MILLER, B. G. The fighting behaviour of pigletes mixed before and after weaning in the presence or absence of a sow. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 101, p. 54-67, 2006.

PITTS, A. D.; WEARY, D. M.; PAJOR, E. A.; FRASER, D. Mixing at young ages reduces fighting in unacquainted domestic pigs. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 68, p. 191-197, 2000.

RAULT, J. L. Friends with benefits: Social support and its relevance for farm animal welfare. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 136, p. 1-14, 2012.

SEYFARTH, R. M.; CHENEY, D. L. Signalers and receivers in animal communication. **Annual Rewiew of Psychology**, v. 54, p. 145-173, 2003.

STUKENBORG, A.; TRAULSEN, I.; PUPPE, B.; PRESUHN, U.; KRIETER, J. Agonistic behaviour after mixing in pigs under comercial farm conditions. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 129, p. 28-35, 2011.

TURNER, S. P.; FARNWORTH, M. J.; WHITE, I. M. S.; BROTHERSTONE, S.; MENDL, M.; KNAO, P.; PENNY, P.; LAWRENCE, A. B. The accumulation of skin lesions and their use as a predictor of individual aggressivenes in pigs. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 96, p. 245-259, 2006.

WEARY, D. M.; FRASER, D. Sinalling need. Costly signals and animal welfare assessment. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 44, p. 159-169, 1995.

WEARY, M. D.; JASPER, J.; HÖTZEL, M. J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science***, v. 110, p. 24-41, 2008.*

YUAN, Y.; JANSEN, J.; CHARLES, D.; ZANELLA, A. J. The influence of weaning age on post-mixing agonistic interactions in growing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 88, p. 38-46, 2004.

4 ARTIGO 2 – CONSEQUÊNCIAS DA PRESENÇA DE UM SUÍNO MAIS VELHO NO DESEMPENHO E INDICADORES DE ATIVIDADE DO EIXO HIPOTALAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM LEITÕES DESMAMADOS

4.1 INTRODUÇÃO

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) tem um papel crítico na adaptação e homeostase do sistema dos organismos em períodos de estresse (TSIGOS et al., 2002). Entre os diversos produtos da ativação do eixo HPA os hormônios glicocorticóides, sendo o cortisol o mais importante em suínos, são os mais estudados. Respostas agudas de estresse facilitam o reajustamento de respostas comportamentais e metabólicas. Através da aprendizagem de um processo, ele permite uma resposta mais adequada em situações futuras semelhantes (MCEWEN, 2001). Porém, se o animal apresenta problemas em se ajustar a uma determinada situação com estresse constante e severo (estresse crônico), uma ativação constante do eixo HPA irá causar problemas fisiológicos e comportamentais e aumentará a susceptibilidade do animal a doenças (WIEPKEMA; KOOLHAAS, 1993).

De acordo com Fraser et al. (1975): “Um animal é considerado em estado de estresse se é necessário realizar ajustes anormais ou extremos em sua fisiologia ou comportamento em ordem de lidar com aspectos negativos do ambiente”. Na produção comercial, os leitões passam por uma mudança social (separação materna e dos outros leitões da mesma leitegada) e ambiental de forma abrupta, além de mudanças na dieta, em um período em que na vida natural eles não enfrentariam tais mudanças (GARDNER et al., 2001). Em ambientes seminaturais os leitões permanecem no mesmo local e o desmame acontece de forma gradual, podendo durar até 16 semanas (GRAVES, 1984). Ainda, com 2 meses de idade, as interações sociais dos leitões com animais de outra leitegada são mais frequentes do que com animais da mesma leitegada (PETERSEN et al., 1989).

A elevação de cortisol é considerada um dos importantes indicadores fisiológicos de estresse. Porém, quando se estuda o cortisol e as respostas dos

animais a estressores, as flutuações do cortisol devido ao ciclo circadiano devem ser levadas em consideração. Em suínos, a concentração de cortisol geralmente é maior no período da manhã do que no período da tarde e noite (RUIS et al., 1997).

Apesar da liberação de glicocorticoides em adultos apresentar um ritmo circadiano evidente, para chegar nesse estágio o processo é gradual, maturando enquanto o indivíduo se desenvolve. Em leitões, o ritmo circadiano pode ser fraco ou até mesmo inexistente (EVANS et al., 1988), sendo que o perfil do ritmo circadiano de um suíno é alcançado por volta de 20 semanas de vida (RUIS et al., 1997).

Diversos estudos apresentam métodos para avaliar a resposta imunológica de suínos e sua capacidade de lidar com o estresse da doença. Um dos métodos validados é a aplicação de lipopolissacarídeos, que são endotoxinas presentes na capsula de bactérias gram negativas, em diferentes concentrações, causando uma resposta aguda com sinais distintos de doença, para avaliação da resposta dos animais frente ao desafio. Essas respostas podem ser avaliadas por sinais clínicos e biomarcadores na saliva e no sangue (CARROL et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2014; QI et al., 2014; TUCHSCHERER et al., 2006).

Para medidas de cortisol, a saliva é um ótimo fluído biológico para suínos, uma vez que é uma técnica efetiva e não causa dor e estresse para os animais, sem necessidade de contenção (EKKEL et al., 1996). O cortisol salivar é principalmente a parte não-ligada do cortisol no plasma e reflete na sua fração livre. Além disso, apenas a fração livre do hormônio é biologicamente ativa (MENDL, 1989).

Nesse estudo foram investigadas as consequências da presença de um suíno mais velho na baia de leitões desmamados, que no artigo anterior demonstramos eficiente na redução da agressão e lesões causadas após o reagrupamento de leitegadas no desmame comercial. Para entender as consequências da presença de um animal mais velho foi analisado a interação deles com os leitões nos momentos das interações agonísticas. Dados do desempenho dos leitões foram mensurados e alterações na concentração do cortisol salivar dos leitões após o desmame para avaliação da resposta de estresse foram analisadas. Ainda, um desafio imunológico com aplicação de LPS foi feito para avaliar a ativação do eixo HPA frente a uma doença.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Sujeitos do estudo

Noventa e seis leitões Landrace x Large White de peso médio 6,2 ±1,5 kg, provenientes de 24 matrizes diferentes foram adquiridos da Fazenda Araporanga (Topgen) – Jaguariaíva, Paraná. As matrizes (3 nulíparas e 21 com 2 a 8 ciclos) eram mantidas em sistemas de produção comercial e inseminadas de acordo com o planejamento da propriedade. Todos os animais foram submetidos ao manejo convencional da propriedade após o nascimento que inclui, corte de cauda e dentes e marcação de orelha por sistema de mossa australiana. Os leitões foram escolhidos pelo veterinário responsável da fazenda e o processo de seleção levava em consideração gênero, sendo sempre dois machos e duas fêmeas por matriz. Aos 21 dias de vida (D 0), os leitões foram marcados com números de 1 a 96 de forma aleatória entre as leitegadas, com tintura permanente para cabelo (Wellaton®, cor preto 1.0 – Wella – Protector & Gamble Co.), e a sequência de cada 4 números indicava um grupo de irmãos.

Em seguida foi feito o desmame e os leitões foram separados por leitegada em caixas de papelão de um metro cúbico, forradas com maravalha e transportados por caminhão com caçamba fechada por lona até a Universidade de São Paulo, campus Fernando Costa em Pirassununga, onde chegaram por volta das 4h da manhã do dia seguinte (D 1), totalizando 7 horas de viagem (459 km de distância). Não foi feita a coleta de temperatura do micro ambiente dos leitões durante o transporte. Os animais foram transportados em dois lotes, o primeiro em novembro de 2014, sendo a temperatura média do período 23,9°C, tendo como máxima 33,7°C e mínima 18,5°C e o segundo lote em janeiro de 2015, sendo a temperatura média 25,9°C com máxima de 34,2°C e mínima de 19,3°C (dados obtidos da Estação Meteorológica do Campus Fernando Costa). Todos os animais chegaram em boas condições e foram alojados nas baias da suinocultura da prefeitura do Campus Fernando Costa. Para colocação dos animais nas baias seguiu a sequência da baia 1 para a 4 para os dois lotes, sendo que no primeiro lote a baia 1 e 3 foram controle

e a 2 e 4 foram tratamento, enquanto que no segundo lote a baia 1 e 3 foram tratamento e a 2 e 4 foram controle. Os machos mais velhos, que também foram transportados em dois lotes de dois animais, eram colocados nas baias antes dos leitões.

Quatro machos castrados cirurgicamente, com 4 meses de vida e peso médio de 96±8 kg também foram adquiridos na Fazenda Araporanga. Esses animais foram embarcados no mesmo caminhão que os leitões, porém em outra partição, não tendo contato com os leitões.

Os animais foram colocados em baias de 3x4 metros que possuíam chão de concreto e metade do piso era forrado com bagaço de cana. Água e comida eram oferecidos *ad libitum* em comedouros circulares (Suin®668) com silo de capacidade para 20 kg e bandeja economizadora (Suin® Creche). A ração foi fabricada na Fábrica de Ração da Prefeitura do Campus Fernando Costa e era constituída por farelo de milho, farelo de soja, pre-mix para fase inicial de suíno (Uniquímica), adsorvente (Altec) e plasma suíno (Despros AS.).

As baias eram varridas e lavadas duas vezes ao dia (manhã e final do dia) e nesse mesmo período era completado o silo dos comedouros. Os animais eram inspecionados individualmente todas as manhãs visando monitorar se haviam leitões que precisassem de atenção médica.

4.2.2 Delineamento Experimental

Para testar a hipótese, os leitões foram divididos em dois lotes de 48 leitões e 2 suínos mais velhos, formando em cada repetição, 4 baias, sendo que cada grupo de leitões nas baias era constituído por 3 leitegadas diferentes, totalizando 12 animais por baia. Em duas das baias foram colocados os suínos mais velhos (um indivíduo em cada baia) junto com os leitões.

Foram feitas coletas de saliva e soro para análise da concentração de cortisol e análise comportamental.

4.2.3 Coletas de saliva

Foram coletadas amostras de saliva de 24 leitões escolhidos de forma aleatória sempre 3 machos e 3 fêmeas irmãos por baia, nos dias D 2 e D 3 de cada lote. As coletas de saliva eram feitas sempre com o mesmos animais. As coletas eram realizadas em 4 horários diferentes, às 06 horas, 10 horas, 14 horas e 18 horas da seguinte forma: um rolo de algodão hidrofílico (Apolo®) era amarrado por um fio dental (DentalClean®) deixando pontas longas; o algodão era oferecido para os leitões pré-determinados que mastigavam os algodões até ficarem encharcados (cerca de 30 a 40 segundos). Em seguida, os algodões eram retirados da boca dos leitões e acondicionados em tubos falcon de 15 ml (Kasvi®), bem tampados e colocados imediatamente em caixas de isopor com gelo onde permaneciam até o final da coleta de saliva de todos os leitões daquele período. Cada coleta demorava em torno de 20 a 30 minutos. Caso os leitões estivessem bebendo água ou comendo ração, o primeiro algodão era descartado e um novo algodão usado para a amostra de saliva que seria analisada. Em seguida os tubos eram acondicionadas em um freezer - 20°C. As coletas eram feitas por 4 pessoas diferentes, que ficavam revezando entre as baias e os horários, para que não houvesse diferença de tratamento entre os leitões. Após congeladas, as salivas eram descongeladas e centrifugadas (Celm® Combate) por 10 minutos a 1.000 x g para remoção de impurezas. O sobrenadante era aliquotado em eppendorfs de 1,5ml (Kasvi®) e congelados. As amostras de todos os horários coletadas no dia de um animal, foram combinadas em quantidades iguais, formando uma única amostra por animal por dia. As amostra congeladas foram encaminhadas para o laboratório comercial Diagnósticos do Brasil e analisadas por método de eletroquimioluminescência. As amostras foram processadas de uma só vez. O valor do Coeficiente de Variação do Intra-Assay foi de 6,75%.

4.2.3 Desafio de LPS / Coleta de sangue

No D 8, 48 leitões (24 de cada lote) participaram do teste do LPS que consistiu em separar 3 animais por baia para receberem uma injeção intraperitoneal de LPS (Sigma-Aldrich Lipopolysaccharides E- coli 0111:B4 L4391 1MG) na concentração de 8µl/kg. Este valor definido após estudo piloto, sendo que o volume total da injeção era completado para 1ml com solução fisiológica (Eurofarma MedFlex®). Outros 3 animais por baia receberam injeção intraperitoneal de 1ml de solução fisiológica. Os 6 animais escolhidos eram os que não participaram das coletas de saliva. No dia do desafio às 5 horas foi realizada uma avaliação dos animais para confirmar seus estado de higidez e, se necessário, o animal não participaria do teste. Apenas o animal de número 92 foi descartado do teste. Após a avaliação da higidez, foi coletado sangue por venopunção da jugular. As injeções de LPS tiveram início às 6 horas e terminaram às 6 horas e 30 minutos. Todas as coletas de sangue foram feitas com o auxílio de seringas de 10ml (BD Plastipack™) e agulha 30x8mm (BD Precison Glide™), em seguida o sangue era imediatamente transferido para tubos secos (Vacuette®) e colocados em refrigeradores até coagulação. Os tubos foram centrifugados por 8 minutos a 1.000 x g e o soro aliquotado em eppedorffs de 1,5ml (Kasvi®) e congelados. Ainda, foram feitas coletas de sangue às 11 horas e 18 horas, e o mesmo procedimento citado na coleta das 5 horas foi realizado para essas coleta. O soro aliquotado e congelado foi encaminhado para o laboratório Diagnósticos do Brasil e foi feita analise da concentração de cortisol por meio do método de eletroquimiluminescência. As amostras foram processadas de uma só vez. O valor do Coeficiente de Variação de Intra-Assay foi de 6,75%. A proporção do aumento da concentração do cortisol da primeira coleta para as subsequentes foram usadas para análise estatística. Das amostras coletadas, apenas as que estavam completas (soro das 3 coletas) foram encaminhadas para o laboratório, uma vez que é necessário todas as coletas para se fazer uma análise do aumento e decréscimo do cortisol durante o desafio. Isso diminuiu o número de amostras para 8 animais do tratamento com aplicação de LPS, 9 animais do tratamento com aplicação de solução salina, 6 animais do

controle com aplicação de LPS e 8 animais do controle com aplicação de solução salina.

4.2.4 Análise de comportamento do suíno mais velho

Foram analisados vídeos dos 4 dias após desmame (D 1, D 2, D 3 e D 4), de duas baias diferentes, ambas tratamento, totalizando 24 leitões desmamados e dois suínos mais velhos. Por problemas na rede elétrica, os vídeos dos animais do segundo lote foram perdidos. A análise foi direta por 4 horas seguidas, das 05 às 09 horas de todos os dias. Esse horário foi escolhido após notar ser esse o período de maior atividade dos leitões. No restante das horas foram analisados 10 minutos corridos, sempre dos 30 aos 40 minutos de cada hora. Foram analisados 440 minutos de vídeo por baia.

As câmeras usadas para filmagem foram ShowCam Segurança® CRI 30W e as imagens foram gravadas em HD externo até momento da análise, que foi feita por apenas um observador. Foi feita uma análise da diferença das intensidades das interações agonísticas, sendo elas divididas em 3 *scores* (Quadro 2). Ainda, foram observadas as interações entre o suíno mais velho e os leitões durante esse mesmo período. Ao se observar a ocorrência de intervenções das interações agonísticas por parte do suíno mais velho seu comportamento foi classificado e relatados nas tabelas 3 e 4.

Quadro 2 - *Score* das interações agonísticas

Score de Intensidade de interações agonísticas	1	Leitões trocam mordidas e cabeçadas mas os movimentos são feitos de forma calma. Os leitões podem vir a se mover pela baia mas apenas caminhando e sem movimentos bruscos
	2	Leitões trocam mordidas e cabeçadas de forma mais rápida e brusca. Quando ocorre um emparelhamento ou se empurram a movimentação é realizada em trote
	3	Além dos movimentos presentes no score de intensidade de interações agonísticas 2 os empurrões são realizados de forma muito mais brusca levando a perda de equilíbrio e queda de um dos leitões ou, para desferir mordidas, pelo menos um dos animais se levando nas patas traseiras em pelo menos um momento durante a briga

Legenda: Apresentação dos diferentes scores de intensidade que foram observados durante as interações agonísticas

Quadro 3 - Postura do suíno mais velho durante interações agonísticas

Comportamento	Descrição
Deitado	Suíno mais velho se encontra deitado no momento em que a interação agonística se inicia, e permanece deitado por um tempo enquanto a interação agonística prossegue
Erguer a cabeça	Suíno mais velho, deitado, ergue sua cabeça quando os leitões em interação agonística se aproximam ou esbarram nele
Cabeça direcionada à interação	Suíno mais velho, distante ou próximo aos leitões, direciona sua cabeça ao ponto da interação agonística
Esbarrar nos leitões	Leitões durante a interação agonística "esbarram" no suíno mais velho, desencadeando uma resposta a partir desse contato, seja ela a percepção clara da interação agonística ou a própria intervenção

Legenda: descrição do comportamento dos suínos mais velhos enquanto ocorria algum interação agonísticas na baia.

Quadro 4 - Comportamento do suíno mais velho durante intervenção de interações agonísticas

Comportamento	Descrição
Se aproximar	Suíno mais velho se aproxima dos leitões que estão em meio a um interação agonística, e sua presença parece ser suficiente para cessar o conflito, sem contato direto ou uso de força com os leitões
Impor o focinho	Suíno mais velho usa o focinho para separar os leitões que estão em interação agonística, apenas impondo-o no meio dos leitões, ou usando-o para movimentar um deles
Empurrar os leitões	Suíno mais velho, com o focinho e cabeça, empurra um ou mais leitões para longe da interação agonística, apartando-os
Ir em direção à interação agonística	Suíno mais velho se desloca pela baia em direção aos leitões que estão em meio a uma interação agonística

Legenda: descrição do comportamento dos suínos mais velhos durante as intervenções das interações agonísticas dos leitões.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS 9.3. Para as variáveis de concentração de cortisol e *score* de briga, o delineamento em fatorial 2 x 2 foi utilizado, sendo dois tratamentos (presença ou ausência do suíno mais velho), em dois dias de análise ou dois momentos de coleta. Foram considerados o efeito de tratamento, efeito do dia e a interação entre tratamento e dia. O resíduo A foi obtido pelo efeito interação entre bloco e tratamento. A metodologia de Akaike foi utilizada para determinar a melhor matriz de covariância. A significância foi considerada ao nível de 5%.

As observações que se encontravam três desvios padrões, abaixo ou acima da média, foram consideradas “outlier” e removidas das análises. As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas por logaritmo (Logx+1), raiz (x+1/2) ou arco-seno (((raiz(x/100)) *57,2957795131).

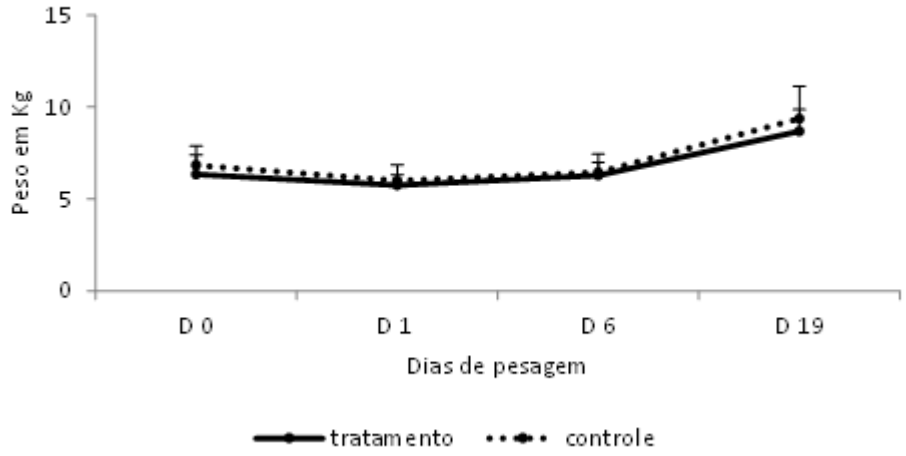
Para a análise do ganho de peso utilizamos teste T de Student.

4.4 RESULTADOS

4.4.1 Ganho de peso

Gráfico 11 mostra o resultado da avaliação de peso dos leitões nos dias D 0, D 1, D 6 e D 19. Não houve diferença significativa entre controle e tratamento.

Gráfico 11 - Avaliação de peso

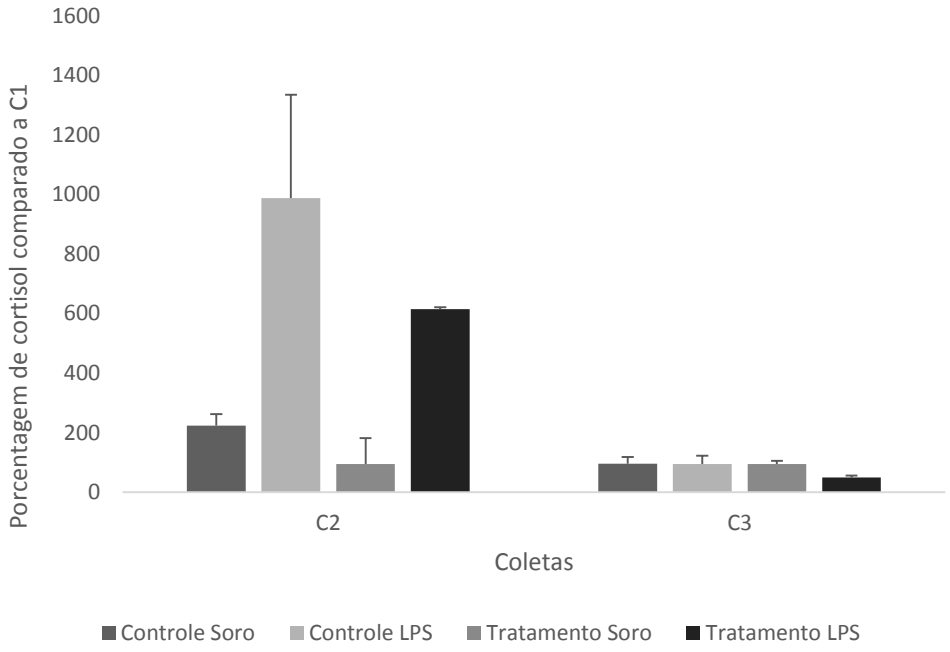


Legenda: Avaliação de peso em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 48) ou ausência (controle n = 48) de um suíno mais velho. Valores médios (±SD) de 48 animais em cada tratamento independente. Não houve diferença significativa, p = 0,13.

4.4.2 LPS

Gráfico 12 mostra o resultado da análise de cortisol no soro dos leitões nas duas coletas seguintes a aplicação de LPS. Não houve diferença significativa entre aumento e queda de cortisol para controle e tratamento.

Gráfico 12 - Porcentagem de alteração na concentração de cortisol frente a desafio de LPS

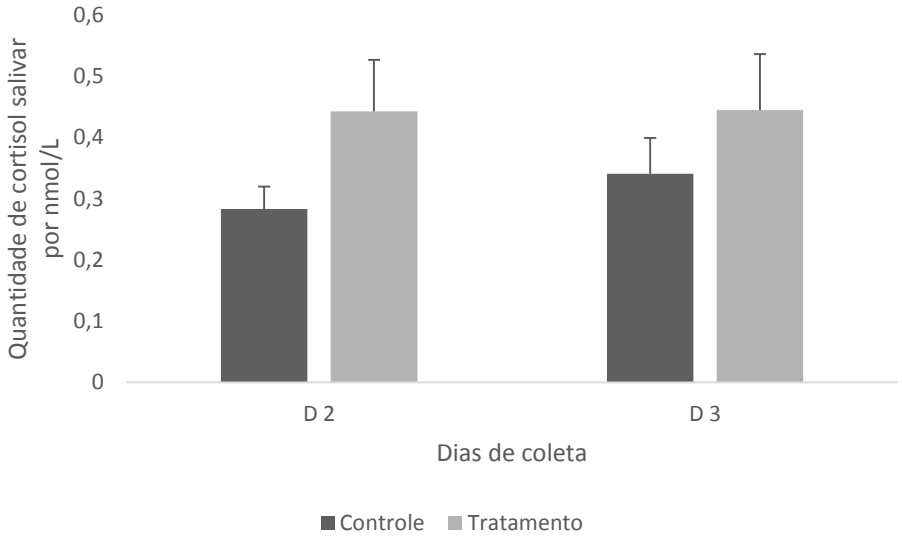


Legenda: Porcentagem de alteração de cortisol no desafio com LPS em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento, n = 17 sendo 8 com aplicação de LPS e 9 para aplicação de solução fisiológica - soro) ou ausência (controle, n = 14 sendo 6 com aplicação de LPS e 8 para aplicação de solução fisiológica - soro) de um suíno mais velho. Dados obtidos por eletroquimiluminescência, valor do Coeficiente de variação de Intra-Assay foi 6,75%. C 2 e C 3 se referem a coletas de sangue 4 e 5 horas após administração de LPS ou solução fisiológica. Valores médios (±SD) de 31 animais em sendo 17 e 14 animais para cada tratamento independente. Não houve diferença significativa entre tratamento e controle para nenhuma das duas coletas após a aplicação de LPS. Para PC2 EPM = 0,1221 e p = 0,3763 e para PC3 EPM = 5,9 e p = 0,5343.

4.4.3 Cortisol Salivar

Não houve diferença entre o valor de cortisol salivar para tratamento e controle, como mostra o gráfico 13.

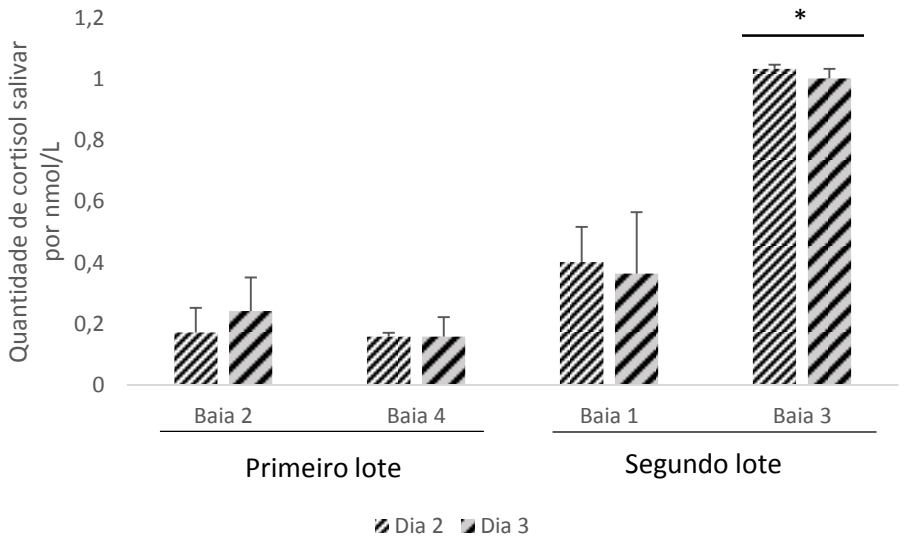
Gráfico 13 - Concentração de cortisol salivar



Legenda: Cortisol salivar em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (tratamento n = 24) ou ausência (controle n = 24) de um suíno mais velho. Dados obtidos por eletroquimiluminescência, valor do Coeficiente de Variação de Intra-Assay foi 6,75%. A amostra de cada um dos leitões é formada por um *pool* de 200µl de saliva de cada coleta realizada em quatro horários diferentes do dia (06 horas, 10 horas, 14 horas e 18 horas). Valores médios (±SD) de 24 animais em cada tratamento independente. Não houve diferença significativa entre tratamento e controle para nenhuma das duas coletas após a aplicação de LPS. Para D 2 EPM = e p = 0,6493 e para D 3 EPM = 0,1296 e p = 0,4945.

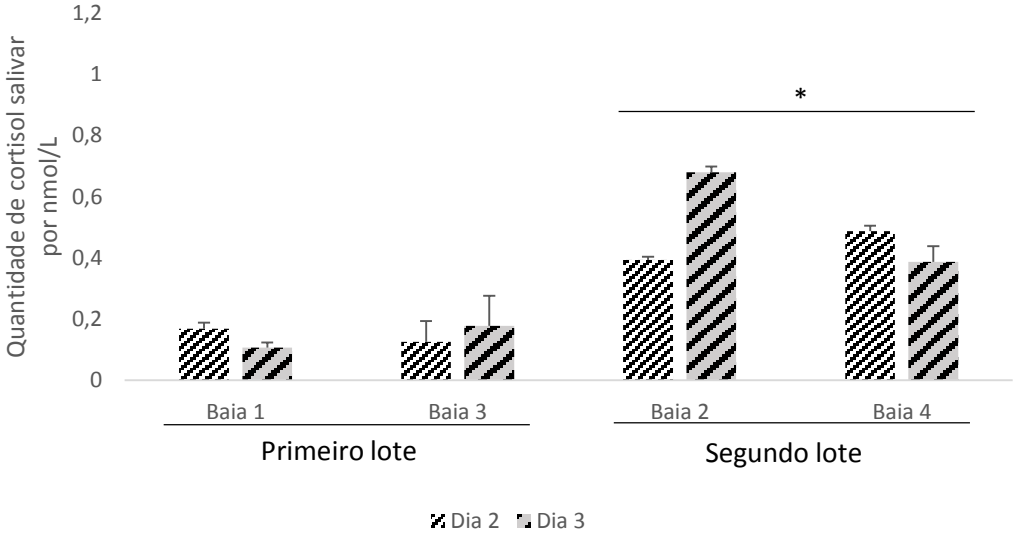
Dos animais do tratamento, apenas uma baia apresentou diferença na concentração de cortisol em relação às demais. Já no controle, houve diferença em relação às baias do primeiro e segundo lote. Esses valores podem ser observados nos gráficos 14 e 15.

Gráfico 14 - Concentração de cortisol salivar por baia – Tratamento



Legenda: Concentração de cortisol salivar por baia – Tratamento em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na presença (n = 12 em cada baia) de um suíno mais velho. Dados obtidos por eletroquimiluminescência, valor do Coeficiente de Variação de Intra-Assay foi 6,75%. A amostra de cada leitão foi formada por um *pool* de 200µl de saliva de cada coleta realizada em quatro horários diferentes do dia (06 horas, 10 horas, 14 horas e 18 horas). Valores médios (±SD) de 12 animais em um mesmo tratamento em baias independentes. * indica diferenças entre baias. Valor de p = 0,0001 e EPM = 0,2114 para o dia D 2 e p = 0,0002 e EPM = 0,3588.

Gráfico 15 - Concentração de cortisol salivar por baia - Controle



Legenda: Concentração de cortisol salivar por baia – Controle em leitões desmamados com 21 dias (D 0) e reagrupados no D 1 na ausência (n = 12 em cada baia) de um suíno mais velho. Dados obtidos por eletroquimiluminescência, valor do Coeficiente de Variação de Intra-Assay foi 6,75%. A amostra de cada leitão foiformada por um *pool* de 200µl de saliva de cada coleta realizada em quatro horários diferentes do dia (06 horas, 10 horas, 14 horas e 18 horas). Valores médios (±SD) de 12 animais em um mesmo tratamento em baias independentes. * indica diferenças entre baias. Valor de p = 0,000034 e EPM = 0,1171para o dia D 2 e p = 0,00001 e EPM = 0,1860.

4.4.4 Análise de comportamento

Não foi observado diferença na porcentagem de cada *score* de interação agonísticas entre controle e tratamento.

Durante as interações agonísticas dos leitões do tratamento foi observado que em algumas das interações de grau 3 o suíno mais velho interferia. O suíno mais velho da baia 2 interviu em 18 interações agonísticas das 53 de score 3 que foram observadas nessa baia. O suíno mais velho da baia 4 interviu em 11 interações agonísticas das 50 de score 3 que foram observadas nessa baia.

Em relação as intervenções dos suínos mais velhos durante as interações agonísticas dos leitões o suíno da baia 2 interrompeu as interações agonísticas 4 vezes ao se aproximar, 3 vezes impondo o focinho e 4 vezes empurrando os leitões e de deslocou em direção a interação agonística 7 vezes. Já o suíno mais velho da baia 4 interrompeu as interações agonísticas 2 vezes impondo o focinho e 6 vezes empurrando os leitões e de deslocou em direção a interação agonística 3 vezes.

O suínos mais velho da baia 2 mostrou comportamento de cabeça direcionada à briga 5 vezes contra 3 vezes do suíno mais velho da baia 4. Apenas duas interações agonísticas causaram o comportamento de esbarrar dos leitões no suíno mais velho da baia 2 levando a interrupção da mesma, já o suíno mais velho da baia 4, interrompeu as interações agonísticas após 7 comportamentos de esbarrar dos leitões.

4.5 DISCUSSÃO

Demonstramos que um suíno mais velho interfere nas interações agonísticas entre leitões quando essa alcança um grau elevado de severidade. Tal comportamento foi analisado e descrito no presente trabalho. Ele consiste em uma série de ações que resultam na separação dos leitões que estão realizando interação agonística. Essas ações foram caracterizadas como: “se aproximar”; “impor o focinho”; “empurrar os leitões” e “ir em direção à interação agonística”

(Tabela 5). Supomos que essas ações podem ocorrer para evitar um excesso de sons provenientes das interações agonísticas no local, que por sua vez poderiam mostrar a localização dos animais para possíveis predadores. As observações do caráter ativo na intervenção do animal mais velho nas interações agonísticas foram feitas no decorrer do estudo e o delineamento do experimento não permitiu a coleta de dados sistemáticos sobre esta fascinante observação, que demanda mais estudos.

O cortisol salivar nos dias D 2 e D 3 não apresentou diferença entre o grupo controle e o tratamento. Entendemos que esse resultado não possa ser explicado apenas pelo fato de que a presença do suíno mais velho não foi eficaz para diminuir a concentração do cortisol salivar nesse período. Devido às coletas terem sido realizadas logo após o desmame, podemos dizer que o presença do suíno mais velho ainda é muito recente para causar algum efeito nos leitões, principalmente porque o desmame é considerado extremamente estressante. O transporte realizado foi de longa duração (BERRY; LEWIS, 2001) e eles foram inseridos em ambientes completamente novos, além de serem submetidos a diferenças drásticas na alimentação e fornecimento de água (WEARY et al., 2008). A combinação destes estressores, provavelmente, foi suficiente para modificar as respostas da ativação do eixo HPA que pode não ter se reajustado logo nos primeiros dias, justificando o mesmo valor para animais do controle e tratamento. Ainda, modulação das respostas do eixo HPA podem ter ocorrido em outros níveis, como córtex da adrenal, hipófise, hipotálamo ou mesmo hipocampo (BROOM; ZANELLA, 2004). As medidas da concentração do cortisol salivar representam o produto final deste mecanismo de ajustamento e não permitem o entendimento de todo o processo. As respostas do eixo HPA ao desafio com LPS oferece outra abordagem, porém o foco é a preparação do organismo para responder a um processo infeccioso (CARROL et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2014; QI et al., 2014; TUCHSCHERER et al., 2006) e consequentemente a capacidade imunológica, o que é algo de extrema prioridade para o organismo. Com base nesses dados, é necessário avaliar o padrão da concentração do cortisol dos animais após um período maior de ajuste com o ambiente e com a presença do suíno mais velho.

Outras informações que fortalecem o argumento sobre a necessidade de avaliações mais detalhadas sobre o eixo HPA são relacionadas com o efeito das baias na concentração do cortisol salivar. Ao avaliar os valores em relação às baias

é possível observar que, para os animais do controle, houve uma diferença entre os lotes. Essa diferença pode ser causada por vários fatores. Podemos listar o transporte por motoristas diferentes, a temperatura ambiente (BERRY; LEWIS, 2001), entre tantos outros. A coleta de saliva antes do desmame pode ser uma forma de avaliar se há diferenças no eixo HPA entre os leitões em sua condição basal.

Os leitões de uma das baias do tratamento apresentaram maiores concentrações de cortisol salivar em comparação as outras baias do tratamento. Ao longo das coletas e do manejo realizado nas baias, notamos que o suíno mais velho que desta baia (baia 3 do segundo lote) era altamente reativo em relação a nossa presença, às nossas tentativas de interação, bem como ao uso de água para limpeza com mangueira de alta pressão. Essa reatividade pode explicar as concentrações elevadas de cortisol nos leitões dessa baia, uma vez que o estado emocional de um dos parceiros sociais pode ser responsável pelo estado dos outros animais presentes (RAULT, 2012).

As intervenções das interações agonísticas do suíno mais velho da baia 2 foram frequentemente passivas, em que a simples aproximação do suíno mais velho cessou imediatamente a interação agonística. Em algumas dessas intervenções este animal usava o focinho para separar os leitões e/ou cabeça para empurrá-los. Ele “parecia” perceber as interações agonísticas rapidamente, e intervir prontamente. Já, para o suíno mais velho da baia 4 o contexto que desencadeou mais intervenções de interações agonísticas foi quando os leitões se chocavam contra alguma parte de seu corpo. Esse suíno mais velho aparentou se atentar menos às interações agonísticas dos leitões e demorar mais para intervir, quando comparado ao suíno mais velho da baia 2.

Além disso, na baia 2 os leitões realizavam frequentemente comportamentos de belly nosing (FRASER, 1978) no suíno mais velho, que por sua vez deitava lateralmente, deixando seu abdômen exposto. Em contrapartida, o suíno mais velho da baia 4 deitava ventralmente, não havendo exposição do abdômen, dificultando assim a realização de belly nosing pelos leitões.

Os suínos mais velhos foram escolhidos de forma aleatória, considerando apenas o sexo e a idade dos animais. Assim, é notável como a personalidade do suíno mais velho pode influenciar na maneira como os leitões lidaram com novas

situações. Essas características individuais mostram a importância de uma seleção prévia do perfil dos suínos mais velhos. É necessário realizar novos estudos para elucidar qual personalidade seria mais adequada em situações onde o suíno mais velho será usado como um tampão social para atenuar estressores gerados pelo desmame.

Durante o desafio do LPS foi possível observar um aumento do cortisol na segunda coleta, indicando que houve uma ativação do eixo HPA. Esse aumento é condizente com os achados de Carrol et al. (2005) e Tuchscherer et al. (2006). Não houve ativação do eixo HPA para os animais que receberam apenas solução fisiológica, descartando a possibilidade do aumento do cortisol ter ocorrido devido a excessiva manipulação dos animais para as injeções e coletas de sangue. Além disso, não houve diferença no aumento do cortisol para os animais do tratamento e do controle que receberam a aplicação de LPS.

Em nosso estudo, o curto tempo de avaliação de peso desses animais pode ter sido insuficiente para observar o efeito do suíno mais velho na ingestão de ração dos leitões. Em trabalhos anteriores, De Paula Vieira et al. (2012), mostrou que a presença de uma bezerra mais velha com bezerras recém-separadas da mãe visitaram mais vezes o comedouro com feno e passaram mais tempo no comedouro automático de concentrado. Mesmo o controle e o tratamento tendo recebido a mesma quantidade de leite durante todo o período, as bezerras do tratamento apresentaram um maior ganho de peso, que pode ser atribuído ao aumento na ingestão de feno. Pode-se dizer que o aumento de ingestão de alimento sólido foi resultado de um aprendizado social (DE PAULA VIEIRA et al., 2012).

É possível argumentar que o suíno mais velho pode atuar como um potencial tampão social. Porém, mais estudos são necessários para elucidar questões como os mecanismos pelos quais o efeito ocorre, a motivação dos suínos mais velhos em intervir nas interações agonísticas, o efeito do perfil em tal motivação, as vantagens adaptativas que levaram a tais estratégias sociais e a ativação do eixo HPA em relação à presença do suíno mais velho. Para que essa técnica seja realmente provedora de bem-estar animal, é imprescindível avaliar os estados fisiológicos e emocionais não apenas dos leitões, mas também do suíno mais velho utilizado como tampão social.

REFERÊNCIAS

BERRY, R. J.; LEWIS, N. J. The effect of duration and temperature of simulated on the performance of early-weaned piglets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2, p. 199-204, 2001.

CARROLL, J. A.; CARTER, D. B.; KORTE, S. W.; PRATHER, R. S. Evaluation of the acute phase response in cloned pigs following a lipopolyssaccharide challenge. **Domestic Animal Endocrinilogy**, v. 29, p. 564-572, 2005.

DE PAULA VIEIRA, A.; KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Presence of an older weaned companion influences feeding behaviour and improves performance of dairy calves before and after weaning from milk. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3218-3224, 2012.

EKKEL, E. D.; DIELEMAN, S. J.; SCHOUTEN, W. G. P.; PORTELA, A.; CORNÉLISSEN, G.; TIELEN, M. J. M.; HALBERG, F. The circadian rhythm of cortisol in the saliva of young pigs. **Physiology & Behaviour**, v. 60, p. 985-989, 1996.

ESCRIBANO, D.; CAMPOS, P. H. R. F.; GUTIÉRREZ, A. M.; LE FLOC´H, N.; CERÓN, J. J.; MERLOT, E. Effect of repeated administration of lipopolyssaccharide on inflammatory and stress markers in saliva of growing pigs. **The Veterinary Journal**, v. 200, p. 393-397, 2014.

EVANS, F. D.; CHRISTOPHERSON, R. J.; AHERNE, F. X. Development of the circadian rhythm of cortisol in the gilt from weaning until puberty. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, p. 1105-1111, 1988.

FRASER, D. Observations on the behavioural development of suckling and early-weaned piglets during the first 6 weeks after birth. **Animal Behaviour**, v. 20, p. 22-30. 1978.

FRASER, D., RITCHIE, J.S.D. AND FRASER, A.F. The term "stress" in a veterinary context. **British Veterinary Journal**, v. 131, p. 653-662, 1975.

GARDNER, J. M.; DUNCAN, I. J. H.; WIDOWSKI, T. M. Effects os social “stressors” on beely-nosing behaviour in early-weaned pigletes; is belly-nosing na indicator of stress? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 74, p. 135-152, 2001.

MCEWEN, B.S. PLASTICITY OF THE HIPPOCAMPUS: ADAPTATION TO CHRONIC STRESS AND ALLOSTATIC LOAD. 2001, Nova York. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 933 p. 265-277.

PETERSEN, H. V.; VESTERGAARD, K.; JENSEN, P. Integration of piglets into social groups of free-ranging domenstic pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 23, p. 223-236, 1989.

QI, K.; WU, J.; XU, Z. Effects of PEGylated porcine glucagon-like pepetide-2 therapy in weaning piglets with lipopolysaccharide. **Peptides**, v. 58, p. 7-13, 2014.

RAULT, J. L. Friends with benefits: Social support and its relevance for farm animal welfare. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 136, p. 1-14, 2012.

RUIZ, M. A. W.; JOOP, H. A.; BRAKE, T.; ENGEL, B.; EKKEL, E. D.; BUIST, W. G.; BLOKHUIS, H. J.; KOOLHAAS, J. M. The circadian rhythm of salivar cortisol in growing pigs: effects of age, gender, and stress. **Physiology & Behaviour**, v. 62, p. 623-630, 1997.

TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 53, p. 865-871, 2002.

TUCHSCHERER, M.; KANITZ, E.; PUPPER, B.; TUCHSCHERER, A. Early social isolation alters behavioural and physiological responses to na endotoxin challenge in piglets. **Hormones and Behavior**, v. 50, p. 753-761, 2006.

WEARY, M. D.; JASPER, J.; HÖTZEL, M. J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110*, p. 24-41, 2008.*

WIEPKEMA, P R; KOOLHAAS, J. M. Stress and animal welfare. **Animal Welfare**, v. 2, n. 3, p. 195-218, 1993.

5 CONCLUSÃO

Neste estudo, reportamos que a presença do suíno mais velho é potencialmente promissora na redução de interações agonísticas em leitões desmamados que sofreram reagrupamento de leitegada. No entanto, mais estudos devem ser conduzidos para avaliar se os efeitos são duradouros e quais seriam as consequências futuras dessa interação, como por exemplo, quando há novas situações de reagrupamento para fase de terminação, bem como transporte. A estratégia aqui estudada possui alta viabilidade, sobretudo, por ser de baixo custo e ser de natureza não-invasiva. Além disso, a presença de uma referência social dentro de um grupo de animais recém-desmamados pode potencialmente atenuar estressores intrínsecos deste desafio, bem como aproximar o contexto ao que a espécie está adaptada.

Os resultados da análise do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (HPA) não apoiaram os dados de observação comportamental. Trabalhos anteriores também não demonstraram relações entre agressão em leitões desmamados e atividades do eixo HPA (YUAN et al., 2004; SOUZA et al., 2006). O eixo HPA pode ter sido ativado em relação ao efeito do desmame, do transporte, do ambiente novo e da mudança brusca na alimentação e, possivelmente, não houve tempo suficiente para as respostas retornarem aos níveis e responsividade antes do desafio. Portanto, estudos mais duradouros devem ser conduzidos para entender o efeito do suíno mais velho no eixo HPA após o ajuste da leitegada nessas novas condições. É possível que após o ajuste dos leitões, o efeito do suíno mais velho seja intensificado, mostrando uma menor concentração de cortisol em relação à animais sem a presença deste indivíduo ou um retorno à concentração de cortisol basal mais rápida por parte dos animais na presença do indivíduo mais velho (HENRY et al., 2012). Por outro lado é possível argumentar que a presença de um animal mais velho não induziu atividade do eixo HPA, o que é algo positivo, pois a redução de lesões e interações agonísticas poderia ser associada com um aumento de estresse nos animais, devido ao medo do animal mais velho.

A administração de LPS é frequentemente utilizada para avaliar o estado imunológico dos animais, por ser algo pontual e extremamente controlado e validado

(CARROL et al., 2005; ESCRIBANO et al., 2014; QI et al., 2014; TUCHSCHERER et al., 2006). Neste estudo, esperávamos que a presença do suíno mais velho influenciasse no sistema imunológico dos leitões, a partir da redução do estresse crônico. Embora não tivéssemos obtido diferenças em relação às repostas dos leitões frente a um desafio, é possível que os leitões não tenham atingido estresse crônico, resultando então, em um resultado igual em relação aos leitões sem o suíno mais velho. Seguindo o raciocínio apresentado para as respostas do eixo HPA, essas hipóteses podem ser testadas em estudos mais duradouros, em que os leitões tenham se ajustado às novas condições e os desafios iniciais do desmame. Outros biomarcadores de ativação do sistema imunológico poderão ser avaliados.

Dentro deste contexto, por que a presença do suíno mais velho reduziu as interações agonísticas nos leitões? Uma das hipóteses é que o tamanho do suíno mais velho já estabeleça imediatamente sua posição na nova hierarquia, reduzindo a incerteza resultante no novo contexto social que a remoção da fêmea suína lactante e o reagrupamento de leitegadas causa. A partir disso, haveriam menos posições disponíveis a serem disputadas, reduzindo assim as interações agonísticas. Uma vez estabelecida a hierarquia as interações agonísticas são prevenidas devido a estratégias dos animais subordinados de evitar o animal dominante (MEESE; EWBANK, 1973). Portanto, partindo deste pressuposto, a simples presença do suíno mais velho seria suficiente para a redução da agressividade na reagrupamento de leitegadas. No entanto, em alguns indivíduos mais velhos, de forma surpreendente, observamos uma participação ativa, que resultou em interrupções de algumas interações agonísticas. Essas intervenções podem ser explicadas pelo fato dos animais da espécie suína serem animais gregários e predados, sendo plausível argumentar que os sons provenientes das interações agonísticas severas poderiam atrair possíveis predadores. Dessa forma, a intervenção seria uma estratégia adaptativa da espécie.

A preocupação com o bem-estar animal é crescente, devido ao reconhecimento da sociedade em relação aos recentes estudos demonstrando senciência nos animais não-humanos. Ainda, com o crescente desenvolvimento da sociedade, é inviável retornar a uma produção que não seja intensiva de animais para consumo, porém, considerar o ambiente evolutivo desses animais é de suma importância para prover condições que melhorem seu bem-estar. Exemplos dessas melhorias em suínos são estudados amplamente, como o uso de substrato para

fêmeas suínas, baias coletivas de gestação, adição de fibra às dietas, baias alternativas para parição, enriquecimentos ambientais em diversas fases (BEATTIE et al., 2000; LEEUW et al., 2004; TUYTTENS, 2005; WEARY et al., 1999), dentre outros. Outro importante fator é o contexto social, devido ao fato dos animais que produzimos para consumo possuírem hábitos gregários (RAUL, 2012). Essas preocupações nos levam a buscar alternativas que reduzam o estresse dos animais mantidos sob nossa responsabilidade, além de auxiliar os indivíduos com recursos e condições que facilitem a forma como irão lidar com os desafios impostos pelos ambientes artificiais.

Podemos concluir que a presença de um suíno mais velho reduz a ocorrência de lesões e interações agonísticas entre leitões desmamados aos 21 dias. A redução nas lesões e nas interações agonísticas não foram acompanhadas por melhores índices de desempenho. Os indicadores da atividade do eixo HPA não identificaram diferenças entre os animais alojados de forma convencional e os animais alojados com um suíno mais velho. Assim, a presença de um animal mais velho, junto aos leitões desmamados melhora os indicadores de bem-estar. O mecanismo pelo qual ocorreu redução nas lesões e nas interações agonísticas precisa ser elucidado em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

BARNETT, J. L.; HEMSWORTH, P. H.; CRONIN, G. M.; JONGMAN, E. C.; HUTSON, G. D. A review of the welfare issues for sows and piglets in relation to housing. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 52, p. 1-28, 2001.

BEATTIE, V. E.; O'CONNELL, N. E.; MOSS, B. W. Influence of environmental enrichment on behaviour, performance end meat quality of domestic pigs. **Livestock Production Science**, v. 65, p. 71-79, 2000.

BERRY, R. J.; LEWIS, N. J. The effect of duration and temperature of simulated on the performance of early-weaned piglets. **Canadian Journal of Animal Science**, p. 199-204, 2001.

BLASETTI, A.; BOITANI, L.; RIVIELLO, M. C.; VISALBERGHI, E. Activity budgets and use of encloused space by wild boars (*Sus scrofa*) in captivity. **Zoo Biology**, v. 7, p. 69-79, 1988.

CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, 2013.

COHEN, S.; WILLS, T. A. Stress, social support and the buffering hypothesis. **Psychological Bulletin**, v.98, p. 310-357. 1985.

COLSON, V.; ORGEUR, P.; FOURY, A.; MORMÈDE, P. Concequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 98, p. 70-88, 2006.

EPLEY, S. W. Reduction of the behavioural effects of aversive stimulation by the presence of companions. **Psychological Bulletin**, v.81, p. 271-283. 1974.

FRASER, D. Observations on the behavioural development of suckling and early-weaned piglets during the first 6 weeks after birth. **Animal Behaviour**, v. 20, p. 22-30. 1978.

FRASER, D.; MILLIGAN, B. N.; PAJOR, E. A.; PHILLIPS, P. A.; TAYLOR, A. A.; WEARY, D. M. Behavioural perspectives on weaning in domestic pigs**.** In: WISEMAN, J.; VARLEY, M. A.; CHADWICK, J. P. (Ed.). **Progress in pig science**. Nottingham: Nottingham University Press, 1998. p. 121–140.

GARDNER, J. M.; DUNCAN, I. J. H.; WIDOWSKI, T. M. Effects of social "stressors" on belly-nosing behaviour in early-weaned piglets: is belly-nosing an indicator of stress? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 74, p. 135-152, 2001.

GRAVES, H. B. Behavior and ecology of wild and feral swine (*Sus scrofa*). **Journal of Animal Science,** v. 58, n. 2, 1984.

HENRY, S.; ZANELLA, A. J.; SNAKEY, C.; RICHARD-YRIS, M.; MARKO, A.; HAUSBERGER. Adults may be used to alleciate weaning stress in domestic foals (*Equus caballus*). **Physiology & Behavior**, v. 106, p. 428-438, 2012.

JEFFRIES, W. M. Cortisol and immunity. **Medical Hypotheses**, v. 34, p. 198-208, 1991.

JENSEN, P.; STANGEL, G. Behaviour of piglets during weaning in a seminatural enclosure. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 33, p. 227-238, 1992.

JENSEN, P.; YNGVESSON, J. Aggression between unacquainted pigs – sequential assessment and effects of familiarity and weight. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 58, p. 49-61, 1998.

JOHNSON, R. W.; VON BORELL, E. Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs in inhibited by pretreatment with indomethacin. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 309-314, 1994.

KEELING, L. L.; GONYOU, H.W. **Social behaviour in farm animals**. CABI publishing, Wallinglord. 2. ed., Nova York, editor: KEELING, L. L.; GONYOU, H.W, 2001, 408 p.

LATHAM, N. R.; MASON, G. J. Maternal deprivation and the development of stereotypic behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 84-108, 2008.

LEEUW, J. D.; JONGBLOED, A. W.; VERSTEGEN, W. A. Dietary fiber stabilizes blood glucose and insulin levels and reduce physical activity in sows (*Sus scrofa*). **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 1481-1486, 2004.

MASON, G. J. Stereotypies: a critical review. **Animal Behaviour**, v. 41, p. 1015-1037, 1991.

MATTERI, R. L.; KLIR, J. J.; FINK, B. N.; JOHNSON, R. W. Neuroendocrine-immune interactions in the neonate. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 15, p. 397-407, 1998.

MAUGET, R. Behavioural and reproductive strategies in wild forms of Sus Scrofa (Europeian wild boar and feral pigs). p. 103-120 em: **The Welfare of Pigs**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1981.

MAUGET, R. Behavioural and reproductive strategies in wild forms of Sus scrofa (European wild boar and feral pigs). In: SYBESMA, W. (Ed.). **The welfare of pigs**. Martinus Nijhoff: The Hague, 1981. p. 3-13.

MEESE, G. B.; EWBANK, R. The establishment and nature of the dominance hierarchy in the domesticated pig. **Animal Behaviour**, v. 21, p. 326–334, 1973.

MENDL, C. M. The free hormone hypothesis: A physiologically based mathematical model. **Endocrine Reviews**, v. 10, p. 232-274, 1989.

METZ, J. H. M.; GONYOU, H. W. Effect of age and housing conditions on the behavioral and haemolytic reaction of piglets to weaning. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 27, p. 299-309, 1990.

NAKAYASU, T.; KATO, K. Is full physical contact necessary for buffering effects of pair housing on social stress in rats? **Behaviour Processes**, v. 86, p. 230-235, 2011.

NEWBERRY, R. C.; WOOD-GUSH, D. G. M. Social relationships of piglets in a seminatural environment. **Animal Behaviour**, v. 34, p. 1311-1318, 1986.

NICOL, C. J.; BADNELL-WATERS, A. J.; BICEA, R.; KELLANDA, A.; WILSONA, A. D.; HARRISC, P. A. The effects of diet and weaning method on the behaviour of young horses. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 95, p. 205-221, 2005.

ODBERG, F. V. Abnormal behaviours: stereotypies. In: WORLD CONGRESS ON ETHOLOGY APPLIED TO ZOOTECNIC, 1., 1978, Madri. **Proceedings...** Madri, 1978. 475-490.

PARROTT, R. F.; VELLUCI, A. J.; GOODE, J. A.; LLOYD, D. M; FORSLING, M. L. Cyclo-oxygenase mediation of endotoxin-induced fever, anterior and posterior pituitary hormone release and hypothalamic c-Fos expression in the prepubertal pig. **Experimental Physiology**, v. 80, p. 663-674. 1995.

PETERSEN, H. V.; VESTERGAARD, J.; JENSEN, P. Integration of piglets into social groups of free-ranging domestic pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 68, p. 191-197, 1989.

PHILLIPS, D. I. W. Programming of the stress response: a fundamental mechanism underlying the long-term effects of the fetal environment? **Journal of Internal Medicine**, v. 261, p. 453-460, 2007.

RAULT, J. L. Friends with benefits: Social support and its relevance for farm animal welfare. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 136, p. 1-14, 2012.

ROBERT, S.; WEARY D. M.; GONYOU, H. Segregated Early Weaning and Welfare of Piglets. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 2, p. 31-40, 1999.

ROMERO, L. M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. **Ecology and Evolution**, v. 19, p. 249-255, 2004.

RUIS, M. A. W.; DE GROOT, J.; TE BRAKE, J. H. A.; DINAND EKKEL, E.; VAN DE BURGWAL, J. A.; ERKENS, J. H. F.; ENGEL, B.; BUIST, W. G.; BLOKHUIS, H. J.; KOOLHAAS, J. M. Behavioural and physiological consequences of acute social defeat in growing gilts: effect of the social environment. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 70, p. 201-225, 2001.

RUKSTAILS, M.; FRENCH, J. A. Vocal buffering of the stress of the stress response: exposure to conspecific vocalizations moderates urinary cortisol excretion in isolated marmosets. **Hormonal Behaviour**, v. 47, p. 1-7, 2005.

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 subsequente performance in spatial and fear-related tests. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 189-202, 2008.

SOUZA, A. S.; JANSEN J.; TEMPELMAN R. J.; MENDL M.; ZANELLA A. J. A novel method for testing social recognition in young pigs and the modulating effects of relocation. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 99, p. 77-87, 2006.

TUYTTENS, F. A. M. The importance of straw for pig and cattle welfare: A review. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 92, p. 261-282, 2005.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Livestock and poultry: wprçd markets and trade. 2015. Report 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF>. Acesso em: 10 jan. 2016.

WATTANAKUL, W.; SINCLAIR, A. G.; STEWART, A. H.; EDWARDS, S. A.; ENGLISH, P. R. Performance and beraviour of lactating sows and piglets in crate and multisuckling systems: a study involving European White and Manor Meishan genotypes. **Animal Science**, v. 64, p. 339-349, 1997.

WEARY, D. M.; APPLEBY, M. C.; FRASER, D. Responses of piglets separation from the sow. **Applied Animal Behaviour Science***,* v. 63, p.289-300, 1999*.*

WEARY, D. M.; JASPER, J.; HÖTZEL, M. J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 24-41, 2008.

WIEPKEMA, P. R.; KOOLHAAS, J. M. Stress and animal welfare. **Animal Welfare**, v. 2, n. 3, p. 195-218, 1993.

WILSON, E. O. **Sociobiology**: the new synthesis. 25. ed. aniv. Estados Unidos: The Belknap Press, 2000. 697 p.

WOROBEC, E. K.; DUNCAN, I. J. H.; WIDOWSKI, T. M.Tthe effects of weaning at 7, 14 and 28 days on piglet behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 62, p. 173-182, 1999.

WRIGTH, K. J.; BALAJI, R.; HILL, C. M.; DRITZ, S. S.; KNOPPEL, E. L.; MINTOM, J. E. Integrated adrenal, somatotropic, and immune responses of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1892-1899, 2000.

YUAN, Y.; JANSEN, J.; CHARLES, D.; ZANELLA, A. J. The influence of weaning age on post-mixing agonistic interactions in growing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 88, p. 38-46, 2004.

ANEXOS

Anexo A: Marcação dos leitões.

Anexo B: Algodão hidrofílico amarrado com fio dental e tubo falcon usado nas coletas de saliva

Anexo C: Coleta de saliva. Animais do segundo lote, controle, baia 2.

Anexo D: Coleta de saliva. Animais do segundo lote, controle, baia 2.

Anexo E: Coleta de saliva. Animais do segundo lote, tratamento, baia 3.

Anexo F: Animais do segundo lote, tratamento, baia 1.

Anexo G: Animais do segundo lote, controle, baia 2.

Anexo H: Animais do segundo lote, tratamento, baia 3.

Anexo I: Coleta de saliva. Animais do segundo lote, tratamento, baia 3.

Anexo J: Animais do segundo lote, controle, baia 4.