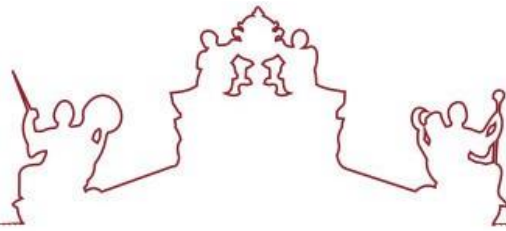




UNIVERSIDADE
DE ÉVORA



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Zootécnica

Dissertação

Indicadores de Bem-Estar Animal em suínos na fase de
crescimento e engorda

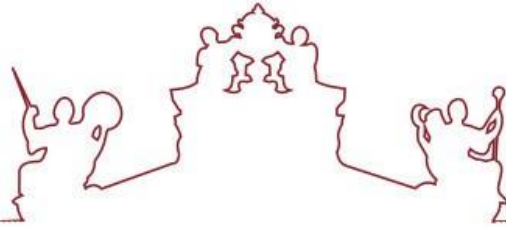
Catarina Guerreiro Martins

Orientadores | Vasco Manuel Fitas da Cruz
Alfredo Manuel Franco Pereira
Elsa Cristina Carona de Sousa Lamy

Évora 2020



UNIVERSIDADE
DE ÉVORA



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Zootécnica

Dissertação

Indicadores de Bem-Estar Animal em suínos na fase de
crescimento e engorda

Catarina Guerreiro Martins

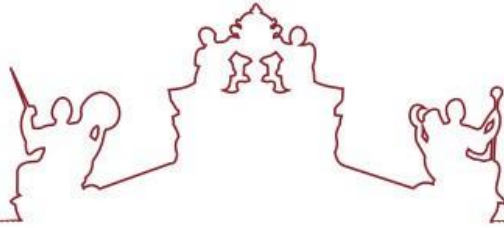
Orientadores | Vasco Manuel Fitas da Cruz
Alfredo Manuel Franco Pereira
Elsa Cristina Carona de Sousa Lamy

Évora 2020





UNIVERSIDADE
DE ÉVORA



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Fernando Paulo de Sousa e Sá Correia Marques (Universidade de Évora)

Vogais | Vasco Manuel Fitas da Cruz (Orientador)

Rui Miguel Carracha Charneca (Universidade de Évora) (Arguente)

Évora, 2020





AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação foi possível com o auxílio e incentivo de diversas pessoas, os quais foram imprescindíveis para a conclusão da mesma, pelo que lhes estarei eternamente grata.

Ao Professor Doutor Vasco Manuel Fitas da Cruz, professor do Departamento de Engenharia Rural da Universidade de Évora, orientador principal do projeto do qual fiz parte durante 3 anos, o Projeto AWARTECH, e da presente dissertação. Destaco-o por todo o conhecimento e ensinamentos partilhados e toda a amizade e companheirismo demonstrados, que foram fundamentais tanto para o meu crescimento tanto a nível profissional como a nível pessoal.

À investigadora na Universidade de Évora, Dr^a. Elsa Lamy, que foi muito importante não só nos trabalhos laboratoriais e na organização dos dados recolhidos, como na dissertação em si. A sua paciência, calma e forma de lidar com todos os tipos de imprevistos foram uma grande lição que levo para a vida.

Ao Professor Doutor Alfredo Manuel Franco Pereira, professor do Departamento de Zootecnia da Universidade de Évora, o meu sincero agradecimento pela orientação e auxílio prestados, principalmente a nível estatístico, que foram fulcrais para este trabalho chegar a bom porto.

Aos colegas de trabalho do Projeto AWARTECH, Teresa Morgado, David Botas e José Carlos Rico, não posso deixar de agradecer pelos 3 anos que percorremos juntos. Destaco, com muito apreço, a minha grande amiga Teresa, que foi uma pessoa fundamental em todas as fases do Projeto e da vida. Foi, e continua a ser, tão bom ter alguém ao nosso lado que nos impulsiona a voar. Ao Jorge Marques, colega de curso e, temporariamente, colega de trabalho, depois de todas as fases que não me deixou desanimar, não há palavras para agradecer por toda a paciência em me ouvir e aconselhar, dentro e fora de casa.



Às minhas colegas de curso e companheiras de muitas jornadas: Catarina Carujo, Daniela Paulo, Rita Borges Ferreira e Sara Amaral por toda a amizade, força, coragem e por nunca me deixarem desamparada.

Aos que sempre estiveram lá para mim, pais, irmãs e avô Adelino, por tudo o que fizeram e continuam a fazer por mim. O seu apoio incondicional, amizade, paciência e total ajuda em todas as fases da vida foram muito importantes para chegar onde cheguei. A eles, dedico este trabalho.



“Indicadores de Bem-Estar Animal em Suínos na Fase de Crescimento e Engorda”

RESUMO

A presente dissertação teve como objetivo avaliar a influência das condições ambientais em indicadores comportamentais e fisiológicos de bem-estar animal (BEA) em suínos. Num período de 60 dias, 7 fêmeas foram sujeitas a 4 situações ambientais: período de habituação em termoneutralidade (TN1), Frio (F), termoneutralidade (TN2) e Calor (C) com 15 dias de duração cada. Através de ferramentas de zootecnia de precisão e análises laboratoriais foram estudados indicadores comportamentais como o índice de proximidade (IP) e o número de visitas ao comedouro; e fisiológicos como a temperatura superficial (ts) e retal (tr), níveis sanguíneos da hormona T3, cortisol e alfa-amílase e salivares das duas últimas. Verificaram-se diferenças significativas, quer nos indicadores comportamentais, quer nos fisiológicos de acordo com as variações ambientais destacando-se, entre outras, a diminuição do índice de proximidade na situação C ($p < 0.001$) e o aumento da hormona T3 na situação F ($p < 0.05$).

Os resultados obtidos realçam o potencial do uso de ferramentas de zootecnia de precisão para avaliação do BEA de suínos e a importância do ambiente térmico nos indicadores comportamentais e fisiológicos de BEA em suínos recomendando-se, para estes últimos, a realização de estudos mais aprofundados, principalmente em relação aos indicadores hormonais.

Palavras-chave: Bem-Estar Animal, Suínos, Avaliação do Bem-Estar Animal, Indicadores Comportamentais, Indicadores Fisiológicos.



“Animal Welfare Indicators in Pigs in the Growth and Fattening Phase”

ABSTRACT

This dissertation aimed to evaluate the influence of environmental conditions on behavioral and physiological indicators of animal welfare in swine. In a period of 60 days, 7 females were subjected to 4 environmental situations: period of habituation in thermoneutrality (TN₁), Cold (F), thermoneutrality (TN₂) and Heat (C) with a duration of 15 days each. Through precision livestock tools and laboratory analyzes, behavioral indicators such as the proximity index (IP) and the number of visits to the feeder; and physiological variables such as surface temperature (ts) and rectal (tr), blood levels of the hormone T3, cortisol and alpha-amylase and salivary from the last two were studied. There were significant differences, both in behavioral and physiological indicators according to environmental variations, with emphasis on the decrease in the proximity index in situation C ($p < 0,001$) and the increase in hormone T3 in the situation F ($p < 0,05$).

The results obtained highlight the potential of the use of precision livestock tools for the assessment of swine welfare and the importance of the thermal environment in the behavioral and physiological indicators of welfare in swine, recommending, for the latter, more in-depth studies, mainly in relation to hormonal indicators.

Keywords: Animal Welfare, Pigs, Animal Welfare Assessment, Behavioral Indicators, Physiological Indicators.



ÍNDICE

| | |
|--|------------|
| ÍNDICE | V |
| ÍNDICE DE FIGURAS | IX |
| ÍNDICE DE TABELAS | X |
| ÍNDICE DE QUADROS | X |
| LISTA DE ABREVIATURAS | XII |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1 BEM-ESTAR ANIMAL E STRESS | 3 |
| 2.2 INDICADORES DE BEM-ESTAR ANIMAL EM SUÍNOS NA FASE DE CRESCIMENTO E ENGORDA | 6 |
| 2.2.1 INDICADORES COMPORTAMENTAIS | 6 |
| i. Comportamento alimentar, de abeberamento e de excreção | 7 |
| ii. Comportamento social | 11 |
| iii. Comportamento exploratório | 14 |
| iv. Comportamentos associados com a locomoção e postura | 15 |
| 2.2.2 INDICADORES FISIOLÓGICOS | 17 |
| i. Temperaturas superficial e interna | 17 |
| ii. Hormonas da Tireoide (T3 e T4) | 19 |
| iii. Cortisol sanguíneo | 20 |
| iv. Cortisol salivar | 23 |
| v. Alfa-amilase sanguínea | 25 |
| vi. Alfa-amilase salivar | 25 |
| 2.2.3 INDICADORES PRODUTIVOS | 27 |
| 2.2.4 INDICADORES SANITÁRIOS | 27 |
| 2.3 A INOVAÇÃO NA RECOLHA DOS INDICADORES DE BEA | 28 |



| | | |
|------------|---|-----------|
| 2.3.1 | CONSUMO ALIMENTAR | 28 |
| 2.3.2 | ÍNDICE DE PROXIMIDADE | 29 |
| 2.3.3 | VOCALIZAÇÃO | 31 |
| 2.3.4 | TEMPERATURA SUPERFICIAL | 32 |
| 2.4 | SÚMULA E OBJETIVOS DO TRABALHO EXPERIMENTAL | 33 |
| 3. | <u>MATERIAIS E MÉTODOS</u> | 34 |
| 3.1 | MATERIAIS | 34 |
| 3.1.1 | INSTALAÇÕES | 34 |
| 3.1.2 | ANIMAIS | 37 |
| i. | Caraterização dos animais | 37 |
| ii. | Procedimentos iniciais | 37 |
| | Chegada dos animais | 37 |
| | Período de habituação | 37 |
| | • Habituação ao espaço e à máquina de alimentação | 38 |
| | • Habituação à presença humana | 38 |
| | • Habituação à recolha dos indicadores fisiológicos | 39 |
| 3.2 | PROCEDIMENTO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL | 39 |
| 3.2.1 | RECOLHA DOS DADOS DO AMBIENTE TÉRMICO | 40 |
| 3.2.2 | RECOLHA DOS DADOS PRODUTIVOS | 40 |
| 3.2.3 | RECOLHA DOS INDICADORES DE BEA | 41 |
| i. | Dados comportamentais | 41 |
| ii. | Dados fisiológicos | 41 |
| 3.2.4 | TRATAMENTO DAS AMOSTRAS | 43 |
| i. | Dados comportamentais | 43 |
| ii. | Dados fisiológicos | 44 |
| 3.3 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 48 |



| | |
|--|-----------|
| 4. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS | 50 |
| 4.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS | 50 |
| 4.1.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS INTERIORES: T_i (INTERIOR MÉDIA, MÁXIMA E MÍNIMA) E HR_i (MÉDIA, MÁXIMA E MÍNIMA) | 50 |
| 4.1.2 CONDIÇÕES AMBIENTAIS EXTERIORES: T_o (INTERIOR MÉDIA, MÁXIMA E MÍNIMA) E HR_o (MÉDIA, MÁXIMA E MÍNIMA) | 51 |
| 4.2 DADOS PRODUTIVOS | 51 |
| 4.3 VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS | 51 |
| 4.3.1 ÍNDICE DE PROXIMIDADE | 52 |
| 4.3.2 NÚMERO DE VISITAS AO COMEDOURO (TOTAL, COM ALTERAÇÃO DO PESO E SEM ALTERAÇÃO DO PESO) | 53 |
| 4.4 VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS | 53 |
| 4.4.1 TEMPERATURAS SUPERFICIAL E RETAL | 53 |
| 4.4.2 CONCENTRAÇÃO DE T3 | 54 |
| 4.4.3 CORTISOL SANGUÍNEO | 55 |
| 4.4.4 CORTISOL SALIVAR | 56 |
| 4.4.5 A –AMILASE SANGUÍNEA | 57 |
| 4.4.6 A –AMILASE SALIVAR | 57 |
| 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS | 59 |
| 5.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS | 59 |
| 5.2 PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS | 59 |
| 5.2.1 ÍNDICE DE PROXIMIDADE | 59 |
| 5.2.2 NÚMERO DE VISITAS AO COMEDOURO (TOTAL, COM ALTERAÇÃO DO PESO E SEM ALTERAÇÃO DO PESO) | 60 |
| 5.3 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS | 62 |
| 5.3.1 TEMPERATURA SUPERFICIAL | 62 |



| | | |
|-----------|------------------------|-----------|
| 5.3.2 | TEMPERATURA RETAL | 62 |
| 5.3.3 | HORMONA T3 | 63 |
| 5.3.4 | CORTISOL SANGUÍNEO | 63 |
| 5.3.5 | CORTISOL SALIVAR | 64 |
| 5.3.6 | ALFA-AMÍLASE SANGUÍNEA | 65 |
| 5.3.7 | ALFA-AMÍLASE SALIVAR | 65 |
| 6. | CONCLUSÃO | 67 |
| 7. | BIBLIOGRAFIA | 69 |



Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Distribuição da ocupação do comedouro por porcos durante o dia nos vários tamanhos dos lotes (Adaptado de Boumans <i>et al.</i> , 2018)..... | 9 |
| Figura 2 - Comportamento estereotipado definido pela mastigação do bebedouro (Fonte: Autor)..... | 13 |
| Figura 3 - Animal a morder as correntes disponibilizadas (Fonte: Autor)..... | 14 |
| Figura 4 - Imagem representativa de um suíno em posição de "cão sentado" devido a lesões nos cascos (Fonte: Lopez <i>et al.</i> , 1997)..... | 15 |
| Figura 5 - Regulação da secreção de cortisol. Os sinais (+) indicam estimulação e os sinais (-) indicam inibição (Adaptado de Donin <i>et al.</i> , 2007)..... | 21 |
| Figura 6 - Mecanismo de produção do cortisol sanguíneo e salivar (HPA: HHA; CORT: Cortisol) (Adaptado de Yamaguchi <i>et al.</i> , 2004)..... | 24 |
| Figura 7 - Máquina de alimentação automática <i>Schauer Compident MLP II</i> (Fonte: Autor)..... | 29 |
| Figura 8 - O DT para o conjunto de pontos P1, P2, ..., num plano, sendo B o círculo circunscrito do triângulo DT (Nasirahmadi <i>et al.</i> , 2015). | 30 |
| Figura 9 - O método DT e o ajustamento da elipse (Nasirahmadi <i>et al.</i> , 2015)..... | 31 |
| Figura 10 - Imagem térmica (Fonte: Autor)..... | 32 |
| Figura 11 - Câmara térmica de infravermelhos (Fonte: Autor)..... | 32 |
| Figura 12 - Sala de controlo ambiental (Fonte: Autor)..... | 34 |
| Figura 13 - Grelha de PVC utilizada no presente ensaio (Fonte: Autor)..... | 35 |
| Figura 14 - Abertura da caixa de ar (Fonte: Autor)..... | 36 |
| Figura 15 - Ventiladores (Fonte: Autor)..... | 36 |
| Figura 16 - Máquina de alimentação utilizada no presente ensaio (Fonte: Autor)..... | 37 |
| Figura 17 - Esquema do período de habituação | 38 |
| Figura 18 - Imagens apresentadas pelas câmaras de vídeo (Fonte: Autor)..... | 41 |



| | |
|---|----|
| Figura 19 - Procedimento de recolha de saliva (Fonte: Autor) | 42 |
| Figura 20 - Elipses ajustadas a cada porco (Nasirahmadi <i>et al.</i> , 2015)..... | 43 |
| Figura 21 - Imagem dos animais no parque com cálculo do índice de proximidade (Fonte: Software GRID)..... | 44 |
| Figura 22 - Esquema da placa para determinação da cortisol salivar e sanguíneo (Fonte: Autor)..... | 45 |
| Figura 23 - Diferença visível na cor após a colocação da uma solução ácida (Fonte: Autor)..... | 46 |
| Figura 24 - Esquema da placa para determinação da α -amilase salivar e sanguínea (Fonte: Autor)..... | 46 |
| Figura 25 - No período de frio, os animais tendem a amontoar-se (Fonte: Autor) . | 52 |
| Figura 26 - Em situação de calor, os animais tendem a dispersar-se no parque (Fonte: Autor)..... | 52 |

Índice de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Causas comuns da caudofagia (Adaptado de Sonoda <i>et al.</i> , 2013) | 12 |
| Tabela 2 - Caracterização das condições ambientais objetivo | 39 |

Índice de Quadros

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Fornecimento teórico de alimento ad libitum (Adaptado de INRA, 1984). | 40 |
| Quadro 2 - Condições ambientais médias registadas nos diferentes períodos..... | 50 |
| Quadro 3 - Pesos vivos médios registados nos diferentes períodos..... | 51 |
| Quadro 4 - Resultados dos parâmetros comportamentais..... | 52 |
| Quadro 5 - Influência das condições ambientais nas temperaturas corporais (superficial e retal) | 54 |
| Quadro 6 - Influência das condições ambientais na T3 | 55 |



| | |
|---|----|
| Quadro 7 - Influência das condições ambientais no cortisol sanguíneo | 55 |
| Quadro 8 - Influência das condições ambientais no Cortisol Salivar | 56 |
| Quadro 9 - Influência das condições ambientais no α -Amilase Salivar | 57 |
| Quadro 10 - Influência das condições ambientais na α -Amilase Salivar..... | 57 |



LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------------------------|--|
| ACTH | Hormona Adrenocorticotrófica |
| BEA | Bem-Estar Animal |
| C | Simulação de condições ambientais de calor |
| Cortisol _{saliva} | Concentração do Cortisol na saliva |
| Cortisol _{sangue} | Concentração do Cortisol no sangue |
| CRH | Fator de Libertação de Corticotrofina |
| DT | Método de Triangulação Delaunay |
| UE | União Europeia |
| F | Simulação de condições ambientais de frio |
| GMD | Ganho médio diário (g/dia) |
| HHA | Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenocortical |
| HHT | Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tiróide |
| HR _i | Humidade Relativa Interior (%) |
| HR _o | Humidade Relativa Exterior (%) |
| IP | Índice de Proximidade |
| N _{total} | Número total de visitas ao comedouro |
| N _{com alteração do peso} | Número de visitas ao comedouro com alteração do peso |
| N _{sem alteração do peso} | Número de visitas ao comedouro sem alteração do peso |
| PV | Peso Vivo (Kg) |



| | |
|-------------------------------------|--|
| RFID | Identificador por Radiofrequência |
| SNA | Sistema Nervoso Autónomo |
| SNP | Sistema Nervoso Parassimpático |
| SNS | Sistema Nervoso Simpático |
| t_i | Temperatura Interna (°C) |
| t_o | Temperatura exterior (°C) |
| TN | Simulação de condições ambientais de Termoneutralidade |
| t_r | Temperatura Retal (°C) |
| t_s | Temperatura Superficial (°C) |
| TSH | Hormona Estimulante da Tireoide |
| T3 | Triiodotironina (ng/dL) |
| T4 | Trioxina (nmol/l) |
| α -Amilase _{saliva} | Atividade enzimática da α -Amilase na saliva |
| α -Amilase _{sangue} | Atividade enzimática da α -Amilase no sangue |



1. INTRODUÇÃO

Desde 2016 que se tem observado um aumento, da produção de suínos (cerca de 2,6%) (INE, 2020). Já o consumo de carne de suíno, em comparação com os outros tipos de carne, tem vindo a aumentar consideravelmente, registando-se em 2019 um valor anual per capita de 44,3 Kg/hab. (INE, 2020).

A pressão existente pelo aumento da produção, tendo em conta o elevado custo da eficiência da produção, negligencia, numa primeira fase, o bem-estar animal. Este facto leva à criação de condições de produção que causam stress excessivo aos animais, com um desencadear de respostas adaptativas comportamentais, fisiológicas e metabólicas que têm efeito negativo a produtividade (Quiniou *et al.*, 2000).

O “bem-estar animal” é um conceito que tem sofrido inúmeras alterações ao longo dos tempos. Todavia, a base de qualquer definição está no reconhecimento das 5 liberdades inerentes aos animais: liberdade de sede, fome e má-nutrição; liberdade de dor e doença; liberdade de desconforto; a liberdade para expressar o comportamento natural; e liberdade de medo e de stress. Dada a dificuldade de o definir operacionalmente e, assim, de o avaliar empiricamente, para fins de medição do nível de bem-estar recorre-se a diferentes indicadores comportamentais (ex: número de visitas ao comedouro), fisiológicos (ex: temperatura superficial), produtivos (ex: ganho médio diário) e sanitários (ex: existência de doenças), os quais fornecem a informação necessária para avaliar o bem-estar e, caso necessário, melhorá-lo (Candiani *et al.*, 2008).

Ao longo dos anos a tecnologia tem-se apresentado como um bom auxílio, ajudando no caminho da maximização produtiva, evitando o stress animal, e simultaneamente minimizando a poluição ambiental que dela advém. É notório o desenvolvimento de métodos alternativos de acompanhamento dos animais à distância, em tempo real, e do controle das condições das instalações (Mostaço, 2014), evitando a influência humana e minimizando os fatores de erro existentes atualmente na produção animal.



A Universidade de Évora tem vindo a colaborar para esta evolução, através do projeto de investigação AWARTECH - *Animal Welfare Adjusted Real Time Environmental Conditions of Housing* (Ajustamento em tempo real das condições ambientais de alojamento tendo em conta o bem-estar animal), apoiado pela União Europeia (UE) através do programa Portugal2020, que tinha como principal objetivo a criação e desenvolvimento de uma ferramenta inovadora que controle e monitorize, à distância e em tempo real, as condições ambientais e de bem-estar animal que levem à sustentabilidade económica e produtiva das explorações pecuárias.

O presente trabalho, enquadrado no projeto supracitado, foi realizado com o objetivo de avaliar as respostas comportamentais e fisiológicas de fêmeas suínas na fase de crescimento e engorda face a diferentes condições ambientais de alojamento.

Para tal, recorreu-se, de forma pioneira, a equipamentos e ferramentas de zootecnia de precisão para a recolha dos dados.

Através da análise dos dados recolhidos, após uma pesquisa intensiva sobre os diferentes assuntos relacionados, procurou-se entender a influência das condições ambientais sobre os indicadores fisiológicos e comportamentais referidos.



2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bem-Estar Animal e Stress

De uso corrente, o Bem-Estar Animal (BEA) é uma expressão que tende a resistir a uma definição rigorosa, com falta de consenso entre diferentes autores, pelo que tem sofrido diversas alterações ao longo dos anos. Segundo Vieira *et al.* (2011), em 1993, Duncan definiu o BEA como estando “dependente do que os animais sentem”; em 1994, Webster, sugeriu que “o bem-estar de um animal é determinado pela sua capacidade de evitar sofrimento e manter a sua performance”; e Broom, em 1996, sugeriu que o bem-estar animal é o “estado de um individuo no que concerne às suas tentativas de lidar com o ambiente”.

No entanto, na base de qualquer definição está o princípio das Cinco Liberdades inerentes aos animais, reconhecido pelo *Farm Animal Welfare Council* (FAWC, 1979). Posteriormente, Mellor e Reid (1994) propuseram a alteração das liberdades para os cinco domínios, que têm como base os mesmos princípios e enfatizam ainda a componente psicológica (Macitelli *et al.*, 2018).

De acordo com a FAWC, o bem-estar animal é assegurado quando as seguintes condições são cumpridas:

- Liberdade de fome, sede e má nutrição, com uma alimentação equilibrada em termos de quantidade e qualidade;
- Liberdade de desconforto térmico e físico nas instalações;
- Liberdade de doenças, lesões e dor;
- Liberdade para os animais exprimirem comportamentos normais;
- Liberdade de medo e de ansiedade.

Na tentativa de encontrar uma forma de avaliar estas questões na prática, isto é, nos sistemas de produção animal, foi proposto um conjunto de indicadores de Bem-Estar integrado em protocolos designados por *Welfare Quality Assessment* (WQA) (Manteca *et al.*, 2012). Focando-se preferencialmente nos animais, embora também recorra, quando necessário, aos indicadores baseados nas instalações e no



manejo, este afirma que as avaliações do BEA devem ter em conta as seguintes questões, acopladas a diversos critérios relacionados (Costa, 2014):

- Os animais são alimentados corretamente?

Ausência de fome e sede prolongada.

- Os animais estão bem alojados?

Conforto térmico e facilidade de movimento.

- Os animais são saudáveis?

Ausência de ferimentos, doenças e dor.

- O comportamento dos animais reflete os estados emocionais otimizados?

Expressão de comportamentos apropriados, existindo um equilíbrio entre os aspetos negativos (por exemplo a agressividade) e os positivos (por exemplo boas relações entre o homem e o animal).

Lançado em maio de 2004, o WQA foi desenvolvido para integrar o bem-estar animal na cadeia de produção de alimentos, de forma a informar os consumidores sobre a realidade das explorações, a melhorar o bem-estar das espécies pecuárias e a garantir transparência na cadeia de produção dos alimentos, tendo em conta as necessidades dos consumidores (WQA, 2008, citado por Costa, 2014).

Um dos protocolos WQA foi especificamente elaborado para a aplicação em porcos de engorda num amplo espectro de explorações intensivas e extensivas, entre diferentes países, regiões e populações (Temple e Manteca, 2014).

Com efeito, é quase impossível descrever o BEA sem focar o stress. O termo stress é usado para descrever fatores ambientais que solicitam, ao animal, mecanismos de adaptação e de resposta (Mormède *et al.*, 2007). O bem-estar refere-se ao estado do animal que pode ser avaliado desde muito bom até muito pobre, e sempre que existe stress, suficientemente intenso ou prolongado (*distress*), o bem-estar está afetado (Broom e Kirkden, 2004). Korte *et al.* (2005) afirma ainda que o stress está maioritariamente associado a eventos e/ou consequências negativas.

O stress faz naturalmente parte da vida de todos os animais e, independentemente do tipo de agente stressor, provoca uma resposta orgânica de



forma cumulativa e sequencial denominada, segundo Selye (1952), citado por Somavilla (2015), o Síndrome de Adaptação Geral. Este está dividido em 3 fases: uma primeira, de alarme, em que a ação é imediata, para uma resposta do tipo “luta ou fuga”, onde há um grande gasto energético. Segue-se a fase de resistência em que, caso a pressão persista, o corpo prepara-se para uma proteção de longa duração, desenvolvendo diferentes reações na tentativa de atingir a homeostase. Por fim, a fase de exaustão, associada ao stress tendencialmente crónico, onde se dá o desenvolvimento de problemas imunitários, metabólicos e reprodutivos.

Na fase de alarme, quando os diferentes recetores existentes no organismo (termosensores: temperatura, barorecetores: pressão, nociceptores: dor, etc.) detetam um estímulo estranho (interno ou externo), ocorre imediatamente a libertação de catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) por parte da medula da glândula adrenal, ativada pelo Sistema Nervoso Autónomo (SNA) (Chagas, 2010; Cannon *et al.*, 1927, Axelrod e Reisine, 1984, Natelson *et al.*, 1988, Koob, 1999, citados por Kurihara, 2001). Em suínos foi detetada a elevação destas hormonas meio minuto após se iniciar um procedimento de contenção física (Acco *et al.*, 1999) sendo que, como consequência, ocorreu uma alteração rápida da temperatura superficial, frequência cardíaca, da pressão arterial e da frequência respiratória, permitindo assim uma maior circulação de sangue e consequentemente uma maior oxigenação dos tecidos (Encarnação, 1986).

Caso este estímulo persista, além da manutenção da estimulação do SNA, é ativado o eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA). Embora ocorram mudanças em quase todo o sistema endócrino, é na medula adrenal que ocorrem as fases mais importantes do mecanismo de adaptação: O SNA, para além dos diversos efeitos nos diferentes órgãos, irá atuar nas glândulas salivares, reduzindo a quantidade de fluido secretado e aumentando da concentração de α -Amilase na saliva (Barbosa Júnior *et al.*, 2015); por outro lado, o HHA, controla a produção de cortisol através de um mecanismo de feedback negativo (Axelrod e Reisine, 1984, Van Der Kar *et al.*, 1991, Koob, 1999, citados por Kurihara, 2001).

Enquanto o agente stressor estiver presente, esta fase continua, embora vá sofrendo algumas modificações, sendo que o mecanismo de defesa ativo começa a falhar. O indivíduo é então forçado a entrar na terceira fase. Na Fase de Exaustão há



praticamente um retorno à fase de alarme em que as reações se desenvolvem em cadeia, influenciando múltiplos sistemas entre os quais o sistema imunitário. O seu caráter protetor inicial pode ir além das necessidades, causando efeitos indesejáveis, como a maior suscetibilidade a algumas doenças e, em casos extremos, a morte (Chagas, 2010).

A resposta ao stress tem como finalidade manter e restaurar a homeostase do organismo, garantir o transporte de oxigénio para diferentes órgãos e tecidos, mobilizar substrato calórico (glicose), reduzir os efeitos dolorosos e manter o equilíbrio da temperatura corporal (Stocche *et al.*, 2001, Goymann *et al.*, 2003, citados por Cunha *et al.*, 2012).

2.2 Indicadores de Bem-Estar Animal em Suínos na Fase de Crescimento e Engorda

Os indicadores de BEA estão na base da avaliação do bem-estar, sendo de ordem comportamental, fisiológica, produtiva e de saúde (Candiani *et al.*, 2008).

Por ser um conceito multidimensional, o BEA não pode ser determinado pela medição de apenas um indicador. Deve-se considerar sempre um conjunto de indicadores simultaneamente. No âmbito da avaliação prática do BEA as medições efetuadas no animal são preferíveis às dos parâmetros ambientais, visto que resultam numa avaliação mais precisa (Manteca *et al.*, 2013). Aquando da escolha dos indicadores para avaliação do BEA, é necessário considerar que estes devem ser os mais adequados (avaliar o que realmente se pretende), confiáveis (repetibilidade) e viáveis (Ludkte *et al.*, 2014).

Melhorar a avaliação do bem-estar dos suínos é uma tarefa demorada e, como tal, é recomendável o uso de novas tecnologias que possibilitem avaliações nos animais em tempo real (Dawkins, 2016, citado por Cordeiro *et al.*, 2018), tendo por base indicadores objetivos.

2.2.1 Indicadores comportamentais

O comportamento resulta da interação de dois tipos de fatores: hereditários e adquiridos. Estes produzem um padrão de respostas que poderão influenciar o



desempenho do animal (Morrison *et al.*, 1969, Randolph *et al.*, 1981, O'Connel *et al.*, 2004, citados por Massari, 2014). A observação de mudanças dos padrões dos comportamentos normais (automutilação, comportamentos estereotipados, comportamentos agressivos...) é considerada um dos métodos mais rápidos e práticos de avaliação do BEA (Poletto, 2010; Matthews *et al.*, 2016) e representa o primeiro nível de resposta do animal a estímulos negativos ou causadores de stress, estando associado a um baixo grau de bem-estar (Broom e Molento, 2004; Temple *et al.*, 2011).

Na espécie suína, o comportamento é um importante mecanismo para os animais ultrapassarem os constrangimentos impostos pelo ambiente (Mench, 1998, citado por Boumans, 2017), sendo assim fundamental nas adaptações das funções biológicas (Snowdon, 1999). Os indicadores comportamentais são baseados nas variações do comportamento (Sarubbi, 2009, citado por Barz *et al.*, 2017), principalmente em termos de alimentação (Li e Patience, 2017), de postura (Kiefer *et al.*, 2009), de socialização (Hillman *et al.*, 2004) e da quantidade de comportamentos anormais apresentados.

i. Comportamento alimentar, de abeberamento e de excreção

Ao acompanhar o comportamento alimentar é possível avaliar alguns dos pressupostos que estiveram na origem dos princípios do BEA como a ausência de sede e fome e ainda identificar indícios da presença de doenças, caso esses padrões sofram alterações (Rushen e Passille, 2012). O comportamento alimentar é controlado por mecanismos de fome e saciedade. Contudo, pequenas alterações do ambiente podem influenciá-lo, tais como as dietas, sistemas de alimentação, saúde animal e sistemas de alojamento (Maselyne *et al.*, 2015).

Em relação às dietas, vários estudos têm sido realizados no sentido de entender a sua influência no comportamento alimentar. Foi demonstrado que a fibra dietética prolonga a saciedade pós-prandial e aumenta o bem-estar, através da redução da ocorrência de comportamentos estereotipados nos suínos. Isto deve-se principalmente ao facto destes carboidratos induzirem comportamentos naturais como a mastigação (Leeuw *et al.*, 2008). O aumento do teor de lisina na dieta destes animais reduz a frequência das refeições e aumenta a sua duração (Hyun *et al.*, 1987). Montgomery *et al.* (1978), citados por Maselyne *et al.* (2015), encontraram



uma redução na ingestão de alimentos como resultado da deficiência de aminoácidos, nomeadamente de Triptofano, na dieta de suínos.

Está bem documentado que tanto a forma física do alimento (farinado VS granulado VS alimento líquido), como o meio da sua apresentação afetam a ingestão (Kunz *et al.*, 2013). Fatores como o número de compartimentos do comedouro (Nielsen *et al.*, 1996) e a distância entre eles (Thomsen *et al.*, 2010), aliados à competição existente dentro dos lotes (Boumans *et al.*, 2018), têm influência na frequência da ingestão.

Os sistemas de alojamento existentes nas instalações, associados às condições sociais, podem também afetar significativamente o comportamento alimentar (Maselyne *et al.*, 2015). As baixas condições corporais dos suínos por vezes encontram-se relacionadas com as elevadas densidades populacionais praticadas nas explorações. Nestes casos, existe uma probabilidade acrescida dos animais efetuarem a sua alimentação simultaneamente, originando uma competição pela comida (Boumans *et al.*, 2018). Ligada à competição pelo alimento encontra-se também a falta de espaço disponível para as reações de fuga (Wiseman *et al.*, 1998, citados por Costa, 2014).

Nos suínos na fase de crescimento e engorda, a deteção de doenças pode e é muitas vezes baseada no comportamento alimentar, nomeadamente na alteração da frequência de alimentação e na quantidade ingerida. Geralmente animais doentes tendem a diminuir o nível de alimentação (Munsterhjelm *et al.*, 2015).

Por fim, em relação às condições do ambiente térmico do alojamento, a temperatura é um dos principais fatores que afeta o consumo alimentar dos suínos. No entanto, é importante não generalizar pois, apesar de os animais manterem a homeotermia através dos mesmos mecanismos, podem acionar os mecanismos em alturas diferentes (Kanarek, 1976, Savory, 1981, citados por Maselyne *et al.*, 2015). Dentro da zona da termoneutralidade a energia da dieta é usada para crescimento, manutenção (em suínos é cerca de 850 kJ por kg de PV^{0,60} (Van Milgen *et al.*, 2000, citados por Everts, 2015)) e atividade física. Com condições abaixo da zona da termoneutralidade, a energia é desviada dos processos produtivos para a produção de calor, com o fim de manter a homeotermia. Já em condições de calor, todo o calor armazenado deve de ser dissipado (Collin *et al.*, 2001), o que inclui uma maior perda

de calor (evaporativa) e redução do calor produzido, sendo que há uma redução da ingestão de alimento (Collin *et al.*, 2001; Souza e Batista, 2012; Campos *et al.*, 2017) tal como o número de visitas ao comedouro e o tempo total de ingestão diária de alimento (Quiniou *et al.*, 2000).

Existem outros fatores que naturalmente modificam os padrões de ingestão, como a idade dos animais e o ritmo circadiano. À medida que crescem os animais comem mais rápido, logo os suínos mais novos demoram mais tempo a comer (Linden, 2014). Por outro lado, o ritmo circadiano é regulado por relógios internos do corpo (osciladores endógenos) (Aschoff, 1963, Aschoff, 1966, citados por Boumans *et al.*, 2017) que podem ajustar as respostas fisiológicas e comportamentais de um animal para promover ou inibir o comportamento alimentar em determinados momentos (Strubbe e Van Dijk, 2002).

Quando alojados individualmente, os suínos apresentam um consumo de ração mais constante ao longo do dia, em comparação com o alojamento em grupo (De Haer e Merks, citados por Boumans *et al.*, 2018). Nestes casos, revela-se um padrão diário ditado por dois tipos de picos, sendo o segundo (no final do período ativo) superior ao primeiro (no início do período ativo) (De Haer e Merks, 1992, Schouten, 1986, citados por Boumans *et al.*, 2017). O aumento do consumo de ração durante a noite aumenta com o tamanho do lote (Boumans *et al.*, 2018), tal como se pode observar na figura seguinte (Figura 1).

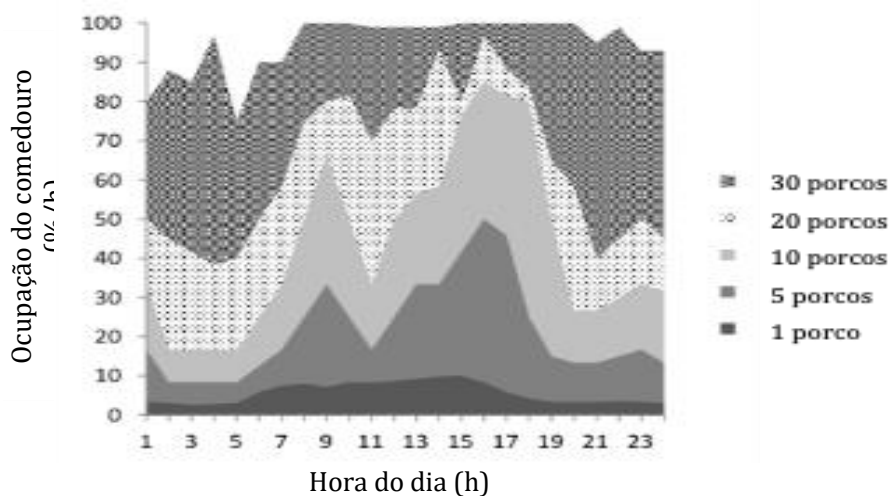


Figura 1 - Distribuição da ocupação do comedouro por porcos durante o dia nos vários tamanhos dos lotes (Adaptado de Boumans *et al.*, 2018)



Resumidamente, o comportamento alimentar é avaliado segundo o tempo diário despendido por dia, consumo diário e número de visitas ao comedouro (De Haer *et al.*, 1993, citados por Carcò *et al.*, 2018).

Em relação ao consumo de água e, apesar das necessidades de água variarem em função da idade, tipo e quantidade de ração ingerida e ainda do estado fisiológico (Araujo *et al.*, 2017), o comportamento de beber ocorre frequentemente em torno do comportamento alimentar (Boumans *et al.*, 2015), aparecendo geralmente 10 minutos após este, em condições normais e de conforto térmico (Gonyou, 2001). Assim, o consumo alimentar é considerado o melhor preditor individual do consumo de água (Araujo *et al.*, 2017).

Suínos na fase de crescimento e engorda passam 20-30 minutos a beber por dia, sendo em média 15-30 segundos a cada visita ao bebedouro (Linden, 2014). Alterações neste padrão são observadas em casos de algumas doenças metabólicas, aparecendo, por exemplo, em resposta à desidratação resultante da diarreia. Os padrões de ingestão de água também podem ser afetados por estados patológicos (Madsen e Kristensen, 2005; Seddon, 2011), por stress (Averos, 2007, citado por Matthews *et al.*, 2016) e por temperaturas ambientais elevadas (Rushen e Passille, 2012; Linden, 2014). Estudos realizados apontam para um aumento no consumo de água em 50% quando a temperatura ambiente aumenta de 12°C para 35°C (IMPEX, 2016).

Para além dos padrões de ingestão de alimentos e água, os padrões de excreção podem igualmente servir como parâmetros a avaliar no contexto do BEA. Os suínos excretam próximo uns dos outros, preferencialmente em áreas frias e húmidas (Fritschen, 1975, citado por Linden, 2014), sendo geralmente próximo dos bebedouros (Huynh, 2005) e longe do local onde descansam e se alimentam (Deen, 2010). As alterações na frequência ou volume urinário podem ser usadas como indicadores de saúde e bem-estar, isto porque estes animais tornam-se menos asseados no comportamento de eliminação quando as condições ambientais são desfavoráveis (Aarnink *et al.*, 2006), mais especificamente em casos de stress térmico por calor.



ii. Comportamento social

Sendo o porco um animal gregário, em todas as fases de produção é detetada uma hierarquia social linear, caracterizada por uma classificação clara de dominante a subdominante (Meese e Ewbank, 1973).

A comunicação entre estes animais pode ocorrer através do som (vocalização), do odor, da visão e do toque. A vocalização, principal meio de comunicação dos suínos (Deen, 2010), pode também permitir avaliar o bem-estar dos animais, nomeadamente pela deteção e medição da intensidade e/ou qualidade do agente stressor (Düpjan *et al.*, 2008) através da captação de padrões vocais distintos, de forma não evasiva (Moura *et al.*, 2008). Associado ao nível de excitação do animal (Manteuffel *et al.*, 2004), é possível distinguir 3 tipos de vocalizações: os grunhidos, os guinchos e os gritos. Os grunhidos (baixa frequência) são usados pelo animal em contexto social; os guinchos e os gritos (frequência mais elevada) podem indicar situações de comportamentos exploratórios, bem como de socialização e em caso de excesso de excitação (Marchant *et al.*, 2001). O comportamento de vocalização, tal como as próprias vocalizações, pode ser alterado consoante a situação em que os suínos se encontram. Essas alterações, por norma, estão associadas ao stress, nomeadamente em situações de desconforto térmico, dor e medo, expressadas em intensidades mais altas e frequências mais agudas. Foram detetadas vocalizações de alta frequência em situações de castração (Hillmann *et al.*, 2004) e de temperaturas desfavoráveis (Ferrari *et al.*, 2013).

Para estabelecer a hierarquia nos grupos, principalmente pelo espaço físico, alimentos e recursos, os suínos lutam entre si, através de ameaças, mordidas ou cabeçadas (Fraser, 1984, Otten *et al.*, 1997, De Jong *et al.*, 1999, citados por Massari, 2014; Scheffler *et al.*, 2016), através de um comportamento agonístico. O comportamento agonístico define-se por um conjunto de atividades expressas e incluem componentes ofensivas, defensivas e submissivas ou de fuga, com contato (morder e empurrar) ou não (ameaças na forma de posturas e gestos corporais) (Petherick e Blackshaw, 1987). Regra geral, estes comportamentos estão relacionados com uma série de fatores stressantes, causados por problemas nas instalações, como por exemplo, quando o espaço e acesso ao comedouro e bebedouro são reduzidos (Boumans *et al.*, 2017); manejo inadequado dos animais



(Sobestiansky e Zanella, 2007, citados por Baptista *et al.*, 2011); e aquando da mistura de animais desconhecidos, até que uma nova ordem hierárquica seja restabelecida (Deen, 2010). Nestes casos, as agressões são mais marcadas (Scheffler *et al.*, 2016), mas tendem a diminuir entre o primeiro e o terceiro dia, quando as relações hierárquicas e sociais se definem (Meese e Ewbank, 1973; Deen, 2010; Stukenborg *et al.*, 2011).

Os suínos evidenciam também comportamentos que causam lesões nos outros animais tais como: mordeduras e os vícios de sucção da cauda, orelha, flanco e vulva (Zanella, 1995, Sobestiansky e Zanella, 2007, citados por Baptista *et al.*, 2011). Um dos comportamentos mais comuns é o de “morder da cauda”. Este comportamento deve ser encarado como um indicador de um ambiente inadequado, visto que prevê a ocorrência de “surto” de mordidas de cauda e conseqüentemente de doenças (ex: infeções) (Schrøder-Petersen e Simonsen, 2001). O comportamento de caudofagia define-se pela manipulação bucal, suave ou não, da cauda de outro animal, que desencadeia feridas na pele, amputações de porções da cauda e ainda lesões mais graves na garupa. Proporciona um efeito negativo sobre o bem-estar e acarreta assim perdas económicas consideráveis na produção (Taylor *et al.*, 2010). Podem ser várias as causas associadas a este comportamento, apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 - Causas comuns da caudofagia (Adaptado de Sonoda *et al.*, 2013)

| Causas | Descrição |
|---------------|--|
| Sexo | É mais frequente em machos castrados, em comparação com machos inteiros. Mais frequente em machos inteiros do que em fêmeas. |
| Idade | A probabilidade de ocorrência deste comportamento aumenta com a idade dos animais. |
| Genética | Acredita-se que a genética Landrace seja menos suscetível à mordida da cauda. |
| Saúde | Problemas respiratórios aumentam 1,6 vezes a chance da sua ocorrência. |
| Alimentação | Deficiências de aminoácidos e de sal na dieta estão na origem deste problema (Roll <i>et al.</i> , 2013). |

| | |
|--------------------------|---|
| Sobrepopulação | A sobrepopulação aumenta a taxa de caudas mordidas, principalmente devido ao acesso dificultado ao comedouro e bebedouro (Linden, 2014). |
| Enriquecimento Ambiental | A falta de condições naturais para satisfazer a necessidade inerente dos suínos de fuçar redireciona este comportamento para estímulos alternativos, como as caudas dos outros animais. Neste sentido, o enriquecimento ambiental (fornecimento de palha ou brinquedos) pode ser uma alternativa eficiente. |
| Fatores ambientais | O desconforto ambiental (temperatura, humidade e barulho) é um dos fatores que mais contribui para o seu aparecimento (Deen, 2010). Alta concentração de amoníaco (>10 ppm) aumenta o aparecimento de mordedura de cauda. |

No entanto, seja qual for a razão encontrada para este comportamento, é importante separar os animais mordedores assim que se observa o começo deste comportamento, de forma a se evitar danos maiores (Roll *et al.*, 2013).

Outra situação em que se sabe que o bem-estar está comprometido diz respeito à apresentação de comportamentos estereotipados por parte dos animais. Este tipo de comportamento define-se pela sucessão de ações repetitivas e não funcionais (Dantzer, 1986, citado por Arellano *et al.*, 1992). Acredita-se que este comportamento ocorre em casos de frustração, quando os animais não têm controlo sobre o ambiente (Deen, 2010) ou quando têm fome (Arellano *et al.*, 1992). Em suínos, este tipo de comportamento pode ser facilmente identificado, envolvendo a falsa mastigação, acenar da cabeça, mastigar ou cheirar os objetos disponíveis, sendo muito comum os bebedouros (Fraser, 1975, Stolba *et al.*, 1983, Terlouw *et al.*, 1991, citados por Vieuille-Thomas *et al.*, 1995), tal como ilustrado na figura 2.



Figura 2 - Comportamento estereotipado definido pela mastigação do bebedouro (Fonte: Autor)



iii. Comportamento exploratório

Como parte do perfil exploratório, os suínos desenvolvem ações de olhar, cheirar, lambe, fuçar e mastigar objetos (Maia *et al.*, 2011, citados por Foppa *et al.*, 2014). A maior motivação para este tipo de comportamento é o medo associado à novidade (Deen, 2010).

Nos sistemas intensivos de produção, em condições de alojamento onde o ambiente é praticamente estéril e sem estímulos, os suínos tendem a direcionar o comportamento exploratório para os outros animais presentes (Filho e Hötzel, 2000, citados por Foppa *et al.*, 2014), ocorrendo assim distúrbios comportamentais. Daí a crescente interesse nos estudos sobre o enriquecimento ambiental.

Nos estudos desenvolvidos em suínos, o enriquecimento ambiental físico tem sido explorado de diversas formas, não só através da disponibilização de um ou mais espaços, mas ainda através da disponibilização de áreas funcionais distintas, como comedouros individuais, esconderijos, e a disponibilização de substratos, sendo a palha, o composto de cogumelos e as turfas os mais utilizados. A utilização de objetos para explorarem também é bastante comum. Por norma são utilizados correntes, cordas e objetos de madeira, que geralmente se encontram suspensos (Órfão e Stilwell, 2012), tal como demonstrado na figura 3. Adicionando estes elementos ao espaço, há a possibilidade da melhoria do bem-estar permitindo a expressão de comportamentos específicos da espécie, promovendo o desenvolvimento físico e psicológico do animal (Foppa *et al.*, 2014).



Figura 3 - Animal a morder as correntes disponibilizadas
(Fonte: Autor)

iv. Comportamentos associados com a locomoção e postura

Os suínos passam cerca de 75-85% do seu tempo deitados, 5-10% a comer e o restante a andar e a explorar (Gonyou, 2001).

Um animal doente apresenta uma quebra na sua atividade, por norma acompanhado da redução na ingestão alimentar e de água e também na sua postura e locomoção (Deen, 2010; Rostagno *et al.*, 2011).

A forma da cauda pode ser usada como indicador de BEA. Um animal que apresente uma cauda enrolada e para cima é um animal ativo. Contudo esta postura pode-se alterar, caso o animal seja confrontado com situações que provoquem medo, desconforto ou submissão, quando é usual a apresentação da cauda em plano baixo (Groffen, 2012).

Distúrbios de locomoção têm impacto sobre o bem-estar dos animais (Deen, 2010), sendo a claudicação um dos mais relevantes. No aparelho locomotor os membros mais afetados, que influenciam a capacidade de marcha, são as unhas, os músculos, as articulações e os ossos. Na espécie suína, a maior percentagem dos problemas está localizada nas unhas, nas quais o desgaste da sola e as lesões que daí decorrem atingem o tecido mole. Estas são mais frequentes nos membros posteriores e quando as lesões dão origem a claudicações mais graves, o animal pode assumir a posição de "cão sentado", tal como representado na figura 4. Nestes casos, os animais evitam levantar-se e deslocar-se e, quando obrigados a fazê-lo, efetuam-no com grande dificuldade (Lopez *et al.*, 1997).

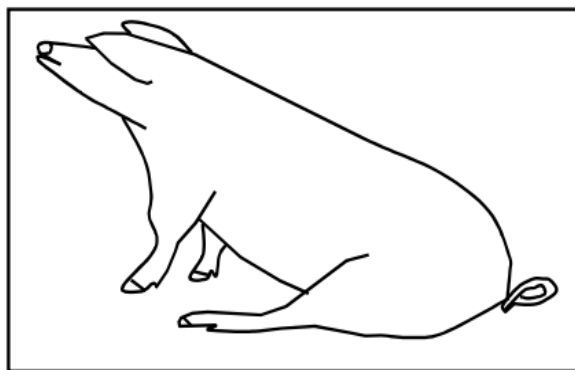


Figura 4 – Imagem representativa de um suíno em posição de "cão sentado" devido a lesões nos cascos (Fonte: Lopez *et al.*, 1997)



a) Alteração da postura para fins termorregulatórios

Os suínos, como animais homeotérmicos, ajustam o calor produzido no metabolismo com o calor ganho do ambiente, realizando trocas contínuas de energias entre eles (Barros *et al.*, 2010).

A resposta comportamental face a condições ambientais causadoras de stress é a primeira e mais económica, uma vez que a energia gasta para regular a temperatura é menor, quando comparada ao custo das alterações fisiológicas e metabólicas (Moberg e Mench, 2000, citados por Da Fonseca de Oliveira *et al.*, 2018).

Os mecanismos de troca de calor entre animal e ambiente são realizados a partir de mecanismos sensíveis, que dependem da existência de gradiente de temperatura entre o animal e o ambiente (Fialho *et al.*, 2001). São considerados como mecanismos de perda sensível: a radiação, a condução e a convecção.

Quando a temperatura ambiental está abaixo das condições de conforto, os suínos amontoam-se para evitarem a perda de calor e adotam uma postura de decúbito esternal (deitados “sobre” a barriga), de forma a reduzir a área de superfície da pele exposta disponível a perda de calor por condução (Nasirahmadi *et al.*, 2017^b; Nasirahmadi *et al.*, 2019). É também muito comum o aparecimento de animais tiritando (Costa, 2014).

Por fim, quando as temperaturas ambientais estão muito elevadas, estes animais adotam um posicionamento em decúbito lateral e evitam o contato com os outros animais, promovendo o máximo contacto da superfície do seu corpo com o pavimento, facilitando assim a perda de calor por condução (Ekkel *et al.*, 2003; Nasirahmadi *et al.*, 2017^b). Permanecem frequentemente deitados em locais mais frescos, aproveitando o gradiente térmico mais favorável para perder calor por condução. Deste modo, estas condições ambientais levam a que os animais diminuam o nível de atividade, sendo que esta apenas se altera quando há necessidade de procurar um outro local onde o pavimento esteja mais frio. Deste modo, ocorre uma redução da ingestão alimentar (Jones e Manteca, 2009, citados por Costa, 2014) e um aumento a taxa respiratória, na tentativa de dissipar o calor através da evaporação do trato respiratório, sendo frequente a ocorrência de animais em polipneia térmica (Linden, 2014).



2.2.2 Indicadores fisiológicos

Não existe um procedimento padrão definido para determinar o grau de BEA e o nível de stress de um animal (Martínez-Miró *et al.*, 2016). Os indicadores comportamentais, anteriormente referidos, têm a vantagem de permitirem uma avaliação rápida e economicamente viável, no entanto não possibilitam uma avaliação objetiva acerca dos acontecimentos fisiológicos que estão na sua origem e que resulta nesse comportamento. Além de não ser possível a deteção de situações potencialmente negativas, numa fase prévia ao aparecimento de sinais comportamentais. Por esse motivo, há necessidade de se recorrer aos indicadores fisiológicos do animal.

A avaliação fisiológica do stress é um dos principais métodos usados na avaliação do bem-estar animal (Hötzel e Filho, 2004) e pode ser efetuado por meio de avaliações como: temperatura interna e superficial, frequências cardíacas e respiratórias, respostas do sistema imunológico, nível de determinadas hormonas ou enzimas como o cortisol ou a alfa-amilase (Hellhammer *et al.*, 2009), entre outras. No entanto, ressalta-se que os níveis hormonais como indicadores de bem-estar não são de fácil interpretação, pois as suas concentrações no organismo costumam variar de acordo com diversos fatores (ritmos circadianos, idade, sexo, etc.). Além disso, um aumento nos níveis hormonais pode ser benéfico ou prejudicial, dependendo de sua duração e intensidade (Downing e Bryden, 2002). Por esta razão, frequentemente são obtidos resultados contraditórios (Littin e Cockren, 2001).

i. Temperaturas superficial e interna

Os suínos são extremamente sensíveis à temperatura ambiente, principalmente a condições de frio quando jovens e a condições de calor quando adultos (Wolp, 2010).

O centro termorregulador, localizado no hipotálamo, integra as informações térmicas fornecidas pelo sangue, cérebro e termorreceptores na medula espinhal, assim como pelos tecidos profundos e pela superfície da pele (Borges *et al.*, 2003). Estas informações são processadas e os desvios térmicos da temperatura de conforto desencadeiam respostas termorreguladoras, comportamentais ou



fisiológicas, para aumentar ou diminuir a produção de calor e para o conservar ou dissipar (Kurz, 2008, citado por Campos *et al.*, 2017).

O seu metabolismo elevado, a elevada espessura de tecido adiposo subcutâneo existente e a capacidade limitada de perda de calor através da sudorese são as principais razões apontadas para a dificuldade de dissipação de calor nos suínos (Rodrigues *et al.*, 2010).

A pele é o principal órgão por onde se realizam as trocas de calor sensível. A temperatura superficial é influenciada pelo fluxo sanguíneo que a percorre, embora o efeito da espessura de gordura tenda a atenuar esse efeito. Ao sentir desconforto térmico, o primeiro mecanismo fisiológico a ser ativado é a regulação vasomotora do fluxo sanguíneo local (vasodilatação ou vasoconstrição), reduzindo ou aumentando a resistência térmica da pele (Ashrae, 2001, citado por Rodrigues *et al.*, 2010).

A temperatura superficial (t_s) é, por isso, um fator a ter em consideração na permuta de calor (Kotrbaček e Nau, 1985). Varia consoante a raça, os fatores ambientais (Rodrigues *et al.*, 2010), o contato entre os animais, a incidência da radiação sob os animais (Cecchin *et al.*, 2016), entre outros.

No estudo de Kiefer *et al.* (2009) foi notório o aumento significativo da t_s em ambiente de stress térmico por calor ($t=31^\circ\text{C}$) em comparação com o de conforto térmico ($t=21^\circ\text{C}$), de $36,24^\circ\text{C}$ para $38,75^\circ\text{C}$ em suínos com um peso vivo (PV) compreendido entre $30,1\pm 1,79$ kg e $60,8\pm 4,40$ kg. No mesmo sentido, Manno *et al.* (2006), em machos castrados com PV compreendido entre 30-60 kg, observaram uma t_s de $36,4^\circ\text{C}$ em condições de conforto térmico ($t=22,8 \pm 1,30$ °C, HR= $79,2 \pm 5,60\%$). Esta temperatura aumentou significativamente para de $38,4 \pm 1,11^\circ\text{C}$, em condições de stress térmico por calor ($t=31,7\pm 0,81$ °C, HR= $65,9\pm 6,30$ %).

Para a medição da temperatura interna recorre-se à temperatura retal (t_r) (Cunningham, 1993). Em temperaturas mais amenas, os animais dissipam calor sensível para o ambiente através da pele, por radiação, por condução e por convecção. Se o animal não conseguir dissipar o calor excedente armazenado, a t_r aumenta acima dos valores fisiológicos normais e desenvolve-se o stress calórico (Nóbrega *et al.*, 2011). Quando em comparação com condições de conforto térmico



($t=21^{\circ}\text{C}$), Kiefer *et al.* (2009) detetaram um aumento significativo da t_r em condições de stress térmico por calor ($t=31^{\circ}\text{C}$), obtendo valores de $39,31^{\circ}\text{C}$ e $39,72^{\circ}\text{C}$, respetivamente.

A t_r dos suínos na fase de crescimento e engorda, em condições normais, encontra-se entre um intervalo de 38 a 40°C (Siewert *et al.*, 2014), sendo que pode sofrer variações consoante a atividade física, a ingestão de alimentos, a radiação solar, idade, sexo e tamanho (Sacristán *et al.*, 1998).

Em condições termoneutras a t_r é superior à t_s devido ao fato de o tecido celular adiposo apresentar uma baixa condutividade térmica e ter função isolante natural, separando a pele do núcleo do corpo, onde se registam temperaturas mais altas e estáveis (Silva, 2010). Assim, a energia térmica produzida pelas reações metabólicas aquece os tecidos internos à temperatura interna. O fluxo de calor é transferido por condução ao longo dos tecidos de acordo com as respetivas condutividades e gradientes térmicos e outro fluxo de calor é transportado por convecção através do sangue até à periferia. Ao chegar à epiderme, a energia transportada traduz-se na t_s (Souza e Batista, 2012).

ii. *Hormonas da Tiroide (T3 e T4)*

As hormonas triiodotironina (T3) e trioxina (T4) são produzidas na tiroide e são consideradas as hormonas do metabolismo que participam em diferentes ações no organismo. A sua produção é regulada pelo eixo Hipotálamo-Hipófise-Tiroide (HHT), sendo a hormona estimulante da tiroide (TSH) o principal estimulador. Da quantidade total de hormonas produzidas, 90% são T4 e 10% T3, pelo facto desta última ser mais eficiente a gerar efeitos metabólicos mais rápidos (Guyton e Hall, 2006, citados por Carrazza, 2012).

As suas funções baseiam-se no aumento da atividade metabólica em diferentes tecidos (Campos *et al.*, 2017), através das ações fisiológicas de biossíntese de proteínas e termogénese. Atuam também no crescimento, diferenciação e manutenção dos tecidos, como reguladores no metabolismo de carboidratos e gorduras, agem como mobilizadores dos lípidos do tecido adiposo e promovem o aumento do número e atividade das mitocôndrias e da taxa de formação de ATP (Guyton e Hall, 2006, citados por Carrazza, 2012).



O meio ambiente pode desencadear alterações na produção destas hormonas (Vache e Vaissaire, 1980, citados por Toniollo *et al.*, 1988). Temperaturas ambientais elevadas reduzem a concentração das hormonas da tiroide no soro sanguíneo, reduzindo a atividade metabólica de diversos órgãos como o fígado, rins e intestinos, que são os responsáveis por grande parte da produção de calor corporal (Koong *et al.*, 1983, citados por Kiefer *et al.*, 2009). No mesmo sentido, foram encontradas concentrações reduzidas em suínos expostos a altas temperaturas (Becker *et al.*, 1992; Becker *et al.*, 1993; Antunes *et al.*, 2013; Campos *et al.*, 2017).

Becker *et al.* (1993) estudaram estes parâmetros em suínos (Landrace x Yorkshire x Duroc) fêmeas, com um PV de 85 kg. Comparando a situação de termoneutralidade ($t=18-21^{\circ}\text{C}$) com a situação térmica de calor ($t=27-35^{\circ}\text{C}$), obtiveram um valor médio de 0,89 ng/mL de T3 e de 49,8 ng/mL de T4, e de 0,58 ng/mL de T3 e de 40,5 ng/mL de T4, respetivamente. Foi possível conferir que a concentração das hormonas da tiroide diminui significativamente face a condições térmicas de calor. No mesmo estudo, face a condições térmicas de frio, a concentração das hormonas da tiroide no sangue aumentou. Face a condições de termoneutralidade ($t=18-21^{\circ}\text{C}$), onde as concentrações de T3 e T4 foram, respetivamente, de 0,77 ng/mL e 57,2 ng/mL, houve um aumento significativo quando as condições térmicas eram de frio ($t=5-15^{\circ}\text{C}$), para valores de 0,85 ng/mL de T3 e de 81,9 ng/mL de T4.

Para além de serem um dos determinantes primários da taxa metabólica, afetam a quantidade de nutrientes utilizados na manutenção e crescimento dos animais (Norman e Litwack, 1997, citados por Storti *et al.*, 2013).

iii. Cortisol sanguíneo

O cortisol, que deriva do colesterol (Cunningham, 1993), é uma hormona do grupo dos glucocorticoides produzida pelo córtex da glândula adrenal, após a ativação do eixo HHA (Cunha *et al.*, 2012). Este grupo de hormonas regulam mecanismos fisiológicos que intervêm na adaptação do animal ao meio (Sacristán *et al.*, 1998), através de processos homeostáticos no metabolismo energético e na função neurobiológica (Miller e O'Callaghan, 2002, Sapolsky *et al.*, 2000, citados por Heimbürge *et al.*, 2018). As suas funções residem na regulação do catabolismo de carboidratos e proteínas (Koopmans *et al.*, 2005, citados por Santana *et al.*, 2009).

O mecanismo da produção de corticosteroides é desencadeado pela estimulação do hipotálamo pelo Fator de Libertação de Corticotrofina (CRH) que, ao atuar sobre a adeno-hipófise, promove a secreção da Hormona Adrenocorticotrófica (ACTH), que por sua vez, estimula o córtex da glândula adrenal a produzir cortisol (Cunningham, 1993). Através de um mecanismo de feedback negativo, o cortisol irá atuar na hipófise, de modo a inibir a produção de ACTH e cessa a concentração de cortisol sanguíneo, tal como está demonstrado na figura 5. Resumindo, um aumento da concentração sanguínea de cortisol inibe a libertação de ACTH e uma diminuição da sua concentração estimula a produção de ACTH (Lang *et al.*, 2004).

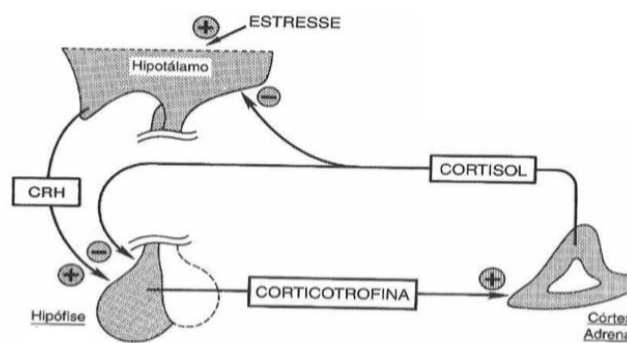


Figura 5 - Regulação da secreção de cortisol. Os sinais (+) indicam estimulação e os sinais (-) indicam inibição (Adaptado de Donin *et al.*, 2007)

A produção de cortisol é influenciada pela idade do animal, pelo ritmo circadiano e pelo stress. Segundo alguns estudos realizados, estes animais apresentam uma tendência de diminuição dos níveis de cortisol com a idade (Evans *et al.*, 1988, Kirkwood *et al.*, 1987, citados por Ruis *et al.*, 1997).

Os ritmos circadianos são regulados por “relógios” internos (osciladores endógenos), capazes de ajustar as respostas fisiológicas e comportamentais de um animal ao longo do dia (Aschoff, 1963, Aschoff, 1966, citados por Boumans, 2017). Tal como em outros animais diurnos, nos suínos, a concentração de cortisol é ditada por um padrão circadiano, de níveis mais elevados de cortisol no período da manhã (Koopmans *et al.*, 2005, Ruis *et al.*, 1997, citados por Boumans *et al.*, 2017). Em suínos alojados em grupos foram encontradas concentrações plasmáticas de 45 ng/mL no período da manhã e de 15 ng/mL no período da tarde (Barnett *et al.*, 1981). No entanto, este pico de produção, além de ser influenciado pela luz e pela alimentação, pode ser induzido pelo stress, o que poderá mascarar o ritmo endógeno (Kumar Jha *et al.*, 2015, citados por Boumans *et al.*, 2017).



No que concerne a situações de stress, de natureza física ou psicológica, a ativação do eixo HHA e o consequente aumento nas concentrações circulantes de cortisol é uma das respostas mais comuns (Silanikove, 2000, citado por Campos *et al.*, 2017). Estes aumentos das concentrações de cortisol ocorrem de forma rápida, atingindo valores superiores ao basal em questão de minutos (Ruis *et al.*, 1997). A resposta é proporcional à intensidade do stress, isto é, níveis mais baixos de stress resultam numa menor produção de cortisol, quando comparados com níveis mais elevados (Cunningham, 1993).

Diferentes situações de stress evidenciam alterações significativas na concentração de cortisol no sangue, como em casos de elevada densidade populacional (Tarrant *et al.*, 1988, citados por Broom e Kirkden, 2004). Em suínos na fase de crescimento com um PV inicial de 23,10 kg foi detetado um aumento de 3,64 $\mu\text{g/dL}$ com densidade de 0,64 m²/porco para 4,54 $\mu\text{g/dL}$ com densidades de 0,38 m²/porco (Zhang *et al.*, 2013). Também no transporte se evidenciou um aumento dos níveis de cortisol de 9,92 \pm 2,40 $\mu\text{g/dl}$ (antes do transporte) para 12,89 \pm 3,09 $\mu\text{g/dl}$ (após o transporte) em suínos (Large White x Landrace) na fase de acabamento com um PV médio de 110 \pm 18 kg (Breineková *et al.*, 2007). Perante o stress térmico agudo por calor, Becker *et al.* (1997) registaram em suínos na fase de acabamento um aumento dos níveis de cortisol de 51,5 $\mu\text{g/dL}$ (antes do período de calor) para 138,4 $\mu\text{g/dL}$ (após o período de calor), quando os animais estiveram expostos à temperatura de 34 °C durante 3 horas; e enquanto que perante o stress térmico agudo por frio, Becker *et al.* (1997) registaram em suínos na fase de acabamento um aumento na concentração de cortisol de 42,8 $\mu\text{g/dL}$ (antes do período de frio) para 70,0 $\mu\text{g/dL}$ (após o período de frio), quando os animais estiveram expostos à temperatura de 10°C durante 4 horas.

Independentemente do estímulo, face a situações adversas, após a ocorrência de um pico na concentração de cortisol, esta reduz-se ao nível basal após 1 hora, através de um sistema de feedback negativo (Roy, 2004). Embora esta hormona seja necessária para a função fisiológica normal dos animais, elevações crónicas têm um impacto negativo na função das células musculares e imunes (Kraemer *et al.*, 2005), sendo que há a possibilidade de diminuição individual por imunossupressão e atrofia dos tecidos (Munck *et al.*, 1984, citados por Möstl e Palme, 2002), além da



diminuição do sucesso reprodutivo (Liptrap, 1993, Dobson e Smith, 1995, citados por Möst e Palme, 2002).

Por estes motivos o cortisol tem sido a hormona de eleição na área da investigação animal devido ao fato da alta concentração plasmática de cortisol ser sinónimo de quebra da homeostase, presença de stress ou ausência de bem-estar (Cunha *et al.*, 2012). Ainda assim, é claro que existem limitações na utilização dos níveis de cortisol para avaliação de bem-estar. Por um lado, porque estímulos de natureza diversa podem ser considerados stress, com diferentes alterações nos níveis de cortisol. Por outro lado, porque em situações de stress crónico, apesar de haver um aumento nos níveis de cortisol, aquando da ação do agente stressor, podem existir mecanismos de adaptação que resultem em diferentes variações nos níveis deste anabolito. Hellhammer *et al.* (2009) indicam ainda que, para evitar muitas questões controversas em diferentes estudos, o ideal seria fazer sempre medições para os níveis de ACTH, cortisol total no sangue e cortisol salivar, visto que estes indicadores de stress podem fornecer diferentes informações, capazes de se complementarem.

É um fato que as hormonas adrenocorticais são bons indicadores de BEA, no entanto, no caso particular do cortisol sanguíneo é necessária uma recolha de amostras diretamente do animal vivo, pelo que a documentação automatizada deste é ainda impossível (Brandt e Aaslyng, 2015).

iv. Cortisol salivar

A deteção do cortisol é um dos métodos mais utilizados para a avaliação do stress dos animais, visto que, tal como referido anteriormente fornece informações sobre a atividade do HHA (Casal *et al.*, 2017; Escribano *et al.*, 2019).

A utilização do sangue é restrita em muitas espécies animais, visto que a captura e maneo podem desencadear a resposta do stress, interferindo, assim, numa avaliação precisa. Uma opção alternativa para a medição do cortisol são os métodos não-invasivos como a recolha de urina, saliva, leite, unhas, cabelo e amostras fecais, que reduz o stress para os animais (Mormède *et al.*, 2007; Cook, *et al.* 2000, citados por Cunha *et al.*, 2012). Os níveis de cortisol no sangue, saliva e leite apresentam uma visão a curto prazo da resposta ao stress (Vining *et al.*, 1983,

Verkerk *et al.*, 1998, citados por Casal *et al.*, 2017), no entanto, na urina e nas fezes, possibilita uma informação que pode apresentar algum desfasamento temporal (Hayssen *et al.*, 2002).

Tornou-se mais frequente a avaliação dos níveis de cortisol presentes na saliva. Os níveis de cortisol salivar são considerados como uma medida viável da adaptação do eixo HHA ao stress (Hellhammer *et al.*, 2009), sem haver fatores de influência derivados do stress na recolha da amostra (Vining *et al.*, 1983, citados por Hellhammer *et al.*, 2009).

Vários biomarcadores de stress salivares, como o cortisol (Escribano *et al.*, 2012) foram quantificados com sucesso em suínos. Dalla Costa *et al.* (2006) identificou valores de 0,714 $\mu\text{g/dL}$ em fêmeas adultas sujeitas ao stress físico, em contraste com os 0,510 $\mu\text{g/dL}$ quando se encontram em fase de descanso. Mais tarde, Dalla Costa *et al.* (2007) detetaram valores de 0,245 $\mu\text{g/dL}$ em fêmeas suínas quando sujeitas ao stress por frio e de 0,323 $\mu\text{g/dL}$ em stress por calor.

Está documentado que um aumento do cortisol sanguíneo se reflete no cortisol salivar (Yamaguchi *et al.*, 2004), tal como apresentado na figura que se segue, figura 6. Segundo Vining *et al.* (1983) citados por Cunha *et al.* (2012) isto ocorre em menos de 5 minutos. No entanto, o cortisol salivar mostra-se um indicador menos sensível do que o cortisol plasmático (Parrott *et al.*, 1989).

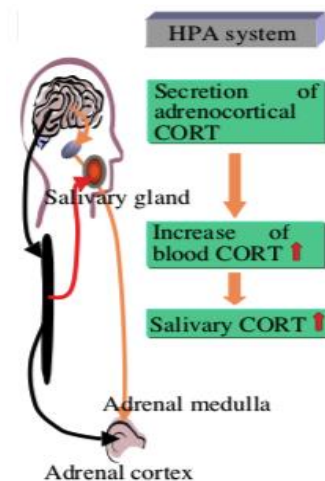


Figura 6 - Mecanismo de produção do cortisol sanguíneo e salivar (HPA: HHA; CORT: Cortisol) (Adaptado de Yamaguchi *et al.*, 2004).



Mais tarde, nasceu o interesse em amostras de pelo animal, visto que fornece um calendário retrospectivo de possível exposição a um agente stressante (Cirimele *et al.*, 2000, citados por Casal *et al.*, 2017). Se, por um lado apresenta a vantagem de a sua concentração não ser afetada pelo stress momentâneo, por outro lado a grande variação entre espécies, no ritmo, secreção e resposta ao stress do cortisol apresenta-se como um inconveniente por impossibilitar de forma precisa uma relação temporal entre causa e efeito (Buchanan e Goldsmith, 2004, Keckeis *et al.*, 2012, citados por Casal *et al.*, 2017).

Em adição, seja qual for o meio biológico a analisar, é importante considerar variáveis como a idade, o peso, o sexo e a intensidade do agente stressor (Encarnação, 1986).

v. Alfa-amilase sanguínea

Em relação à amilase pancreática, parece haver algumas respostas fisiológicas do pâncreas face a condições de stress (Botermans *et al.*, 1999), já que a inibição do sistema nervoso parassimpático (SNP) (Chey *et al.*, 1979, citados por Botermans *et al.*, 1999) e a estimulação do SNS (Chey *et al.*, 1991, citados por Botermans *et al.*, 1999) reduzem a secreção pancreática de amilase.

Apesar de o aumento desta enzima, face a condições de stress, estar bem documentado em humanos (Nater e Rohleder, 2009), na área dos suínos ainda é um assunto que necessita de ser mais bem estudado.

vi. Alfa-amilase salivar

A alfa-amilase é uma enzima digestiva cuja principal função é a hidrólise do amido (Cunningham, 1993). A α -amilase salivar inicia a digestão do amido na boca, continuando a ter alguma atividade no estômago antes de entrar no intestino, onde será exposto à amilase pancreática (Granger *et al.*, 2007).

Enquanto o cortisol é medido para avaliar ativação do eixo HHA, a α -amilase salivar foi medida em suínos como marcador de ativação do Sistema Nervoso Simpático (SNS) (Fuentes *et al.*, 2011; Contreras-Aguilar *et al.*, 2018).

Esta enzima amilolítica não é ativamente transportada nem se difunde na saliva a partir da circulação. É maioritariamente produzida na cavidade bucal pelas



glândulas salivares, principalmente as parótidas (amilase salivar) e ainda pelo pâncreas (amilase pancreática), sendo posteriormente armazenada em grânulos secretores. As produções de alfa-amilase nestes dois compartimentos são realizadas por fontes independentes e não estão correlacionados (Granger *et al.*, 2007).

Foi demonstrado que a ativação do SNS leva à exocitose dos grânulos proteicos pré-formados e, conseqüentemente, a um aumento dos níveis de amilase salivar (Speirs *et al.*, 1974, Jenkins, 1978, Chatterton *et al.*, 1996, citados por Yamaguchi *et al.*, 2004).

Posto isto, face a um estímulo stressante, o SNS, para além dos diversos efeitos nos diferentes órgãos, irá atuar nas glândulas salivares, reduzindo a quantidade de fluído secretado (havendo assim uma menor quantidade de água que passa para saliva) e um aumento da exocitose dos grânulos proteicos, que se encontram nas células acinares das glândulas salivares. Por essa exocitose ocorre um aumento da atividade da amilase na saliva (Yamaguchi *et al.*, 2004).

Huang *et al.* (2014) registou em suínos (Large White x Landrace x Duroc) machos na fase de crescimento, com um PV médio de 12 kg, valores de alfa-amilase que rondam os 500 U/L em condições de conforto térmico. Tecles *et al.* (2017) detetou um aumento nos níveis de atividade da alfa-amilase salivar na presença de agentes stressores. No mesmo sentido, Contreras-Aguilar *et al.* (2018), também reportou o incremento de alfa-amilase salivar 1 minuto após os animais serem submetidos a uma situação de stress, ainda que os resultados obtidos tenham apresentado um co-eficiente de variabilidade elevado. Neste caso, registaram-se aumentos de 123,6 U/L para 187,0 U/L, quando suínos (Duroc x (Landrace x Large White) machos, com um PV de 78,3 kg, foram imobilizados pelo focinho (valores nos 5min antes da imobilização vs. primeiros 30 segundos de imobilização).

Também é possível constatar um aumento da concentração de alfa-amilase salivar em resposta a condições de exercício (Van Stegeren *et al.*, 2008, citado por Fuentes *et al.*, 2011); de stress psicológico/emocional (Nater e Rohleder, 2009; Fuentes *et al.*, 2011); de stress térmico (por calor e por frio) (Granger *et al.*, 2007); e em casos de alta densidade populacional. Neste último caso, foram reportados aumentos de 1,21 U/mL (baixa densidade populacional) para 1,29 U/mL (alta densidade populacional) em suínos com cerca de 45 kg (Scollo *et al.*, 2014).



2.2.3 Indicadores produtivos

As condições ambientais são o fator limitante principal na produção de suínos, sendo que influenciam as performances produtivas (Cervantes *et al.*, 2018). Existem evidências de que, quando o bem-estar animal está comprometido, a produtividade dos animais também o está, e conseqüentemente, há uma diminuição e/ou um atraso no ganho de peso, e um atraso no início da reprodução, podendo em casos extremos, levar à morte dos animais (Broom e Molento, 2004; Baptista *et al.*, 2011). O ganho de peso, o consumo de alimento e a conversão alimentar são alguns dos indicadores de produção que estão associados ao BEA de suínos em fase de crescimento e engorda, uma vez que animais em condições de stress têm o seu desenvolvimento prejudicado (Manteca *et al.*, 2013).

Os suínos possuem uma zona de temperatura ótima para sua sobrevivência. Pode-se definir a zona termoneutra como sendo o intervalo de temperatura onde a taxa metabólica e, conseqüentemente, a produção de calor são mínimas. Nesta, a homeotermia é mantida com pequeno gasto energético e a energia líquida de produção é máxima (Mount, 1974, citado por Fialho *et al.*, 2001). Quando as condições fogem do intervalo ótimo, são ativados os mecanismos termorregulatórios, registando-se um aumento da termogênese e diminuição da termólise em condições de frio e, vice-versa, em condições de calor (Cruz, 1997). Qualquer uma destas situações apresenta sempre efeitos negativos visto que, face a condições de frio, os animais desviam a energia para a termorregulação; e face a situações de calor, os animais, devido à sua dificuldade em dissipar calor, diminuem a ingestão alimentar de modo a diminuir a produção de calor o que, conseqüentemente, conduz a reduções nas performances produtivas (Rico, 2019).

2.2.4 Indicadores sanitários

A saúde dos animais é um dos parâmetros mínimos necessários para confirmar o bem-estar dos animais (Houtpt, 2006, citado por Mostaço *et al.*, 2014). Assim, uma das conseqüências do bem-estar pobre é o aumento da suscetibilidade a doenças. Segundo Broom (1988), citado por Costa-e-Silva *et al.* (2009), a relação entre doenças e BEA pode ser estabelecida por meio de três abordagens:

-Dados clínicos relativos a indivíduos doentes;



-Estudos experimentais e levantamentos que comparam a incidência de doenças em diferentes sistemas de manejo ou tratamentos;

-Estudos da funcionalidade do sistema imunológico de indivíduos sob diferentes tratamentos.

Na prática, quando um animal apresenta doenças, feridas, parasitas, dificuldades de movimento ou ainda anormalidades de crescimento, o seu bem-estar está de alguma forma comprometido. Se dois sistemas de produção forem comparados em termos do seu estado sanitário e a incidência de qualquer um dos parâmetros mencionados for significativamente maior num deles, o bem-estar dos animais será pior neste sistema, visto que o bem-estar de um animal doente é sempre mais pobre que o bem-estar de um animal saudável (Broom e Molento, 2004). A medição das taxas de mortalidade, de incidência de doenças e de lesões constitui assim um indicador de bem-estar animal.

2.3A inovação na recolha dos indicadores de BEA

A procura de novas ferramentas capazes de melhorar a produtividade é fator preponderante para a competitividade no mercado da carne suinícola. Além da viabilidade técnica e dos índices de produção alcançados, o mercado consumidor moderno exige informações concisas sobre as tecnologias aplicadas na produção, principalmente sob a ótica do BEA (Amaral e Fonseca, 2014)

Durante os últimos anos, o interesse em técnicas não-invasivas para avaliar o bem-estar animal, e especialmente a resposta ao stress, aumentou devido a razões éticas e logísticas (Casal *et al.*, 2017).

2.3.1 Consumo alimentar

As máquinas de alimentação, controladas por computadores, reconhecem os animais na sua individualidade, por meio de radiofrequência (RFID), são uma ferramenta cada vez mais utilizada na produção suinícola.



Figura 7 - Máquina de alimentação automática
Schauer Compident MLP II (Fonte: Autor).

Estas permitem o registo automático de aspetos relacionados com o comportamento alimentar, como o número de visitas ao comedouro, tempo despendido a comer, consumo alimentar (Brown-Brandl *et al.*, 2013), entre outros. Há outras estações de alimentação que, em adição à tecnologia referida anteriormente, possuem também sistemas de pesagem durante a alimentação ou com sensores de fluxo (Fournel *et al.*, 2017).

A tecnologia controlada por radiofrequência permite o reconhecimento individual dos animais, em tempo real, onde a aquisição contínua de dados de cada um pode ser guardada durante períodos de tempo relativamente longos (Pastell e Kujala, 2007, citados por Rushen e Passille 2012) e permitem uma avaliação mais eficiente dos mesmos, visto que é possível a recolha de um maior número de dados num período de tempo menor, em comparação com os obtidos através da observação direta ou através de gravações de vídeos (Adrion *et al.*, 2018).

2.3.2 Índice de Proximidade

O método mais simples e eficaz para obtenção de informações sobre o comportamento animal é a observação direta, realizada de forma discreta no ambiente habitual do animal estudado. No entanto, esta metodologia é demorada e pode ser influenciada pelo observador, para além de que não é um método aplicável em contexto de exploração comercial. Assim, de forma a maximizar estas observações, podem ser utilizadas camaras de vídeo (Medeiros, 2013) para que os

vídeos gravados possam ser posteriormente analisados por meio de softwares de análise de imagem.

As condições ambientais, tal como referido, têm uma grande influência na postura e na ocupação do espaço pelos suínos (Kkel *et al.*, 2003, Spoolder *et al.*, 2012, citados por Nasirahmadi *et al.*, 2015). Quando a temperatura está abaixo das condições de conforto, estes animais amontoam-se e quando está acima, afastam-se (Costa, 2014). Deste modo, a análise das imagens permite fazer a avaliação do comportamento termorregulador destes animais (Shao e Xin, 2008, citados por Rushen e Passille, 2012).

Os índices de ocupação de espaço são calculados através de algoritmos que, com o auxílio da imagem de câmaras de vídeo, detetam a distribuição espacial dos animais (Berckmans, 2014).

Para este fim, Costa *et al.* (2014), processou as imagens em tempo real utilizando um software inovador, o *eYeNamic*, que registou de forma contínua e automática o comportamento de porcos de engorda. Já Nasirahmadi *et al.* (2015) e Nasirahmadi *et al.* (2017^a) focaram-se no processamento de imagens pelo *software* MATLAB, ao qual foi implementado o método de triangulação de Delaunay (DT).

O método de Triangulação DT define uma triangulação de um conjunto de pontos com a propriedade que nenhum ponto no conjunto caia na circunferência (o círculo que passa por todos os três vértices) de qualquer triângulo na triangulação. Assim, um triângulo é chamado Delaunay em relação a um ponto P , se P não estiver dentro da circunferência do triângulo (Nasirahmadi *et al.*, 2015) (Fig. 8).

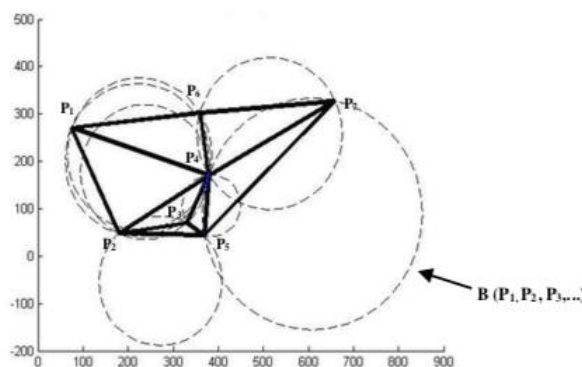


Figura 8 - O DT para o conjunto de pontos P_1, P_2, \dots , num plano, sendo B o círculo circunscrito do triângulo DT (Nasirahmadi *et al.*, 2015).

Aplicado aos suínos, os animais são considerados como uma forma elíptica (Figura 9), sendo utilizado o centro de cada elipse como vértice dos triângulos.

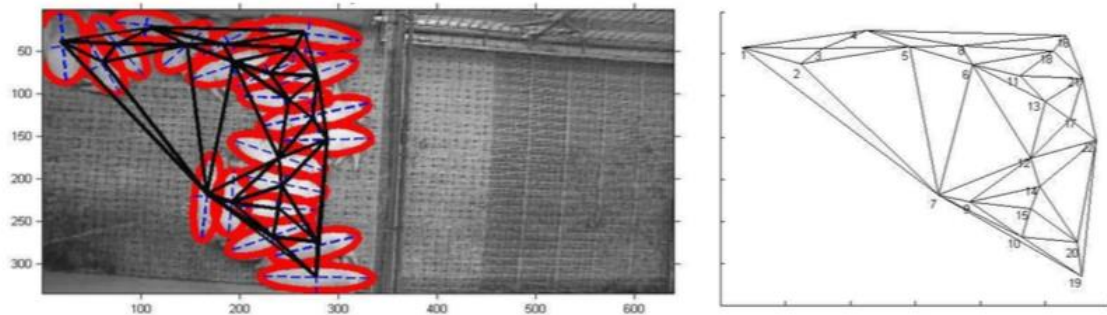


Figura 9 - O método DT e o ajustamento da elipse (Nasirhmadi *et al.*, 2015)

O perímetro de cada triângulo reflete o quanto os porcos estão próximos, sendo calculado como:

$$P = l_1 + l_2 + l_3$$

Onde: P= Perímetro do triângulo; l= Lado do triângulo.

2.3.3 Vocalização

Alguns autores consideram a vocalização animal uma ferramenta eficiente na estimativa do bem-estar e saúde dos suínos (Ferrari *et al.*, 2008, Marx *et al.*, 2003, Moura *et al.*, 2008, citados por Cordeiro *et al.*, 2018). Em machos castrados na fase de crescimento, Moi (2013) identificou valores de 83,48 dB quando sujeitos ao stress por calor, em comparação com os 73,87 dB, registados em condições de conforto térmico.

O desenvolvimento de programas de computador que possam identificar e classificar as vocalizações revelou-se um avanço significativo na melhoria do BEA nas explorações de suínos, animais estes que recorrem à voz para expressar o seu grau de descontentamento. As medições da amplitude do som produzido por porcos podem fornecer algumas informações sobre as respostas dos mesmos à temperatura e humidade relativa, dentro das instalações (Borges *et al.*, 2010, citados por Rushen e Passille, 2012), tal como na deteção de tosse (Van Hirtum e Berckmans, 2003, Silva *et al.*, 2008, citados por Vandermeulen *et al.*, 2015).

2.3.4 Temperatura Superficial

A termografia infravermelha é uma técnica não invasiva que permite a medição da temperatura de superfície corporal animal (Warriss *et al.* 2006, citados por Pulido-Rodríguez *et al.*, 2017).

O seu princípio baseia-se em medir a distribuição da radiação infravermelha emitida pelas superfícies que é transformada em temperatura do objeto analisado.

As câmaras termográficas permitem captar a radiação térmica emitida por determinado corpo, constituindo uma imagem térmica ou termograma (Gonçalves, 2011, citado por Medeiros, 2013). Sendo assim, é possível afirmar que a termografia consiste numa medição da temperatura superficial de um corpo, realizada através da deteção da radiação infravermelha emitida por esse mesmo corpo (Filho, 2011, citado por Medeiros, 2013).

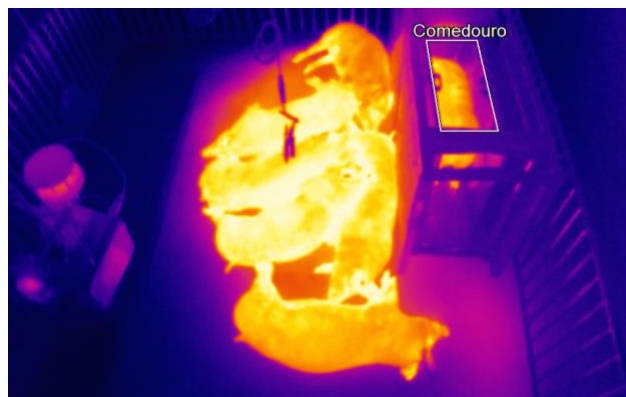


Figura 10 - Imagem recolhida por câmara térmica
(Fonte: Autor)

O uso da câmara infravermelha termográfica apresenta a vantagem de medir a temperatura sem a necessidade de contato, como ocorre com um termómetro infravermelho comum. Além de abranger maiores áreas do animal, faz uma avaliação do fluxo de calor de forma quantitativa e qualitativa (Escobet, 2012).



Figura 11 - Câmara térmica de infravermelhos
(Fonte: Autor)



2.4 Súpula e objetivos do trabalho experimental

O bem-estar dos animais é um conceito vasto, ditado pela capacidade dos animais se adaptarem ao ambiente que os rodeia. Face a qualquer tipo de desconforto, o animal desenvolve um conjunto de respostas de adaptação a um nível comportamental e fisiológico. Neste sentido, por forma a avaliá-lo eficientemente, é necessário considerar os diferentes indicadores de BEA: comportamentais, fisiológicos, produtivos e sanitários.

Apesar de ser influenciado por diversos fatores, as condições ambientais são uma das principais componentes que afeta o bem-estar dos suínos e, conseqüentemente, a sua performance. O efeito prejudicial do incremento da temperatura ambiente aumenta com o peso corporal, sendo que, quanto mais jovens estes animais apresentam maior sensibilidade a condições de frio e, por outro lado, quanto mais velhos, maior sensibilidade a condições de calor.

A presente dissertação foi realizada com base num trabalho experimental conduzido com o objetivo de entender a influência das condições ambientais (temperatura e humidade relativa) nos diferentes indicadores de BEA, nomeadamente comportamentais (índice de proximidade e número de visitas ao comedouro) e fisiológicas (temperatura superficial e temperatura retal, T3, cortisol salivar e sanguíneo e alfa-amílase salivar e sanguínea).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A recolha dos dados analisados ocorreu entre Novembro de 2017 e Janeiro de 2018. A análise dos dados iniciou-se em Novembro de 2017 e terminou em Dezembro 2018.

3.1 Materiais

3.1.1 Instalações

O presente ensaio decorreu na sala de ambiente controlado da Herdade da Mitra (Universidade de Évora), apresentada na figura seguinte (Figura 12).



Figura 12 - Sala de controlo ambiental (Fonte: Autor)

Legenda: A - Fossa de dejeção; B - Janela; C - Aberturas laterais de entrada de ar; D - Ventilador; E - Entrada de ar quente; F - Máquina de alimentação; G - Bebedouros.

A sala tinha uma área total de 43,95 m² (8,50 m x 5,17 m), onde se encontrava um parque com a área total de 11,77 m² (3,73 m x 3,21 m) e, conseqüentemente, uma área por animal de 1,68 m², o que é superior ao mínimo indicado na legislação portuguesa (Decreto Lei no135/2003), de 0,55 m² por suíno, com PV médio de 50 kg, 0,65 m² por suíno com PV médio de 85 kg-110 kg e 1,00 m² por suíno com PV médio superior a 110 kg.

A fossa de dejeção lateral, apresentava uma área total de 3,89 m² (5,54 m x 0,7 m) dos quais 2,36 m² (3,37 m x 0,7 m) encontravam-se no interior do no parque, localizando-se no lado esquerdo deste e sendo protegida por uma grelha de PVC, para evitar ferimentos nos animais, tal como se pode observar na imagem que se segue (Figura 12, correspondente à letra A; Figura 13).



Figura 13 - Grelha de PVC utilizada no presente ensaio
(Fonte: Autor)

A sala estava equipada com luz artificial, no entanto foi apenas utilizada aquando da entrada dos investigadores e tratadores. Caso contrário utilizava-se frequentemente a luz natural, controlada com recurso aos estores existentes em cada uma das 8 janelas (Figura 12, correspondente à letra B).

O controlo do ambiente era efetuado através de sistemas de ventilação, de aquecimento e de arrefecimento, monitorizado por um conjunto de sensores de temperatura, de humidade relativa, de concentração de gases e de velocidade do ar, com o objetivo de manter as condições ambientais nos limites previamente definidos.

O sistema de ventilação permitia a entrada de ar do exterior por uma abertura lateral localizada perto do teto da instalação. O ar exterior entrava primeiramente para um teto falso, o que permitia que este não incidisse diretamente nos animais, entrando em contato com eles através de aberturas “com palhetas” localizadas em cada um dos 4 cantos da sala (Figura 12, correspondente à letra C; Figura 14). A saída de ar ocorria por meio de 2 ventiladores, localizados em pontas opostas da sala, estando um numa das extremidades do parque (Figura 12, correspondente à letra D; Figura 15) e outra fora do mesmo. O sistema de aquecimento, por outro lado, baseava-se na utilização de gás num sistema convencional de aquecimento, com

uma saída de ar localizada na parede do lado esquerdo da sala, ao centro (Figura 12, correspondente à letra E). Por fim, o arrefecimento do ambiente era possível através de um sistema de nebulização.



Figura 15 - Ventiladores (Fonte: Autor) Figura 14 - Abertura da caixa de ar (Fonte: Autor)

Por forma a controlar o comportamento e ganho de peso dos animais, foram instaladas câmaras, microfones e uma máquina de alimentação automática (*Schauer compident MLP II*) (Figura 12, correspondente à letra F; Figuras 16), equipada com 2 balanças, sendo uma destinada à pesagem dos animais e outra à pesagem do alimento. O sistema de identificação eletrónico RFID era ativado com o brinco eletrónico colocado previamente nos animais. Este permitia o reconhecimento do animal que estava na máquina e disponibilizava a ração, permitindo em simultâneo realizar a pesagem do mesmo. A quantidade de alimento a fornecer a cada indivíduo baseou-se nas indicações dadas à máquina de alimentação automática. Este sistema permitia efetuar a comunicação com a balança, disponibilizando a informação real dos pesos dos animais.



Figura 16 – Máquina de alimentação utilizada no presente ensaio (Fonte: Autor)

O parque também se encontrava equipado com 2 bebedouros de taça com tetina (Figura 12, correspondente à letra G;), com um caudal instantâneo de 130 mL/s, localizados por cima da fossa.

3.1.2 Animais

i. Caracterização dos animais

Neste ensaio utilizaram-se 7 fêmeas híbridas da linhagem *Topigs Norsvin* (Piétrain x F1 TN60), originárias de uma exploração comercial sendo que os critérios utilizados na escolha dos animais foram a ausência de deformações e/ou lacerações, a uniformidade em peso e tamanho, a adequação do peso à idade e o sexo feminino.

ii. Procedimentos iniciais

Chegada dos animais

Na chegada dos animais, após a pesagem (PV médio de 50,79 Kg), foi realizada a identificação dos animais com um brinco de identificação eletrónico (RFID) colocado na orelha direita. Para facilitar a identificação visual dos animais, a cada número de identificação fez-se corresponder uma letra (A, W, R, T, E, C, H), que foi pintada no dorso, com spray marcador.

Período de habituação

Foi decidido efetuar um período de habituação durante um período de 15 dias para que os animais se habituassem à sala, equipamentos, presença humana e aos

procedimentos de recolha de indicadores de BEA. Durante este período, as condições ambientais foram de termoneutralidade.

Na figura seguinte que se segue está representado o esquema utilizado no período de habituação estipulado.

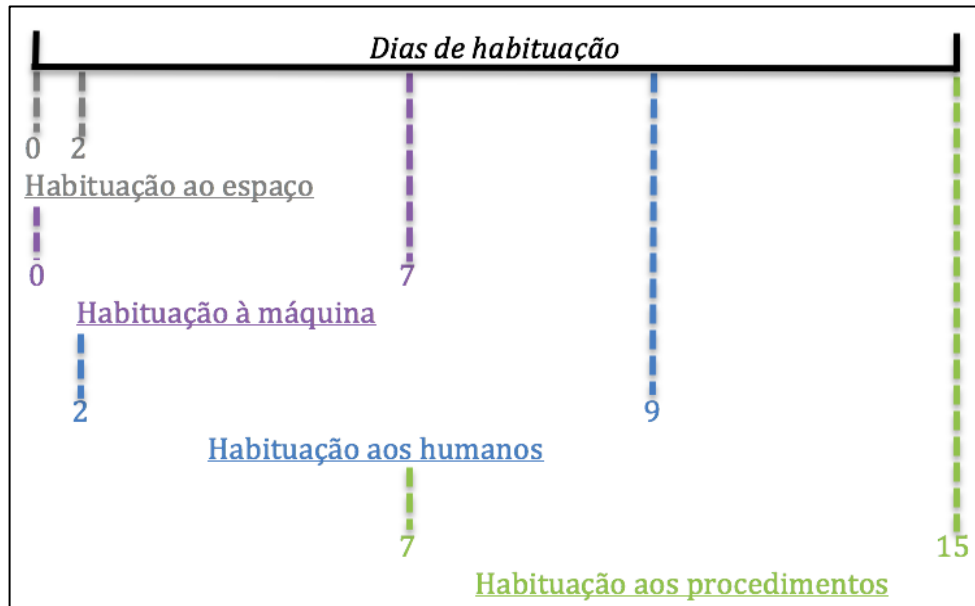


Figura 17 - Esquema do período de habituação

- Habituação ao espaço e à máquina de alimentação

Estipularam-se 2 dias para habituação ao espaço, visto que o parque onde os animais se encontravam era pequeno.

Para a habituação/aprendizagem da utilização das máquinas de alimentação definiu-se um período mínimo de 7 dias, com base nas recomendações de por Vermeer *et al.* (2009).

- Habituação à presença humana

Definiu-se um total 7 dias para habituação aos elementos da equipa que iriam estar presentes no ensaio e dividiu-se este período em duas fases em que se contou com a participação de todos os elementos da equipa, uma vez que os animais conseguem distinguir os humanos uns dos outros, baseando-se em contactos anteriores (Wechsler e Lea, 2007).

Quando os animais já estavam ambientados ao espaço, iniciou-se o período de habituação à presença humana. Numa 1ª fase, os membros da equipa (um a um individualmente ou aos pares) permaneceram dentro do parque, durante cerca de



10 minutos, sem tentar nenhum contato com os animais. Devido ao seu comportamento exploratório os suínos aproximavam-se de forma a investigar a pessoa, que permanecia quieto ou com movimentos reduzidos. Após este período, iniciou-se a 2ª fase, em que foi efetuada uma aproximação aos animais, com interações demoradas.

- Habituação à recolha dos indicadores fisiológicos

Definiu-se um total de 8 dias para habituação aos procedimentos fisiológicos. Iniciou-se concomitantemente com a habituação aos humanos. Efetuou-se a habituação aos procedimentos de recolha de saliva, através da disponibilização de *salivettes* para os animais explorarem.

3.2 Procedimento e delineamento experimental

Todos os procedimentos experimentais tiveram a aprovação do ORBEA-UÉ, o Órgão Responsável pelo Bem-estar dos Animais da Universidade de Évora. O ensaio teve uma duração de cerca de 60 dias, com início a 23 de novembro de 2017 e o final a 17 de janeiro de 2018.

Após o período de habituação, em que os animais estavam sob condições de termoneutralidade (“TN1”), foram criadas as condições de frio (“Frio”) e de calor (“Calor”) intercalado por um período de termoneutralidade (“TN2”). Cada um destas 3 condições teve uma duração de 15 dias.

Na tabela 2 estão descritas as condições ambientais objetivo para cada período. As condições ambientais aplicadas em cada simulação foram escolhidas tendo em conta informações publicadas na bibliografia consultada.

Tabela 2 – Caracterização das condições ambientais objetivo

| Condições ambientais | Habituação (TN₁) | Frio | TN₂ | Calor |
|-----------------------------|------------------------------------|-------------|-----------------------|--------------|
| Temperatura (°C) | 18 ± 2 | 10 ± 2 | 17 ± 2 | 30 ± 2 |
| Humidade Relativa (%) | 60 | 80 | 60 | 50 |

Durante todo o ensaio o alimento disponibilizado, sob a forma de farinha, era um alimento composto comercial para suínos em crescimento, adquirido numa empresa da especialidade. O alimento era constituído nutricionalmente, segundo os dados disponibilizados pelo fornecedor, por 2406 kcal de Energia Limpa, 43,4% de



Amido, 16,8% de Proteína Bruta, 3,5% de Matéria Gorda Bruta, 4,6% de Fibra Bruta, 5,2% de Cinza Bruta, 1,10% de Lisina, 0,36% de Metionina e 0,78% de Treonina.

O alimento concentrado estava armazenado no silo da máquina e aquando da entrada de um animal na máquina de alimentação, era disponibilizada uma quantidade máxima por visita de 800g, até atingir o seu consumo diário máximo permitido, apresentado no quadro 1, calculada para a capacidade máxima de ingestão do animal (INRA, 1984). A cada 24 horas, a máquina registava o consumo diário total de cada animal, fazia um *reset* e voltava a disponibilizar alimento para todos os animais. O fornecimento de água era *ad libitum*.

Quadro 1 - Fornecimento teórico de alimento ad libitum (Adaptado de INRA, 1984).

| Peso Vivo (Kg) | Quantidade de alimento (Kg) |
|----------------|-----------------------------|
| 45 | 1,7 |
| 50 | 1,9 |
| 55 | 2,0 |
| 60 | 2,2 |
| 65 | 2,3 |
| 70 | 2,4 |
| 75 | 2,6 |
| 80 | 2,7 |
| 85 | 2,8 |
| 90 | 2,9 |
| 95 | 3,0 |
| 100 | 3,2 |
| 105 | 3,3 |
| 110 | 3,4 |

3.2.1 Recolha dos dados do ambiente térmico

As variáveis ambientais interiores, analisadas neste trabalho, foram a temperatura e a humidade relativa. Estas foram recolhidas através de uma plataforma de prototipagem eletrónica (Arduino), constituído por diversos sensores de temperatura e humidade relativa, distribuídos estrategicamente pela sala.

3.2.2 Recolha dos dados produtivos

A obtenção do peso vivo (Kg) dos animais foi possível através da informação disponibilizada pela máquina de alimentação individual.

3.2.3 Recolha dos indicadores de BEA

i. Dados comportamentais

Foram utilizadas 5 câmaras de vídeo, colocadas estrategicamente de forma a captarem toda a área do parque e a monitorizar o comportamento dos animais, sendo possível desta forma determinar o afastamento/aproximação dos animais no parque, através da análise dos vídeos captados (figura 18).



Figura 18 - Imagens apresentadas pelas câmaras de vídeo (Fonte: Autor)

A frequência de visitas ao comedouro (total, com e sem alteração de peso do animal) foi também considerada. Quando o animal entrava na máquina de alimentação era reconhecido através do sistema RFID, ficando registada a visita (com ou sem alteração de peso).

O número de visitas ao comedouro com alteração do peso ($N_{\text{com alteração do peso}}$) era contabilizado quando o animal entrava na máquina e se alimentava. Em contrapartida, o número de visitas ao comedouro sem alteração do peso ($N_{\text{sem alteração do peso}}$) ocorria quando o animal entrava na máquina e não consumia qualquer ração. Por fim, o N_{total} obtinha-se pelo somatório destes dois.

ii. Dados fisiológicos

Foram recolhidas manualmente as seguintes informações: temperatura superficial (t_s), a temperatura retal (t_r), a saliva e o sangue dos animais.

A recolha destes indicadores e amostras iniciava-se às 9:00 horas e foi realizada no último dia do período de habituação, sendo considerada a primeira

medida em termoneutralidade (TN_1), e 2 vezes ao longo de cada situação ambiental: uma 4 dias após o dia de alteração das condições ambientais e a outra imediatamente antes da alteração das condições ambientais. Foi cumprida a seguinte ordem de recolha: recolha de saliva comitadamente à recolha da tr, ts e por fim, recolha de sangue.

Recolheu-se a saliva com recurso a rolos de algodão comerciais (*salivettes*). Eram usados dois pedaços de algodão presos numa tesoura pinça de pontas redondas estriadas. Os algodões eram apresentados individualmente a cada animal, tal como é mostrado na imagem 19, e era permitida a mastigação durante cerca de 1/2 minutos. Todos os *salivettes* eram devidamente identificados e permaneciam refrigerados até à centrifugação, a qual ocorria no máximo 30 minutos após a recolha.



Figura 19 - Procedimento de recolha de saliva (Fonte: Autor)

A tr foi medida através de um termómetro clínico digital (Termómetro Flexível Well's). Pelo fato de os animais não reagirem muito bem a este tipo de procedimento de medição sem qualquer distração, foi decidido por parte da equipa de trabalho, efetuá-la em simultâneo com a recolha das amostras de saliva, aproveitando o interesse nesta última por parte das fêmeas.

A ts mediu-se através de um termómetro infravermelho (Pro'sKit MT-4612), na zona dorsal a cerca de 1m de distância. Este procedimento demorava

aproximadamente 5 segundos, sendo registada a temperatura média durante os 5 segundos.

Por fim, a recolha de sangue era efetuada a cada animal por um técnico especializado. Eram retirados 5 mL de sangue do canto medial do olho em tubos com EDTA, de forma a ser possível preservar a morfologia celular. De seguida estes eram devidamente identificados e refrigerados até ao momento da centrifugação.

3.2.4 Tratamento das amostras

i. Dados comportamentais

O comportamento dos animais no que diz respeito à sua dispersão pelo parque (afastamento/aproximação dos animais), foi estudado através do índice de proximidade dos animais ao longo do dia, com recurso à análise das imagens de vídeo captadas 24h/24h através de câmaras de vigilância instaladas no laboratório através de um algoritmo de visão artificial especificamente desenvolvido para calcular o nível de dispersão dos animais no parque foi desenvolvido por uma empresa associada ao projeto, a Hexastep.

O algoritmo é alimentado pelas gravações de vídeo das câmaras, e processa o vídeo *frame a frame*. Internamente funciona em duas etapas:

1 – Reconhecimento dos animais e/ou grupos – Através do Método de Triangulação DT, aplicado no software MATLAB por parte da Hexastep, o algoritmo procura formas que sejam coincidentes com o contorno de um animal (forma elítica) (Fig. 20), neste caso um porco, e regista o posicionamento de cada um no parque. No caso de existirem vários animais estejam em contacto, formando um grupo de animais, o algoritmo identifica também essa situação.

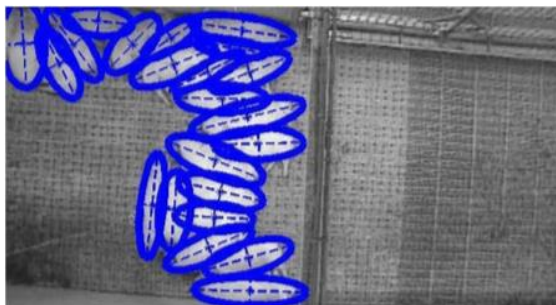


Figura 20 - Elipses ajustadas a cada porco (Nasirahmadi *et al.*, 2015)

2 - Cálculo do índice de proximidade - Através do perímetro de cada triângulo ($P = \text{lado 1} + \text{lado 2} + \text{lado 3}$) formado pelo centro elipse formada era calculado a proximidade dos animais. Tendo como input a área do parque, o número total de animais e a posição de cada um, o algoritmo calcula o índice de proximidade ente eles, sendo o resultado entre 0 e 1, em que 1 significa que os animais estão todos juntos num grupo, e zero significa que os animais estão o mais dispersos possível, dentro dos limites do parque.



Figura 21 - Imagem dos animais no parque com cálculo do índice de proximidade (Fonte: Software GRID)

ii. Dados fisiológicos

As amostras de sangue foram recolhidas para doseamento dos níveis sanguíneos de T3, Cortisol Sanguíneo e α -Amilase Sanguínea. Nas amostras salivares dosearam-se os níveis de Cortisol Salivar e α -Amilase Salivar.

Após recolhidas, as amostras de saliva dos animais foram refrigeradas até ao momento da centrifugação (centrífuga *Helme Z323k*) que ocorria durante 5 minutos a 5000 rpm e a uma temperatura de 4°C. A saliva resultante foi dividida, em alíquotas, por tubos de polietileno (tipo *ependorf*) devidamente identificados (data e número do animal/inicial) e foi congelada a -27°C para posterior análise laboratorial dos níveis de cortisol salivar e alfa-amílase.

Em relação ao sangue, imediatamente após a recolha de todas as amostras, eram centrifugadas na centrífuga refrigerada (*Hermle z323k*) durante 12 minutos a 1500 g a 4°C, para recolha do plasma em 2 tubos que foram congelados a -30°C. Posteriormente as amostras foram analisadas em laboratório para determinar a concentração em cortisol e atividade enzimática de alfa-amílase.

Para quantificação dos níveis de cortisol salivar e sanguíneo utilizou-se o protocolo definido pelo fabricante dos Kits de Imunoensaio Enzimático de Cortisol (Samiletrics®). As amostras eram descongeladas, enquanto era preparado o anticorpo secundário, conjugado a uma enzima (peroxidase de rábano). Para a preparação, este foi diluído, em solução diluente, na proporção de 1:1600. De seguida, foram aplicadas as amostras de saliva (25 µL) na placa, em duplicado, juntamente com os padrões (com concentração conhecida) e com as amostras de controlo de qualidade, incluídas no kit. O esquema da placa apresenta-se na figura seguinte (figura 22).

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | 3,00 | 3,00 | CL | CL | A8 | A8 | A16 | A16 | A24 | A24 | A31 | A31 |
| B | 1,00 | 1,00 | A1 | A1 | A9 | A9 | A17 | A17 | A25 | A25 | A32 | A32 |
| C | 0,33 | 0,33 | A2 | A2 | A10 | A10 | A18 | A18 | A26 | A26 | A33 | A33 |
| D | 0,11 | 0,11 | A3 | A3 | A11 | A11 | A19 | A19 | A27 | A27 | A34 | A34 |
| E | 0,037 | 0,037 | A4 | A4 | A12 | A12 | A20 | A20 | A28 | A28 | A35 | A35 |
| F | 0,012 | 0,012 | A5 | A5 | A13 | A13 | A21 | A21 | A29 | A29 | A36 | A36 |
| G | 0 | 0 | A6 | A6 | A14 | A14 | A22 | A22 | A30 | A30 | A37 | A37 |
| H | CH | CH | A7 | A7 | A15 | A15 | A23 | A23 | A31 | A31 | A38 | A38 |

Legenda:
 Posição A1 e A2 até G1 e G2 – *Cortisol standard* - Amostras standard;
 Posição H1 e H2 – *Cortisol High Control* (CH)-Amostra controlo com concentração mais alta;
 Posição A3 e A4 – *Cortisol Low Control* (CL) - Amostra controlo com concentração mais baixa;
 Posição B3 e B4 até H11 e H12 – Amostras para determinação da concentração.

Figura 22 - Esquema da placa para determinação da cortisol salivar e sanguíneo (Fonte: Autor)

Após aplicadas as amostras, eram adicionados em todos os poços 200 µL da solução de anticorpo secundário preparada anteriormente. A placa foi colocada em agitação à temperatura ambiente e posteriormente incubada durante 1 hora a uma velocidade de 250 rpm.

O cortisol das amostras padrão do kit e o das amostras recolhidas competem com o anticorpo secundário (que reconhece o anticorpo primário, aderente à placa) pelos locais de ligação ao anticorpo, presente numa placa de 96 poços. Após a incubação, a placa era lavada com a solução de lavagem. Esta lavagem consistia na aplicação de 200 µL de solução de lavagem nos poços da placa, com o auxílio da micropipeta. Este processo foi realizado no mínimo 4 vezes, tendo como objetivo extrair os componentes que não conseguiram realizar a ligação.

Por fim, foi adicionado, com uma micropipeta, 200 µL de TMB (substrato tetrametilbenzidina) a cada poço. Depois de outra incubação de 25 minutos à

temperatura ambiente (cerca de 18°C), no escuro e em agitação contínua, a degradação do substrato TMB produz uma cor azul, proporcional ao nível de ligação. A cor amarela é formada após a paragem da reação com uma solução ácida.

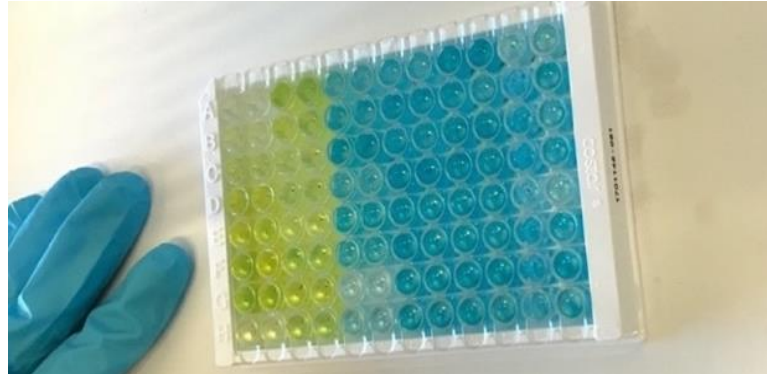


Figura 23 - Diferença visível na cor após a colocação da uma solução ácida (Fonte: Autor)

A densidade ótica é lida num leitor de placas padrão *Promega Glowmax Multi+ Detection System*, a 450 nm. Após a leitura, o valor da concentração ($\mu\text{g/dL}$) é obtido por interpolação gráfica, dos valores da curva de calibração. De referir que para efetuar os cálculos recorreu-se a um software orientado para este tipo de tratamento de dados, o *ELISA analysis* (<https://elisaanalysis.com/app>).

As quantificações da α -amilase salivar e sanguínea foram realizadas através da determinação da atividade enzimática desta proteína, segundo o protocolo definido no Kit (*Salivary α -amilase Kinetic Enzyme Assay Kit* da marca *Salimetrics®*). O esquema da microplaca utilizada apresenta-se na figura seguinte.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | CH | CH | A7 | A7 | A15 | A15 | A23 | A23 | A31 | A31 | A39 | A39 |
| B | CL | CL | A8 | A8 | A16 | A16 | A24 | A24 | A32 | A32 | A40 | A40 |
| C | A1 | A1 | A8 | A8 | A17 | A17 | A25 | A25 | A33 | A33 | A41 | A41 |
| D | A2 | A2 | A10 | A10 | A18 | A18 | A26 | A26 | A34 | A34 | A42 | A42 |
| E | A3 | A3 | A11 | A11 | A19 | A19 | A27 | A27 | A35 | A35 | A43 | A43 |
| F | A4 | A4 | A12 | A12 | A20 | A20 | A28 | A28 | A36 | A36 | A44 | A44 |
| G | A5 | A5 | A13 | A13 | A21 | A21 | A29 | A29 | A37 | A37 | A45 | A45 |
| H | A6 | A6 | A14 | A14 | A22 | A22 | A30 | A30 | A38 | A38 | A46 | A46 |

Legenda:

CH - α -Amylase High Control - Amostra controlo com concentração mais alta;
CL - α -Amylase Low Control - Amostra controlo com concentração mais baixa;
A1 até A46 - Amostras para determinação da concentração.

Figura 24 - Esquema da placa para determinação da α -amilase salivar e sanguínea (Fonte: Autor)



Enquanto as amostras eram descongeladas, foi necessário aquecer o substrato (*α-amilase substrate*) a 37°C.

Em cada poço eram adicionados 7 µL dos controlos de qualidade (constantes do Kit) e das amostras de saliva dos suínos. A estes eram adicionados, com uma micropipeta multicanal, 280 µL do substrato (2-cloro-p-nitrofenol ligado à maltotriose). Esta ligação é quebrada, pela ação enzimática da α-amilase, produzindo-se 2-cloro-p-nitrofenol, o qual absorve a um comprimento de onda de 405 nm. Após adição do substrato às amostras, a placa era incubada, por 1 minuto, a 37°C, seguindo-se a leitura espectrofotométrica a 405 nm, num leitor de microplacas da marca Bio-Rad e do modelo 680.

De seguida, a placa era novamente incubada, durante mais 2 minutos, seguindo-se nova leitura no leitor de microplacas. Os valores de atividade enzimática da alfa-amilase foram obtidos usando a seguinte fórmula:

$$\frac{\Delta Abs./\text{min} \times TV \times DF}{MMA \times SV \times LP} = U/\text{mL de atividade de } \alpha - \text{Amilase na amostra}$$

Sendo:

$\Delta Abs./\text{min}$ = Diferença de absorvância a dividir pelo número de minutos entre as 2 leituras = 2

TV=Volume total (mL) = 0,287

DF=Fator de diluição = 1 (neste caso, as amostras não foram diluídas)

MMA=Absorvância Millimolar de 2-cloro-p-nitrofenol = 12,9

SV=Volume da amostra (mL) = 0,007

LP=Light Path = 0,97

Para além das determinações referidas, um *ependorf* de plasma, de cada animal, em cada uma das recolhas, foi enviada para um laboratório externo à Universidade de Évora, para determinação da concentração da hormona T3.



3.3 Análise Estatística

A análise estatística realizada foi conduzida com o objetivo de compreender se existe influência das condições ambientais sobre as variáveis de bem-estar animal consideradas.

Devido à diversidade das variáveis em estudo e à forma como foram obtidas, estas foram analisadas de acordo com modelos específicos.

Foram analisadas as respetivas estatísticas descritivas e as causas ou efeitos sistemáticos que sobre elas atuaram, de forma a caracterizar cada variável relativamente a cada fase. As variáveis dependentes foram analisadas para avaliação da normalidade segundo Shapiro–Wilk e da homogeneidade da variância segundo o teste Levene (Underwood, 1998).

Considerando que os animais foram avaliados ao longo do processo de crescimento e em condições ambientais diferentes, foi realizada uma análise de covariância com base no peso vivo. Pelo motivo desta covariável ter apresentado valores não significativos, optou-se pelo modelo geral linear.

As seguintes variáveis: temperatura superficial, temperatura retal, T3, cortisol sanguíneo, amilase sanguínea, ingestão alimentar e o peso vivo apresentaram distribuição normal e homocedasticidade e, portanto, foram estudadas através de análise de variância, com modelo geral linear, contemplando 1 fator fixo, as condições ambientais (C), segundo seguinte o modelo matemático-estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + C_i + \varepsilon_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} = Valor observado das variáveis observadas;

μ = Valor médio observado;

C_i = Efeito fixo do ambiente térmico;

ε_{ij} = Erro aleatório ou valor residual de cada observação.

Em todas as análises de variância foram considerados como valores significativos, aqueles cuja probabilidade de ocorrência foi superior a 95% ($p < 0,05$). Sempre que se verificaram diferenças significativas nas análises de variância



relativamente aos fatores, as respetivas médias foram comparadas pelo método de Tukey. No caso da T3, onde as diferenças significativas na ANOVA não foram detetadas pela comparação de médias pelo método mais conservativo de Tukey (Underwood, 1998), recorreu-se ao método LSD.

Nas variáveis comportamentais, bem como no cortisol e a alfa-amilase salivares, como não se verificaram os pressupostos da normalidade e da homogeneidade de variâncias, foram estudadas pela análise não paramétrica Kruskal Wallis.

As comparações das médias entre os ambientes térmico das variáveis, cortisol e a alfa-amilase salivares, foram realizadas por análise não paramétrica (pair-wise - Wilcoxon), comparando cada animal nos diferentes ambientes térmicos. Desta forma, possibilitou-se um maior grau de discriminação, sendo cada animal testemunha de si próprio.

Os resultados foram analisados utilizando o programas de estatística *SPSS Statistics* (versão 24, 2019).

4. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

4.1 Condições ambientais

No quadro 2 estão descritas as temperaturas (interior e exterior, médias, máximas e mínimas) e as humidades (interior, médias, máximas e mínimas e exterior média) ocorridas durante cada um dos períodos do referido ensaio.

Quadro 2 - Condições ambientais médias registadas nos diferentes períodos

| Condições Ambientais | Temperatura | | | | | | HR (%) | | | |
|----------------------|-------------|------|------|------------|------|-----|-----------------|------|------|-----------------|
| | t_i (°C) | | | t_o (°C) | | | HR _i | | | HR _o |
| | Média | Max | Min | Média | Max | Min | Média | Max | Min | Média |
| TN ₁ | 14,4 | 17,0 | 12,0 | 7,5 | 18,0 | 0,1 | 54,3 | 76,2 | 45,4 | 61,6 |
| Frio | 11,3 | 18,6 | 9,0 | 9,4 | 15,6 | 1,1 | 77,5 | 95,0 | 48,4 | 67,6 |
| TN ₂ | 15,1 | 22,4 | 9,0 | 11,3 | 16,9 | 3,6 | 68,3 | 94,0 | 36,8 | 81,9 |
| Calor | 21,6 | 27,8 | 12,0 | 7,9 | 17,5 | 0,7 | 50,2 | 92,8 | 21,0 | 80,0 |

t_i : Temperatura interior

t_o : Temperatura exterior

HR_i: Humidade relativa interior

HR_o: Humidade relativa exterior

4.1.1 Condições ambientais interiores: t_i (interior média, máxima e mínima) e HR_i (média, máxima e mínima)

Verificou-se que nem sempre as condições ambientais interiores conseguiram atingir os valores estipulados, apresentados na Tabela 2.

Na TN₁, a t_i média ($t_i=14,4^\circ\text{C}$) foi $3,6^\circ\text{C}$ inferior à t pretendida ($t=18 \pm 2^\circ\text{C}$) e a HR_i ($t_i=54,3\%$) foi apenas $5,7\%$ (HR=60%).

Na situação térmica de Calor, a t_i média ($t_i=21,6^\circ\text{C}$) foi $8,4^\circ\text{C}$ inferior à t pretendida ($t=30 \pm 2^\circ\text{C}$) e a HR_i (HR_i=50,2%) apresentou-se $0,2\%$ superior ao objetivo (HR=50%).

As restantes situações, de TN₂ ($t_i=15,1^\circ\text{C}$ e HR_i=68,3%) e de Frio ($t_i=11,3^\circ\text{C}$ e HR_i=77,5%), enquadraram-se nos intervalos desejados de $t=17 \pm 2^\circ\text{C}$ e HR=60% e $t=10 \pm 2^\circ\text{C}$ e HR=80%, respetivamente.



4.1.2 Condições ambientais exteriores: t_0 (interior média, máxima e mínima) e HR_0 (média, máxima e mínima)

Durante o presente ensaio registaram-se no exterior temperaturas baixas e humidades relativas elevadas. Tais resultados eram esperados, tendo em conta que este ocorreu durante o Inverno.

A t_0 registou valores variáveis ao longo das condições ambientais. Foi na TN_1 que foi menor ($t_0=7,5^\circ\text{C}$), seguindo-se a condição de Calor ($t_0=7,9^\circ\text{C}$), de Frio ($t_0=9,4^\circ\text{C}$) e, por fim, de TN_2 ($t_0=11,2^\circ\text{C}$).

Já no caso da HR_0 média, entre o início e o fim do ensaio, isto é, da situação de TN_1 ($HR_0=61,6\%$) para a situação de Calor ($HR_0=80\%$), registou-se um aumento na ordem dos 29,87%. No entanto, o pico verificou-se na situação de TN_2 ($HR_0=81,9\%$).

4.2 Dados produtivos

No quadro 3 estão descritos os pesos vivos dos animais registados durante cada um dos períodos do referido ensaio.

Quadro 3 – Pesos vivos médios registados nos diferentes períodos

| Condições Ambientais | Peso vivo (Kg) |
|----------------------|----------------|
| TN_1 | 72,229 |
| Frio | 74,488 |
| TN_2 | 83,665 |
| Calor | 93,365 |

Tal como é possível se observar no quadro anterior, ocorreu um aumento gradual do peso vivo dos animais.

4.3 Variáveis comportamentais

No quadro seguinte está apresentada a influência das condições ambientais no índice de proximidade e no número de visitas ao comedouro (total, com alteração de peso e sem alteração de peso).

Quadro 4 - Resultados dos parâmetros comportamentais

| Condições ambientais | IP ^{a)} | Visitas ao comedouro | | |
|----------------------|-------------------------|------------------------------------|--|--|
| | | N ^o Total ^{a)} | N ^o com alteração do peso ^{a)} | N ^o sem alteração do peso ^{a)} |
| TN ₁ | - | 07,08 ^a ±1,04 | 6,51 ^a ±0,81 | 0,57 ^a ±0,43 |
| Frio | 0,97 ^a ±0,01 | 22,45 ^b ±1,03 | 18,07 ^b ±0,81 | 4,38 ^b ±0,43 |
| TN ₂ | 0,95 ^a ±0,01 | 24,00 ^b ±1,07 | 21,12 ^b ±0,84 | 2,88 ^c ±0,45 |
| Calor | 0,85 ^b ±0,01 | 22,04 ^b ±1,04 | 19,09 ^b ±0,81 | 2,95 ^b ±0,43 |
| P | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |

a) Média ± erro padrão

a, b, c - letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Os indicadores comportamentais analisados revelaram-se todos influenciados pelas condições ambientais ($p < 0,05$) (Quadro 4).

4.3.1 Índice de Proximidade

Não foi possível a obtenção dos resultados para o Índice de Proximidade (IP) na TN₁, uma vez que só foi possível iniciar a gravação do vídeo posteriormente. No entanto, nos restantes períodos, as condições ambientais tiveram um efeito significativo no IP dos animais ($p \leq 0,001$). Face à situação térmica de TN₂ registou-se um aumento para a condição de Frio e uma diminuição para condição de Calor.

Observou-se que as diferenças apenas foram significativas ($p < 0,001$) entre a condição térmica de Calor (IP=0,85±0,01) e as restantes, com IP menores em 14,12% relativamente ao período de Frio (IP=0,97±0,01) e de 11,76% relativamente ao período de TN₂ (IP=0,95±0,01).

As figuras 25 e 26, gravadas durante os períodos de Frio e Calor respetivamente, servem para ilustrar as variações no IP de acordo com as condições ambientais.



Figura 25 - No período de frio, os animais tendem a amontoar-se (Fonte: Autor)



Figura 26 - Em situação de calor, os animais tendem a dispersar-se no parque (Fonte: Autor)



4.3.2 Número de visitas ao comedouro (Total, com alteração do peso e sem alteração do peso)

As condições ambientais tiveram um efeito significativo ($p \leq 0,001$) no N_{total} , $N_{\text{com alteração do peso}}$ e no $N_{\text{sem alteração do peso}}$ registado pelos animais.

Em relação ao N_{total} , foi significativamente inferior na TN_1 ($N_{\text{total}}=7,08 \pm 1,04$), registando-se um aumento de 217,09%, 238,98% e 211,30%, respetivamente para a situação de Frio ($N_{\text{total}}=22,45 \pm 1,03$), TN_2 ($N_{\text{total}}=24 \pm 1,07$) e de Calor ($N_{\text{total}}=22,04 \pm 1,04$).

No $N_{\text{com alteração do peso}}$ na situação de TN_1 ($N_{\text{com alteração do peso}}=6,51 \pm 0,81$) obteve-se um valor significativamente inferior ($p < 0,001$) face aos restantes períodos, revelando-se um aumento de 177,57% relativamente à situação de Frio ($N_{\text{com alteração do peso}}=18,1 \pm 0,81$), 224,42% relativamente à situação de TN_2 ($N_{\text{com alteração do peso}}=21,12 \pm 0,84$) e de 193,24% relativamente à situação de Calor ($N_{\text{com alteração do peso}}=19,09 \pm 0,81$).

Por fim, no $N_{\text{sem alteração do peso}}$ verificaram-se diferenças significativas entre a TN_1 e os restantes períodos e entre o TN_2 e os restantes períodos.

Os animais registaram um aumento significativo da TN_1 ($N_{\text{sem alteração do peso}}=0,57 \pm 0,43$) para a situação de Frio ($N_{\text{sem alteração do peso}}=4,38 \pm 0,43$), na ordem dos 668,42%, 405,26% para a situação de TN_2 ($N_{\text{sem alteração do peso}}=2,88 \pm 0,45$) e de 417,54% para a situação de Calor ($N_{\text{sem alteração do peso}}=2,95 \pm 0,43$).

Entre a situação de Frio e as restantes registou-se uma diminuição significativa ($p < 0,001$) de 34,25% para o período de TN_2 ($N_{\text{sem alteração do peso}}=2,88 \pm 0,45$).

A TN_2 registou um aumento significativo ($p < 0,001$) do $N_{\text{sem alteração do peso}}$ de 2,37% para o período de Calor ($N_{\text{sem alteração do peso}}=2,95 \pm 0,43$).

4.4 Variáveis fisiológicas

4.4.1 Temperaturas superficial e retal



No quadro seguinte (quadro 5) é apresentada a influência das condições ambientais na temperatura superficial (ts) e na temperatura retal (tr) dos animais no referido lote.

Quadro 5 - Influência das condições ambientais nas temperaturas corporais (superficial e retal)

| Condições Ambientais | ts ^{a)} (°C) | tr ^{a)} (°C) |
|----------------------|--------------------------|-----------------------|
| TN ₁ | 30,31 ^a ±0,65 | 38,59±0,71 |
| Frio | 25,39 ^b ±0,41 | 38,44±0,71 |
| TN ₂ | 29,47 ^a ±0,65 | 38,34±0,71 |
| Calor | 35,42 ^c ±0,53 | 39,35±0,50 |
| P | <0,001 *** | 0,588 NS |

a) Média ± erro padrão

a, b, c - letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

As condições ambientais influenciaram significativamente ($p < 0,001$) a temperatura superficial (ts).

Entre as diferentes condições ambientais, a ts apenas não se mostrou significativamente diferente entre a situação de TN₁ (ts=30,31±0,65 °C) e a de TN₂ (ts=29,47±0,65 °C), no entanto entre estes períodos ocorreu uma diminuição numérica de 2,77%.

Assim, os animais registaram uma diminuição significativa na temperatura da TN₁ (ts=30,31±0,65 °C) para o período de Frio (ts=25,39±0,41 °C) de 16,23% e um aumento para o período de Calor (ts=35,42±0,53 °C) de 16,86%.

Em relação ao período de Frio (ts=25,39±0,41 °C), ocorreu um aumento de 16,07% para o período de TN₂ (ts=29,47±0,65 °C) e de 39,50% para o período de Calor (ts=35,42±0,53 °C).

Por fim, entre as situações de TN₂ (ts=29,47±0,65 °C) e de Calor (ts=35,42±0,53 °C) o aumento significativo foi de 20,19%.

No gráfico seguinte está demonstrado o comportamento da ts face às diferentes situações ambientais.

Em relação à temperatura retal (tr), as condições ambientais parecem não ter um efeito significativo ($p \geq 0,05$).

4.4.2 Concentração de T3

No quadro 6 apresenta-se a influência das condições ambientais na concentração da T3.

Quadro 6 - Influência das condições ambientais na T3

| Condições ambientais | T3 ^{a)} (ng/dL) |
|----------------------|-----------------------------|
| TN ₁ | 84,89 ^b ±17,45 |
| Frio | 141,66 ^a ±17,45 |
| TN ₂ | 75,09 ^b ±24,67 |
| Calor | 53,50 ^b ±29,19 |
| P | 0,03 * |

a) Média ± erro padrão

a, b – letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Pela observação do quadro anterior, deteta-se diferenças significativas na T3 ($p < 0,05$) face às diferentes situações ambientais.

Entre as concentrações obtidas, é no período de Frio ($T3 = 141,66 \pm 17,45$ ng/dL) onde se mostraram significativamente superiores ($p < 0,001$). Desta situação ocorre uma diminuição de 40,08%, 46,99% e 62,23% para os períodos de TN₁ ($T3 = 84,89 \pm 17,45$ ng/dL), TN₂ ($T3 = 75,09 \pm 24,67$ ng/dL) e Calor ($T3 = 53,50 \pm 29,19$ ng/dL), respetivamente.

4.4.3 Cortisol sanguíneo

No quadro 7 está apresentada a influência das condições ambientais nos Cortisol sanguíneo.

Quadro 7 - Influência das condições ambientais no cortisol sanguíneo

| Condições ambientais | Cortisol sanguíneo ^{a)} (μ g/dL) |
|----------------------|---|
| TN ₁ | 10,46 ^a ±1,24 |
| Frio | 5,94 ^b ±1,24 |
| TN ₂ | - |
| Calor | 3,78 ^b ±2,08 |
| P | 0,01 * |

a) Média ± erro padrão

a, b – letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Devido a um erro no procedimento metodológico (armazenamento das amostras de sangue), não foi possível a obtenção dos resultados no período de TN₂. Não obstante, foram detetadas diferenças significativas no Cortisol Sanguíneo ($p < 0,05$) entre a TN₁ e as restantes situações ambientais.

As condições ambientais influenciaram significativamente ($p < 0,05$) a concentração de Cortisol no sangue (Cortisol_{sangue}).

Dos resultados obtidos, foi na TN₁ (Cortisol_{sangue}=10,46±1,24 µg/dL) que se verificou uma concentração significativamente superior ($p < 0,05$) relativamente às restantes situações.

Em relação os restantes períodos, ocorreu uma diminuição de 43,21% para o período de Frio (Cortisol_{sangue}=5,94±1,24 µg/dL) e de 63,86% no período de Calor (Cortisol_{sangue}=3,78±2,08 µg/dL).

4.4.4 Cortisol salivar

No quadro 8 está apresentada a influência das condições ambientais nos Cortisol salivar.

Quadro 8 - Influência das condições ambientais no Cortisol Salivar

| | | Cortisol Salivar (ug/dL) | | | |
|----------------------|---------------------|------------------------------------|------------|-----------------|------------|
| | | Comparações Múltiplas (Valor de P) | | | |
| Condições ambientais | | TN ₁ | Frio | TN ₂ | Calor |
| | Média ± Erro padrão | 0,21±0,02 | 0,89±0,30 | 0,51±0,07 | 0,54±0,09 |
| TN ₁ | 0,21±0,02 | - | 0,018 * | 0,018 * | |
| Frio | 0,89±0,30 | 0,018 * | - | | 0,31 NS |
| TN ₂ | 0,51±0,07 | 0,018 * | | - | 0,61 NS |
| Calor | 0,54±0,09 | | 0,31 NS | 0,61 NS | - |

Em relação ao Cortisol salivar, apenas foram detetadas diferenças ($p < 0,05$), pela análise de comparações múltiplas, entre as situações seguintes: TN₁ e Frio, TN₁ e TN₂.

Segundo os resultados obtidos através da ANOVA, as condições ambientais não influenciaram significativamente ($p \geq 0,05$) a concentração salivar de Cortisol (Cortisol_{saliva}). Por este motivo, foi realizada uma análise par a par (Wilcoxon – Pair-Wise), de forma individualizada, para analisar as diferenças significativas entre os diferentes períodos. Desta, apenas foram identificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre TN₁ e Frio e entre Frio e TN₂.

Entre a situação de TN₁ (Cortisol_{saliva}=0,21±0,02 µg/dL) e a situação de Frio (Cortisol_{saliva}=0,89±0,30 µg/dL) ocorre um aumento significativo, de cerca de 323,8%.

Já entre da situação de TN₁ (Cortisol_{saliva}=0,21±0,02 µg/dL) para a situação de TN₂ (Cortisol_{saliva}=0,51±0,07 µg/dL) há um aumento de 142,9%.

4.4.5 α -Amilase sanguínea

No quadro 9 está apresentada a influência das condições ambientais na α - Amilase Sanguínea.

Quadro 9 - Influência das condições ambientais no α -Amilase Salivar

| Condições ambientais | α -Amilase Sanguínea ^{a)} (U/mL) |
|----------------------|--|
| TN ₁ | 10,17±1,34 |
| Frio | 5,68±1,34 |
| TN ₂ | - |
| Calor | 9,79± 2,24 |
| P | 0,06 NS |

a) Média ± erro padrão

a, b - letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Como é possível observar no quadro 9, as condições ambientais não tiveram influência estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) na concentração sanguínea de α - Amilase.

4.4.6 α -Amilase salivar

Na tabela 11 está apresentada a influência das condições ambientais na α - Amilase Salivar.

Quadro 10 - Influência das condições ambientais na α -Amilase Salivar

| | | α -Amilase Salivar | | | |
|----------------------|---------------------|------------------------------------|------------|------------|------------|
| | | Comparações Múltiplas (Valor de P) | | | |
| Condições ambientais | | TN ₁ | Frio | TN | Calor |
| | Média ± Erro padrão | 0,32±0,16 | 0,29±0,10 | 0,34±0,22 | 0,20±0,05 |
| TN ₁ | 0,32±0,16 | - | 1 NS | 0,75 NS | |
| Frio | 0,29±0,10 | 1 NS | - | | 0,23 NS |
| TN ₂ | 0,34±0,22 | 0,75 NS | | - | 0,75 NS |
| Calor | 0,20±0,05 | | 0,23 NS | 0,75 NS | - |



Pela observação do quadro anterior, não foram detetadas diferenças significativas ($p \geq 0,05$) entre as diferentes situações térmicas.

Tendo em conta que, pela análise estatística ANOVA, as condições ambientais pareceram não influenciar significativamente ($p \geq 0,05$) a concentração salivar de Amilase (α -Amilase_{saliva}) ($p \geq 0,05$), foi realizada uma análise par a par (Wilcoxon – Pair-Wise), de forma a analisar as diferenças significativas entre os diferentes períodos. No mesmo sentido, desta análise, não se obtiveram igualmente diferenças significativas entre os diferentes períodos ambientais.



5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Condições ambientais

As condições ambientais objetivo no interior da sala experimental nem sempre foram alcançadas, verificando-se alguns desvios ao previsto no ambiente TN₁ e sobretudo no ambiente C, onde sobretudo os valores de temperatura ficaram abaixo do planeado.

Todo o ensaio decorreu no período de final de outono-inverno durante o qual a temperatura exterior média nunca ultrapassou os 12°C. Também se verificou uma elevada amplitude térmica diária o que provocou dificuldades nas tentativas de climatização da sala, nomeadamente do seu aquecimento.

No período TN₁ havia um desconhecimento inicial por parte da equipa de trabalho sobre a melhor gestão do sistema de aquecimento aliado à presença dos animais na sala e ao funcionamento simultâneo da maquinaria no seu interior, na medida em que este foi o primeiro ensaio do projeto. Tal fato, e porque as variações diárias da temperatura exterior eram muito elevadas, terá levado a uma regulação por vezes inadequada do sistema de aquecimento fazendo com que, no final, o valor médio de temperatura interior tenha ficado um pouco abaixo do pretendido. Todavia, é razoável considerar que no período de maior atividade dos animais, ou seja, durante o dia, a temperatura ambiente estaria bem próxima ou até por vezes acima da pretendida.

Já na situação de calor a diferença para o objetivo foi maior porque mesmo colocando o sistema de aquecimento no limite da sua capacidade não se conseguiu atingir as temperaturas pretendidas o que acaba por condicionar a interpretação dos resultados como adiante se referirá.

5.2 Parâmetros comportamentais

5.2.1 Índice de Proximidade

Alterações significativas na distribuição dos animais no parque foram detetadas face as condições ambientais desfavoráveis para os animais.



Para fins termorreguladores foi possível identificar que os animais se aproximam/amontoam quando as condições ambientais se apresentam abaixo do conforto térmico (condições de Frio) e se afastam/dispersam quando as condições ambientais estão acima do conforto térmico (condições de Calor).

Quando as condições ambientais simuladas correspondem à situação de Frio, o IP aumentou, tendo sido registado um máximo de $IP=0,98$. O amontoamento dos porcos, para evitar a perda de calor, foi igualmente detetado por Nasirahmadi *et al.* (2017^b) e Nasirahmadi *et al.* (2019).

Quando as temperaturas ambientais correspondem à situação de Calor, os animais dispersaram-se pelo parque, evitando o contato com os outros, de forma a expor uma maior superfície corporal a uma superfície mais fria, na tentativa de ocorrer uma perda de calor por condução (Ekkel *et al.*, 2003; Nasirahmadi *et al.*, 2017^b). Deste modo, registaram-se IP menores, chegando a atingir o mínimo de $IP=0,81$.

Não se verificaram diferenças significativas entre a situação de Frio e de TN_2 . Seria de esperar uma diminuição mais acentuada, tendo em conta que, se os animais se encontravam numa situação termoneutra, não necessitariam de ajustar a sua postura para efeitos termorreguladores (Ekkel *et al.*, 2003). Deste modo, tendo em conta que na situação térmica de TN_2 se registou uma t_i média de $15,1\text{ }^\circ\text{C}$, há indícios que neste período as condições ambientais pudessem estar abaixo da zona de conforto térmico.

5.2.2 Número de visitas ao comedouro (Total, com alteração do peso e sem alteração do peso)

No presente ensaio, as condições ambientais mostraram-se influenciadoras no N_{total} , N_{com} alteração do peso e no N_{sem} alteração do peso. No N_{total} e N_{com} alteração do peso estas foram apenas detetadas entre o período de TN_1 relativamente aos restantes, já no N_{sem} alteração do peso as diferenças ocorreram entre a TN_1 e os restantes períodos e entre o TN_2 e os restantes períodos.

Da situação de TN_1 para a situação de Frio, registou-se um aumento significativo nas 3 variáveis, na tentativa aumentar a produção calor. Estas alterações foram igualmente identificadas em diferentes estudos (Brown-Brandl *et*



al., 2001; Collin *et al.*, 2001; Souza e Batista, 2012; Pearce *et al.*, 2013; Campos *et al.*, 2017; Nienaber and Hahn, 1982, Nienaber *et al.*, 1999; citados por Cross *et al.*, 2020), que justificam este comportamento pelo fato de os animais acederem mais vezes à máquina de alimentação na tentativa de aumentar a frequência de alimentação e, conseqüentemente, a produção de calor, quando as condições ambientais se encontram abaixo da zona de conforto térmico (Collin *et al.*, 2001).

Seria de esperar uma diminuição significativa entre os períodos de TN₂ e de Calor no N_{total} e no N_{com alteração do peso}, tendo em conta que há autores que afirmam que, perante o stress térmico por calor, os suínos tendem a diminuir a frequência de alimentação, de forma a reduzir a produção de calor. No entanto, tal como no presente ensaio, Quiniou *et al.* (2000) e Cross *et al.*, (2020) não encontraram diferenças no número de visitas ao comedouro quando as temperaturas estiveram acima das de condições de conforto, visto que nestes casos, os animais alteram o horário de alimentação, para as horas em que as temperaturas estavam mais baixas. Por outro lado, tal como já referido anteriormente, considerando que na na situação térmica de Calor a *t_i* média registada apresentou-se 8,4 °C à estipulada ($t=30\pm 2$ °C), é lícito supor que as condições ambientais definidas nesta situação ambiental de Calor poderão não ter correspondido a uma situação causadora de um stress térmico suficientemente severo para estes animais, ao ponto de se registarem diferenças significativas no N_{total} e no N_{com alteração do peso}.

Foi demonstrado que o comportamento alimentar é mais afetado quando os animais sofrem stress térmico a longo prazo (Song *et al.*, 2011; Renaudeau *et al.*, 2013) sendo que, quando as condições ambientais retornam precocemente a níveis de conforto térmico, os mesmos tendem a ter um comportamento compensatório (Zumbach *et al.*, 2008, citados por Cross *et al.*, 2020). Foi possível comprovar este mecanismo na situação de TN₂, onde se registou um N_{total} superior.

Por fim, relativamente à variável N_{sem alteração do peso}, trata-se de uma variável muito pouco abordada nos estudos animais pelo que as fontes bibliográficas de possível comparação são praticamente inexistentes.



5.3 Parâmetros fisiológicos

5.3.1 Temperatura superficial

No presente ensaio a t_s foi influenciada pelas condições ambientais. Face às 2 situações de conforto térmico (TN_1 e TN_2), as quais não diferiram significativamente entre si, a t_s evidenciou valores superiores face à situação de Calor e menores relativamente à situação de Frio.

Em relação a condições de conforto térmico, a t_s diminuiu na situação térmica de Frio e aumentou na situação térmica de Calor. Tais resultados apresentam tendências semelhante aos observados em diferentes estudos (Huynh *et al.*, 2005; Manno *et al.*, 2006; Kiefer *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2010; Silva, 2010; Souza e Batista, 2012).

5.3.2 Temperatura retal

No presente ensaio, os resultados obtidos não são concordantes com as observações de outros estudos (Ferreira.... (Ferreira, 2002, citado por Rodrigues, 2010) visto que as condições ambientais aparentam não ter um efeito significativo sobre a t_r .

Foi detetado um aumento numérico no período de Calor face às restantes situações, apesar de não significativo. Deste modo, e tendo novamente em conta que na situação térmica de Calor a t_r média registada apresentou-se 8,4 °C à estipulada ($t=30\pm 2$ °C), é lícito supor que as condições ambientais definidas nesta situação ambiental de Calor poderão não ter correspondido a uma situação causadora de um stress térmico suficientemente severo para estes animais, ao ponto de se registarem diferenças significativas na temperatura interna.

Seria de esperar uma maior concordância entre os resultados obtidos da variável t_s e da t_r . No entanto, a temperatura interna, obtida através da t_r , é mais estável e apresenta uma maior inércia (Silva, 2010), enquanto que a t_s é mais sujeita a alterações condicionadas pelos gradientes térmicos com a circunvizinhança. Esta diferença entre a t_r e t_s , também é evidenciada por Manno *et al.* (2006), indiciando que os mecanismos termorreguladores foram suficientemente eficientes para limitar os armazenamentos de calor nas condições ambientais desfavoráveis.



5.3.3 Hormona T3

Neste estudo, a concentração da hormona T3 foi influenciada pelas condições ambientais.

Verificaram-se diferenças significativas entre a situação de Frio e as restantes. Perante condições abaixo da zona de conforto térmico, verificou-se uma tendência para um aumento da concentração plasmática da hormona de T3. Resultados semelhantes foram obtidos por Becker *et al.* (1993).

Na situação térmica de Calor, embora sem diferenças significativas, verificou-se uma diminuição de 28,72%, comparativamente com a situação térmica de TN₂. Deste modo, é lícito supor que as condições ambientais definidas neste período poderão não ter correspondido a situações causadoras de um stress térmico-severo para estes animais, ao ponto de haver uma redução significativa da concentração de T3 no sangue.

No entanto, foram identificadas concentrações mais elevadas na situação de Frio e mais baixas na situação de Calor, o que coincide com a informação e com os resultados obtidos em numerosos estudos (Becker *et al.*, 1992; Becker *et al.*, 1993; Koong *et al.*, 1983, citados por Kiefer *et al.*, 2009; Antunes *et al.*, 2013; Campos *et al.*, 2017; Bernabucci *et al.*, 2010, citados por Campos *et al.*, 2017; Renaudeau *et al.* 2010, Terrien *et al.* 2011, citados por da Fonseca de Oliveira *et al.*, 2018).

5.3.4 Cortisol sanguíneo

As condições ambientais mostraram-se influenciadoras da concentração sanguínea de cortisol. Não obstante, foram registadas diferenças significativas entre a situação de TN₁ e as de stress térmico (Frio e Calor), no entanto valores mais elevados foram observados no período de TN₁.

Existe uma explicação plausível que poderá estar na base do comportamento desta hormona. Tal como referido, a utilização do sangue como meio de estudo do stress é uma limitação que pode interferir na avaliação precisa desta hormona (Cunha *et al.*, 2012). Primeiramente, a contenção do animal para recolha de sangue, aliada à resposta rápida do eixo HHA e o conseqüente aumento das concentrações de cortisol (Ruis *et al.*, 1997) face a um agente stressor aquando a primeira recolha de sangue, faz com que a concentração seja muito elevada na situação de TN₁. Nas



situações seguintes, tendo em conta que o procedimento de recolha já era conhecido pelos animais, o aumento dos níveis não foi tão expressivo. Por outro lado, é lícito supor que, tendo em conta o alojamento pobre em enriquecimento ambiental, isto é, em estímulos para os animais, esteja presente uma situação de stress crónico. Nestes casos, apesar de haver um aumento dos níveis de cortisol face à ação do agente stressor (condições ambientais), podem existir mecanismos de adaptação que resultem em diferentes variações nos níveis desta hormona (Hellhammer *et al.*, 2009). Deste modo, a diminuição dos níveis face às condições de Frio e Calor é totalmente aceitável.

Os resultados obtidos vão em sentido oposto aos resultados obtidos por Heo *et al.* (2005), citados por Campos *et al.* (2007), que detetaram um aumento dos níveis de cortisol sanguíneo em suínos expostos a uma temperatura de 32 °C durante 4 horas. De notar que este estudo reporta uma estimulação aguda onde prevalecem as respostas iniciais das glândulas adrenais e não contemplam as respostas adaptativas seguintes. No mesmo sentido, Kim *et al.* (2009), citados por Campos *et al.* (2007), reportam uma diminuição da concentração de cortisol no sangue de suínos na fase de crescimento expostos a temperaturas de 40 °C, quando em comparação com a exposição a uma temperatura de 24 °C. Estes resultados sugerem que, ao ocorrer uma exposição aguda a situações de stress térmico, ocorre a ativação do eixo HHA como resultado da resposta inespecífica do animal a uma condição stressante. No entanto, a aclimação provavelmente gera uma diminuição dos níveis de cortisol, uma vez que o cortisol é uma hormona calorígenica (Campos *et al.*, 2007).

5.3.5 Cortisol salivar

Neste estudo apenas foram detetadas diferenças significativas entre os períodos de TN₁ e Frio, de TN₁ e TN₂ na concentração de cortisol na saliva.

O aumento significativo encontrado da concentração de cortisol face a situações de stress térmico por Frio concorda com a bibliografia consultada (Dalla Costa *et al.*, 2007).

As diferenças entre as situações de conforto térmico (TN₁ e TN₂) são um pouco controversas, tendo em conta que, devido ao fato de os animais estarem em



condições semelhantes, os níveis de cortisol deveriam ser semelhantes. Deste modo, é possível que estejamos perante uma situação de stress psicológico. O stress psicológico, provavelmente derivado do efeito acumulado do stress térmico da situação de frio, pode ser o fator influenciador da concentração de cortisol no período de TN₂. Um aumento face a condições termoneutras foi relatado por Silanikove (2000) citado por Campos *et al.* (2017).

Seria de esperar uma maior concordância entre as variáveis de cortisol salivar e cortisol sanguíneo. O cortisol é produzido na glândula adrenal, de onde segue para a corrente sanguínea. Há uma difusão passiva para os fluídos orais que permite a sua quantificação. No entanto, o atraso entre a ativação do eixo HHA e a alteração na concentração salivar de cortisol pode demorar de 15 a 20 min (Granger *et al.*, 2007), o que pode estar na base da diferença do comportamento desta hormona na saliva e no sangue, considerando que a recolha da amostra de saliva ocorria sempre antes da recolha das amostras de sangue. Além disso, as amostras de saliva foram sempre recolhidas antes das amostras de sangue e para a recolha das amostras de sangue está sempre stress associado. Este stress resultante da recolha pode levar a aumentos dos níveis circulantes da hormona e por isso a uma falta de relação entre os seus níveis sanguíneos neste ponto e os níveis salivares no ponto anterior (recolha de saliva).

5.3.6 Alfa-amílase sanguínea

Este é um parâmetro usualmente associado a problemas de pancreatite, pelo que geralmente não é estudado em situações de stress térmico.

Assim sendo, no ensaio realizado, as condições ambientais não influenciaram significativamente a concentração desta enzima, no entanto foram registados valores superiores em situações de conforto térmico, quando confrontadas com situações de stress térmico. Deste modo, os resultados enquadram-se com a redução da secreção pancreática exócrina encontrada na bibliografia (Chey *et al.*, 1979, Chey *et al.*, 1991, citados por Botermans *et al.*, 1999).

5.3.7 Alfa-amílase salivar

Não foi detetada uma influência significativa das condições ambientais na atividade da α -amilase da saliva dos suínos estudados, o que discorda com os



resultados apresentados na bibliografia consultada (Granger *et al.*, 2007; Tecles *et al.*, 2017; Contreras-Aguilar *et al.*, 2018).

Uma das teorias que pode estar na base do inesperado comportamento desta enzima deriva da ingestão de água e da ingestão de alimento. Considerando que não foi controlada a ingestão de água anterior à recolha de saliva, nem o tempo entre o qual houve ingestão de alimento e recolha de saliva, é possível que tenha ocorrido uma diluição da saliva, ou mesmo alterações em resposta ao alimento, o que acabou por mascarar os resultados da atividade da α -amilase salivar.

Foi testada a concordância entre o comportamento da alfa-amilase salivar e do cortisol salivar, tendo em conta que estão os dois associados a eventos de stress térmico. Segundo a bibliografia, esta enzima reage e recupera mais rapidamente à linha basal que o cortisol salivar (Tecles *et al.*, 2017; Dickerson e Kemeny, 2004, citados por Granger *et al.*, 2007; Gordis *et al.*, 2006, citados por Ewert e Chang, 2018) pelo que é aceitável que os seus resultados não sigam uma tendência semelhante, tal como aconteceu no presente estudo.



6. CONCLUSÃO

A presente dissertação, inserida no projeto AWARTECH, teve como objetivo de avaliar a influência das condições ambientais nos indicadores comportamentais e fisiológicos de BEA. Os animais em estudo foram submetidos a situações ambientais extremas (frio e calor) para que fosse possível concretizar esta avaliação. Nas duas conjunturas de stress térmico os indicadores afastaram-se dos valores considerados de bem-estar.

O Índice de Proximidade viu-se significativamente aumentado na situação térmica de Frio e significativamente diminuído na situação térmica de Calor. Foi possível se concluir que com o uso da tecnologia é possível a avaliação deste parâmetro mais facilmente e gerir as condições térmicas de forma mais eficiente

O comportamento alimentar, expresso pelo Número de Visitas ao Comedouro, também se mostrou influenciado pelas condições ambientais de alojamento. Verificou-se uma tendência para que as condições ambientais tenham influência sobre o comportamento alimentar.

A nível fisiológico, a análise dos resultados não é tão linear como a nível comportamental.

A temperatura superficial, menos dependente do animal, considerando que é medida na superfície do mesmo, mostrou-se significativamente influenciada pelo ambiente. Já a temperatura corporal, considerada através da temperatura retal, não alterou significativamente ao longo dos diferentes ambientes. Deste modo, a temperatura superficial mostrou-se um indicador mais fiável de BEA nos suínos.

Os níveis de hormonas T3, em combinação com os níveis de cortisol salivar mostram ser bons indicadores para avaliar o bem-estar de suínos, perante diferentes condições ambientais, mostrando a necessidade de aumentos do metabolismo perante situações de temperaturas baixas. Contudo é necessário se ponderar a recolha destes indicadores por meios invasivos é fiável e viável, visto ser causadora de stress.



A amilase salivar, apesar de indicador de ativação do sistema nervoso simpático, só poderá ser usada como marcador de stress/bem-estar se for possível controlar a ingestão de água por parte dos animais.

Através da análise conjunta dos dados é possível verificar que a junção de medidas comportamentais, como o distanciamento entre animais e frequência de ingestão, com as medidas fisiológicas, como os níveis de T3 e cortisol salivar, permitem uma avaliação do bem-estar de suínos em crescimento e engorda.

Em suma, condições ambientais extremas (Frio e Calor) afetam o comportamento e fisiologia dos animais. Deste modo, importa monitorizar de um modo preciso as condições de bem-estar animal, em suinicultura intensiva. Para tal, as ferramentas inovadoras disponibilizadas pela zootecnia de precisão poderão servir como o conceito básico para o desenvolvimento de um sistema de controlo avançado baseado numa monitorização em tempo real e numa frequência adequada de variáveis ambientais, fisiológicas e comportamentais.

A monitorização destes indicadores ao ser realizada de forma automatizada, permite ainda o desenho, baseado na recolha de dados considerados relevantes para o bem-estar dos animais, de formas de atuação também em tempo real sobre os equipamentos de condicionamento ambiental.

Ultimamente têm sido realizados diversos progressos nesse sentido, tal como foi possível observar na expressão do Projeto AWARTECH, com o desenvolvimento de ferramentas que controlem e monitorizem, em tempo real, as condições ambientais e de bem-estar animal levando à sustentabilidade económica e produtiva e também ambiental das explorações pecuárias.



7. BIBLIOGRAFIA

- Aarnink, A.J.A., Schrama, W., Heetkamp, M.J.W., Stefanowska, J., Huynh, T.T.T. (2006). Temperature and body weight affect fouling of pig pens. *Journal of Animal Science*. 84. 2224–2231.
- Acco, A., Pachaly, J.R., Bacila, M. (1999). Síndrome do Stress em Animais – Revisão. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*. 2(1). 71-76.
- Adrion, F., Kapun, A., Eckert, F., Holland, E.M., Staiger, M., Götz, S., Gallmann, E. (2018). Monitoring trough visits of growing-finishing pigs with UHF-RFID. *Computers and Electronics in Agriculture*. 144. 144–153.
- Amaral, P.I.S., Fonseca, L.S. (2014). Desempenho, comportamento e respostas fisiológicas de suínos em terminação submetidos a diferentes programas de luz. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 2(2). 54-59.
- Antunes, R.C., Nascimento, M.R.B.M., Mundim, A.V., Silva, A.M., Storti, A., Alves, L.R. (2013). Níveis de hormônios tireoideanos circulantes, desempenho e qualidade de carcaça e carne de suínos em crescimento e terminação. Ergomix. Disponível em: <https://pt.engormix.com/suinocultura/artigos/hormonios-tireoideanos-carcaca-suinos-t38041.htm> (Acedido a 18-junho-2019).
- Araujo, A., Brock, A. Schwingel, A., Macedo, L., Amorim, W.L. (2017). Nutrição Animal. Trabalho na disciplina de Bioquímica. Instituto Avançado de Ensino Superior de Barreiras, Faculdade São Francisco de Barreiras. Barreiras – Brasil.
- Arellano, P.E., Pijoan, C., Jacobson, L.D., Algers, B. (1992). Stereotyped behaviour, social interactions and suckling pattern of pigs housed in groups or in single crates. *Applied Animal Behaviour Science*. 35. 157-166.
- Baptista, R.I.A., Bertani, G.R., Barbosa, C.N. (2011). Indicadores do bem-estar em suínos. *Ciência Rural*. 41(10). 1823–1830.
- Barbosa Júnior, S. A., Baptista, R.I.A.A.; Barbosa, C.N. (2015). Fisiologia comparada do fluído oral e suas principais aplicações clínicas. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*. 18(4). 259-268.



- Barnett, J., Winfield, C., Cronin, G., Makin, A. (1981). Effects of photoperiod and feeding on plasma corticosteroid concentrations and maximum corticosteroid-binding capacity in pigs. *Australian Journal of Biological Sciences*. 34. 577–586.
- Barros, P.C., Oliveira, V., Chambó, E.D., Souza, L.C. (2010). Aspectos práticos da termorregulação em suínos. *Revista eletrónica Nutritime*. 114. 07(3). 1248-1253.
- Barz, M.C., Fraga, B.N., Lopes, E.I.L., Mello, J.W.C., Lago, M.L.P, Oliveira, V. (2017). Etogramas em cenários de produção de suínos em crescimento e terminação. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. Universidade Federal do Pampa – Campus Santana do Livramento. Fronteira da Paz.
- Becker, B.A., Knight, C.D., Buonomo, F.C., Jesse, G.W. Hedrick, H.B., Baile, C.A. (1992). Effect of a hot environment on performance, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites of pigs treated with porcine somatotropin. *Journal of Animal Science*. 70. 2732-2740.
- Becker, B.A., Knight, C.D., Veenhuizen, J.J., Jesse, G.W., Hedrick, H.B., Baile, C.A. (1993). Performance, carcass composition, and blood hormones and metabolites of finishing pigs treated with porcine somatotropin in hot and cold environments. *Journal of Animal Science*. 71. 2375-2387.
- Becker, B.A., Klir, J.J., Matteri, R.L., Spiers, D.E., Ellersiek, M., Misfeldt, M. L. (1997). Endocrine and thermoregulatory responses to acute thermal exposures in 6-month-old pigs reared in different neonatal environments. *Journal of Thermal Biology*. 22. 87–93.
- Berckmans, D. (2014). Precision livestock farming technologies for welfare management in intensive livestock systems. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 33(1). 189-196.
- Borges, S.A., Maiorka, A., Fisher da Silva, A.V. (2003). Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. *Revista Ciência Rural*. 33(5). 975-981.



- Botermans, J.A.M., Svendsen, J., Westro, B.R., Pierzynowski, S.G. (1999). The effect of stress conditions on exocrine pancreatic secretion in growing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 82. 150–162.
- Boumans, I. (2017). Simulating pigs - Understanding their motivations, behaviour, welfare and productivity. Tese de Doutoramento. Universidade de Wageningen - Wageningen, Holanda.
- Boumans, I., Boer, I.J.M., Hofstede, G.J. (2018). How social factors and behavioural strategies affect feeding and social interaction patterns in pigs. *Physiology and Behavior*. 194.
- Boumans, I.J.M.M., Boer, I.J.M, Hofstede, G.J., Fleur, S.E., Bokkers, E.A.M. (2017). The importance of hormonal circadian rhythms in daily feeding patterns: An illustration with simulated pigs. *Hormones and Behavior*. 93. 82–93
- Boumans, I., Bokkers, E.A.M., Hofstede, G.J., Boer, I.J.M. (2015). Understanding feeding patterns in growing pigs by modelling growth and motivation. *Applied Animal Behaviour Science*. 171. 69–80
- Brandt, P., Aaslyng, M.A. (2015). Welfare measurements of finishing pigs on the day of slaughter: A review. *Meat Science*. 103. 13–23
- Breineková, K., Svoboda, M., Smutná, M., Vorlová, L. (2007). Markers of Acute Stress in Pigs. *Physiological Research*. 56. 323-329.
- Broom, D.M., Kirkden, R.D. (2004). Welfare, stress, behaviour and pathophysiology. *Veterinary Pathophysiology*. 337–369.
- Broom, D. M., Molento, C. F. M. (2004). Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas – revisão. *Archives of Veterinary Science*. 9(2). 1–11.
- Brown-Brandl, T.M., Nienaber, J.A., Turner, L.W., Yen, J.T. (2001). Manual and Thermal Induced feed intake restriction on finishing barrows: I: Effects on growth, carcass composition and feeding behavior. *Transactions of the ASAE*. 43(4). 987–992.
- Brown-Brandl, T. M., Rohrer, G. A., Eigenberg, R. A. (2013). Analysis of feeding behavior of group housed growing–finishing pigs. *Computers and electronics in agriculture*. 96. 246-252.



- Campos, P.H.R.F., Floc'h, N.L., Noblet, J., Renaudeau, D. (2017). Physiological responses of growing pigs to high ambient temperature and/or inflammatory challenges. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 46(6). 537-544.
- Candiani, D., Germana Salamano, E., Doglione, L., Bruno, R., Toussaint, M., Gruys, E. (2008). A Combination of Behavioral and Physiological Indicators for Assessing Pig Welfare on the Farm. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 11. 1-13.
- Carcò, G., Gallo, L., Bona, M.D., Latorre, M.A., Fondevila, M., Schiavon, S. (2018). The influence of feeding behaviour on growth performance, carcass and meat characteristics of growing pigs. *PLoS ONE*. 13(10).
- Carrazza, L.G. (2012). Hormônios Tireodianos, TSH, Desempenho e qualidade de carcaça e carne em suínos imunocastrados alojados em diferentes sistemas de criação. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias (Produção Animal). Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais – Brasil.
- Casal, N, Manteca, X, Peña, R., Bassols, A., Fàbrega, E. (2017). Analysis of cortisol in hair samples as an indicator of stress in pigs. *Journal of Veterinary Behavior*. 19. 1-6.
- Cecchin, D., Campos, A.T., Schiassi, L., Cruz, V.M.F.C., Sousa, F.A. (2016). Índice Fuzzy para o conforto térmico de suínos na fase de crescimento e terminação com base na temperatura superficial e frequência respiratória. *Energia Agricultura*. 31 (4). 334-341.
- Cervantes, M., Antoine, D., Valle, J.A., Vásquez, N., Camacho, R.L., Bernal, H., Morales, A. (2018). Effect of feed intake level on the body temperature of pigs exposed to heatstress conditions. *Journal of Thermal Biology*. 76. 1-7.
- Chagas, M.I.O. (2010). O estresse na reabilitação: a Síndrome da Adaptação Geral e a adaptação do indivíduo à realidade da deficiência. *Revista Acta Fisiátrica*. 17(4). 193 – 199.
- Collin, A., Milgen, J.V., Dubois, S., Noblet, J. (2001). Effect of high temperature on feeding behaviour and heat production in group-housed young pigs. *British Journal of Nutrition*. 86. 63-70.



- Contreras-Aguilar, M. D., Escribano, D., Martínez-Subiela, S., Martínez-Miró, S., Cerón, J.J., Tecles, F. (2018). Changes in alpha-amylase activity, concentration and isoforms in pigs after an experimental acute stress model: an exploratory study. *BMC Veterinary Research*
- Cordeiro, A.F.D., Naas, I.A., Leitão, F.S., Almeida, A.C.M., Moura, D.J. (2018). Use of vocalisation to identify sex, age, and distress in pig production. *Biosystems engineering*. 173. 57 e 63.
- Costa, M.R. (2014). Avaliação do Bem-Estar em Porcos de Engorda na Exploração e no Matadouro. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa. Lisboa – Portugal.
- Cross, A.J., Brown-Brandl, T.M., Keel, B.N., Cassady, J.P., Rohrer, G.A. (2020). Feeding behavior of grow-finish swine and the impacts of heat stress. *Translational Animal Science*.4.1-7.
- Cruz, V. F. (1997). Influência da estação do ano sobre as performances do porco em fase de crescimento e acabamento. Sua relação com a densidade de alojamento e a concentração energética da dieta. Dissertação de Doutoramento. Universidade de Évora. Évora – Portugal.
- Cunha, D.F., RIA Arreguy Baptista, R.I.A., Barbosa, C.N. (2012). Cortisol como indicador do estresse na espécie suína. *Medicina Veterinária* (6). 3. 18-25.
- Cunningham, J. G. (1993). Tratado de Fisiologia Veterinária. Guanabara Koogan S.A. 2ª edição. 454. Rio de Janeiro.
- Da Fonseca de Oliveira, A.C., Vanelli, K., Sotomaior, C.S., Weber, S.H., Costa, L.B. (2018). Impacts on performance of growing-finishing pigs under heat stress conditions: a meta-analysis. *Veterinary Research Communications*.
- Dalla Costa, O.A., Costa, M.J.R.P., Faucitano, L., Kich, J.D., Armiliato, N.M., Triques, N.J., Coldebella, A., Ludke, J.V., Peloso, J.V.; Holdefer, C., Baldi, P. C., Roza, D. (2006). Efeito do tempo de jejum dos suínos na granja sobre o bem-estar, medido pelo cortisol na saliva e pela frequência cardíaca, durante o manejo pré-abate. Embrapa Suínos e Aves. Comunicado técnico, 439.



- Dalla Costa, O.A., Ludke, J.V., Costa, M.J.R.P., Coldebella, A., Faucitano, L., Peloso, J.V., Triques, N.J., Kich, J.D. (2007). Determinação do Ritmo Ultra- Diano do Cortisol na Saliva de Fêmeas Suínas em Peso de Abate. Embrapa Suínos e Aves. Comunicado técnico, 460
- Decreto-Lei nº135/2003. Disponível online: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/693250/details/maximized?filterAction=TRUE&q=Decreto+Lei+n.135%2F2013&perPage=25&fq=Decreto+Lei+n.135%2F2013&fq=Suinos> (Acedido a 19-novembro-2019).
- Deen, J. (2010). Pigs: Behavior and Welfare Assessment. 731–739.
- Donin, D.S., Heinemann, R., Moreira, N. (2007). Estresse térmico e suas conseqüências sobre as características do sêmen de machos suínos. *Revista Brasileira Reprodução Animal*. 31(4). 456-461.
- Downing, J.A., Bryden, W.L. (2002). A non-invasive test of stress in laying hens. RIRDC. 01/143.
- Düpjan, S., Schön, P.C., Puppe, B., Tuchscherer, A., Manteuffel, G. (2008). Differential vocal responses to physical and mental stressors in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Applied Animal Behaviour Science*. 114. 105–115.
- Ekkel, E.D., Spoolder, H.A.M., Hulsegge, I., Hopster, H. (2003). Lying characteristics as determinants for space requirements in pigs. *Applied Animal Behaviour Science*. 80. 19-30.
- Encarnação. (1986). Estresse e Produção Animal. EMBRAPA. I Ciclo Internacional de Palestras sobre Bioclimatologia Animal - Campus de Botucatu.
- Escobet, J. (2012). Diagnóstico termográfico: utilidades práticas na exploração. Disponível online: <https://www.3tres3.com.pt/artigos/diagnostico-termografico-utilidades-praticas-na-explorac%C3%A3o-6368/> (Acedido a 28-dezembro-2019).
- Escribano, D., Ko, H.L., Chong, Q., Llonch, L., Manteca, X., Llonch, P. (2019). Salivary biomarkers to monitor stress due to aggression after weaning in T piglets. *Research in Veterinary Science*. 123. 178–183.



- Escribano, D., Fuentes-Rubio, M., Cerón, J.J. (2012). Validation of an automated chemiluminescent immunoassay for salivary cortisol measurements in pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 24. 918–923.
- Everts, H. (2015). Energy requirement for maintenance in growing pigs. Departamento de Nutrição. Universidade de Utrecht. Holanda. *CVB-Documentation Report*. 57.
- Ewert, A., Chang, Y. (2018). Levels of Nature and Stress Response. *Behav. Sci.* 8(5). 49.
- FAWC. 1979. Farm Animal Welfare Council press statement. Disponível online: <http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20121007104210/http://www.fawc.org.uk/pdf/fivefreedoms1979.pdf> (Acedido a 12-março-2019).
- Ferrari, S., Costa, A., Guarino, M. (2013). Heat stress assessment by swine related vocalizations. *Livestock Science*. 151. 29–34.
- Fialho, E.T., Ost, P.R., Oliveira, V. (2001). Interações ambiente e nutrição – estratégias nutricionais para ambientes quentes e seus efeitos sobre o desempenho e características de carcaça de suínos. 2ª Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína. Concórdia, Santa Catarina – Brasil.
- Foppa, L., Caldara, F. R., Machado, S. P., Moura, R., Santos, R., Naas, I. A., Garcia, R. G. (2014). Enriquecimento ambiental e comportamento em suínos: revisão. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*. 8(1). 1–7.
- Fournel S., Rousseau, A. N., Laberge, B. (2017). Rethinking environment control strategy of confined animal housing systems through precision livestock farming. *Biosystems Engineering*. 155. 96-123.
- Fuentes, M., Tecles, F., Gutiérrez, A., Otal, J., Martínez-Subiela, S., Cerón, J.J. (2011). Validation of an automated method for salivary alpha-amylase measurements in pigs (*Sus scrofa domesticus*) and its application as a stress biomarker. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 23. 282–287.
- Gonyou, H.W. (2001). The social behaviour of pigs. Social Behaviour in Farm Animals. Keeling L.J. and Gonyou H.W. Editors. CABI Publishing. 147-176.



- Granger, D.A., Kivlighan, K.T., El-Sheikh, M., Gordis, R.B., Stroud, L.R. (2007). Salivary-Amylase in Biobehavioral Research Recent Developments and Applications. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1098. 122–144.
- Groffen, J. (2012). Tail posture and motion as a possible indicator of emotional state in pigs. *Swedish University of Agricultural Sciences*.
- Hayssen, V., Harper, J.M., DeFina, R. (2002). Fecal corticosteroids in agouti and non-agouti deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A Molecular & Integrative Physiology*. 132(2). 439-46.
- Heimbürge, S., Kanitz, E., Otten, W. (2018). The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology* (article in press).
- Hellhammer, D.H., Wüst, S., Kudielka, B.M. (2009). Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. 34(2).163–171.
- Hillmann, E, Mayer, C., Schonc, P.C., Puppe, B., Schrader, L. (2004). Vocalisation of domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) as an indicator for their adaptation towards ambient temperatures. *Applied Animal Behaviour Science*. 89. 195–206
- Hötzel, M.J., Filho, C.P.M. (2004). Bem-estar Animal na Agricultura do Século XXI. *Revista de Etologia*. 6(1). 3–15.
- Huang, Y., Liu, W., Yin, C., Ci, L., Zhao, R., Yang, X. (2014). Response to lipopolysaccharide in salivary components and the submandibular gland of pigs. *Livestock Science*. 167. 323–330.
- Huynh, T.T.T. (2005). Heat Stress in Growing Pigs. Tese de Doutorado. Wageningen Institute of Animal Science. Wageningen – Holanda.
- Hyun, Y., Ellis, M., McKeith, F.K., Wilson, E.R. (1987). Feed Intake Pattern of Group-Housed Growing-Finishing Pigs Monitored Using a Computerized Feed Intake Recording System. *J. Anim. Sci*. 75. 1443–1451.
- IMPEX. (2016). The importance of water for pigs. Disponível online: <https://www.impex.nl/en/knowledge-center/the-importance-of-water-for-pigs> (Acedido a 18-maio-2019).



- INE. (2020^a). Produção de carne (t) por Tipo de carnes; Anual. Disponível online: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&userLoadSave=Load&userTableOrder=178&tipoSelecao=1&contexto=pq&selTab=tab1&submitLoad=true&xlang=pt. (Acedido a 14-junho-2020).
- INE. (2020^b). Consumo humano de carne per capita (kg/ hab.) por Tipo de carnes; Anual. Disponível online: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&contexto=pi&indOcorrCod=0000211&selTab=tab0&xlang=pt (Acedido a 14-julho-2020).
- INRA. (1984). L' alimentation des animaux monogastriques: porc, lapin, volailles. INRA, Paris.
- Kashiha, M., Bahr, C., Ott, S., Moons, C.P.H., Niewold, T.A., Ödberg, F.O., Berckmans, D. (2014). Automatic weight estimation of individual pigs using image analysis. *Computers and Electronics in Agriculture*. 107. 38–44
- Kiefer, C., Meignen, B.C.G., Sanches, J.F., Carrijo, A.S. (2009). Resposta de suínos em crescimento mantidos em diferentes temperaturas. *Archivos de Zootecnia*. 58(221). 55-64.
- Korte, S. M., Koolhaas, J. M., Wingfield, J. C., Mcewen, B. S. (2005). The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 29. 3–38.
- Kotrbaček, V., Nau, H.R. (1985). The Changes in Skin, Temperatures of Periparturient Sows. *Acta Veterinaria Brunensis*. 54. 35-40.
- Kraemer, W.J., French, D.N., Spiering, B.A., Volek, J.S., Sharman, M.J., Ratamess, N.A., Judelson, D.A., Silvestre, R., Watson, G., Gómez, A., Maresh, C.M. (2005). Cortisol supplementation reduces serum cortisol responses to physical stress. *Metabolism Clinical and Experimental*. 54. 657–668.
- Kunz, A., Giroto, A.F., Monticelli, C.J., Kich, J.D., Fávero, J.A., Ludke, J.V., Morés, N., Abreu, P.G., Silveira, P.R.S. (2013). Nutrição. *Embrapa Suínos e Aves, Sistema de Produção*. 1678-8850.



- Kurihara, E. (2001). Desenvolvimento de um Modelo Animal para o Estudo da Relação entre Estresse e Halitose. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba – Brasil.
- Lang, A., Kaeoket, K., Kindahl, H., Madej, A., Einarsson, S. (2004). Influence of CRH and ACTH Administration on Endocrine Profile and Ovulation in Sows. *Reproduction in Domestic Animals*. 39. 181–189.
- Leeuw, J.A., Bolhuis, J.E., Bosch G, Gerrits, W.J.J. Effects of dietary fibre on behaviour and satiety in pigs. *Proceedings of the Nutrition Society*. 67. 334–42.
- Li, Q., Patience, J.F. (2017). Factors involved in the regulation of feed and energy intake of pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 233. 22–33.
- Linden, J. (2014). Normal and Abnormal Behaviours of Swine under Production Conditions. *The Pig Site*.
- Littin, K.E., Cockrem, J.F. (2001). Individual variation in corticosterone secretion in laying hens. *British Poultry Science*. 42. 536-546.
- Lopez, A.C., Sobestiansky, J., Coimbra, J.B.S., Afonso, S.B. (1997). Lesões nos cascos e claudicações em suínos. Boletim Informativo de Pesquisa - Embrapa Suínos e Aves e Extensão.
- Ludtke, C., Calvo, A. V., Bueno, A. D. (2014). Capítulo 4 – Bem-estar Animal (BEA) Aplicado à Produção de Suínos. In *Produção de Suínos: Teoria e Prática* (pp. 133–165).
- Macitelli, F., Diesel, T., Lima, V., Braga, J. (2018). O modelo dos “Cinco Domínios” do bem-estar animal aplicado em sistemas intensivos de produção de bovinos, suínos e aves. *Revista Brasileira de Zootecias*. 19(2).
- Madsen, T. N., Kristensen, A. R. (2005). A model for monitoring the condition of young pigs by their drinking behaviour. *Computers and Electronics in Agriculture*. 48(2). 138-154.
- Manno, M. C., Oliveira, R. F. M., Donzele, J. L., Oliveira, W. P. De, Vaz, R. G. M. V., Silva, B. A. N., Saraiva, E.P., Lima, K. R. de S. (2006). Efeitos da temperatura ambiente sobre o desempenho de suínos dos 30 ao 60 kg. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 35(2). 471–477.



- Manteca, X., Mainau, E., Temple, D. (2012). What Is Animal Welfare?. The Farm Animal Welfare Fact's. *Farm Animal Welfare Education Center*. 1.
- Manteca, X., Silva, C.A., Bridi, A.M., Dias, C.P. (2013). Bem-estar animal: Conceitos e formas práticas de avaliação dos sistemas de produção de suínos. *Semina: Ciências Agrárias*.
- Manteuffel, G., Puppe, B., Schön, P. C. (2004). Vocalization of farm animals as a measure of welfare. *Applied Animal Behaviour Science*. 88. 163–182.
- Marchant, J. N., Whittaker, X., Broom, D. M. (2001). Vocalisations of the adult female domestic pig during a standard human approach test and their relationships with behavioural and heart rate measures. *Applied Animal Behaviour Science*. 72. 23–29.
- Martínez-Miró, S., Tecles, F., Ramón, M., Escribano, D., Hernández, F., Madrid, J., Orengo, J., Martínez-Subiela, S., Manteca, X., Cerón, J.J. (2016). Causes, consequences and biomarkers of stress in swine: an update. *BMC Veterinary Research*. 12(171).
- Maselyne, J., Saeys, W., Nuffel, A. Van. (2015). Review: Quantifying animal feeding behaviour with a focus on pigs. *Physiology & Behavior*. 138. 37–51.
- Massari, J.M. (2014). Diferentes padrões de divisões de sexos para alojamento de suínos criados em sistema “wean to finish”. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – Brasil.
- Matthews, S. G., Miller, A. L., Clapp, J., Plötz, T., Kyriazakis, I. (2016). Early detection of health and welfare compromises through automated detection of behavioural changes in pigs. *The Veterinary Journal*. 217. 43–51.
- Medeiros, B.B.L. (2013). Bem-estar e desempenho de suínos criados em sistema “wean to finish”. Tese de Doutorado em Engenharia Agrícola na Área de Construções Rurais. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – Brasil.
- Meese, G.B., Ewbank, R. (1973). The establishment and nature of the dominance hierarchy in the domesticated pig. *Animal Behaviour*. 21(2). 326-334.



- Moi, M. (2013). Vocalização de suínos como indicativo de bem-estar. Dissertação de mestrado na Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal da Grande Dourados. Mato Grosso do Sul - Brasil.
- Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P., van Reenen, C.G., Richard, S., Veissier, I. (2007). Exploration of the hypothalamic – pituitary – adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior*. 92(3). 317-339.92.
- Mostaço, G.M. (2014). Determinação da temperatura retal e frequência respiratória de suínos em fase de creche por meio da temperatura da superfície corporal em câmara climática. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Sistemas Agrícolas. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo. Piracicaba - Brasil.
- Möstl, E, Palme, R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*. 23. 67–74.
- Moura, D.J., Silva W.T., Naas, I.A., Tolón, Y.A., Lima, K.A.O., Vale, M.M. (2008). Real time computer stress monitoring of piglets using vocalization analysis. *Computers and electronics in agriculture*. 64. 11–18.
- Munsterhjelm, C., Heinonen, M., Valros, A. (2015). Effects of clinical lameness and tail biting lesions on voluntary feed intake in growing pigs. *Livestock Science*. 18. 210-219.
- Nasirahmadi, A., Edwards, S.A., Sturm, B. (2017^a). Implementation of machine vision for detecting behaviour of cattle and pigs. *Livestock Science*. 202. 25-38.
- Nasirahmadi, A., Hensel, O., Edwards S.A., Sturm, B. (2017^b). A new approach for categorizing pig lying behaviour based on a Delaunay triangulation method. *Animal*. 11(1). 131–139
- Nasirahmadi, A., Sturma, B., Olssonc, A.C., Jeppssonc, K.H. Müllerd, S., Edwardsb, S., Hensela, O. (2019). Automatic scoring of lateral and sternal lying posture in grouped pigs using T image processing and Support Vector Machine. *Computers and Electronics in Agriculture*. 156. 475–481.



- Nasirahmadi, A., Richter, U., Hensel, O., Edwards, S., Sturm, B. (2015). Using machine vision for investigation of changes in pig group lying patterns. *Computers and Electronics in Agriculture*. 119. 184-190.
- Nater, U.M., Rohleder, N. (2009). Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology*. 34. 486– 496.
- Nielsen, B.L., Lawrence, A.B., Whittemore, C.T. (1996). Feeding behaviour of growing pigs using single or multi-space feeders. *Applied Animal Behaviour Science*. 47. 3–4, 235-246.
- Nóbrega, G.H., Silva, E.M.N., Souza, B.B., Manguiera, J.M.A. (2011). A produção animal sob a influência do ambiente nas condições do semiárido nordestino. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. 6 (1). 67- 73.
- Órfão, I., Stilwell, G. (2012). Enriquecimento ambiental em suiniculturas: vantagens, desvantagens e lacunas no conhecimento. *Agrotec*. 5. 28-31.
- Parrott, R. F., Misson, B. H., Baldwin, B. A. (1989). Salivary cortisol in pigs following adrenocorticotrophic hormone stimulation: Comparison with plasma levels. *British Veterinary Journal*. 145(4). 362–366.
- Pearce, S.C., Gabler, N.K., Ross, J.W., Escobar, J., Patience, J.F., Rhoads, R.P., Baumgard, L.H. (2013). The effects of heat stress and plane of nutrition on metabolism in growing pigs. *Journal of Animal Science*. 91. 2108–2118.
- Petherick, J.C., Blackshaw, J.K. (1987). A review of the factors influencing the aggressive and agonistic behavior of the domestic pig. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 27(5). 605.
- Poletto, R. (2010). Série Especial: Bem-Estar Animal. Disponível online em: <http://www.suino.com.br/Noticia/serie-especial-bem-estar-animal-por-rosangela-poletto-134530> (Acedido a 08-junho-2018).
- Pulido-Rodríguez, L.F., Titto, E.A.L., Henrique, F.L., Longo, A.L.S., Hooper, H.B., Pereira, T.L., Pereira, A.M.F., Titto, C.G. (2017). Termografia infravermelha da superfície ocular como indicador de estresse em suínos na fase de creche. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 37(5). 453-458.



- Quiniou, N., Dubois, S., Noblet, J. (2000). Voluntary feed intake and feeding behaviour of group-housed growing pigs are affected by ambient temperature and body. *Livestock Production Science*. 63. 245–253.
- Renaudeau, D., Frances, G., Dubois, S., Gilbert, H., Noblet, J. (2013). Effect of thermal heat stress on energy utilization in two lines of pigs divergently selected for residual feed intake. *Journal of Animal Science*. 91. 1162–1175.
- Rodrigues, N.E.B., Zangeronimo, M.G., Fialho, E.T. (2010). Adaptações fisiológicas de Suínos sob estresse térmico. *Revista Eletrônica Nutritime*. 7. 1197-1211.
- Rico, J. (2019). Condicionamento Ambiental em Suínos na Fase de Crescimento e Engorda. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora. Évora – Portugal.
- Roll, V.F.B., Roll, A.P., Lopes, D.C., Gentilini, F.P., Xavier, E.G., Rutz, F. (2013). Princípios do bem-estar e sua aplicação na avicultura e suinocultura moderna. Tópicos atuais na produção de suínos e aves. Disponível online: http://www.ifsul.edu.br/index.php?option=com_docman&Itemid=180 (Acedido a 01-dezembro-2019).
- Rostagno, M.H., Eicher, S.D., Lay, D.C. (2011). Immunological, Physiological, and Behavioral Effects of Salmonella enterica Carriage and Shedding in Experimentally Infected Finishing Pigs. *Foodborne Pathogens and Disease*. 8(5).
- Roy, M.P. (2004). Patterns of cortisol reactivity to laboratory stress. *Hormones and Behavior*. 46. 618–627.
- Ruis, M.A.W., Te Brake, J.H.A., Engel, B., Ekkel, E.D., Buist, W.G., Blokhuis, H.J., Koolhaas, J.M. (1997). The circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs: effects of age, gender and stress. *Physiology and Behavior*. 62. 623–630.
- Rushen, J., Passille, A.M.B. (2012). Automated monitoring of behavioural based animal welfare indicators. *Animal Welfare*. 21. 339–350.
- Sacristán, A. G., Montijano, F. C., Palomino, L. F. de la C., Gallego, J. G., Silanes, M. D. M. L. de, Ruiz, G. S. (1998). *Fisiologia Veterinária* (3ª edição). McGraw-Hill/Interamericana de España.



- Santana, A.P., Murata, L.S., McManus, C.P., Bernal, F.E.M. (2009). Dosagem de cortisol sanguíneo em suínos submetidos ao manejo pré-abate e insensibilização elétrica. *Archivos de Zootecnia*. 58 (221). 149-152.
- Scheffler, K., Stamer, E., Traulsen, I., Krieter, J. (2016). Relationship between behavioural tests and agonistic interactions at different age levels in pigs. *Applied Animal Behaviour Science*. 177. 19–24.
- Schrøder-Petersen, D.L., Simonsen, H.B. (2001). Tail biting in pigs. *The Veterinary Journal*. 162(3). 196-210.
- Scollo, A., Gottardo, F., Contiero, B., Edwards, S.A. (2014). Does stocking density modify affective state in pigs as assessed by cognitive bias, behavioural and physiological parameters? *Applied Animal Behaviour Science*. 153. 26–35.
- Seddon, Y. M. 2011. Development of improved disease monitoring tools and management strategies to promote health in finishing pigs. Dissertação de Doutorado de Filosofia. School of Agriculture Food and Rural Development Newcastle University. Newcastle, Inglaterra.
- Siewert, C., Dänicke, S., Kersten, S., Brosig, B., Rohweder, D., Beyerbach, M., Seifert, H. (2014). Difference method for analysing infrared images in pigs with elevated body temperatures. *Zeitschrift für Medizinische Physik*. 24(1). 6–15.
- Silva, R.A.G. (2010). Marcadores do estresse calórico. Bioquímica do tecido animal. Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul – Brasil.
- Snowdon, C.T. (1999). O significado da pesquisa em Comportamento Animal. *Estudos de Psicologia*. 4(2). 365-373.
- Sommavilla, R. (2015). Interação humano-animal na produção de suínos. Tese de Doutorado em Ciências da Qualidade e Produtividade Animal. Universidade de São Paulo. Pirassununga, São Paulo.
- Song, R., Foster, D.N., Shurson, G.C. (2011). Effects of feeding diets containing bacitracin methylene disalicylate to heat-stressed finishing pigs. *Journal of Animal Science*. 89. 1830–1843.



- Sonoda, L.T., Fels, M., Oczak, M., Vranken, E., Ismayilova, G., Guarino, M., Viazzi, S., Bahr, C., Berckmans, D., Hartung, J. (2013). Tail Biting in pigs - Causes and management intervention strategies to reduce the behavioural disorder. A review. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 126(3-4). 104-12.
- Souza, B.B., Batista, N.L. (2012). Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. *Agropecuária Científica no Semiárido*. 8(3). 06-10.
- Storti, A.A., Nascimento, M.R.B.M., Antunes, R.C., Alves, A.V.M., Alves, L.R., Silva, N.A.M. (2013). Níveis de hormônios tireoideanos circulantes, desempenho e qualidade de carcaça e carne de suínos em crescimento e terminação. *Ciência Rural*. 43(1). 139-144.
- Strubbe, J.H., Van Dijk, G. (2002). The temporal organization of ingestive behaviour and its interaction with regulation of energy balance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 26(4). 485-498.
- Stukenborg, A., Traulsen, I., Puppe, B., Presuhn, U. (2011). Agonistic behavior after mixing in pigs under commercial farm conditions. *Applied Animal Behaviour Science*. 129(1). 28-35
- Taylor, N.R., Main, D.C., Mendl, M., Edwards, S.A. (2010). Tail-biting: a new perspective. *The Veterinary Journal*. 186(2). 137-47.
- Tecles, F., Contreras-Aguilar, M.D., Martínez-Miró, S., Tvarijonaviciute, A., Martínez-Subiela, A., Escribano, D., Cerón, J.J. (2017). Total esterase measurement in saliva of pigs: Validation of an automated assay, characterization and changes in stress and disease conditions. *Research in Veterinary Science*. 114. 170-176.
- Temple, D., Manteca, X. (2014). Avaliação do bem-estar - presente e futuro da visão Welfare Quality®. Disponível online: https://www.3tres3.com.pt/artigos/avaliac%C3%A3o-do-bem-estar-presente-e-futuro-da-vis%C3%A3o-welfare-quality_6706/ (Acedido a 28-março-2019).
- Temple, D., Manteca, X., Velarde, A., Dalmau, A. (2011). Assessment of animal welfare through behavioural parameters in Iberian pigs in intensive and extensive conditions. *Applied Animal Behaviour Science*. 131(1).29-39.



- Thomsen LR, Nielsen BL, Larsen ON. (2010). Implications of food patch distribution on social foraging in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Applied Animal Behaviour Science*. 122.111–8.
- Toniollo, G.H., Vicente, W.R.R., Oliveira, C.A., Malheiros, E.B., Carvalho, M.B. (1998). Avaliação dos níveis séricos de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) durante o ciclo estral em marrãs (*Sus scrofa domestica* - Linnaeus, 1758). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 35 (5). 210-214.
- Vandermeulen, J., Bahr, C., Tullo, E., Fontana, I., S. Ott, S., Kashiha, M., Guarino, M., Moons, C. P. H., Tuytens, F. A. M., Niewold, T. A., Berckmans, D. (2015). Discerning Pig Screams in Production Environments. *PLoS ONE*. 10(4).
- Vermeer, H., Kiezebrink, M., Werf, J. Van Der, Spoolder, H. (2009). Training gilts to use a feeder station. *Welfare Quality*. 1–9.
- Vieira, A., Ajuda, I., Stilwell, G. (2011). Bem-estar em ruminantes. Ruminantes – A *Revista da Agropecuária*.
- Vieuille-Thomas, C., Le Pape, G.; Signoret, J.P. (1995). Stereotypies in pregnant sows: indications of influence of the system on the patterns expressed by the animals. *Applied Animal Behaviour Science*. 44. p.19-27.
- Wechsler, B., Lea, S. E. G. (2007). Adaptation by learning: Its significance for farm animal husbandry. *Applied Animal Behaviour Science*. 108. 197–214.
- Wolp, R.C. (2010). Suínos em crescimento mantidos em ambiente de alta temperatura alimentados com dietas contendo diferentes níveis de óleo e proteína bruta. Dissertação em Zootecnia. Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais - Brasil.
- Yamaguchi, M., Kanemori, T., Kanemaru, M., Takai, N., Mizuno, Y., Yoshida, H. (2004). Performance evaluation of salivary amylase activity monitor. *Biosensors and Bioelectronics*. 20. 491–497.
- Zhang, Z.F., Li, J., Park, J.C., Kim, I.H. (2013). Effect of Vitamin Levels and Different Stocking Densities on Performance, Nutrient Digestibility, and Blood Characteristics of Growing Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 26(2). 241–246.