

Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Detecção de reatividade divergente pelo teste de labirinto e sua implicação em indicadores fisiológicos e musculares de estresse em suínos sob diferentes manejos pré - abate

Flávia Rafaela Santos Silva

**Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Agronomia. Área de concentração:  
Ciência animal e pastagens**

Piracicaba  
2009

Flávia Rafaela Santos Silva  
Médica Veterinária

Detecção de reatividade divergente pelo teste de labirinto e sua implicação em indicadores fisiológicos e musculares de estresse em suínos sob diferentes manejos pré - abate

Orientador:  
Prof. Dr. **EDUARDO FRANCISQUINE DELGADO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Agronomia. Área de concentração:  
Ciência animal e pastagens

Piracicaba  
2009

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Silva, Flávia Rafaela Santos

Detecção de reatividade divergente pelo teste de labirinto e sua implicação em indicadores fisiológicos e musculares de estresse em suínos sob diferentes manejos pré-abate / Flávia Rafaela Santos Silva . - - Piracicaba, 2009.  
70 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.  
Bibliografia.

1. Abate 2. Carnes e derivados - Qualidade 3. Comportamento animal 4. Estresse Suínos - Manejo I. Título

CDD 636.4  
S586d

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **NADIR DOS SANTOS SILVA** e **JOSÉ FLÁVIO DA SILVA** por acreditarem sempre na minha vitória independente da escolha. Pela confiança, pelo apoio e principalmente pelo amor incondicional, que me fortalece a cada dia.

Amo muito vocês!

Aos **SUÍNOS** (os quais são as minhas verdadeiras paixões), e demais animais zootécnicos. Espero que tenham, cada vez mais, melhores condições de criação e sistemas criatórios mais compatíveis com a sua natureza.



## AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens, pela oportunidade de realização do curso e, grande conhecimento proporcionado.

Ao meu orientador, Prof.º Drº Eduardo Francisquine Delgado, pelo apoio, orientação e ensinamentos, muito obrigada.

Em especial a minha amiga Ingrid Monteiro Medina, pelo companheirismo, luta, garra e dedicação neste trabalho, na qual teve intensa e indispensável participação, pela generosidade em compartilhá-lo, muito obrigada, amo-te Condessa....Ninid...Didinha!

Ao professor Messias Neto pela contribuição neste experimento, bem como a sua orientada Érica.

Ao Prof.º Dante Pazzanese Duarte Lanna, por ceder espaço em seu laboratório para a realização de nossas análises.

À minhas grandes amigas Cristina, Patrícia, Teiva, grandes irmãs que me foram dadas pela vida.

Ao Prof.º Raul Machado pelos ensinamentos e amizade, à todos do GAMA/LAFA que de diferentes maneiras contribuíram para o meu crescimento profissional, Carolina Castro, Adalfredo Lobo, Anali Linhares.



A meus amigos do Muay Thai, do Qwan ki Do, a Cynthia, amiga querida que quero tanto bem.

A todo o pessoal do prédio da Zoologia, grandes pessoas, que fizeram parte desta jornada, não citarei nomes para não esquecer ninguém;

A todos que não foram citados aqui, mas que contribuíram de alguma forma para o meu aprendizado e realização deste experimento, muito obrigada;

E por último, mas não menos importante...aliás bem pelo contrário..... mais uma vez agradeço a meus pais e irmão....que são tudo pra mim e por mim!!

Agora sim finalizando.... meu agradecimento para aqueles que eu hei de continuar lutando....amando...defendendo....buscando fazer algo para que as suas existências sejam menos miseráveis....menos desprezadas....e mais valorizadas....mais RESPEITADAS ...os SUÍNOS, os quais amo muito e se eu pudesse LIBERTARIA todos eles!!





"A compaixão pelos animais está intimamente ligada à bondade de caráter, e pode ser seguramente afirmado que quem é cruel com os animais não pode ser um bom homem".

**Arthur Schopenhauer**



## SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO .....	15
<u>2</u> REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Aspectos envolvidos na determinação de respostas comportamentais.....	19
2.1.1 Medo e Estresse.....	19
2.1.2 Comportamento exploratório em suínos.....	21
2.2_ Testes de comportamento.....	21
2.2.1 Teste “maze” (labirinto).....	22
2.2.2.Como é verificada a resposta em labirinto em Y.....	23
2.3 Mensurações de variáveis fisiológicas.....	25
2.3.1 Glicogênio Muscular.....	26
2.3.2 Creatina quinase plasmática.....	27
2.3.3 Lactato Plasmático.....	27
2.3.4 Temperatura corporal.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 _Galpão de criação e baias.....	31
3.2 _Animais.....	31
3.3 _O aparato.....	32
3.4 _Testes no labirinto.....	32
3.5 _Análises bioquímicas.....	34
3.6 _Análise Estatística.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37

4.1 Testes de comportamento.....	37
4.1.1 Ensaio I - Movimentação dos animais no labirinto em Y.....	37
4.1.2 Ensaio II - Movimentação dos animais no labirinto Y.....	45
4.2. Avaliação da concentração do glicogênio muscular.....	49
4.3 Creatina quinase.....	51
4.4 Lactato.....	53
4.5 Temperatura.....	56
5 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	61

## RESUMO

### Detecção de reatividade divergente pelo teste de labirinto e sua implicação em indicadores fisiológicos e musculares de estresse em suínos sob diferentes manejos pré-abate

Numerosos estudos tem demonstrado a relação entre medidas comportamentais e fisiológicas de estresse em suínos no abate e subsequente efeitos na qualidade de carne. Uma maneira de estudar esta relação é através de testes comportamentais. O teste “Y maze” (labirinto em Y) é usado especialmente para determinar relação de aversão frente a diferentes procedimentos de manejo. O objetivo do trabalho foi verificar a eficácia do teste do labirinto em Y na detecção de diferenças comportamentais que permitam categorizar suínos híbridos em grupos de alta e baixa reatividade, e a relação desta com parâmetros fisiológicos e musculares. No ensaio 1 foram verificados dois tipos de labirinto, que diferenciavam-se quanto ao estímulo sonoro, “aversivo” ou “não aversivo”, na extremidade final de um dos braços laterais do Y. Quarenta suínos híbrido, F1-Landrace (LD) X Large White (LW), 40 fêmeas, com média de 160 dias de idade e peso médio de 94,1 kg de peso vivo, foram submetidos individualmente ao primeiro teste do “labirinto em Y” por 3 minutos, em uma área que constava de um corredor principal com 110 cm x 80 cm x 220 cm ( altura x largura x comprimento), e os braços laterais com 110 cm x 80 cm x 180 cm, sem contato visual com o exterior. O experimento identificou as seguintes variáveis como significativas para categorização em dois grupos de reatividade divergente: número de vezes que o animal entra em cada braço (NEB); tempo de permanência no braço principal (TPBP); tempo inicial no braço principal (TIBP); tempo total de permanência em cada braço (TTPB). Não houve efeito de tipo de estímulo sonoro para categorização de reatividade. No segundo experimento, utilizando apenas o estímulo sonoro “aversivo”, 132 suínos híbridos (LD X LW), sendo 66 machos e 66 fêmeas, foram submetidos ao teste do labirinto Y para obtenção de um subgrupo apresentando reatividade divergente, levando em conta as variáveis de classificação de reatividade definidos no ensaio 1. Quarenta e oito animais (24 fêmeas e 24 machos) foram identificados como animais de alta (AR) ou baixa reatividade (BR) e submetidos a dois manejos no período pré-abate, um tranquilo (T) e outro estressante (E). Não houve diferença de reatividade entre gêneros (machos e fêmeas). Animais AR e BR apresentaram valores similares ( $P>0,05$ ) para atividade de creatina quinase plasmática ( $1193,4 \text{ U/L} \pm 218$  e  $1539,9 \text{ U/L} \pm 218$ ), lactato plasmático ( $3,91 \text{ mmol/L} \pm 0,20$  e  $4,00 \text{ mmol/L} \pm 0,20$ ) e glicogênio muscular 3 e 24 horas após abate ( $0,12 \text{ mg/g} \pm 0,02$ ,  $0,04 \text{ mg/g} \pm 0,01$  e  $0,08 \text{ mg/g} \pm 0,02$ ,  $0,04 \pm 0,01$ ) respectivamente. A reatividade não alterou ( $P>0,05$ ) a temperatura superficial do animal (AR:  $32,9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,46$ , BR:  $32,9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,45$ ), enquanto o manejo E resultou em temperatura superficial de  $33,9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,45$ , que superou ( $P<0,05$ ) o valor de  $31,9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,46$  observado nos animais do manejo T. Embora os testes tenham apontado para a possibilidade de categorização de reatividade pelo labirinto Y, as medidas fisiológicas examinadas não foram influenciadas pela reatividade divergente, mesmo em situações pré-abate diferenciadas. O manejo pré-abate também não influenciou os resultados das variáveis fisiológicas, exceto para temperatura superficial, que aponta para diferenças na atividade dos animais.

**Palavras-chave:** Reatividade; y Maze; Comportamento; Ansiedade



**ABSTRACT****Detection of reactivity divergent by maze test and its implication in physiological indicators and muscle of stress in pigs under different handling pre-slaughter**

Numerous studies have demonstrated the relationship between behavioral and physiological measures of stress in pigs at slaughter and subsequent effects on meat quality. One way to study this relationship is through behavioral tests. The test “Y maze” is used especially to determine the relationship of aversion front the different procedures for handling. The objective of this study was to test the effectiveness of Y-maze to detect behavioral differences that allow categorizing crossbred pigs in groups of high and low reactivity, and the relationship between physiological parameters and muscle. In trial I, two types of maze were verified, which were distinguished as the sound stimulus, “aversive” or “not aversive”, at the end of one of the side arms Y. Forty pigs crossbred, F1-Landrace (LD) X Large White (LW), 40 females, with an average of 160 days of age and averaging 94.1 kg body weight were submitted individually to the first test of the Y maze for 3 minutes in an area that consisted of a main arm with 110 cm x 80 cm x 220 cm (height x width x length), and side arms with 110 cm x 80 cm x 180 cm, without visual contact with the outside. The experiment considered the variables as significant to categorization in two groups of divergent reactivity: number of times the animal enters into each arm (NEA); time of main arm (TMA); time in initial main arm (TIMA) and total time of stay in each arm (TTSA). Had no effect of type sound stimulus to reactivity categorization. The second experiment, used only “aversive” sound stimulus, 132 hybrid pigs (LD x LW), with 66 males and 66 females, were submitted to Y maze test to obtain a subgroup presenting divergent reactivity, considering the classification variables of reactivity defined in trial 1. Forty eight animals (24 females and 24 males) were identified as animals with high (HR) or low reactivity (LR) and submitted to two handling in pre-slaughter, a tranquil (T) and other stressful (S). There was no difference of reactivity between genders (male and female). HR and LR animals had similar ( $P > 0.05$ ) for activity of plasma creatine kinase ( $1193.4 \text{ U / L} \pm 218$  and  $1539.9 \text{ U / L} \pm 218$ ), lactate ( $3.91 \text{ mmol/L} \pm 0.20$  e  $4.00 \text{ mmol/L} \pm 0.21$ ) and muscle glycogen 3 and 24 hours after slaughter ( $0.12 \text{ mg/g} \pm 0.02$ ,  $0.04 \text{ mg/g} \pm 0.01$  e  $0.08 \text{ mg/g} \pm 0.02$ ,  $0.04 \pm 0.01$ ), respectively. Reactivity did not changed ( $P > 0.05$ ) the surface temperature of the animals (HR:  $32.9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.46$ , LR:  $32.9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.45$ ), while the handling S resulted in surface temperature of  $33.9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.45$ , which exceeded ( $P < 0.05$ ) value of  $31.9 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.46$  observed in the animals of handling T. Although tests have pointed to the possibility of categorizing reactivity by Y maze, the physiological measures examined were not influenced by divergent reactivity, even in pre-slaughter differentiated situations. The pre-slaughter handling did not influence the results of physiological variables, except for surface temperature, pointing to differences in the activity of the animals.

Keywords: Reactivity; Y Maze; Behavior; Anxiety





## 1 INTRODUÇÃO

Para compreender inteiramente os efeitos do estresse no sistema fisiológico e imune, saúde e produção, existe o desafio de explorar as emoções e os estados mentais dos animais. As atitudes filosóficas mudaram a consciência do status científico, e agora aceita-se cada vez mais que os estados mentais nos animais são tópicos aptos para a biologia e podem ser investigados de uma maneira científica (ROLLIN, 1989).

Animais de produção são freqüentemente expostos a manipulações aversivas, as quais podem resultar em posterior receio desses animais frente aos seus tratadores e em algumas circunstâncias, pessoas em geral (SEABROOK, 1994; RUSHEN et al., 1999; HEMSWORTH E COLEMAN, 1998).

As respostas decorrentes do medo podem aumentar problemas provenientes da manipulação, como injúrias, de ambos, animal e tratador, reduzindo assim o bem-estar e a sua produtividade. Em contraste, tratamento gentil pode reduzir o medo do animal frente às pessoas (JAGO et al.; 1999). As respostas decorrentes do medo podem aumentar problemas provenientes da manipulação, como injúrias, de ambos, animal e tratador, reduzindo assim o bem-estar animal e a sua produtividade. Em contraste, tratamento gentil pode reduzir o medo do animal frente às pessoas (JAGO et al., 1999).

Embora animais sejam criaturas sencientes, é paradoxal que não se tenha conhecimento exato sobre as suas experiências subjetivas. Chama-se a atenção para o seguinte paradoxo: os cientistas são tímidos em relação ao fato de atribuírem estados mentais aos animais, tais como, a capacidade de sentir medo, ansiedade ou sofrimento, mas ao mesmo tempo, um número considerável de trabalhos experimentais tem sido feito para caracterizar a reatividade, e como

promover a redução do medo e ansiedade nos animais (JAGO et al., 1999).

O suíno está constantemente exposto a inúmeros agentes estressores potenciais relacionados a mudanças fisiológicas que têm impacto sobre os músculos, durante a produção, transporte e abate (GRANDIN, 1980).

Animais abatidos em abatedores subjetivamente avaliados como tendo um manejo pré abate inadequado, tiveram um nível aparente de estresse mais alto, níveis mais elevados de lactato e creatina quinase (que são indicadores sanguíneos de estresse) daqueles encontrados em animais abatidos em sistemas melhor avaliados (WARRISS et al., 1994a).

Estudos têm demonstrado a relação entre medidas comportamentais e fisiológicas de estresse em suínos no abate e subseqüente efeitos na qualidade de carne (HEMSWORTH et al., WARRISS et al., 1998). Diferenças na reatividade a condições novas e estressantes entre os suínos devem ser consideradas para explicar algumas alterações em qualidade de carne (TERLOUW, 2005).

As respostas emocionais são geralmente avaliadas por testes comportamentais, que são experimentalmente realizados com animais de produção (WOLFF et al., 1997; BOISSY, 1998). Alguns testes comumente usados para suínos são os testes de “open field” e do objeto estranho. Mais recentemente, novos testes têm sido desenvolvidos, como o “back test” e o teste “maze” (teste “Y maze” refere-se a um labirinto em forma de Y). Existe a possibilidade de identificar a reatividade de suínos em testes comportamentais, e a relação desta característica com variáveis de qualidade de carne tem sido sugerido (STELLA, 2007), possivelmente com influência do manejo pré-abate.

Os objetivos do trabalho foram avaliar e classificar a reatividade de suínos em terminação baseados em parâmetros obtidos na observação do comportamento do animal dentro do labirinto

em Y e, verificar o impacto de reatividades divergentes identificadas no teste do labirinto sobre parâmetros fisiológicos que influenciam no processo de transformação de músculo em carne.

|



## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Aspectos envolvidos na determinação de respostas comportamentais**

#### **2.1.1 Medo e Estresse**

Alterações ambientais são consideradas estímulos capazes de serem percebidos pelo animal que podem reagir a eles como um perigo em potencial. Tal condição emocional é comumente conhecida como medo (BOISSY, 1995). O medo e a ansiedade têm suas raízes nas reações de defesa dos animais (MARGIS et al., 2003) e suas características comportamentais são mais evidentes quando o animal é submetido a condição de estresse (STOWELL et al., 2001).

O estresse, em geral, refere-se a um estado de busca pela homeostase, que foi desafiada. Pode ser vista como uma “luta” entre forças opostas. Em um dos lados está o agente estressor e do outro estão os processos de adaptação do organismo na tentativa de neutralizar esse agente (LAZARUS E FOLKMAN, 1984). Qualquer estímulo externo percebido como uma ameaça caracteriza-se como agente estressor, gerando conflitos entre o estado interno do animal e condições ambientais (JANSEN E TOATES, 1997; WIEPKEMA, 1987).

Na tentativa de lidar com o agente estressor ocorrem modificações no comportamento e nas respostas fisiológicas, alterando a atividade do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) e do Eixo Hipotalâmico-hipofisiário-Adrenal. A resposta ao estresse agudo tem a função de reajustar o comportamento e metabolismo para níveis considerados normais, e são geralmente adaptativos, envolvendo mecanismos de aprendizagem que ajudarão o indivíduo responder mais adequadamente ao futuro estressor que apresente similaridade (LEVINE E URSIN, 1991; McEWEN, 2001; MOBERG, 1985).

Caso o animal apresente dificuldade em adaptar-se a um agente estressor severo e persistente, mantendo maior atividade dos sistemas de resposta ao estresse, podem ocorrer distúrbios fisiológicos e comportamentais, resposta conhecida como estresse crônico, que tem como principal mediador hormonal o cortisol (HENRY E STEPHENS-LARSON, 1985; McEWEN E STELLAR, 1993; MOBERG, 1985; WIEPKEMA E KOOLHAAS, 1993). A natureza do estímulo externo e fatores individuais interagem para determinar qual dessas vias (estresse crônico ou agudo) será predominantemente ativada para uma resposta eficiente ao estresse (SLUYTER et al., 1996).

Variações na reatividade e medo têm sido associadas com diferenças no eixo HPA (hipotalâmico-pituitário-adrenal) o que foi demonstrado em diferentes linhagens de suínos (WEAVER et al., 2000)

Portanto, as variações na susceptibilidade ao estresse podem ser devido a dois mecanismos distintos: no músculo e no cérebro. Respostas comportamentais ao estresse são influenciadas pela genética, manejo e experiências prévias. Assim, o que é considerado aversivo por alguns animais pode não produzir reações negativas em outros. A linhagem genética de suínos selecionados para crescimento de tecido magro mostrou incremento da ansiedade em relação aos humanos (SCOTT, TORREY, STEWART, E WEAVER , 2000).

Respostas comportamentais e neuroendócrinas têm grande variação individual, em parte, por diferenças genéticas, etárias e sexuais (SWANSON, 1969; GRAY E LALLJEE, 1974), fazendo com que os suínos reajam de diversas maneiras, quando são expostos à mesma situação estressante (LAWRENCE et al., 1991). Elas podem ser variadas e muitas vezes contraditórias, como a luta, fuga ou imobilidade, movimentos inibidos ou movimentos expressivos (piloereção, movimentos faciais), vocalização, produção de cheiros (ferormônios) (BOISSY, 1995), indicando

diferenças na capacidade adaptativa (SCHOUTEN E WIEPKEMA, 1991). Tais diferenças no comportamento entre os animais vêm sendo nomeadas pelos pesquisadores como “temperamento” e “personalidade” (GLOSLING E JOHN, 1999).

### 2.1.2 Comportamento exploratório em suínos

Suínos são animais onívoros, cuja fonte natural de alimentos é encontrada em grandes áreas (STUDNITZ et al., 2006). Dessa forma, sob condições semi-naturais, gastam por volta de 52% do período luminoso do dia fuçando e pastando e outros 23%, locomovendo e investigando o ambiente (STOLBA E WOOD-GUSH, 1989). Comportamento este fundamentado pelo apetite. O animal faminto procura por comida e não o cessa enquanto não tiver consumido o suficiente, ou pelo instinto de exploração (curiosidade). A curiosidade motiva o animal a procurar por novidade ou simplesmente mudar de ambiente (STUDNITZ et al., 2006).

## 2.2 Testes de comportamento

Respostas emocionais são geralmente avaliadas por testes comportamentais, experimentalmente realizados com animais de produção. A maioria dos experimentos realizados com estes tem o objetivo de caracterizar a reatividade, e não distinguir entre as “emoções” dos animais. Nesses testes, a tendência de um animal reagir mais ou menos a eventos aversivos é chamada de “reatividade” (WOLFF et al., 1997; BOISSY, 1998). Em testes de comportamento, as medidas são baseadas principalmente em reações aversivas: abordagem e evasão de um estímulo, locomoção durante um teste, interação com um objeto ou pessoa (BOISSY et al., 2001).

Esses testes facilitaram a comparação da reatividade psicobiológica entre indivíduos em



um ambiente padronizado. Os testes mais conhecidos são “open-field test” (teste do campo aberto), o teste do objeto estranho, presença de um ser humano desconhecido, segurar o animal com as mãos, estímulo sonoro, e pequenos choques elétricos (BOISSY, 1995). Mais recentemente, novos testes têm sido desenvolvidos, como o “back test” e o teste “maze”.

A utilização do teste do campo aberto (TCA) para avaliar reatividade de suínos no período de terminação, submetidos ao uso de ractopamina permitiu a identificação de variáveis com potencial para a detecção de diferenças comportamentais relacionadas com raças, interação entre raça e sexo, e interação entre sexo e dose (STELLA, 2007).

### 2.2.1 Teste “maze” (labirinto)

O comportamento exploratório de roedores em labirintos se tornou uma ferramenta útil no estudo da ansiedade. Este comportamento é importante do ponto de vista homeostático, pois possibilita o encontro de alimentos e parceiros, além de fornecer informações relevantes sobre eventuais ameaças, tais como predadores (BARNETT, 1975). Essa metodologia foi proposta na década de 50 por Montgomery, estudando o comportamento exploratório de ratos em labirintos em Y.

Estes testes em labirinto caracterizam testes de escolha ou de preferência, e tem sido usados recentemente para responder questões à relacionadas ao bem-estar animal. Há uma opinião crescente que o bem-estar animal é principalmente (DAWKINS, 1987) ou unicamente (DUNCAN E PETHERICK, 1989) dependente dos sentimentos subjetivos experimentados pelo animal. Isto significa que, a fim avaliar o bem-estar, nós devemos “perguntar” ao animal como ele se sente, sob as circunstâncias as quais é mantido e, os procedimentos aos quais está sujeito. Os testes de escolha ou de preferência podem dar uma indicação preliminar de como um animal

vê seu ambiente (DAWKINS, 1978; DUNCAN, 1978; HUGHES, 1977; van ROOIJEN, 1982).

O teste do labirinto em Y e “T maze” (labirinto em 'T') tem sido usado para estudar a preferência de animais de produção (HUGHES, 1976; HITCHCOCK E HUTSON, 1979; HUTSON, 1981; GRANDIN et al., 1986; POLLARD et al., 1993). Este tipo de teste também é usado para determinar relação de aversão frente a diferentes procedimentos de manejo e criação (ARNOLD E MAILER, 1977).

Estudos demonstram a eficácia do teste do labirinto em Y para detecção da preferência de bovinos entre tratamentos, aversivo e gentil (PAJOR et al., 2003). Outra questão importante é identificação da capacidade do animal em distinção de pessoas, o que pode estar relacionado ao medo ou ansiedade associado à indivíduos estranhos. Estudos utilizando o labirinto em Y mostraram que suínos de duas semanas de idade foram capazes de discriminar entre pessoas (DEMBER E RICHMAN, 1989). Todavia, poucos estudos têm sido feitos com o intuito de validar esta técnica (RUSHEN, 1986).

### 2.2.2 Como é verificada a resposta em labirinto em Y

Preferência: Os testes de labirintos são utilizados para estabelecer a preferência dos animais entre duas opções. Diferentes recompensas são colocadas em cada braço, as quais podem ser: alimentos, outro animal, som de outro animal, odores, objetos, etc. O animal então é colocado no início do labirinto, tendo total liberdade para explorar o aparato, sendo toda sua movimentação registrada e analisada (FIGURA 1 E 2) (RATBEHAVIOR ,2009).



Figura 1 - Labirinto em Y utilizado para a realização dos testes comportamentais



Figura 2 - Labirinto em Y com modelo animal (suíno) utilizado no teste comportamental

### 2.3 - Mensurações de variáveis fisiológicas

Há pelo menos dois métodos para medir o estresse, através da resposta comportamental e pela avaliação das funções biológicas (endócrinas e enzimáticas) nos fluídos ou tecidos de animais vivos. No caso dos animais de abate, as informações adicionais do estresse *ante mortem*, podem ser obtidas por avaliações nas carcaças (MOBERG, 1985; SHAW E TROUT, 1995). Um dos maiores problemas no monitoramento do estresse é a variação na resposta individual, porque

frente ao mesmo estressor, cada animal responde diferentemente (D'SOUZA *et al.*, 1998).

Com isso recomenda-se adotar mais de uma avaliação.

A fadiga e o estresse podem ser avaliados através de análises bioquímicas no plasma (epinefrina, norepinefrina, cortisol, lactato, creatina quinase), por avaliações visuais (presença de lesões) e físico-químicas da carne (pH, glicogênio, cor). Avaliações individuais, não têm demonstrado qualidade para quantificar a situação de estresse, no entanto quando associadas, representam uma metodologia eficaz (MOBERG, 1985; D'SOUZA *et al.*, 1998).

Na prática da etologia, o bem-estar é avaliado por meio de indicadores fisiológicos e comportamentais. Os indicadores comportamentais são baseados especialmente em condutas anormais, e em comportamentos que se afastam do comportamento no ambiente natural (MOBERG, 1985; D'SOUZA *et al.*, 1998).

### 2.3.1. Glicogênio Muscular

Apresenta grande importância no estudo das alterações *post mortem*, tendo em vista que a sua concentração no músculo momento antes do abate definirá de maneira significativa a formação de ácido láctico e a conseqüente queda do pH. Uma boa alimentação, como uma dieta de alta energia, ajuda a prevenir a perda de glicogênio principalmente no transporte para o abate, pois a queima de glicogênio no jejum será retardada (LISTER, 1989). Todavia, quantidade reduzida de glicogênio na carne imediatamente após abate e do glicogênio residual na carne podem ser indicativos de glicogenólise acelerada induzida pelo estresse pré-abate (LISTER, 1989).

O período de descanso no abatedouro, nos currais de espera, permite aos animais

recuperarem-se do estresse do transporte, favorecendo a recuperação dos níveis de glicogênio.

Se mal aplicada esta etapa, poderá representar um estresse adicional. Suínos abatidos logo após a sua chegada ao abatedouro podem produzir até mais de 40% de carcaça com problemas na estrutura do músculo, como a carne PSE (sigla em inglês para carne pálida, exsudativa e amolecida) (EIKELENBOOM E BOLINK, 1991).

### 2.3.2 Creatina quinase plasmática

A enzima CK é encontrada em praticamente todos os tecidos, envolvida nos processos de estocagem de energia nas células (MITCHELL; SANDERCOOK, 1995). Em casos de injúria celular (alterações na permeabilidade do sarcolema das fibras musculares), ocorre um aumento na atividade plasmática dessa enzima, resultado do seu extravazamento para a corrente sanguínea (SILLER et al., 1978; LUMEIJ et al., 1988; MITCHELL et al., 1992; MITCHELL).

Em suínos, carne de qualidade inferior está associada com aumento do nível plasmático de creatina quinase, acompanhada de elevação da temperatura da superfície corporal (WARRISS, et al., 2006).

### 2.3.3 Lactato Plasmático

Em situações de estresse intenso pode ocorrer exaustão muscular, formando grandes quantidades de ácido láctico, resultante da degradação intensa do glicogênio muscular, o qual é liberado na corrente circulatória. A produção de lactato pela glicólise anaeróbica está relacionada com o declínio do pH que ocorre após o abate dos animais, sendo que a extensão e velocidade da

queda de pH irão depender da natureza e condição do músculo no momento preciso em que há cessação da circulação sanguínea (JUDGE et al., 1989). Em músculos de mamíferos, o valor de pH um dia após o abate está em torno de 5,4-5,5. No suíno, a glicólise segue o mesmo modelo e, em 24 horas *pos mortem*, o pH final tende a ser um pouco mais elevado, em torno de 5,8 (SAYRE et al., 1964).

As enzimas responsáveis pela glicólise são progressivamente desnaturadas à medida que o valor de pH diminui até atingir valores entre 5,5 e 5,8, muito próximo do ponto isoelétrico da maior parte das proteínas da carne, diminuindo o espaço entre miofibrilas e a capacidade de retenção de água na fibra muscular. Ao mesmo tempo, eventos, como, por exemplo, a desaminação do AMP, remove cofatores essenciais para o metabolismo anaeróbico da célula muscular (SAYRE et al., 1964).

Concentrações de lactato plasmático em suínos que possuíam escores altos de lesões de pele apresentaram-se mais elevadas quanto mais intensas as lesões (GISPERT et al., 2000). Em suínos abatidos em condições de estresse as concentrações de lactato situaram-se em 139,8 mg.100 mL, níveis estes superiores aos 63,5 mg.100mL verificados em situação de mínimo estresse (WARRIS, BROWN E ADAMS, 1994b).

#### 2.3.4. Temperatura corporal

A temperatura corporal é controlada pelo sistema nervoso central, especificamente o hipotálamo, sendo que este controle tem o objetivo de manter o equilíbrio da temperatura do corpo (homeostase térmica).

A estimulação do eixo simpático-adreno-medular pelo estresse, provavelmente conduz a uma redistribuição do sangue e promove mudanças sutis na temperatura periférica do corpo

(GAGGE et al., 1938 E STOMBAUGH and ROLLER, 1977), mudanças que poderiam ser usadas para avaliar os níveis de estresse durante os procedimentos normais de criação, bem como em momentos potencialmente mais estressantes como o abate que demonstra um desvio de fluxo sanguíneo típico deste ativamente.

O aumento da temperatura corporal dos suínos ocorre quando os animais são movimentados até o ponto de atordoamento, o que é uma fonte importante de estresse, sendo este aumento associado a uma carne de pior qualidade (GARIEPY *et al.*, 1989, KLONT E LAMBOOJ, 1995).

Tentativas têm sido feitas para mensurar a temperatura superficial de suínos como uma medida indireta da sua temperatura central, e para prever a qualidade da carne suína através da termografia infravermelha (TI), imediatamente antes do abate (GARIEPY, 1989, SCHAEFFER, 1989).

Em suínos, carne de qualidade inferior está associada com alta temperatura da superfície corporal, que é acompanhada do aumento do nível plasmático de creatina quinase (WARRISS, et al., 2006).





### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Galpão de criação e baias

O galpão utilizado para a criação dos suínos possui 658,07 m<sup>2</sup> (43,5 x 16,5 m) de construção e pé direito de 3,0 m, provido de janelas de vidro, telado em ambos os lados de seu comprimento, permitindo ventilação e claridade durante o dia todo. O mesmo possui 80 baias construídas em alvenaria, com dimensões de 1,11 m de largura por 2,20 m de comprimento (2,40 m<sup>2</sup> de área). Cada baia possui em sua parte posterior um bebedouro do tipo *nipplee* (chupeta) e, na parte anterior, um cocho de 0,25 m<sup>2</sup> (0,50 x 0,50 m). As baias são divididas com grades de ferro, permitindo a visualização dos animais vizinhos, sendo que em cada baia alojava dois animais.

#### 3.2. Animais

O experimento foi conduzido utilizando animais de uma linhagem comercial, sendo 40 fêmeas no ensaio I e 132 animais (66 machos e fêmeas) no ensaio II. Ainda no segundo ensaio 48 animais (24 fêmeas e 24 machos) foram separados para receber os diferentes manejos no momento do abate. Os animais dos testes comportamentais apresentavam idade média de 160 dias, pesando em média 94,1 kg no ensaio I e 95,3 kg no ensaio II. Todos os animais eram provenientes de experimentação com nutrição, sendo todos os diferentes tratamentos nutricionais igualmente representados.

Após o desmame, os animais foram alimentados a vontade com concentrado e tiveram água a disposição em tempo integral.

### **3.3 O aparato**

O labirinto em “Y” consistiu de um aparelho feito de madeira compensada, composto de um braço principal com 110 cm x 80 cm x 220 cm, (altura x largura x comprimento), com dois braços, um direito e outro esquerdo com 110 cm x 80 cm x 180 cm cada braço lateral. As paredes laterais foram pintadas de branco.

O aparato foi mantido em área livre na lateral do galpão com seu interior iluminado artificialmente por luz branca. Uma câmara filmadora de vídeo instalada a dois metros e meio de altura registrou os movimentos dos animais durante todo o tempo do teste. A imagem gravada em fita de vídeo foi posteriormente analisada com o auxílio da câmara de vídeo acoplada a TV.

### **3.4 Testes no labirinto**

#### **ENSAIO I e II**

Os animais foram pesados individualmente durante o primeiro dia do teste. O ensaio foi realizado 30 dias antes do abate dos animais, em dois dias consecutivos entre 12:00 e 16:00 h.

Os animais eram gentilmente direcionados ao labirinto, conduzidos ao braço principal por um portão de entrada. Após a alocação do animal no labirinto em Y, o condutor retirava-se das proximidades. Com a presença do animal no braço principal e após o fechamento imediato do portão iniciava-se o tempo de duração do teste de 3 minutos. Antes dos testes os animais estavam em jejum de 8 a 16 horas.

As variáveis quantificadas foram a quantidade de vezes o animal entrou em cada braço, o

tempo gasto nesta ação, bem como o tempo que ele permaneceu no braço principal. Também foram avaliados o percurso dentro de cada braço.

No final de um dos braços do labirinto era colocado uma caixa de som que emitia a vocalização de suínos juntamente com a vocalização humana (composto de gritos e assovios) na baia e corredor de condução ao box de atordoamento em abatedouro (opção 1 - “aversivo”), ou a vocalização de suínos emitindo som característico de animais durante o arraçamento (opção 2 - “não aversivo”).

No ENSAIO I a ordem de exposição ao tipo e localização (lado do braço) do estímulo sonoro foi determinada por sorteio aleatório.

Foi testada uma variação de estímulo para o labirinto: 1- com a opção 1 em um dos braços laterais e o outro braço vazio; 2 - com opção 2 em um dos braços laterais e outro braço vazio. O objetivo foi verificar potencial para detectar diferenças comportamentais no labirinto que identificassem grupos de reatividade divergente, bem como a existência de diferenças entre os estímulos no labirinto na definição de parâmetros comportamentais. Os estímulos foram colocados de forma alternada entre os braços direito e esquerdo, perfazendo dez animais por estímulo sonoro em cada lado dos braços laterais.

O tempo que o suíno gastou no braço cuja extremidade continha o estímulo (som) foi dividido pelo tempo total gasto em ambos os braços laterais, obtendo assim um índice da preferência (IP), expresso em porcentagem. A escolha do estímulo aplicado no labirinto a ser utilizado no ENSAIO II foi parcialmente baseada no índice de preferência, o qual quando for significativamente diferente de 50 % indica repulsão ou atração.

O segundo ensaio foi conduzido considerando os dados do ensaio I sobre IP entre os tipos de estímulo sonoro (aversivo e não aversivo) no labirinto e identificação do estímulo com maior

potencial de fornecimento de variáveis comportamentais que indicassem reatividade divergente.

A partir da identificação de animais reativos e não reativos através do teste, 48 animais (24 fêmeas e 24 machos) classificados em um dos grupos de reatividade com igual número de representantes de cada gênero, foram submetidos a dois manejos durante o período pré-abate, um tranqüilo e outro estressante. O primeiro consistiu de manipulação mínima dos animais, com auxílio de prancha de madeira para condução. O manejo estressante utilizou choques, aplicados com bastão elétrico na região posterior dos animais, em intervalo médio de 5 minutos nos trinta minutos que antecederam o abate. Posteriormente, os animais foram submetidos à coleta de amostras para as análises descritas abaixo. Os animais foram submetidos a um jejum de 20 horas.

### **3.5 Análises bioquímicas**

As análises da concentração plasmática de lactato e creatina quinase foi medida de forma indireta pela atividade das enzimas lactato-desidrogenase e creatina quinase, em sangue amostrado logo após o abate. Para o lactato plasmático foi utilizado kit comercial (lactato uv enzimático, Bioclin) baseado em espectrofotometria (espectrofotômetro shimadzu uv 1601 pc), segundo método Scandinavian Society For Clinical Chemistry Scand. (1974). A creatina quinase foi determinada através de kit comercial (CK-nac cinético – uv, crystal Bioclin) baseado em espectrofotometria (espectrofotômetro shimadzu uv 1601 pc) segundo método descrito por Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics (1996).

Para determinação da concentração de glicogênio muscular uma amostra de cerca de 2g foi coletada da região lombar, do *longísimos dorsi*, coletado 3 e 24 h *post mortem*. Estas

amostras foram embaladas em pequenos pedaços de papel laminado devidamente identificadas, resfriadas em contato com gelo seco e acondicionadas em um recipiente de isopor contendo gelo seco, e logo após transportadas para o Laboratório de Bioquímica do Departamento de Educação Física da Unesp – Rio Claro. A concentração de glicogênio muscular foi determinada através de colorimetria, através do método de HASSID (1957).

A mensuração da temperatura da superfície corporal foi realizada através de termômetro infra-vermelho (Scantemp 440, Incoterm ®), na região intermediária da superfície externa da orelha, quando os animais se encontravam no final do corredor que conduz ao box de atordoamento do frigorífico.

### **3.6 Análise Estatística**

No ensaio I, o experimento foi delineado inteiramente ao acaso. O teste de Wilcoxon foi utilizado para verificar a existência de diferença significativa nos valores para as variáveis obtidas no teste de comportamento entre grupos.

No ensaio II, o experimento foi delineado inteiramente ao acaso. Sendo que o arranjo foi fatorial em 2 (manejos) X 2 ( graus de reatividade) x 2 (gêneros). Os dados referentes as variáveis fisiológicas do ensaio II foram analisados utilizando-se o GLIMMIX do pacote estatístico do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Testes de comportamento

#### 4.1.1. Ensaio I - Movimentação dos animais no labirinto em Y

Não houve preferência por um dos braços laterais ( $P > 0,05$ ), sendo que o IP, em função do estímulo sonoro, foi de 55 % e 43 % para a opção 1 (som de baia e corredor do abatedouro) e 2 (som de suínos no arraçoamento), respectivamente.

A ausência de lateralidade, isto é, a não preferência de um dos braços laterais verificada, corrobora com resultados utilizando pintos de corte em testes de labirinto em T, independente da presença de outros animais em um dos lados (MARIN, 2000).

Embora em nosso estudo não se tenha observado preferência entre os estímulos sonoros, a preferência de suínos em labirinto tem sido relatada para estímulo olfatório, sentido bastante desenvolvido nesta espécie, com atração indicada por um Ip de 73.16% para odor de androsterona em relação ao cheiro de fezes com Ip de 45.88% (KREBS E MC GLONE, 2004).

A ausência de preferência dos suínos por algum dos estímulos, pode ser consequência do rápido aprendizado dos animais quanto a inexistência de ameaça real decorrente do estímulo sonoro, embora o teste tenha sido aplicado em tempo reduzido, ou ainda pelas características do estímulo aplicado que pode não ter sido suficiente para alterar as respostas comportamentais. A percepção e reação a sons considerados aversivos, incluindo sons de abatedouro, são influenciadas pela adaptação, resultado da identificação de ausência de perigo e ameaça imediata, ou pelas propriedades do estímulo sonoro tais como frequência e intensidade, de forma a não alterar alguns comportamentos específicos (TALLING et al., 1996).



Independente do estímulo sonoro a exposição do animal ao labirinto foi capaz de desencadear no animal reações frente à nova situação. As variáveis do teste do labirinto que identificaram os grupos de reatividade divergentes ( $P < 0,05$ ) foram: tempo inicial no braço principal (TIBP) (gráfico 1), tempo total de permanência no braço principal (TTBP) (gráfico 2) e número de vezes que o animal entra nos braço laterais (NEB) ( gráfico 3). As variáveis TTBE (tempo total no braço esquerdo) (gráfico 4), NBP (número de entradas no braço principal) (gráfico 5), NBD (número de entradas no braço direito) (gráfico 6), NBE (número de entradas no braço esquerdo) (gráfico 7) foram significativas ( $P < 0,05$ ). A variável TTBD (tempo total no braço direito) (gráfico 8) não foi significativa ( $P > 0,05$ ). Os animais utilizados no ensaio I ficaram divididos da seguinte maneira: 19 animais reativos e 21 não reativos.

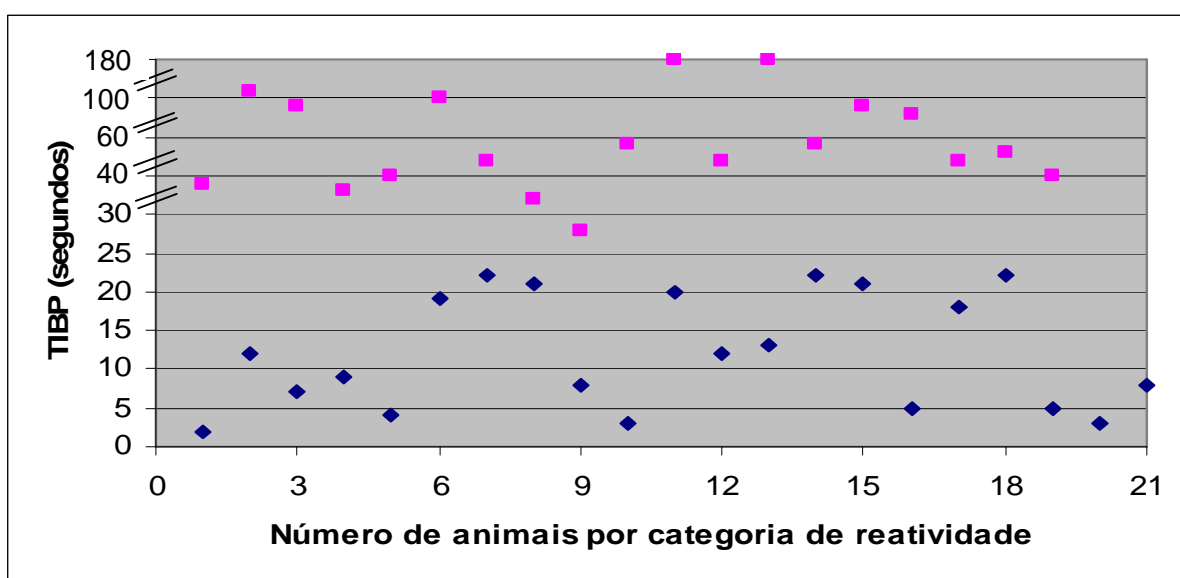


Gráfico 1 - Tempo inicial de permanência dos animais no braço principal, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando  $94,1 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$ . Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

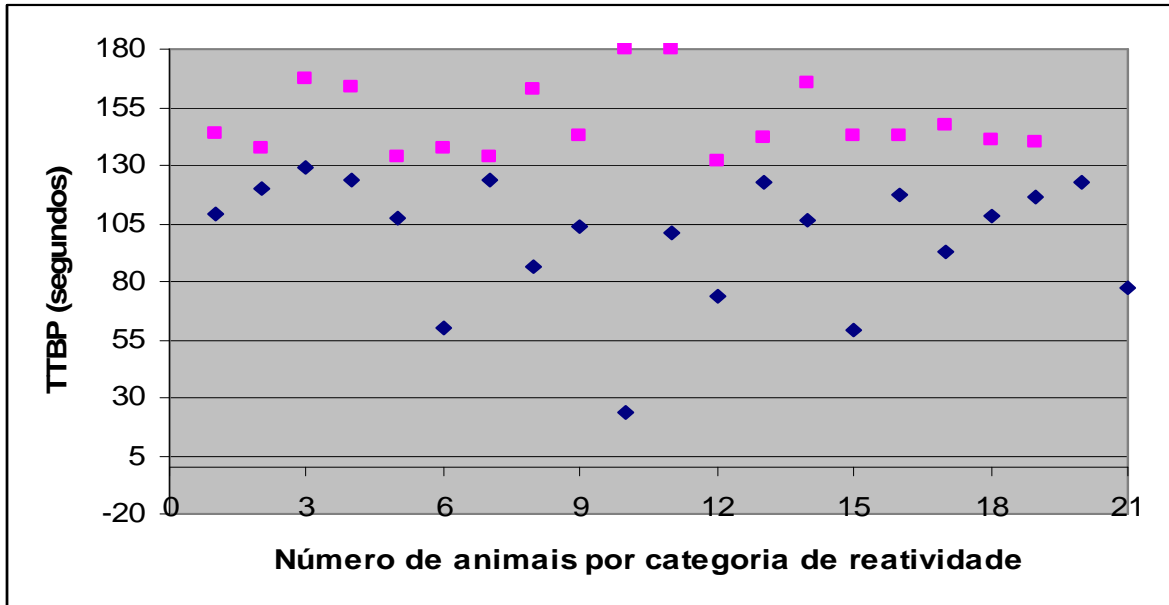


Gráfico 2 - Tempo total de permanência dos animais no braço principal utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando 94,1 kg±2,3 kg. Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

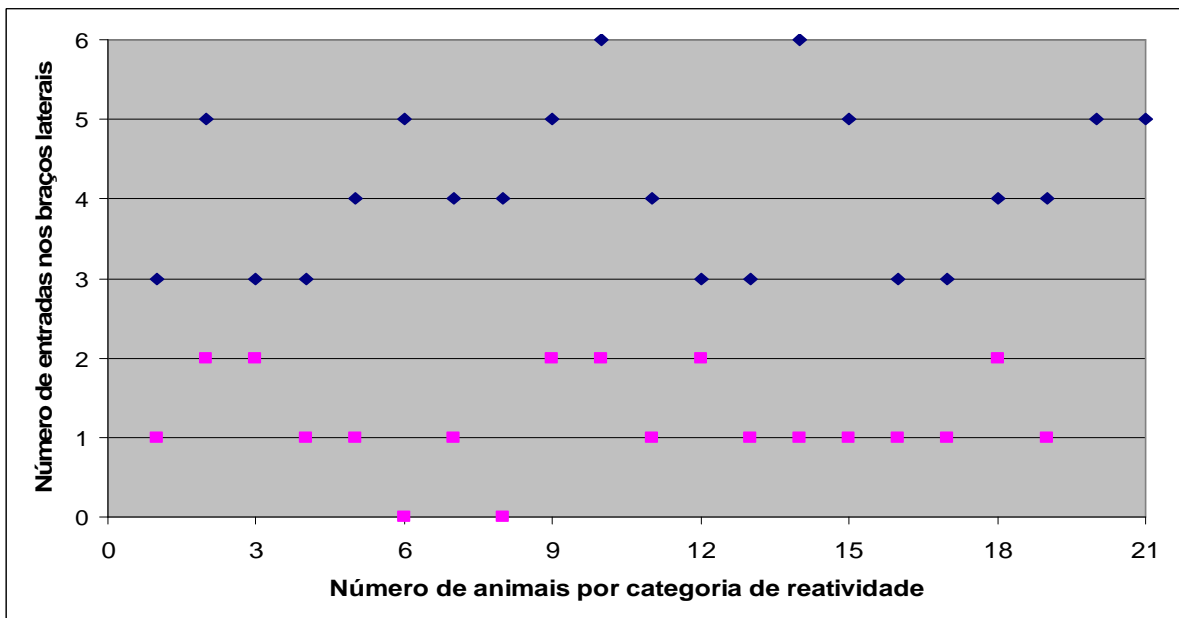


Gráfico 3 - Número de entradas dos animais nos braços laterais, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando 94,1 kg±2,3 kg. Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos.

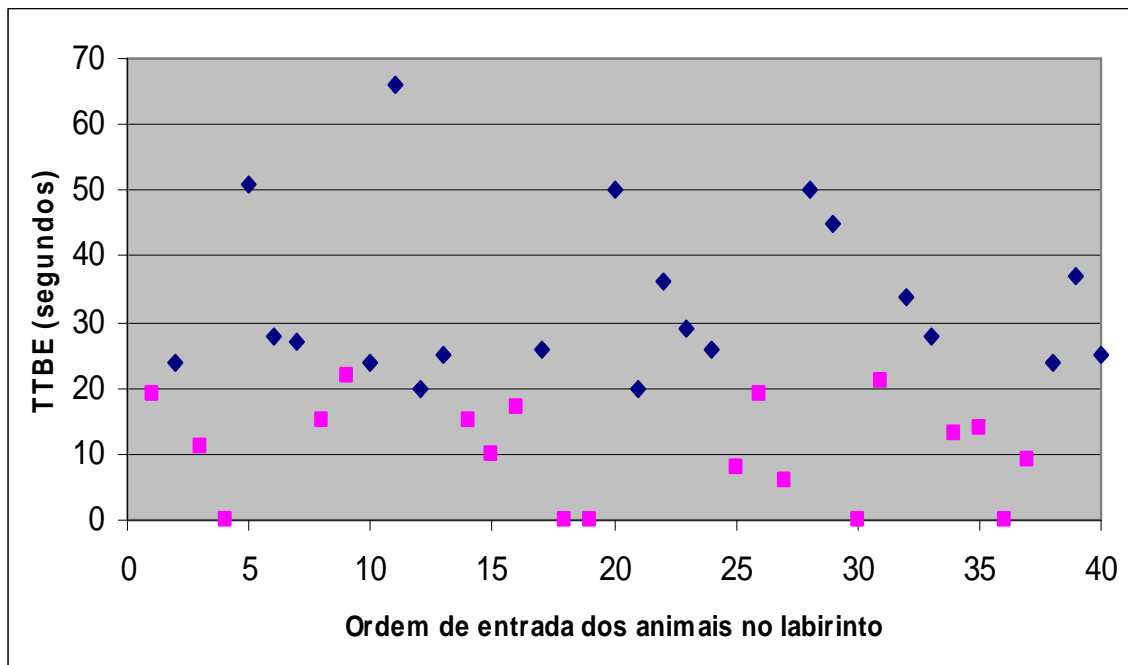


Gráfico 4 - Tempo total de permanência dos animais no braço esquerdo, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando  $94,1\text{kg} \pm 2,3\text{ kg}$ . Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

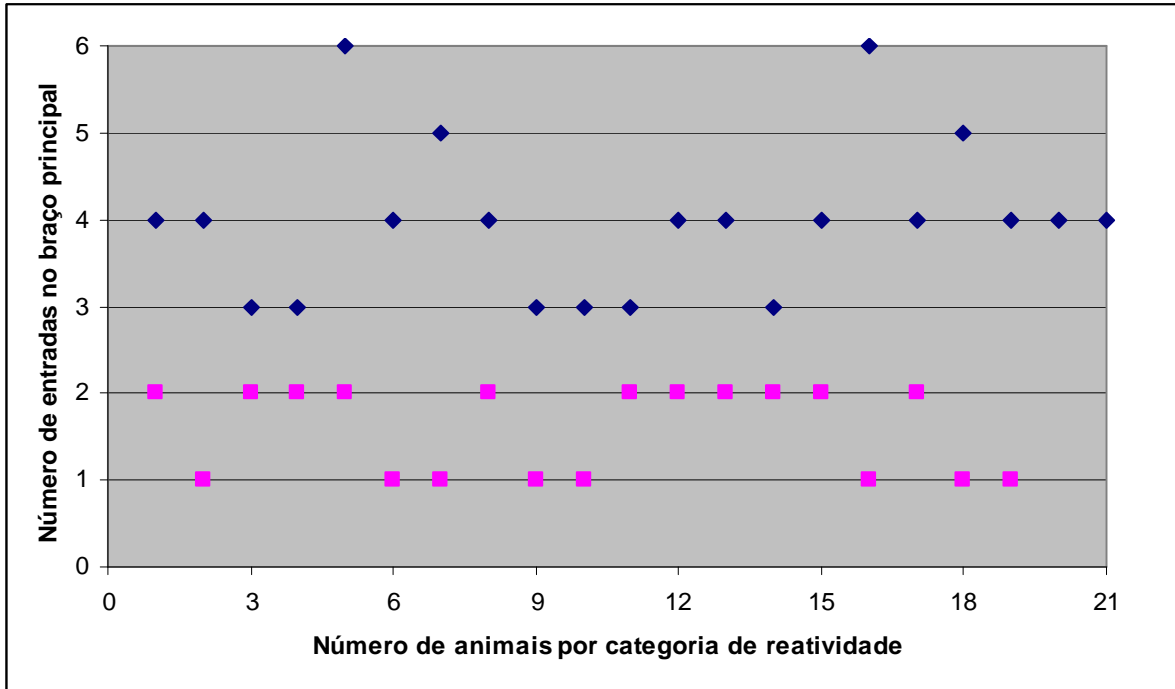


Gráfico 5 - Número de entradas dos animais no braço principal, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando  $94,1 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$   
 Legenda: Retângulo rosa: animais reativos; Losango azul: animais não reativos

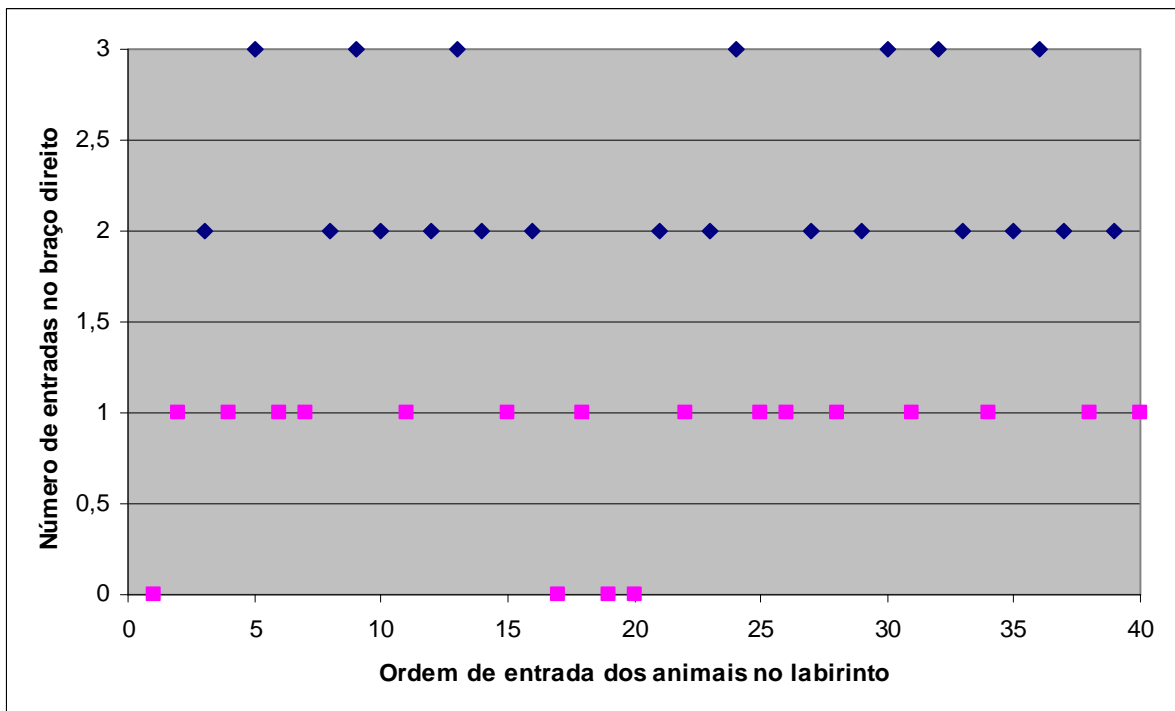


Gráfico 6 - Número de entradas no braço direito pelos animais, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando  $94,1 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$ .

Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

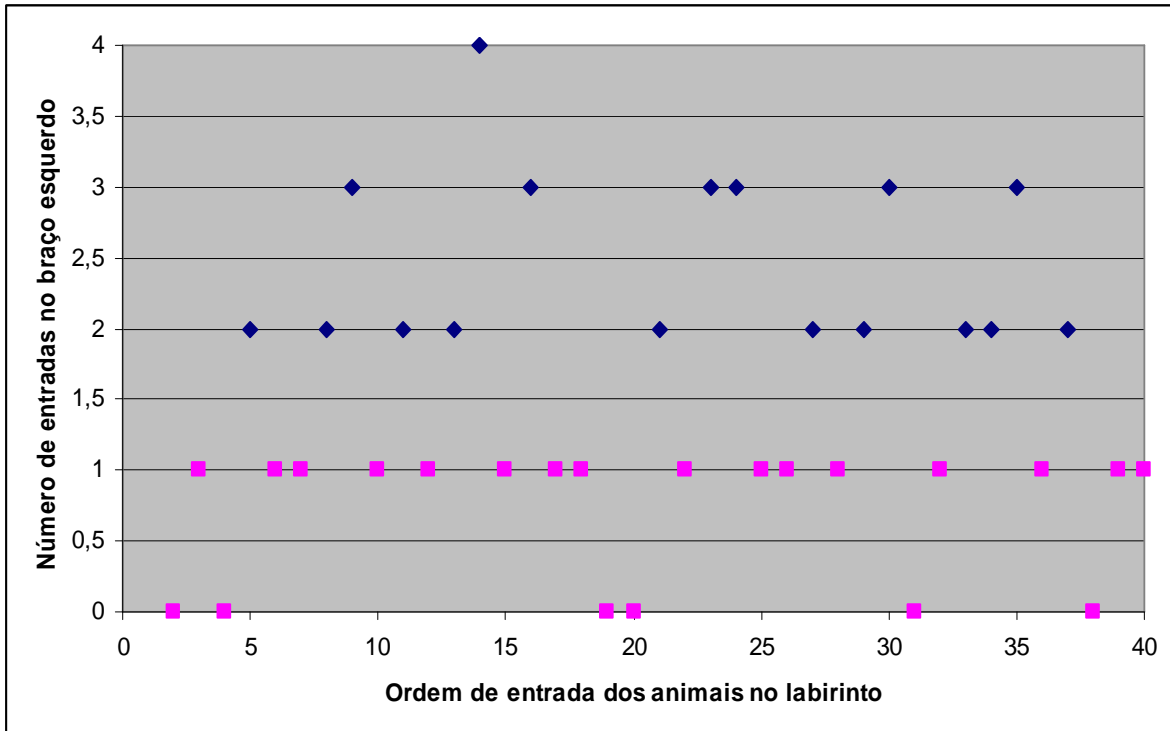


Gráfico 7 - Número de entradas no braço esquerdo, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando  $94,1 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$ . Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

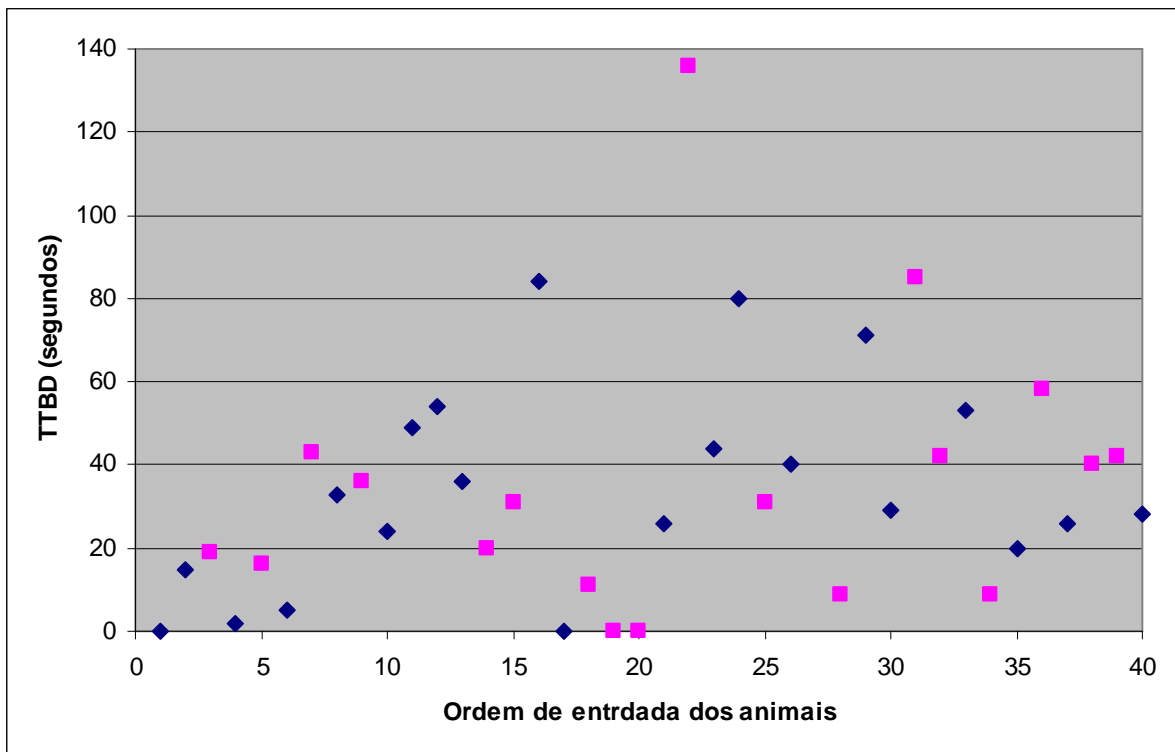


Gráfico 8 - Tempo total de permanência dos animais no braço direito, utilizando teste em labirinto Y, com duração de três minutos, utilizando 40 fêmeas suínas, com 160 dias de idade e pesando 94,1 kg  $\pm 2,3$  kg. Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

A observação do comportamento exploratório em labirinto e categorização de roedores de acordo com a ansiedade também pode ser realizada em função do tempo gasto nos braços abertos e fechados (Do REGO et al., 2006, RIBEIRO et al., 1999, RAGO et al, 1988, RAGO et al., 1991 e HARRO et al., 1990). Desta forma, os animais reativos e não reativos poderiam ser considerados animais ansiosos e não ansiosos, respectivamente.

Neste primeiro ensaio, o TIBP foi inversamente proporcional ao tempo que os animais passaram nos braços laterais. Sendo que os animais com menos incursões aos braços laterais, e, portanto menos exploratórios foram considerados mais reativos. Analogamente os animais considerados menos reativos tiveram relação inversa, passando a maior parte do tempo do teste explorando os braços laterais. A categorização por reatividade utilizando as variáveis TIBP, TTBP

e NEB, apresentou um perfil definido de padrão comportamental. Dessa forma os animais reativos apresentaram valores de TIBP e TTBP significativamente superiores e valores NEB inferiores.

Suíños submetidos ao teste do campo aberto apresentaram condição de menor mobilidade, permanecendo, portanto, mais tempo no quadrante inicial, considerado uma área de segurança pelos animais (STELLA, 2007). A variável TIBP pode ser comparada com o tempo gasto no quadrante inicial, pois as duas medidas remetem a uma situação de segurança, principalmente para os animais que exibem maior medo quando expostos ao novo ambiente, evitando a exploração.

Como esperado, o número de entradas no braço esquerdo foi relacionado com o tempo gasto por entrada no braço. Todavia este mesmo comportamento não se verifica no braço direito, onde embora o número de entradas tenha sido diferente entre animais de reatividade divergente, o tempo total no braço foi similar, o que indica que o tempo gasto por entrada diferiu entre animais reativos e não reativos. Portanto, parece existir uma preferência lateral dependente da reatividade, ou seja, os animais com maior limitação de movimentação (reativos) tendem a permanecer mais tempo em cada entrada no braço direito.

A ontogenia da lateralização tem sido investigada em espécies aviárias, principalmente a galinha doméstica (*Gallus gallus*) e o pombo doméstico (*Columbia livia*). No último estágio o embrião destas espécies adota uma postura, que permite maior exposição à luz do olho direito provocando o desenvolvimento de lateralidade direita (ROGERS e SINK, 1998; SKIBA et al., 2002). Porém não existem estudos relatando qualquer comportamento relacionado a lateralidade em suínos.

#### 4.1.2. Ensaio II - Movimentação dos animais no labirinto Y

A determinação da presença de grupos de animais com diferença significativa na reatividade, baseados nos valores para as variáveis obtidas no teste de comportamento foi realizada através do teste de WILCOXON.

Como o NEB apresentou-se como uma variável informativa, de fácil obtenção e análise dos dados, neste ensaio foi introduzida uma forma diferenciada de análise inicial dos dados que considerou como sucesso, o número de entradas nos braços laterais com estímulo.

Em função da coleta de dados de um grande número de animais, fez-se uma subamostragem para verificar aspectos bioquímicos nos grupos de animais. Os animais foram testados e pré-selecionados segundo o número de sucessos, considerando que quanto maior o número de sucessos menor a reatividade. Nesse grupo foram então selecionados os animais de reatividade divergente com base em algumas das variáveis respostas significativas verificadas no Ensaio I (TIBP, TTBP e NEB).

As variáveis foram analisadas para confirmar o comportamento do animal, analisamos o número de entradas nos braços com estímulo, caso tivesse até uma entrada nos braços seria então denominado de reativo, se mais que 2 entradas seria não reativo. Avaliamos o TIBP, TTBP e NEB, sendo o conjunto das respostas do animal usado para a categorização.

Neste segundo teste não houve diferença de reatividade ( $P > 0,05$ ) entre machos e fêmeas, nem efeito do dia do teste ( $P > 0,05$ ). O comportamento apresentado pelos animais foi semelhante ao encontrado no ensaio I, onde os animais considerados mais reativos apresentaram maior tempo inicial no braço principal (gráfico 9) gastaram a maior parte do seu tempo no braço principal do labirinto (gráfico 10), e tiveram menos incursões nos braços laterais, indicando uma inibição do comportamento exploratório inerente a conduta de suínos, provavelmente pelo sentimento de



medo e ansiedade.

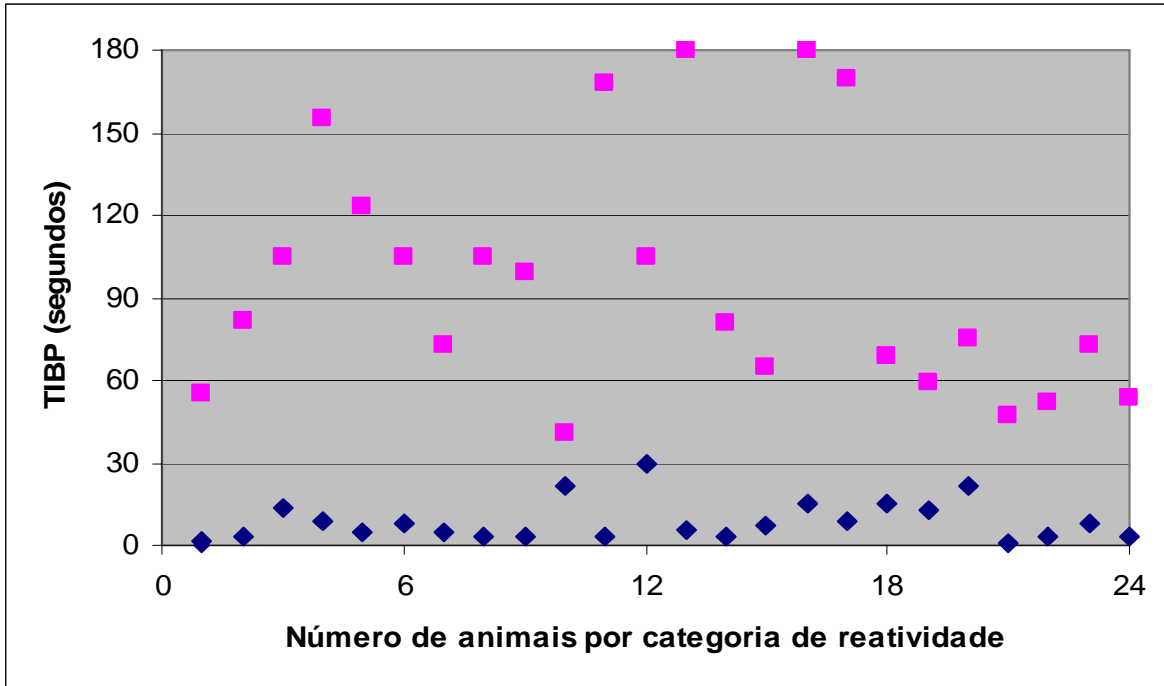


Gráfico 9 - Tempo de permanência inicial no braço principal, utilizando o teste em labirinto Y, com duração de três minutos, para 48 animais suínos (24 fêmeas e 24 machos) com 160 dias de idade pesando 93,5 kg±1,7 kg. Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

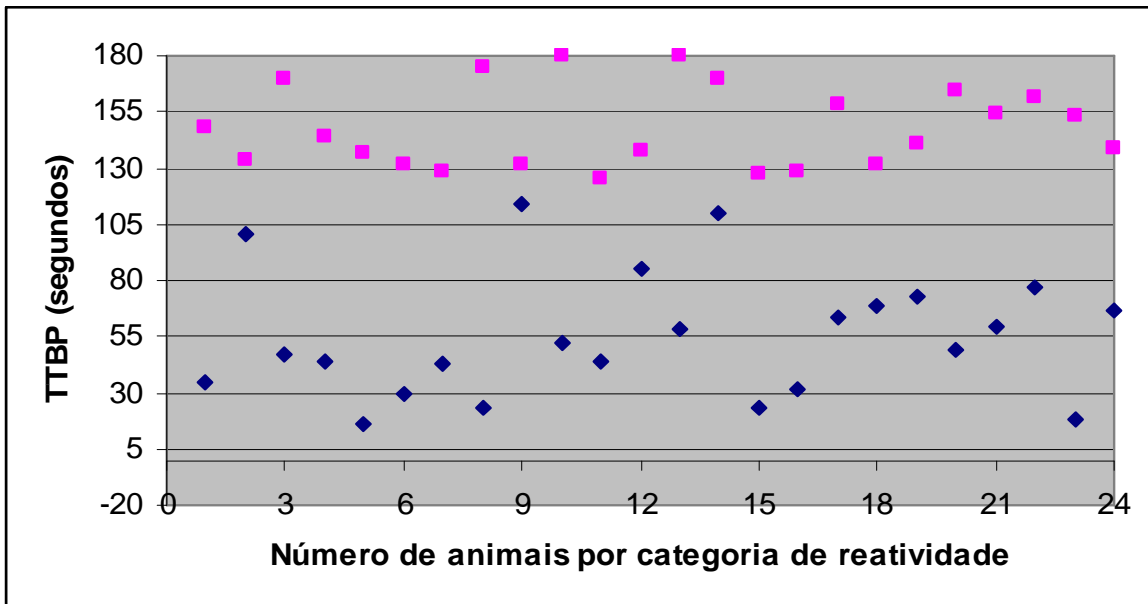


Gráfico 10 - Tempo total de permanência no braço principal, utilizando o teste em labirinto Y, com duração de três minutos, para 48 animais suínos (24 fêmeas e 24 machos) com 160 dias de idade pesando 93,5 kg±1,7 kg. Legenda: retângulo rosa: animais reativos; losango azul: animais não reativos

Os animais considerados não reativos no Ensaio II apresentaram TIBP entre 1” a 30”, enquanto suínos considerados reativos apresentaram valores entre 41” a 180”. Os animais reativos apresentaram de 0 a 2 entradas, já os não reativos de 3 a 6 (gráfico 11).

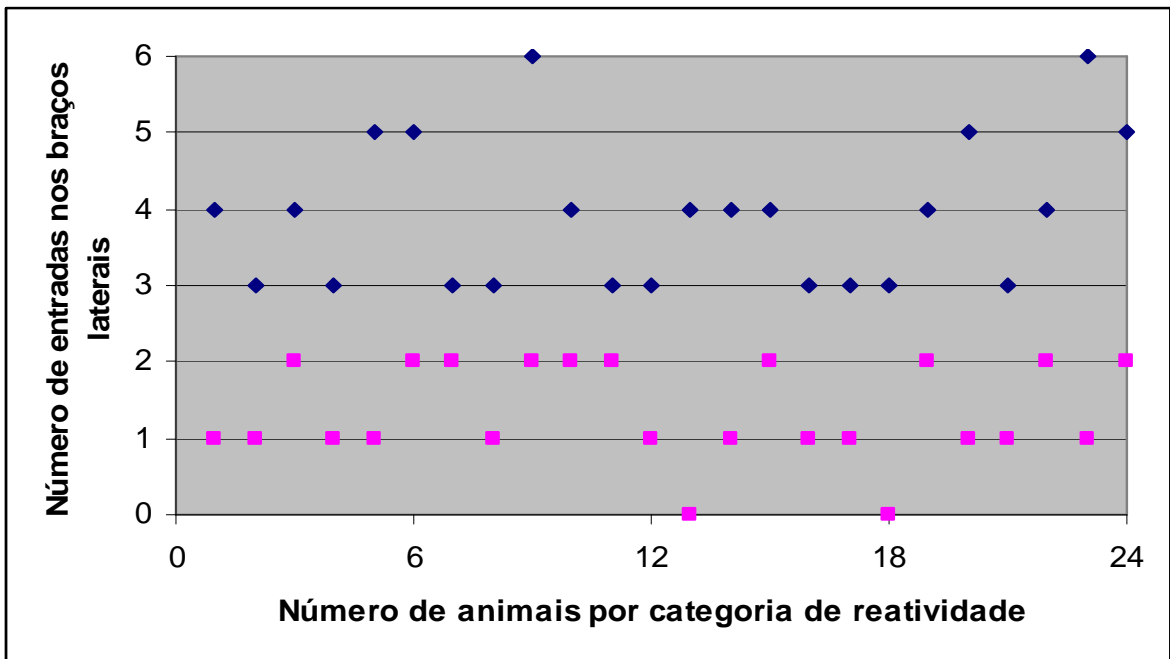


Gráfico 11 - Relação entre número de entradas nos braços laterais e reatividade dos animais observada pelo teste em labirinto Y, com duração de três minutos, para 48 animais suínos (24 fêmeas e 24 machos), com 160 dias de idade pesando 93,5 kg ±1,7 kg

Portanto, os animais menos reativos apresentaram um comportamento mais exploratório, buscando investigar o novo ambiente. O balanço entre medo e a motivação exploratória provocado por um estímulo novo, gera no animal um conflito interno. Ratos expostos a um labirinto em cruz elevado, apresentam o instinto exploratório despertado por ambos os braços,

tanto fechados quanto abertos, porém este último provoca uma maior expressão do instinto de medo (MONTGOMERY, 1955). A limitação da atividade exploratória de ratos frente aos braços abertos foi associada com a observação de comportamentos relacionados a uma maior ansiedade e ainda uma maior concentração plasmática de cortisol (PELLOW et al., 1985).

A exploração de áreas centrais e periféricas, verificada através do teste do campo aberto (TCA), sugere que os animais que menos exploram as áreas centrais sejam considerados mais reativos (STELLA, 2007). A diminuição do medo de fêmeas Large White, que são consideradas mais reativas, ocorre pelo maior número de exposições ao teste do campo aberto (TCA), isto faz com que permaneçam mais tempo nas áreas centrais, característica de animais menos ansiosos, bem como o maior tempo gasto no quadrante inicial do teste, característica de animais mais ansiosos (STELLA, 2007).

O tempo gasto nas áreas centrais (local de grande vulnerabilidade) do TCA é maior em ratos menos ansiosos (MEER; RABER, 2005), comportamento que pode ser comparado com o maior grau de exploração dos braços laterais pelos animais não reativos, observado no teste do labirinto em “Y”. A exploração dos braços laterais, bem como o TIBP, revelou se variáveis importantes para a detecção do impacto da ansiedade ou medo na locomoção.

Embora os dados pareçam apontar na mesma direção quanto ao comportamento de suínos no labirinto Y e os dados obtidos para ratos em teste em labirintos, a utilização do labirinto em cruz elevado indicou que suínos não apresentam o mesmo comportamento no teste quando comparados a ratos, ou seja, suínos não mostram uma maior evasão dos braços abertos em relação aos braços fechados. Sugerindo assim que o subtipo de ansiedade avaliado em ratos e suínos não pode ser avaliada como sinônimo (JANCZAK et al., 2002).

A similaridade entre machos castrados e fêmeas pode ser resultado da grande diminuição

do número de receptores de testosterona no hipotálamo daqueles animais. Essa alteração de receptores foi identificada em hamsters machos castrados antes da puberdade (ROMEO et AL., 2000), e parece contribuir para a ausência do efeito inibitório do comportamento exploratório em hamsters não castrados pela ação dos hormônios androgênicos (SWANSON, 1969; RAMOS et al., 2003; PIVINA et al., 2007).

#### 4.2.Avaliação da concentração do glicogênio muscular

Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da reatividade ou manejo pré-abate na concentração de glicogênio, independente do tempo de amostragem *post mortem* ( gráfico 12 ).

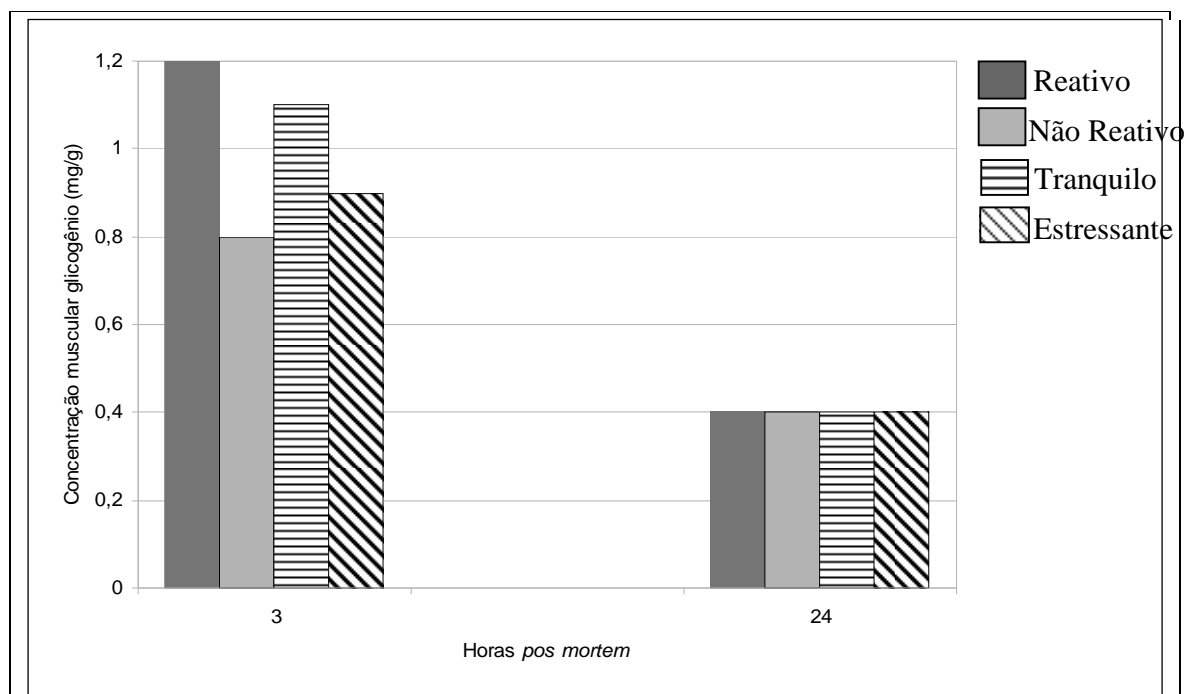


Gráfico 12 - Concentração de glicogênio no músculo *Longissimus* em mg/g, de 48 suínos (fêmeas e machos castrados) pré-selecionados quanto a reatividade e submetidos a manejo tranquilo e estressante, abatidos em frigorífico comercial

Em casos de estresse de baixa intensidade, a energia é provida pelo processo aeróbico, poupando o glicogênio para mobilização no processo de *rigor mortis*. Se o animal for abatido nesta situação, pode não apresentar diferença na concentração de glicogênio e no pH durante o período *post mortem* (HENCKEL *et al.*, 2002). Todavia, o estresse aplicado no presente trabalho, que utilizou bastão elétrico na condução dos animais imediatamente antes do abate, não pode ser considerado de baixa intensidade, portanto seria esperada uma concentração de glicogênio diferenciada para os grupos de reatividade e manejo diferenciados.

Na carne destes mesmos animais foi observada uma queda considerada normal dos valores de pH ao longo do tempo *post mortem*, porém não houve diferença do pH entre grupos de reatividade e manejos diferentes (MEDINA, 2009).

Ao contrário do que ocorreu no atual trabalho, a utilização de bastão elétrico no manejo pré-abate resultou em valores baixos de pH da carne (LUDTKE *et al.*, 2004). A redução foi associada à ocorrência de uma glicólise mais rápida resultando em uma maior velocidade de queda do pH, característica de animais submetidos a níveis elevados de estresse, que está associada a maior incidência de carne PSE (D'SOUZA *et al.*, 1998, FAUCITANO *et al.*, 1998, STOIER *et al.*, 2001).

Embora o uso de choque elétrico possa acarretar aceleração do processo de glicogenólise, existe a possibilidade de interação com estimulação do eixo simpático-adreno-medular que poderia mascarar respostas ao choque elétrico. A contração isométrica que ocorre na estimulação elétrica do músculo, não é capaz de reduzir a concentração de glicogênio de maneira significativa. No entanto o estímulo elétrico, quando associado à utilização de outro fator (administração de adrenalina), apresenta uma maior redução na concentração de glicogênio. Dessa maneira os animais submetidos a esta situação apresentam um incremento na glicogenólise

devido à contração muscular dinâmica e não devido à contração isométrica (CROUSE AND SMITH 1986). Resultados que corroboram com os achados no presente trabalho, onde não se observou alteração nas concentrações de glicogênio muscular após estimulação através de bastão elétrico.

Na insensibilização dos animais no dia do abate foi utilizado martelo pneumático não penetrante, o qual leva a uma lesão encefálica ou injúria cerebral difusa provocada pela pancada súbita e pelas alterações da pressão intracraniana, resultando na deformação rotacional do cérebro, promovendo incoordenação motora, porém mantém atividade cardíaca e respiratória (BAGER, SHAW E TAVENER, 1990; LEACH, 1985). O martelo pneumático pode ser um método de insensibilização de baixa eficiência, causando insensibilização de apenas 50 % dos animais abatidos (LAMBOOY et al., 1981). Nas condições do frigorífico comercial utilizado, os animais não foram insensibilizados de maneira eficiente, contribuindo grandemente no desencadeamento de estresse de alta intensidade, o que resultaria na resposta semelhante para as variáveis fisiológicas avaliadas pós - abate, em todos os animais. Sendo que qualquer alteração que possa ter ocorrido em função do tratamento com o choque elétrico pode ter sido mascarada pelo estresse intenso a que os animais foram submetidos no momento do abate, desencadeando respostas semelhantes de todos os animais

### **4.3 Creatina quinase**

Não foi encontrado efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para os valores de creatina quinase entre grupos de reatividade, e manejos aplicados (figura 3).

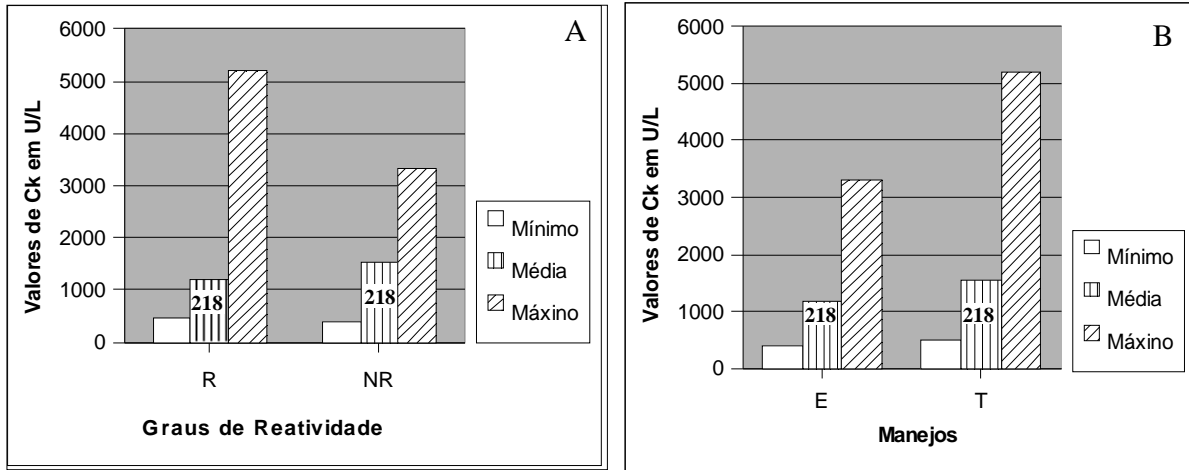


Figura 3 - Gráficos das concentrações de creatina quinase plasmática em U/L, de 48 suínos (fêmeas e machos castrados) pré-selecionados quanto a: (A) reatividade e submetidos a: (B) manejo estressante e tranquilo, abatidos em frigorífico comercial. Valores em negrito dentro das colunas referentes a média, indicam o desvio padrão

Diferentes velocidades de resposta ao estresse são encontradas entre os indicadores sanguíneos. As concentrações de creatina fosfoquinase e lactato na sangria podem refletir as condições do sistema de coleta e insensibilização. O cortisol, por exemplo, por apresentar uma resposta mais lenta, quando coletado na sangria reflete as condições de manejo pré-abate a que o animal foi submetido (SHAW E TUME, 1992; WARRIS, BROWN E ADAMS, 1994b).

Valores de creatina quinase próximos aos encontrados em nosso trabalho, são relatados em um estudo onde suínos foram abatidos em plantas comerciais, nas quais foram mensurados os níveis sonoros, sendo consideradas de baixo e alto estresse. Os valores de CPK (1436 U/L) foram maiores nos animais abatidos em plantas consideradas de alto estresse (WARRIS, BROWN E ADAMS, 1994 b). Porém as variações destes valores são muito amplas nos mais diversos estudos (WARRISS et al., 1994 a, WARRISS, et al., 1998, BARTON-GADE ECHRISTENSEN, 1999).

Os níveis plasmáticos de creatina quinase de suínos (n: 5500 animais) abatidos em cinco países da Europa, encontraram-se elevados para os animais com os maiores escores de lesões 3 e 4 (1554 e 1801U/L ), quando comparados com suínos com menores escores (1211 U/L). Sendo que os valores de CK para os animais com menor escore estão bastante próximos com os resultados apresentados no presente estudo para os animais reativos (WARRISS, et al., 1998).

#### 4.4 Lactato

Não foi encontrado efeito significativo ( $P > 0.05$ ) para os valores de lactato plasmático para os grupos de reatividade (figura 4), independente do manejo aplicado, nem interações entre estes fatores.

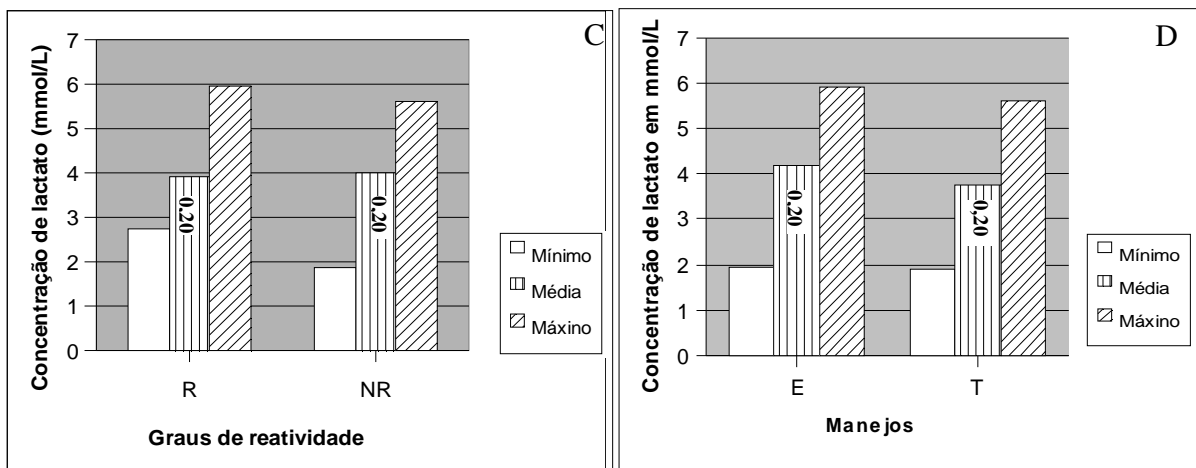


Figura 4 - Gráficos das concentrações de lactatoplasmático em mmol/L, de 48 suínos (fêmeas e machos castrados) pré- selecionados quanto a pré-selecionados quanto a: (C) reatividade e submetidos a: (D) manejo estressante e tranquilo, abatidos em frigorífico comercial. Valores em negrito dentro das colunas referentes a média, indicam o desvio padrão



Os resultados tiveram o mesmo comportamento verificado para glicogênio e creatina quinase, ou seja, as respostas que poderiam ser exibidas por estes indicadores nos diferentes grupos, não foram encontradas em função do estresse alto que os animais sofreram no momento do abate, dessa maneira o tratamento aplicado anteriormente (choque elétrico), não foi suficiente para diferenciar grupos.

Situações de alto e baixo estresse, como a criação de suínos em sistema convencional e criados ao ar livre respectivamente, não apresentaram diferença significativa quanto aos valores de lactato sanguíneo ( $6,66$  e  $6,35\text{mmol L}^{-1}$ ), coletado no momento da esxanguinação (LEBRET et al.,2006). Suínos que apresentaram alto escore de lesão corporal, possivelmente foram submetidos a uma condição altamente estressante, também não apresentaram diferenças significativas para os valores de lactato em relação aos animais sem injúrias na pele ( $7,70$  mmol/L e  $8,40$  mmol/L ) (WARRISS, et al., 1998). Aspectos relacionados ao manejo pré-abate, como a densidade de lotação durante o transporte, podem afetar grandemente a qualidade do produto final, porém este comportamento não foi observado em animais sob diferentes densidades de lotação (BARTON-GADE E CHRISTENSEN, 1999), apresentando valores ( $3,63$ ;  $3,75$ ;  $4,14$  e  $4,38$  mmol/L) próximos ao resultados do presente estudo.

Apesar de alguns trabalhos apresentarem valores de lactato plasmático superiores aos encontrados no presente estudo, nota-se que o padrão para os dados foram semelhantes, ou seja, animais submetidos a condições de alto e baixo nível de estresse apresentaram valores próximos de lactato, podendo este indicador não uma variável informativa de uma possível diferenciação no status fisiológico dos animais.

Poucas mudanças nos valores de lactato foram encontradas em suínos submetidos a estressores potenciais (animais mantidos parados forçadamente, tira de borracha colocada no maxilar dos animais, fixação da língua dos animais e estimulação elétrica), apresentando valores entre 1,45 e 3,84 mmol/L (va der WAL et al., 1986). Resultado que corrobora com os achados no presente estudo, onde os valores de lactato encontrados pelos autores estão próximos aos valores médios obtidos.

A maior intensidade de manejo na movimentação de suínos, com utilização de bastão elétrico aumentou a concentração de lactato de 4,42 para 12, 24 mmol/L (BERTOL et al., 2005), sendo que o primeiro valor se aproxima da média encontrada no presente trabalho. O tempo de jejum pode influenciar a alteração de lactato em situações estressantes pela menor quantidade de glicogênio muscular, justificando os resultados obtidos com níveis relativamente baixos de lactato. suínos submetidos a diferentes tempos de jejum (16 e 24 hs), expostos a encontros com outros animais, não apresentaram diferenças significativas quanto as concentrações de lactato plasmático entre os diferentes tempos de jejum (FERNANDEZ et al., 1995).

Suínos susceptíveis ao estresse e suínos resistentes submetidos à imobilização apresentaram um aumento de 12 vezes nas concentrações de lactato plasmático (BICKHARDT et., al.,1976). Dessa maneira, comparando as observações de outros estudos, o estresse administrado nas condições de tempo de jejum, tempo de descanso no frigorífico e método e manejo na insensibilização do nosso experimento não parece produzir a máxima concentração de lactato.

Assim, a variação entre os resultados de diversos estudos na extensão das mudanças nos parâmetros sanguíneos e os nossos resultados, são provavelmente devido às diferenças entre a intensidade e a duração do fator estressor.

A amplas variações individuais de alguns indicadores fisiológicos de estresse como o cortisol, lactato e CPK implica que existe uma considerável variação tanto no nível de estresse imposto em cada animais ou em sua resposta a esse estresse, ou ambos. Variação na resposta seria atribuída à variação genética, possivelmente interagindo com a criação do ambiente. Compreender as causas de qualquer tal variação poderia ser a chave para futuras melhorias no bem-estar e qualidade do produto.

#### 4.5 Temperatura

A temperatura média dos animais que passaram por um manejo tranqüilo foi menor ( $P < 0,05$ ) que a temperatura dos animais que sofreram o manejo estressante (gráfico 13).

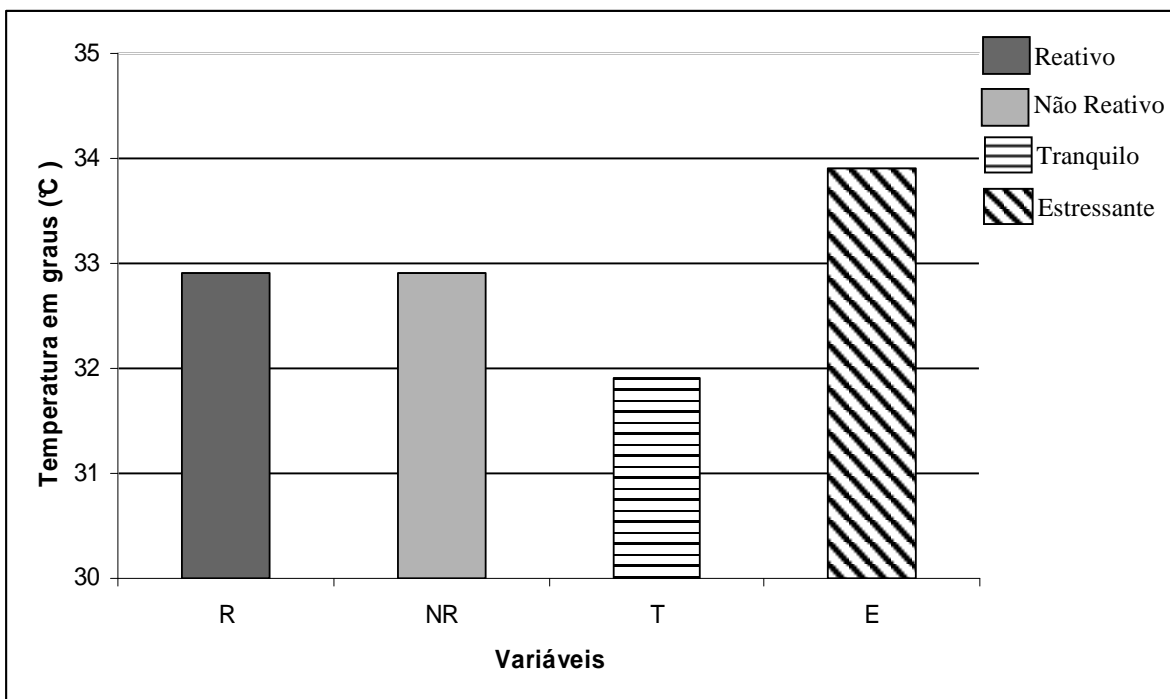


Gráfico 13 - Temperatura média da superfície corporal da superfície externa da orelha de 48 suínos (fêmeas e machos castrados) pré-selecionados quanto a reatividade e submetidos a manejo tranqüilo e estressante abatidos em frigorífico comercial

Normalmente animais que apresentam uma maior temperatura corporal são indicativos de terem sofrido mais estresse. O que corrobora com os achados do presente estudo, porém esta diferenciação não foi evidenciada entre os grupos de reatividade, mas sim entre os grupos de manejo. Dessa maneira podemos presumir que independente da reatividade, o animal vai responder ao manejo a ele aplicado, sendo que sua diferenciação anterior em função da reatividade não vai ser a única variável responsável pelas respostas fisiológicas apresentadas.

A estimulação do eixo simpático-adreno-medular pelo estresse, provavelmente conduz a uma redistribuição do sangue e promove mudanças sutis na temperatura periférica do corpo. Mudanças na temperatura da superfície corporal são resultantes das respostas vasomotoras que são mais altas nas extremidades do corpo do que nas regiões centrais (GAGGE et al., 1938 E STOMBAUGH E ROLLER, 1977). Uma vez que mudanças nas extremidades corporais são mais altas, a temperatura superficial da orelha pode ser uma boa medida da resposta termorregulatória em suínos.



## 5 CONCLUSÕES

O teste do labirinto “Y” apresenta variáveis com potencial para detecção de grupos quanto a reatividade.

O gênero não influencia nos resultados de reatividade pelo teste do labirinto Y.

A reatividade determinada pelo teste do labirinto em Y não determina alteração em medidas fisiológicas de estresse relacionadas com transformação de músculo em carne.

O manejo pré-abate pode alterar a resposta fisiológica independentemente da reatividade do animal determinada pelo teste comportamental.



## REFERÊNCIAS

ARNOLD; G.W. MAILER ; R.A. Effects of nutritional experience in early adult life on the performance and dietary habits of sheep. **Applied Animal Ethology** , Amsterdam, v.3, p.5-26, 1977.

BAGER; F.; SHAW, F.D.; TAVENER, A.. Comparison of EEG and ECoG for detecting cerebrocortical activity during slaughter calves. **Meat Science**, Oxon, v.27, n.3, p.211-225, 1990.

BARNETT, S.A. Movements in the living space. In: \_\_\_\_\_ **The rat. A study in behavior**. Chicago: Aldine Publications, 1975. p 30-50,

BARTON-GADE, P.;CHRISTENSEN; L. Transportation and pre-stun handling: CO<sub>2</sub>-Systems | **Danish Meat Research Institute**, Manuscript n° 1430E, 1999.

BERTOL, T. M.; M. ELLIS, D. N. HAMILTON; AND M. J. RITTER. Effects of dietary | supplementation with L-carnitine and fat on blood acid-base responses to handling in slaughter weight pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 8, p.75–81, 2005.

BICKHARDT, K., A. WIRTZ AND F. MAAS. Production of lactic acid in different stress | situations in pigs. In: BAGER; F.; SHAW, F.D.; TAVENER INTERNATIONAL CONFERENCE ON PRODUCTION DISEASE IN FARM ANIMALS, 3., 1976. Wageningen. **Proceedings...** Wageningen:Centre for Agricultural Publishing and Documentation, . p.163-166.

BOISSY, A. **Fear and fearfulness in animals. The Quarterly Review of Biology**. Baltimore, , | v. 70, n. 2,p. 165-191, 1995.

BOISSY, A. Fear and fearfulness in determining behavior. In: GRANDIN, T. ( Ed. ). **Genetics and the behavior of domestic animals**. New York: Academic Press, 1998 . p. 67–111.

BOISSY, A.;I. VEISSIER ; ROUSSEL, S. Behavioural reactivity affected by chronic stress: an | experimental approach in calves submitted to environmental instability. **Animal Welfare** 10(Suppl.), p.S175-S185, 2001.

CROUSE JD; SMITH SB. Bovine longissimus muscle glycogen concentration in response to | isometric contraction and exogenous epinephrine. **American Journal of Veterinary Research** , Schaumburg, v.47, p. 939–941, 1986.

DAWKINS, M. Welfare and the structure of a battery cage: size and cage floor preferences. | **British Veterinary Journal** , London, v.134, p.469-475, 1978.



DAWKINS, M. Minding and mattering. In: BLAKEMORE, C.; GREENFIELD, S. (Ed.). **Mindwaves**. Oxford: Blackwell, 1987. p. 151 – 162.

DEMBER, W.N.; RICHMAN, C.L. **Spontaneous alternation behaviour**. New York Springer-Verlag, 1989. p.17-23.

D.P. STOMBAUGH AND W.L. ROLLER, Temperature regulation in young pigs during mild cold and severe heat stress. *Trans. ASAE*, v.2,n 32 .p. 1110–1118, 1977.

D'SOUZA, D.N.; DUNSHEA, F.R.; WARNER, R.D.; LEURY, B.J.. The effect of handling preslaughter and carcass processing rate post-slaughter on pork quality. **Meat Science**, Barking, v.50, p.429-437, 1998.

DO REGO, C. , A.F. VIANA, A. F., LE MAÎTRE, E., DENIEL, A., RATES AND I. S.M.K LEROUX-NICOLLETL. Comparisons between anxiety tests for selection of anxious and non anxious mice. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 169, p. 282–288, 2006.

DUNCAN, I.J.H. Behavioural wisdom lost? **Applied Animal Ethology**, v.3, p. 193-194, 1978.

DUNCAN, I.J.H. AND PETHERICK, J.C. Cognition: the implications for animal welfare. **Animal Behavior Science**, Saskatchewan v. 24, p.81, 1989.

EIKELENBOOM, G. ;BOLINK, A. H. Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. **Meat Science**, Barking v. 29, p. 25-30, 1991.

FAUCITANO, L.; MARQUARDT, L.; OLIVEIRA, M.S.; COELHO, S.; TERRA, N.N. The effects of two handling and slaughter systems on skin damage, meat acidification and colour in pigs. **Meat Science**, Barking, v. 50, 13–19, 1998.

FERNANDEZ, X., M. C. MEUNIER-SALAUN, P. ECOLAN, AND P. MORMEDE. Interactive effect of food deprivation and agonistic behavior on blood parameters and muscle glycogen in pigs. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v.58, p 337–345, 1995.

GAGGE, A.P. WINSLOW C.E.A; HERRINGTON L.P, The influence of clothing on the physiological reactions of the human body to varying environmental temperatures, **American Journal of Physiology**. Bethesda.v. 124, p. 30–50, 1938.

GARIEPY, C., AMIOT, J., NADAI, S. Ante mortem detection of PSE and DFD by infrared thermography of pigs before stunning. **Meat Science**, Barking, v. 25, p. 37–41, 1989.

- GISPERT, M.; FAUCITANO, L.; GUARDIA, M.D.; OLIVER, M.A.; SIGGENS, K.; HARVEY, K.; DIESTRE, A. A survey on pre-slaughter conditions, halothane gene frequency and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. **Meat Science**, Barking, v.55, p.97-106, 2000.
- GLOSLING, S. D.; JOHN, O. P. Personality dimensions in nonhuman animal: a cross-species review. **Current Directions in Psychological Science**, Rochester, v. 8, p. 69-75, 1999.
- GRANDIN, T. Observations of cattle behavior applied to the design of cattle handling facilities. **Applied Animal Ethology**, Amsterdam, v.6, p. 19, 1980.
- GRANDIN, T., CURTIS, S.E., WIDOWSKI, T.M. AND THURMAN, J.C., Electro-immobilization versus mechanical restraint in an avoid-avoid animal choice test for ewe. **Journal Animal Science**. Champaign, v.62, p. 1469-1480, 1986.
- GRAY, J.A.; LALLJEE, B. Sex differences in emotional behavioral in the rat: correlation between open-field defecation and active avoidance. **Animal Behaviour**, London, v. 22, p. 856-861, 1974.
- HARRO, J., KIIVET, R.A., LANG, A. and VASAR, E. Rats with anxious or non-anxious type of exploratory behavior differ in their brain CCK-8 and benzodiazepine receptor characteristics. **Behavior Brain Research**, Amsterdam, v. 39, p. 63–71, 1990.
- HASSID, W. Z., ABRAHAMS, S. Chemical Procedures for Analysis of polisaccharides. *Methods Enzimol.*, v.3, p.34-51, 1957.
- HEMSWORTH, P.H., COLEMAN, G.J. **Human–Livestock Interactions**. Wallingford, UK.: CAB International, 1998. p-234-236.
- HENRY, J. P.; STEPHENS-LARSON, P. Specific effects of stress on disease processes. In: MOBERG, G. P. (Ed.). **Animal stress**. Baltimore: The willians & Wilkins., 1985. p. 161-175.
- HITCHCOCK, D.K. AND HUTSON, G.D. The movement of sheep on inclines. AMOBERG, G.P. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? In: MOBERG, G.P. **Animal Stress**. Bethesda, Maryland, American Physiological Society, 1985, p.456-496. **Journal Experimental Agriculture**, Hush, v. 19, p. 176-182, 1979.
- HENCKEL, P., KARLSSON, A., JENSEN, M. T., OKSBJERG, N., E PETERSEN, J. S. Metabolic conditions in porcine longissimus muscle immediately pre-slaughter and its influence on peri- and post mortem energy metabolism. **Meat Science**, Barking, v. 62, p. 145–155, 2002.
- HUGHES, B.O. Preference decisions of domestic hens for wire or litter floors. **Applied Animal Ethology**, Amsterdam, v. 2, p.155-165, 1976.
- HUGHES, B.O. Behavioural wisdom and preference tests. **Applied Animal Ethology**, Amsterdam v. 3, p.391-392, 1977.

HUTSON, G.D. Sheep movement on slatted floors. **Journal Experiment Agriculture and Animal Husbandry**, Victoria, v. 21, p. 474-479, 1981.

JAGO, J.G., KROHN, C.C., MATHEWS, L.R. The influence of feeding and handling on the development of the human-animal interactions in young cattle. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 62, 137–151, 1999.

JANCZAK et al., 2002. A.M. JANCZAK, I.L. ANDERSEN, K.E. BØE, G. FAEREVIK AND M. BAKKEN. Factor analysis of behaviour in the porcine and murine elevated plus-maze models of anxiety, **Applied Animal Behavioural Science**, Amsterdam, v. 77, p. 155–166, 2002.

JANSEN, P.; TOATES, F. M. Stress a state of motivational systems. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 53, p. 145-156, 1997.

JUDGE, M.; ABERLE, E. D.; FORREST, J. C.; HEDRICK, H.B.; MERKEL, R.A. (Ed.) **Principles of meat science**. Dubuque: Kendall/Hunt, 1989. 351 p.

KLONT, R.; LAMBOOJ, E.W. Effects of preslaughter muscle exercise on muscle metabolism and meat quality in anaesthetized pigs of different halothane genotypes. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 108–117, 1995.

KREBS N, J. MCGLONE, T. Pig behavioral response to biologically relevant and non-relevant odors. **Journal of Animal Science**, St. Louis. v. 83, Suppl. 1, p.278-279.

LAMBOOY, E., SPANJAARD, W., EIKELENBOOM, G. **Concussion stunning of veal calves**. Fleischwirtschaft, Frankfurt, v.61, n.1, p.98-100, 1981.

LAZARUS, R.S.; FOLKMAN, S. **Stress, appraisal and coping**. New York: Springer Publishing, 1984. 62p.

LAWRENCE, A.B.; TERLOUW, E.M.C.; ILLIUS, A.W. Individual differences in behavior responses of pigs exposed to non-social and social challenges. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 30, p. 76-83, 1991.

LEACH, T.M. Pre-slaughter stunning. In: LAWRIE, R., (Ed.). **Developments in meat science** London: Elsevier Appl. Sci. Publ., 1985. p.51-87.

LEBRET, B., MEUNIER-SALAÜN M. C., FOURY A., MORMÈDE P., DRANSFIELD E., AND DOURMAD J. Y. Influence of rearing conditions on performance, behavioral, and physiological responses of pigs to preslaughter handling, carcass traits, and meat quality. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.84, p.2436-2447, 2006.

LEVINE, S.; URSIN, H. What is stress? In: BROWN, M. R. (Ed.). **Stress: neurobiology and neuroendocrinology**. New York: Marcel Dekker, 1991. p.51-87.

LISTER, D. Muscle metabolism and animal physiology in the dark-cutting condition. In: FABIANSSON, S.U. **Dark-cutting in cattle and sheep, of an AUSTRALIAN WORKSHOP**. 1989. Sydney, **Proceedings ...Australia: Australian Meat E Live-stock Research E Development Corporation**, 1989. p.19-25.

LUDTKE, C.B. **Influência do estresse no manejo pré-abate na qualidade da carne suína**. 2007. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2004.

LUMEIJ, J. T.; MEIDAM, M., WOLFSWINKEL, J., VAM DER, HAGE, M.H.; DORRENSTEIN, G.M. Changes in plasma chemistry after drug-induced liver disease or muscle necrosis in racing pigeons (*Columbia livia domestica*). **Avian Pathology**, Huntingdon, v. 17, p. 865-874, 1988.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER; A. F.; SILVEIRA, R. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 25, n. 1. p. 65-74, 2003.

MARIN, R.H. ; JONES, R.B. T-maze behaviour in broiler chicks is not sensitive to right-left preferences, test order or time-of-day. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 68, p. 207-214, 2000.

McEWEN, B. S.; STELLAR, E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 153, p. 2093-2101, 1993.

MEDINA, I.M. **Manejo pré-abate de suínos com reatividades divergentes e os seus impactos na bioquímica muscular pós-abate**. 2009. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MEER, P. V.; RABER, J. Mouse behavioural analysis in systems biology. **Biochemical Journal**, London, v. 389, p. 593–610, 2005.

MITCHELL, M.A.; KETTLEWELL, P. J.; MAXWELL, M. H. Indicators of physiological stress in broiler chickens during road transportation. **Animal Welfare**, Washington, v. 1, p. 91-103, 1992.

MITCHELL, M. A.; SANDERCOCK, D.A. Creatine kinase isoenzyme profiles in the plasma of the domestic fowls (*Gallus domesticus*): effects of acute heat stress. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 59, p. 30-34, 1995.

MOBERG, G.P. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? In: MOBERG, G.P. **Animal Stress**. Bethesda, Maryland, American Physiological Society 1985. , p.456-496.

MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novelty stimulation and exploratory behaviour. **Journal of Comparative Physiology**, Berlin, v.48, p.254-260, 1955.

N.J. LEWIS AND R.J. BERRY, Effects of season on the behaviour of early-weaned piglets during and immediately following transport. **Applied. Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 100, p. 182–192, 2006.

PAJOR, E.A., RUSHEN, J., DE PASSILLE, A.M.B. Dairy cattle's choice of handling treatments in a Y-maze. **Applied. Animal Behavior Science**, Amsterdam, v.80, p.93–107, 2003.

PELLOW, S.; CHOPIN P.; FILE, S.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, EUA, v.14, p. 149–167, 1985.

PIVINA, S. G.; AKULOVA, V. K.; ORDYAN, N. E. Characteristics of behavior and stress reactivity of the hypophyseal-adrenocortical system in rats with prenatal inhibition of testosterone metabolism. **Neuroscience and Behavioral Physiology**, Washington, v. 37, p. 53-58, 2007.

POLLARD, J.C., LITTLEJOHN, R.P. AND SUTTIE, M. Responses of red deer to restraint versus no restraint in a Y maze preference test. **Australian Society for the Study of Animal Behaviour**, Department of Psychology, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand. 1993.

RIBEIRO, R.L, ANDREATINI, C. WOLFMAN, H. VIOLA, J. H. MEDINA AND C. DA CUNHA, The “anxiety state” and its relation with rat models of memory and habituation. **Neurobiology of Learning and Memory**, New york, v. 72, p. 78–94, 1999.

RÄGO, L.; KIIIVET, R.A.; HARRO, J.; PÕLD, M. Behavioral differences in an elevated plus-maze: correlation between anxiety and decreased number of GABA and benzodiazepine receptors in mouse cerebral cortex. **Naunyn-Schmiedberg's Archives Pharmacology**, Berlin, v. 337, p. 675–678, 1988.

RÄGO, L.; ADOJAAN, A.; HARRO, J.; KIIIVET, R.A. Correlation between exploratory activity in an elevated plus-maze and number of central and peripheral benzodiazepine binding sites. **Naunyn-Schmiedberg's Archives Pharmacology**, Berlin, v. 343, p. 301–306, 1991.

RAMOS, A.; CORREIA, E. C.; IZÍDIO, G. S.; BRÜSKE, G. R. Genetic selection of two new rat lines displaying different levels of anxiety-related behaviors. **Behavior Genetics**, New York, v. 33, p. 657-668, 2003.

RAT BEHAVIOR AND BIOLOGY. Disponível em: <<http://www.ratbehavior.org/>>. Acesso em: 23 Nov. 2007.

ROGERS L. J.; SINK H.S. Transient asymmetry in the projections of the rostral thalamus to the visual hyperstriatum of the chicken, and reversal of its direction by light exposure. **Experimental Brain Research**, Berlin, v.70, p. 378-384, 1988.

ROLLIN, B.E. The unheeded cry. **Animal Consciousness, Animal Pain and Science**. Iowa State University Press, Ames, 1989. 330p.

ROMEO, R.D.; DIEDRICH, S.L.; SISK, C.L. Effects of gonadal steroids during pubertal development on androgen and estrogen receptor- $\alpha$  immunoreactivity in the hypothalamus and amygdale. **Journal of Neurobiology**, New York, v. 44, p. 361-368, 2000.

RUSHEN, J. The validity of behavioural measures of aversion: a review. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam. v. 16, p.309–323, 1986.

RUSHEN, J., DE PASSILLE, A.M.B., MUNKSGAARD, L. Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 82, p.720–727, 1999.

SAYRE, R.N., KIERNAT, B., BRISKEY, E.J. Processing characteristics of porcine muscle related to pH and temperature during rigor mortis development and to gross morphology 24 hr post mortem. **Journal of Food Science**, Chicago, v.29, v.2, p. 175–81, 1964.

SCOTT, K.A.; TORREY, S.; STEWART, T.; WEAVER, S.A. Pigs selected for high lean growth exhibit increased anxiety in response to humans. **SOCIETY OF NEUROSCIENCES**, 30., 2000. . **Proceedings... annual meeting abstract #177.15**, 2000.

SCANDINAVIAN Society For Clinical Chemistry Scand J. Clin. Lab. INVEST., 1974, 33, 291

SCHAEFER, A. L., S. D. M. JONES, A. C. MURRAY, A. P. SATHER, AND A. K. W. TONG. Infrared thermography of pigs with known genotypes for stress susceptibility in relation to pork quality. **Canadian of Journal Animal Science**, Ottawa ,v.69, p. 491–495, 1989.

SEABROOK, M.F. Psychological interaction between the milker and the dairy cow. In: BUCKLIN, R. (Ed.). Dairy Systems for the 21st Century. **ASAE**, St. Joseph, MI, p. 49–58, 1994.

SHAW F. D, R.K. TUME. The assessment of pre-slaughter and slaughter treatments of livestock

by measurement of plasma constituents-A review of recent work . **Meat Science**, Barking, v. 32 p. 311, 1992.

SHAW, F.D.; TROUT, G.R. Plasma and Muscle Cortisol Measurements as Indicators of Meat Quality and Stress in Pigs. **Meat Science**, Barking, v.39, 237-246, 1995.

SHOUTEN, W.G.P.; WIEPKEMA, P.R. Coping styles of tethered sows. **Behavioural Processes**, Amsterdam, v. 25, p. 125-132, 1991.

SILLER, W.G.; WIGHT, P. A. L.; MARTINDALE, L; BANNISTER, D.W. Deep pectoral myopathy: an experimental simulation in the foel. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 24, p. 267-268, 1978.

SKIBA M, DIEKAMP B, GÜNTÜRKÜN O. Embryonic light stimulation induces different asymmetries in visuoperceptual and visuomotor pathways of pigeons. **Behavior Brain Research**, Amsterdam, v.134, p. 149-156, 2002.

SLUYTER, F.; KORTE, S. M.; BOHUS, B.; VAN OORTMERSEN, G. A. Behavioral stress response of genetically selected aggressive and non-aggressive wild house mice in the shock-probe/defensive burying test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, New York, v. 60, p. 1403-1407, 1996. Duncan, I.J.H. Behavioural wisdom lost? **Applied Animal Ethology**, Amsterdam, v.3, p. 193-194, 1977.

STELLA, I.V. **Comportamento suíno, interações com Ractopamina e suas possíveis implicações na qualidade da carne.** 2007. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

STOIER, S.; AASLYNG, M.D.; OLSEN, E.V.; HENCKEL, P. The effect of stress during lairage and stunning on muscle metabolism and drip loss in Danish pork. **Meat Science**, Barking. v. 59, p. 127-131, 2001

STOLBA, A.; WOOD-GUSH, D.G.M. The behaviour of pigs in a semi-natural environment. **Animal Production**, Edinburgh, v. 48, p. 419–425, 1989.

STOMBAUGH, D.P.; ROLLER, W.L. Temperature regulation during lactation affect in young pigs during mild cold and severe heat stress. *Trans. ASAE*, v. 20, p. 1110–1118, 1977.

STOWELL, J.R.; KIECOLT-GLASER, J. K.; GLASER, R. Perceived stress and cellular immunity: when coping counts. **Journal of Behavioral Medicine**, New York, v. 24. p. 323-339, 2001.

STUDNITZ, M.; JENSEN, M. B.; PEDERSEN, L. J. Why do pigs root and in what will they

root? A review on the exploratory behaviour of pigs in relation to environmental enrichment. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, doi:10.1016/j.applanim.2006.11.013, 2006.

SWANSON, H. H. Interaction of experience with adrenal and sex hormones on the behaviour of hamsters in the open field test. **Animal Behaviour**, London, v. 17, p. 148-154, 1969.

TALLING, J.C. **Porcine perception of auditory stimuli**. 1986. ??p. thesis(Unpublished Ph.D.)-University of Edinburgh, 1986.

TERLOUW C. Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: genetic background and prior experience. A brief review of recent findings, **Livestock Production Science**, Amsterdam v.94 , p. 125–136, 2005.

THOMAS L. **Clinical laboratory diagnostics**. Frankfurt: TH.Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 160-166.

VAN ROOIJEN, J. The value of choice tests in assessing welfare of domestic animals. **Applied Animal Ethology**, Amsterdam v. 8, p. 295-299, 1982.

WAL, P. G. ,Van der, B. ENGEL, G. VAN ESSEN, AND H. G. HULSHOF. Changes in blood acid-base characteristics, haemoglobin and lactate concentrations due to increasing moderate stress in pigs. **Netherlands Journal of Agricultural Science** ,Amsterdam, v. 34,p.109–111, 1986.

WARRISS, P.D.; BROWN,S.N. The survey of mortality in slaughter pigs during transport and lairage. **The Veterinary Record**, London, v. 134, p. 513-515, 1994 a.

WARRISS, P.D.; BROW, S.N.; ADAMS, S.J.M. Relationships between subjective and objective assessments of stress at slaughter and meat quality in pigs. **Meat Science**, Barking, v.38, p.329-340, 1994 b.

WARRISS, P. D.; BROW, S. N. ; BARTON GADE, P.; SANTOS, C.;NANI COSTA, L.; LAMBOOIJ, E.; GEERS, R. An analysis of data relating to pig carcass quality indices of stress collect in the European Union. **Meat Science**, Barking, v.49, p.137-144, 1998.

WARRISS, P. D., POPR, S. J., BROWN, S. N., WILINS, L. J. AND KNOWLES, T. G. Estimating the body temperature of groups of pigs by thermal imaging. **Veterinary Record**, Amsterdam, v. 158, p.331-334, 2006.



WEAVER, S. A, F. X. AHERNE, M. J. MEANEY, A. L. SCHAEFER, AND W. T. DIXON. Neonatal handling permanently alter hypothalamic-pituitary-adrenal axis function, behaviour, and body weight in boars. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v.164, p.349–359, 2000.

WIEPKEMA, P. R. Behavioural aspects of stress. In: WIEPKEMA, P. R.; VAN ADRICHEM (Ed.). **Biology of stress in farm animals**. An integrative approach. Dordrecht: Martinus Nijhoff. 1987. 77p.

WIEPKEMA, P. R.; KOOLHAAS, J. M. Stress and animal Welfare. **The Animal Welfare Institute quarterly**, Washington v. 2, p. 195-218, 1993.

WOLFF, A., HAUSBERGER, M., LE SCOLAN, N. Experimental tests to assess emotionality in horses. *Behav. Process.* 40, 209 /221. DUNCAN, I.J.H.; PETHERICK, J.C., 1989. Cognition: the implications for animal welfare. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, p. 24-81, 1997.