

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ELI APARECIDA ROSA DE OLIVEIRA

RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS RELACIONADAS AO BEM-  
ESTAR EM LEITÕES NA FASE DE CRECHE

PONTA GROSSA

2018

ELI APARECIDA ROSA DE OLIVEIRA

RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS RELACIONADAS AO BEM-  
ESTAR EM LEITÕES NA FASE DE CRECHE

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Zootecnia na Universidade Estadual de  
Ponta Grossa.

Área de Produção Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Romaiana Picada Pereira

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cheila Roberta Lehen

PONTA GROSSA

2018

**Ficha Catalográfica**  
**Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG**

O48 Oliveira, Eli Aparecida Rosa de  
Respostas comportamentais e fisiológicas relacionadas ao bem-estar em leitões na fase de creche/ Eli Aparecida Rosa de Oliveira. Ponta Grossa, 2018. 62f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Romaiana Picada Pereira.

Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cheila Roberta Lehn Lehn.

1.TBARS. 2.Estresse oxidativo. 3.Melissa officinalis. 4.Enriquecimento ambiental. I.Pereira, Romaiana Picada. II. Lehn, Cheila Roberta Lehn. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Zootecnia. IV. T.

CDD: 636.4



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM ZOOTECNIA

Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas, Bloco Z, sala 101  
CEP: 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil  
Tel (42) 99989-3300

## TERMO DE APROVAÇÃO

ELI APARECIDA ROSA DE OLIVEIRA

### RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS E FISIOLÓGICAS RELACIONADAS AO BEM-ESTAR EM LEITÕES NA FASE DE CRECHE

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no dia 19 de dezembro de 2017, pela seguinte banca examinadora:

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. ROMAIANA APARECIDA PEREIRA (UEPG)  
(Orientadora)

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. MARTA LIZANDRA DO REGO LEAL (UFSM)

  
Prof. Dr. WILSON MASSAMITU FURUYA (UEPG)

Ponta Grossa, 19 de dezembro de 2017.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela vida.

A orientadora Romaiana Picada Pereira, a qual me acolheu, me orientou, incentivou, apoiou e contribuiu com seus conhecimentos, tornando-se essencial para concretizar este trabalho, pelos ensinamentos que levarei para a vida inteira. E por ter se tornado um grande exemplo de vida pessoal e profissional.

A coorientadora Cheila Roberta Lehnen, por todo conhecimento dividido, por todo o incentivo de ser cada dia mais uma profissional melhor, por todo o bom exemplo de profissional dedicada e responsável que é e também pela amizade que construímos.

À Frísia Cooperativa Agroindustrial, pela permissão para realização do projeto.

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores do programa de pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ao Professor João Batista Teixeira da Rocha, do laboratório de bioquímica toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria por todo auxílio com seu vasto conhecimento nos testes laboratoriais e também aos colegas que colaboraram com seus conhecimentos, em especial a aluna de doutorado Emily Waczuk.

Aos colegas da química da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela colaboração nas análises da *Melissa officinalis*.

Aos colegas do grupo de pesquisa Biomodel da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Aos colegas do programa de pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

## RESUMO

A suinocultura mundial tem passado por intensas inovações tecnológicas nas últimas décadas, visando principalmente o aumento da produtividade e redução nos custos de produção. O bem-estar animal muitas vezes é privado em prol da alta produtividade, sobretudo na creche que é considerada a fase mais crítica da suinocultura. Várias formas para minimizar o estresse em leitões já foram estudadas, porém se faz necessário mais estudos nessa área. Desta forma, este trabalho visou avaliar a influência de possíveis estratégias minimizadoras de estresse em leitões na fase de creche, sendo elas: o fornecimento de enriquecimento ambiental e a suplementação com um fitoterápico para avaliação de parâmetros comportamentais e fisiológicos relacionados ao bem-estar de leitões na fase de creche. Foram utilizados 300 leitões machos e castrados, desmamados aos 21 dias. Os tratamentos utilizados foram: T1 - Controle, T2 – enriquecimento ambiental e T3 – *M. officinalis*. No tratamento com enriquecimento ambiental (T2), foram distribuídos brinquedos confeccionados com garrafas PET, correntes e pneus. No T3, foi adicionado 1 % de extrato seco de *M. officinalis* a ração. A pesagem dos leitões aconteceu nos dias 0; 7; 14; 21 e 35 e as coletas de sangue foram realizadas nos dias 0; 7; 21 e 35 do experimento. Foram avaliados os comportamentos locomotor e a ingestão, relações agonísticas, interação com o objeto proposto como enriquecimento ambiental, interação com o colega, interação com o ambiente, e as estereotípias. O T2 interferiu positivamente sobre os comportamentos de brincar, com 69,8% de incidência com relação ao T1 (14,7%) e T3 (15,5%). E também sobre comportamento de vício de sucção, que obteve 14,1% da frequência quando comparado com T1 e T3 que obtiveram 45,4% e 40,5% de frequência, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Houve correlação negativa moderada entre brincar e o comportamento de monta ( $P < 0,001$ ). O comportamento de manipulação de cauda teve maior incidência no T1 (50,99%), e com menor intensidade nos T2 (21%) e T3 (28,1%), ( $P < 0,05$ ). Houve uma correlação negativa moderada entre o comportamento exploratório e de briga ( $P < 0,05$ ). E uma correlação negativa entre o comportamento exploratório e o vício de sucção ( $P < 0,001$ ). No teste de TBARS, para avaliar a peroxidação lipídica, somente no dia 7 ocorreu diferença entre os grupos tratados com enriquecimento ambiental e *M. officinalis* e também entre os grupos controle e *M. officinalis* ( $P > 0,05$ ), onde os leitões tratados com *M. officinalis*, apresentaram menor quantidade de TBARS, comprovando assim a eficiência do tratamento fitoterápico contra a peroxidação lipídica. Na medida da atividade de catalase, tanto T1 quanto T2 não apresentaram diferença significativa nos dias 21 e 35 ( $P < 0,05$ ). Além disso, não houve diferença significativa entre os três tratamentos na avaliação do cortisol, demonstrando que os tratamentos não causaram estresse aos animais. Na avaliação de Vitamina C, o T3 proporcionou maior eficiência, quando comparado aos demais tratamentos. A exposição ao enriquecimento ambiental potencializou a ocorrência de comportamentos saudáveis relacionados ao bem-estar em leitões, como o ato de brincar e o comportamento exploratório, além de diminuir comportamentos associados ao estresse, como vício de sucção e manipulação da cauda. A suplementação com *M. officinalis* melhorou os parâmetros bioquímicos dos animais, uma vez que este grupo apresentou menores níveis de TBARS no 7º dia de tratamento, maiores níveis de vitamina C no 21º e 35º dias de tratamento e menor atividade da enzima Catalase desde o 7º dia de tratamento até o 35º dia. Assim, as estratégias aqui utilizadas devem ser consideradas como formas de melhoria do bem-estar animal na produção de leitões na fase de creche.

Palavras-chave: TBARS; estresse oxidativo; *Melissa officinalis*; enriquecimento ambiental.

## ABSTRACT

World pig farms have undergone intense technological innovations in the last decades, mainly aimed at increasing productivity and reducing production costs. Animal welfare is often deprived in favor of high productivity, especially in the nursery phase, which is considered the most critical stage of swine farming. Several ways to minimize stress in piglets have been studied, but more studies are needed in this area. In this way, this work aimed to evaluate the influence of possible strategies to minimize stress in piglets in the nursery phase, being: the supply of environmental enrichment and supplementation with a herbal medicine to evaluate behavioral and physiological parameters related to the well-being of piglets in the nursery phase. We used 300 male and castrated piglets, weaned at 21 days. The treatments used were: T1 - Control, T2 - environmental enrichment and T3 - *M. officinalis*. In the treatment with environmental enrichment (T2), toys made with PET bottles, chains and tires were distributed. In T3, 1% of dry extract of *M. officinalis* was added to the feed. The weighing of the piglets happened on days 0; 7; 14; 21 and 35 and the blood collections were performed on days 0; 7; 21 and 35 of the experiment. Locomotor behaviors and ingestion, agonistic relations, interaction with the proposed object as environmental enrichment, interaction with the colleague, interaction with the environment, and stereotypies were evaluated. T2 interfered positively on play behavior, with a 69.8% incidence in relation to T1 (14.7%) and T3 (15.5%). Also, on suction addiction behavior, which obtained 14.1% of the frequency when compared to T1 and T3, which obtained 45.4% and 40.5% of frequency, respectively ( $P < 0.05$ ). There was a moderate negative correlation between play and mating behavior ( $P < 0.001$ ). The tail manipulation behavior had a higher incidence in T1 (50.99%), and lower intensity in T2 (21%) and T3 (28.1%), ( $P < 0.05$ ). There was a moderate negative correlation between exploratory and quarrelsome behavior ( $P < 0.05$ ). And a negative correlation between exploratory behavior and suctioning addiction ( $P < 0.001$ ). In the TBARS test, only on day 7 occurred a difference between the groups treated with environmental enrichment and *M. officinalis* and also between the control and *M. officinalis* groups ( $P > 0.05$ ), where the treated piglets with *M. officinalis*, presented a lower amount of TBARS, thus demonstrating the efficiency of phytotherapeutic treatment against lipid peroxidation. As for catalase activity, both T1 and T2 showed no significant difference on days 21 and 35 ( $P < 0.05$ ). In addition, there was no significant difference between the three treatments in the evaluation of cortisol, demonstrating that the treatments did not cause stress to the animals. In the evaluation of Vitamin C, the T3 provided greater efficiency, when compared to the other treatments. Exposure to environmental enrichment has potentiated the occurrence of healthy behaviors related to well-being in piglets, such as play and exploratory behavior, as well as reducing behaviors associated with stress, such as sucking addiction and tail handling. The supplementation with *M. officinalis* improved the biochemical parameters of the animals, since this group had lower levels of TBARS in the 7th day of treatment, higher levels of vitamin C in the 21st and 35th days of treatment and less activity of the Catalase enzyme since the 7th day of treatment until the 35th day. Thus, the strategies used here should be considered as ways of improving animal welfare in the production of piglets in the nursery phase.

Keywords: TBARS; oxidative stress; *Melissa officinalis*; environmental enrichment.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média de peso, consumo estimado de ração e conversão alimentar de leitões em creche submetidos ao enriquecimento ambiental e à administração de extrato seco de <i>M. officinalis</i> 1%.....	38
Tabela 2. Avaliação da atividade antioxidante da planta <i>M. officinalis</i> pelos métodos de dpph, fenólicos totais e flavonoides totais.....	39
Tabela 3. Correlação entre os tipos de comportamento observados em leitões na fase de creche no período de 35 dias.....	40



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Porcentagem de inibição do radical DPPH do extrato da planta *M. officinalis*. Os dados apresentados demonstram a média  $\pm$  desvio padrão de 3 experimentos independentes realizados em triplicata.....40
- Figura 2. Frequência do comportamento de brincar, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias em um total de 8 observações.....41
- Figura 3. Frequência do comportamento de vício de sucção, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias em um total de 8 observações.....41
- Figura 4. Frequência do comportamento de montar (sobre outros animais), observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias.....42
- Figura 5. Frequência do comportamento “manipular cauda”, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias de experimento.....43
- Figura 6. Frequência do comportamento de explorar, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período de 35 dias de experimento.....44
- Figura 7. Níveis de TBARS (nmol MDA/ mL de eritrócito) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos a Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ( $P>0.05$ ) dentro do mesmo período.....45
- Figura 8. Concentração de Catalase (UC/ mL de eritrócito) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos ao Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas.....46
- Figura 9. Concentração de Vitamina C (mg Vit. C/ mL de eritrócito) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos ao Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ( $P>0.05$ ) dentro do mesmo período.....47
- Figura 10. Concentração de cortisol ( $\mu\text{g}$  cortisol/ mL de soro) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos a Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias.....48

## LISTA DE ABREVIACOES, SÍMBOLOS E SIGLAS

CAT	Catalase
DPPH	2,2-difenil-picrilhidrazil
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
GPX	Glutathiona Peroxidase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
<i>M. officinalis</i>	<i>Melissa officinalis</i>
MDA	Malondialdeído
SOD	Superóxido dismutase
SNC	Sistema Nervoso Central
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
T1	Tratamento 1
T2	Tratamento 2
T3	Tratamento 3
Vit C	Vitamina C

# Sumário

<b>Capítulo 1. Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>11</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>11</b>
1.1. Bem-Estar Animal .....	11
1.2. Bem-estar animal na suinocultura .....	12
1.3. Parâmetros fisiológicos .....	13
1.3.1. Cortisol .....	14
1.4. Estresse oxidativo .....	14
1.5. Defesas antioxidantes .....	15
1.6. Estresse oxidativo e antioxidantes na suinocultura .....	16
1.7. Estratégias para minimizar o estresse em leitões .....	18
1.7.1. Componentes fitoterápicos .....	18
<b>2. Referências Bibliográficas</b> .....	<b>25</b>
<b>Capítulo 2. Respostas comportamentais e fisiológicas relacionadas ao bem-estar em leitões na fase de creche</b> .....	<b>31</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>31</b>
<b>2. Materiais e métodos</b> .....	<b>33</b>
2.1. Local, animais e tratamentos .....	33
2.2. Avaliação da atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos do extrato da planta <i>Melissa officinalis</i> .....	34
2.3. Avaliação do comportamento animal .....	35
2.3. Coletas de sangue para análises bioquímicas .....	36
2.4. Avaliações de parâmetros relacionados ao estresse oxidativo .....	36
2.4.1. Avaliação da peroxidação lipídica – TBARS.....	36
2.4.2. Avaliação da atividade da enzima catalase .....	36
2.4.3. Avaliação de Vitamina C.....	37
2.5. Análise estatística .....	37
<b>3. Resultados</b> .....	<b>38</b>
3.1. Avaliação do ganho de peso e conversão alimentar .....	38
3.2. Avaliação da atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos do extrato da planta <i>Melissa officinalis</i> .....	38
3.3. Avaliação do comportamento animal .....	39
3.4. Avaliações de estresse oxidativo .....	44

3.5. Avaliação do cortisol .....	47
<b>4. Discussão .....</b>	<b>50</b>
<b>5. Considerações Finais .....</b>	<b>55</b>
<b>6. Conclusão .....</b>	<b>55</b>
<b>7. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>57</b>

## Capítulo 1. Revisão Bibliográfica

### 1. Introdução

#### 1.1. Bem-Estar Animal

Um dos conceitos mais conhecidos para o termo “bem-estar animal” é: “estado de saúde física e mental, em que o animal está em harmonia com o ambiente em que convive” (HUGHES, 1976). Outra definição é a de que o bem-estar animal é a sua capacidade em adaptar-se ao seu meio ambiente (BROOM, 1986). Existem vários princípios sobre como proporcionar melhor qualidade de vida aos animais e tendo como base um consenso entre pesquisadores e consumidores, nasceu a teoria das cinco liberdades, elaborada pelo professor John Webster e divulgada pelo *Farm Animal Welfare Council* (FAWC, 2009). Esta diretriz prevê que os animais devem ser livres de fome e de sede, livres de desconforto, livres de dor, lesões ou doença, livres para expressar os comportamentos normais da espécie e livre de medo e aflição.

Atualmente, são visíveis as mudanças nas atitudes e na conscientização quanto à importância do bem-estar por parte dos consumidores e pesquisadores que trabalham com a produção animal. Além do progresso tecnológico, pesquisadores têm demonstrado interesse em pesquisas em relação a ambiência, bem-estar animal, enriquecimento ambiental, estabelecendo que deve haver adequação dos produtores, principalmente de suínos e aves, às reivindicações de um mercado consumidor que exige um produto que obedeça às normas de bem-estar e a produção humanitária (PINHEIRO, 2009).

Condições de estresse e bem-estar são descritos em termos de respostas fisiológicas e comportamentais. A liberação de cortisol, taquicardia, susto, fuga e luta são parâmetros avaliados para descrever as respostas ao estresse, bem como para avaliar o estado de bem-estar (VEISSIER; BOISSY, 2007). Mudanças nos padrões de comportamento representam o primeiro nível de resposta de um animal a uma adversidade ou estresse ambiental (TEMPLE et al., 2011).

## 1.2. Bem-estar animal na suinocultura

Na suinocultura brasileira prevalece o sistema de confinamento intensivo, que tem objetivo de aprimorar os desempenhos produtivo e econômico. Por outro lado, os produtores sofrem a pressão da sociedade para que seja estimado o bem-estar animal, sendo necessária a integração com conhecimentos técnico-científicos para compreender melhor a fisiologia e o comportamento dos animais (BAPTISTA; BERTANI; BARBOSA, 2011). Esse tipo sistema altera consideravelmente os comportamentos característicos da espécie suína, por propiciar um ambiente com várias situações consideradas estressantes, como a separação da mãe após o desmame, a convivência e a hierarquia social, a alta densidade de animais na baia, a fome e a baixa qualidade das instalações (MAIA et al., 2013).

Com a finalidade de elevar a produtividade das fêmeas, o desmame dos leitões tem sido antecipado cada vez mais, de forma que a matriz produza mais leitões em menor tempo. Conseqüentemente, os leitões tornam-se mais susceptíveis a problemas de saúde e desvio comportamental tais como o vício de sucção (FRASER, 1978). O hábito de sugar partes do corpo de outros leitões, como o umbigo, a cauda, a vulva ou a orelha, também conhecido como vício de sucção, é um tipo de comportamento anormal dos leitões (LOVATTO et al., 2007). E, por isso, o período de pós-desmame é considerado um dos mais críticos da produção de suínos, uma vez que é caracterizado pela ocorrência de vários fatores estressantes que levam ao baixo consumo de alimentos, e a considerável perda de peso (AMAZAN et al., 2012).

Com o intuito de diminuir o nível de estresse, algumas estratégias como ofertar objetos de enriquecimento ambiental, bem como disponibilizar uma área maior para os suínos, podem colaborar para a redução de comportamentos anômalos e, assim, melhorar o consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e o peso ao abate (BEATTIE; CONNELL; MOSS, 2000). Porém, é preciso atentar-se ao tamanho limitado do ponto de enriquecimento que pode restringir o acesso dos suínos e causar competição, agressividade ou agitação entre eles (DOCKING et al., 2008).

Em retorno favorável às preocupações dos consumidores em relação ao bem-estar, existe o interesse crescente em sistemas de produção alternativos

que ajudam a reduzir o nível de estresse ambiental, incluindo sistemas com cama de palha e produção ao ar livre, que geram melhor qualidade de vida a esses animais (GUY et al., 2002). A busca dos consumidores e do mercado externo por produtos éticos tem conquistado alguns avanços na produção intensiva, o que torna necessário a existência de mais estudos que possam elucidar possíveis formas de garantir a produção lucrativa em combinação com a qualidade de vida dos animais (DIAS et al., 2014).

### 1.3. Parâmetros fisiológicos

Estresse é o conjunto de reações do organismo a agressões de qualquer natureza (física, psíquica, infecciosa e outras) capazes de perturbar a homeostase do organismo (BROOM, 1986). A industrialização agrícola sofreu mudanças profundas nos métodos de criação de animais no período pós-segunda guerra mundial. Uma dessas mudanças é a alta densidade populacional, ou seja, um maior número de animais convivendo em uma menor área (BROOM; MOLENTO, 2004; GONYOU, 1994).

Os parâmetros fisiológicos são importantes indicadores de bem-estar animal. Entretanto, existem limitações para a aplicação do monitoramento destes parâmetros na rotina de produção animal, assim como o manejo para a coleta do material necessário para a análise, que depende de muito tempo e mão de obra qualificada, os custos dos exames e os eventuais estresses dos animais. Há necessidade de seleção de indicadores fisiológicos, de forma que quando associados a medidas práticas, contribuam para o bem-estar dos animais (BOND et al., 2012). Podem ser utilizados diversos tipos de parâmetros bioquímicos e hematológicos como marcadores de estresse e de estado nutricional dos animais, como por exemplo: medida de cortisol e medidas de parâmetros associados ao estresse oxidativo. Qualquer alteração nesses parâmetros pode interferir na homeostase, resultando em baixo desempenho dos suínos (BUZZARD et al., 2013).

### 1.3.1. Cortisol

O Cortisol pode ser utilizado como um dos parâmetros para avaliar os níveis de estresse no organismo. É um hormônio glicocorticoide do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenocortical (HPA) que possui importância para muitas funções do organismo e está envolvido na manutenção da pressão sanguínea, age na regulação da absorção do cálcio, na gliconeogênese, na secreção de pepsina e ácidos gástricos e funciona como anti-inflamatório e antialérgico. Variações na concentração de cortisol ocorrem em resposta aos agentes estressores do ambiente (DALLA COSTA et al., 2005).

Em suínos, foram descritos trabalhos avaliando o cortisol e seus metabólitos no plasma (FAGUNDES et al., 2008), na saliva (DALLA COSTA et al., 2005), nas fezes (PALME et al., 1996) e na urina (HAY & MORMÈDE, 1998). As concentrações de cortisol não dependem somente do estresse físico ou psicológico, mas de condições ambientais, bem como dos fatores metabólicos (JASKULKE; MANTEUFFEL, 2011).

### 1.4. Estresse oxidativo

Todos os organismos que são aeróbicos, ou seja, aqueles que utilizam oxigênio para sobreviver, produzem naturalmente as chamadas espécies reativas de oxigênio (EROs) (BERNABÉ et al., 2013). Os radicais livres, consideradas espécies reativas de oxigênio, são espécies que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL, 1994). Essa configuração faz dos radicais livres espécies altamente instáveis, com meia-vida curta e quimicamente muito reativas.

A formação das espécies reativas de oxigênio "*in vivo*", ocorre principalmente via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que acontecem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos como: Ozônio, dieta, poluição, radiações gama e ultravioleta. Contudo, a concentração dessas espécies pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela falha dos mecanismos antioxidantes do organismo (CERUTTI; SHAH, 1991). A presença das espécies reativas de oxigênio em níveis aceitáveis para sobrevivência das células está envolvida na



manutenção de algumas funções biológicas normais como: produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes (POMPELLA, 1997). Assim, seus efeitos danosos ao organismo se dão quando ocorre um desequilíbrio entre os níveis destas espécies e os mecanismos de defesa antioxidante, ou seja, quando ocorre o estresse oxidativo (SIES, 1993). O estresse oxidativo pode causar alteração na atividade de enzimas antioxidantes, peroxidação dos lipídios da membrana celular e agressão às proteínas, carboidratos e ao DNA. Tais processos oxidativos danificam células e tecidos e estão assim relacionados à patogênese de diversas doenças (PHILPOTT et al., 2009).

A peroxidação lipídica é um processo em que as espécies reativas atacam os ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolípidos das membranas celulares, desintegrando-as e permitindo a entrada dos radicais livres nas estruturas intracelulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1986). Um produto da peroxidação lipídica bastante estudado é o malondialdeído (MDA), que é o produto final da degradação não enzimática dos ácidos graxos poli-insaturados (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005). Então, elevados níveis de MDA correspondem ao aumento da lipoperoxidação (KASHYAP; KUMAR; KUMAR, 2005).

Todos os elementos celulares podem ser alterados com as ações das espécies reativas de oxigênio. Porém, a membrana plasmática é um dos mais atingidos, pois, ocorrem alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares. E, por esse motivo, existe a perda da seletividade na troca de íons e também na liberação do conteúdo das organelas, bem como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos, e os produtos citotóxicos formados, levando a apoptose (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

### 1.5. Defesas antioxidantes

O sistema de defesa antioxidante é dividido em: enzimático e não enzimático. O sistema enzimático é formado pelas enzimas glutatona peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). E o sistema não enzimático abrange compostos sintetizados pelo organismo como bilirrubina, hormônios sexuais, melatonina, ácido úrico, coenzima Q,

ceruloplasmina e os ingeridos através da dieta regular ou via suplementação como  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno (precursor da vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), e compostos fenólicos de plantas (flavonoides) (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

São conhecidos três sistemas enzimáticos antioxidantes. O primeiro é composto por enzimas que catalisam a quebra do radical superóxido  $O_2^-$ , convertendo este em oxigênio e peróxido de hidrogênio; o segundo, formado pela enzima catalase que age na transformação do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água; o terceiro é composto pela glutatona em conjunto com as enzimas glutatona peroxidase e redutase. Este também catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, sendo que a glutatona opera em ciclos entre sua forma oxidada e reduzida (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

O ácido úrico é um dos antioxidantes encontrados em maior abundância nos animais e contribui com até dois terços de toda a capacidade de supressão de radicais livres no plasma (WARING et al., 1996). Já o ácido ascórbico (vitamina C) é um dos principais antioxidante solúveis em água, sua capacidade redutora é utilizada em reações redox. O ácido ascórbico ou vitamina C é geralmente encontrado no organismo na forma de ascorbato. Por ser muito solúvel em água, fica situado nos compartimentos aquosos dos tecidos orgânicos. O ascorbato desempenha papéis metabólicos fundamentais no organismo, atuando como agente redutor, reduzindo metais de transição (em particular  $Fe^{3+}$  e  $Cu^{2+}$ ) presentes nos sítios ativos das enzimas ou nas formas livres no organismo (SIES; STAHL, 1995).

#### 1.6. Estresse oxidativo e antioxidantes na suinocultura

Em animais de produção, o estresse oxidativo pode estar envolvido em várias condições patológicas, incluindo as condições que são relevantes para a produção animal e bem-estar de cada indivíduo (LYKKESFELDT; SVENDSEN, 2007). Para que a produção de suínos se torne rentável, exige-se um rápido aumento no peso corporal com o foco em massa magra, sobrecarregando o sistema metabólico desses animais, o que pode elevar os níveis de estresse

oxidativo, a menos que sistemas antioxidantes sejam reforçados através da nutrição (ROSSI; PASTORELLI; CORINO, 2013).

Além das patologias, se faz necessário o estudo do estresse oxidativo em suínos, pois, também pode ser utilizado um indicador de bem-estar. As principais patologias de suínos conhecidamente relacionadas com estresse oxidativo são pneumonia que, num modelo experimental de pneumonia causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, os níveis sanguíneos de ascorbato declinaram em paralelo com a progressão da doença, sendo considerado um bom marcador biológico (LAURITZEN; LYKKESFELDT; FRIIS, 2003). Os níveis de ascorbato foram normalizados após tratamento eficaz com três antibióticos: tiamulina, danofloxacina e amoxicilina.

A enterite pode ocorrer através do aumento da produção de nitrito no intestino e a sepse que é uma resposta sistêmica a infecções bacterianas graves que podem resultar em alta taxa de morbidade, mortalidade e geralmente requer tratamento com cuidados intensivos. A síndrome de sepse em leitões, é um evento relativamente frequente e caracterizado por alteração do tônus vascular e perfusão dos órgãos e, em particular, a compressão pulmonar que é elevada patologicamente. Vários distúrbios da motilidade intestinal também estão associados à sepse (LYKKESFELDT; SVTENDSEN, 2007).

Em porcas gestantes e leitões, a suplementação com vitamina “E” em água, aumenta a concentração sérica de  $\alpha$ -tocoferol nos leitões, reduzindo o estado de estresse oxidativo pós-desmame (AMAZAN et al., 2012). A suplementação via ração vem sendo utilizada, até mesmo com a adição de compostos comprovadamente antioxidantes, como o flavonoide quercetina. Em suínos em crescimento, a quercetina tem efeito antioxidante sobre a peroxidação lipídica causada pelo estresse oxidativo, assim evidenciando que o uso de suplementos fitogênicos na ração pode suprir parcialmente a suplementação com vitamina “E” (LUEHRING; BLANK; WOLFFRAM, 2011).

A utilização de frutas como morangos, maçãs ou tomates na dieta de suínos tem demonstrado ser benéfica na redução do estresse oxidativo, com enfoque na peroxidação lipídica, causado pela ingestão de elevado teor de gordura (BEZERRA, 2014). Em dietas para suínos, em que se utiliza extratos cítricos, ocorre a redução do nível sanguíneo de colesterol total. Em pesquisa com o ácido ascórbico, tem-se notado que este modifica o metabolismo do

colesterol, uma das hipóteses o associa com interferência nas reações bioquímicas que abrangem os sistemas das oxidases e peroxidases (LANFERDINI et al., 2013).

A utilização de vitaminas e outros antioxidantes na prevenção e modulação do estresse oxidativo em suínos, precisam de mais estudos para as definições de doses e de protocolos de tratamento, sendo necessários melhor conhecimento em relação ao mecanismo de ação antes da prescrição (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

## 1.7. Estratégias para minimizar o estresse em leitões

### 1.7.1. Componentes fitoterápicos

Nos últimos anos, vem crescendo o interesse da população e dos cientistas por compostos fenólicos, uma vez que estes apresentam um grande número de atividades biológicas benéficas, tanto em humanos, como em outros animais, sobretudo quando se trata dos flavonoides, incluindo as ações antioxidante, antiinflamatória e hepatoprotetora. Os compostos fenólicos podem ser encontrados em diversas plantas utilizadas como fitoterápicos, sendo que uma planta muito utilizada é a *Melissa officinalis*, que apresenta elevados níveis destes compostos com propriedades antioxidantes (MÜZELL, 2006).

#### 1.7.1.1. *Melissa officinalis*

A *Melissa officinalis* (*M. officinalis*), popularmente conhecida como melissa, é uma espécie de planta medicinal aromática, originária da Ásia e bastante cultivada na Europa, adaptada a um clima subtropical e temperado, também encontrada em quase todo o Brasil (CORRÊA JÚNIOR et al., 2014). É indicada como calmante e sedativo e em alguns casos de infecções virais. No uso tópico, a melissa pode ser utilizada na forma de pomada ou creme para repelir insetos. Suas folhas são popularmente utilizadas na forma de chá e como condimento. O óleo essencial é vastamente utilizado pela indústria farmacêutica, por possuir atividade antioxidante, antibiótica, antifúngica, antibacteriana e sedativa e por isso usado em medicamentos como analgésicos, anti-sépticos, sedativos, expectorantes e estimulantes (RIGUEIRO, 1992).

#### 1.7.1.2. Ação antioxidante da *M. officinalis*

Os compostos fenólicos agem como sequestradores das espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ou como quelantes de metais tais como  $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$ , por meio de dois mecanismos, onde no primeiro acontece a inibição da formação das espécies reativas ao oxigênio, e no segundo envolve a eliminação de espécies reativas ao oxigênio (SVOBODOVÁ; PSOTOVÁ; WALTEROVÁ, 2003). Neste contexto, os compostos fenólicos podem representar importantes agentes que previnem a oxidação, como em hepatócitos expostos ao  $\text{Fe}^{+3}$  que foram protegidos pela presença de ácidos fenólicos, na qual a cinarina exerceu maior efeito protetor, quando comparado ao ácido rosmarínico (SVOBODOVÁ; PSOTOVÁ; WALTEROVÁ, 2003).

Entre as qualidades terapêuticas mais conhecidas na literatura científica, os efeitos produzidos no Sistema Nervoso Central (SNC) merecem ênfase, pois pode reduzir os níveis elevados de estresse, ansiedade, tensão e insônia em humanos (KENNEDY et al., 2006) e animais experimentais (TAIWO et al., 2012).

Os efeitos da melissa cientificamente comprovados são: antioxidante (CARNAT et al., 1998; RIBEIRO; BERNARDO-GIL; ESQUÍVEL, 2001), sedativo (KENNEDY et al., 2006; MÜLLER; KLEMENT, 2006), anti-inflamatório intestinal, hepatoprotetor, digestivo (SIMMEN et al., 2006), antibacteriano, antifúngico, antiviral (especialmente contra o Herpes simplex), anti-histamínico (ALLAHVERDIYEV et al., 2004; CARNAT et al., 1998), redutor da motilidade gastrointestinal, redutor do colesterol (BOLKENT et al., 2005), redutor do estresse e da agitação (DOS SANTOS-NETO et al., 2006) e eficácia no controle da demência em casos leves a moderados de Alzheimer (AKHONDZADEH et al., 2003).

Entre os inúmeros compostos que foram isolados a partir do extrato de *Melissa officinalis*, os mais importantes são os compostos polifenólicos (ácido rosmarínico e ácido cafeico), óleos essenciais (cital), aldeídos monoterpenóides, sesquiterpenos, flavonóides (luteolina) e taninos (BOLKENT et al., 2005; CARNAT et al., 1998; KENNEDY et al., 2006). O ácido rosmarínico é o composto majoritário presente no extrato etanólico de *Melissa officinalis*,

estima-se que esteja presente em uma concentração de 2–5 % (CARNAT et al., 1998).

#### 1.7.2. Enriquecimento ambiental

O termo “bem-estar” para os animais de produção não depende somente da ausência de dor ou estresse, mas também se consideram necessárias algumas modificações realizadas no ambiente em que vivem, para que possa garantir as necessidades comportamentais inerentes a cada espécie animal, que é uma das expressões das “Cinco Liberdades” (FAWC, 1992).

O enriquecimento ambiental tem como objetivo melhorar o bem-estar de suínos, a qual consiste em introduzir melhorias no sistema de produção, com o objetivo de tornar o ambiente mais adequado onde os animais possam expressar seus comportamentos naturais (HÖTZEL; NOGUEIRA; MACHADO FILHO, 2010). O enriquecimento ambiental melhora o bem-estar dos animais por permitir que estes expressem comportamentos específicos da espécie (VAN DE WEERD; DAY, 2009).

O enriquecimento ambiental é um princípio do manejo animal que visa estender a qualidade de vida dos animais confinados, pelo fornecimento de estímulos ambientais que favorecem o bem-estar psíquico e fisiológico, por estimular suas necessidades etológicas (CAMPOS, et al. 2010). Suínos que são alojados em ambientes áridos, monótonos, com falta de substratos, podem refletir frustração em comportamentos anômalos (LOPES, 2004).

Estudos mostram efeito positivo do ambiente enriquecido sobre a aprendizagem e memória de suínos e sobre a manifestação do comportamento investigativo (JANSEN et al., 2008). Neste contexto, entender o comportamento da espécie é fundamental para concepção, implantação e implementação do enriquecimento ambiental no processo de criação como medida de bem-estar. Por exemplo, considerando que os suínos perdem a atração por um objeto em um curto período de tempo, no planejamento do enriquecimento ambiental deve-se levar em consideração o tipo de objeto e a frequência de fornecimento e revezamento destes. Desconsiderar este comportamento pode afetar a finalidade de enriquecer o ambiente no sistema produtivo. Resultados obtidos em um estudo realizado, comprovaram que os suínos se adaptam muito fácil a

um determinado objeto (TRICKETT; GUY; EDWARDS, 2009). Da mesma forma, quando avaliados oito tipos de dispositivos de enriquecimento.

A disponibilização de substratos para cama (ex. palha) e de objetos suspensos (ex. pneus e correntes), têm sido utilizados com objetivo de estimular o suíno a expressar seu comportamento natural de investigação e episódios de brincadeira, evitando assim frustração e comportamentos estereotipados. Por outro lado, existem outras formas de enriquecimento ambiental menos utilizadas na prática e também pouco estudadas cientificamente, mas que tendem a apresentar efeito positivo com relação ao bem-estar dos animais. Entre estas maneiras podemos citar a iluminação com diferentes cores de lâmpada e utilização de sons, aromas e ionizadores nas baias.

Bloomsmith, et al. (1991) categorizam os tipos de enriquecimento em cinco classes:

(1) Enriquecimento Social – envolve contato direto e indireto (sentidos sensoriais) com humanos ou outros indivíduos da mesma espécie;

(2) Enriquecimento Ocupacional - engloba enriquecimento psicológico, como dispositivos que fornecem controle dos animais e enriquecimento que estimula o exercício;

(3) Enriquecimento Físico – alterações no tamanho e complexidade das instalações, tais como oferecer objetos, substratos ou mudanças estruturais permanentes;

(4) Enriquecimento Sensorial – utiliza os sentidos sensoriais, exemplo, visual (televisão) e auditivo (música e vocalização);

(5) Enriquecimento Nutricional – disponibilizar variedades ou novos tipos de alimentos, assim como, mudança no método de fornecimento.

A escolha do tipo de enriquecimento a ser implantado é muito importante, porém, muitas vezes os critérios utilizados são relacionados a fatores econômicos e sanitários, sem levar em consideração as necessidades do animal (VAN DE WEERD et al., 2003). É importante priorizar a escolha feita pelos animais, evitando que estes percam o interesse rapidamente pelo objeto, assim, limitando a funcionalidade como objeto de enriquecimento. Os testes de preferência podem ser realizados para avaliação de quais tipos de enriquecimento deve-se utilizar a fim de obter o comportamento desejado e,

também, para formar alguns princípios sobre as características típicas da espécie em relação aos diferentes tipos (BEATTIE; CONNELL; MOSS, 2000; BENCH; GONYOU, 2014).

Em revisão sobre enriquecimento ambiental para suínos em fase de terminação, Van de Weerd e Day (2009) sugeriram quatro características importantes do objeto de enriquecimento: (1) estimular o comportamento específico da espécie, (2) garantir a saúde física do animal; (3) ser de fácil implantação; (4) prover ganho econômico para sistema de produção. Outro ponto importante na escolha do material de enriquecimento é a idade dos animais. Docking et al. (2008) ressaltam que a idade dos suínos deve ser levada em consideração na hora da escolha do objeto de enriquecimento, uma vez que, a interação dos animais com este pode variar conforme a idade. Beattie et al. (2000) comentam que o enriquecimento ambiental é, geralmente, implementado após o desmame. No entanto, fatores que afetam a produtividade e a qualidade da carne nos suínos, como estresse, podem aparecer antes desta fase.

#### 1.7.2.1 Brinquedos

Embora os estudos tenham mostrado que os suínos preferem os substratos como palha, por exemplo, aos brinquedos, o uso de brinquedos para enriquecimento ambiental na suinocultura mostra-se bastante promissor, apresentando resultados significativos (SCOTT et al., 2009; VAN DE WEERD et al., 2003). Os tipos de brinquedos mais comuns são pneus, barras de ferro, cordas, correntes, garrafas pet, etc. Vale lembrar que o valor de quaisquer tipos de objetos para enriquecimento ambiental para os suínos irá depender de vários fatores, os quais incluem os atributos do material, grau de novidade e a forma de fornecimento. No entanto, existem poucos estudos avaliando se o uso esporádico ou permanente do objeto é influenciado pelo contexto no qual ele é apresentado aos animais (GUY et al., 2013).

Das formas mais comuns de brinquedos nas baias, podem ser considerados os tipos suspensos ou no chão. Os suínos preferem materiais que estão suspensos a aqueles que são fornecidos no chão (BLACKSHAW; THOMAS; LEE, 1997; TRICKETT; GUY; EDWARDS, 2009). Blackshaw et al. (1997) sugeriram que os suínos perdem o interesse primariamente pelos objetos



colocados sobre o chão por estes ficarem sujos rapidamente, perdendo a valor de novidade. Malheiros et al. (2010) utilizaram brinquedos suspensos confeccionados com garrafa pet na fase de desmame e observaram que no ambiente enriquecido os leitões reduziram o vício de morder, aumentaram os episódios de brincadeira e apresentaram maior ganho de peso.

Um estudo mostra que ao enriquecer baias de leitões alternando entre garrafas pet, correntes e bola, constataram que os animais interagiram com todos os objetos, porém, preferiram a bola e a corrente. Embora não tenham encontrado melhora no desempenho produtivo, observaram menor estresse dos animais e diminuição no tempo de ociosidade (RIESENBERG; LEISCH; CUNNINGHAM, 2010).

#### 1.7.2.1. Outros tipos de enriquecimento ambiental

A forma de enriquecimento preferida pelos suínos são os substratos que podem ser utilizados como cama, principalmente a palha, por levarem ao comportamento investigativo, típico da espécie (ZWICKER et al., 2013). Rohr et al. (2014), relata que os substratos para formação da cama para os animais são bastante interessantes por estimularem o hábito de explorar, fuçar, chafurdar, além de reduzirem comportamentos indesejáveis, lesões originadas por brigas e problemas locomotores. Enriquecendo baias de suínos do nascimento ao abate com turfa e palha, observou-se que o enriquecimento diminuiu o tempo de ócio e comportamentos agressivos. E com o tempo gasto em comportamentos tipo exploratório foi possível constatar maior taxa de crescimento, melhor conversão alimentar e qualidade de carcaça (BEATTIE; CONNELL; MOSS, 2000).

Em pesquisa, Van de Weerd et al. (2003) utilizaram um conjunto de 74 tipos de objetos e substratos diferentes em baias para suínos desmamados e em crescimento (exemplo: bolas, brinquedos para cachorro, correntes, espelhos) e notaram que o dispositivo mais requisitado foi a palha de lavanda. Em outro estudo, foram disponibilizados brinquedos e substratos, observando-se que a cama de palha foi absolutamente mais eficiente para distrair os suínos, e ainda, preveniu o comportamento de morder a cauda dos companheiros de baia (VAN DE WEERD; DAY, 2009). Esta forma de enriquecimento ambiental, se

comparada às outras formas supracitadas, necessita de um valor econômico maior para sua instalação. Para isso, a frequência e a quantidade a ser administrada devem ser melhor estudadas por meio de análises de viabilidade. Devem ainda ser pesquisadas as relações entre o uso dos substratos e as condições climáticas locais (SARUBBI, 2011).

Além das formas citadas anteriormente, há outros artifícios menos estudados que podem ser utilizados para enriquecer o ambiente e melhorar o bem-estar de suínos. O enriquecimento estrutural nas baias, tais como baia com dois níveis de piso, baia enriquecida com mezanino e uso de lâminas d'água, o aumento de espaço das baias e áreas livres na instalação (CHALOUPOKOVÁ et al., 2007).

Avaliando a relação social da espécie suína, garantir a companhia de leitões irmãos e fornecer úbere artificial quente com mamilos flexíveis podem diminuir o estresse em leitões desmamados (BENCH; GONYOU, 2007). Além da companhia de animais da mesma espécie, a boa relação com manejador é muito importante, assim, os suínos podem se aproximar com confiança e interagir de forma positiva (HEMSWORTH et al., 1996). A utilização de piso resfriado para porcas na maternidade (WAGENBERG et al., 2006) e de piso aquecido para leitões lactantes (FERNANDES et al., 2011) também constitui um tipo de enriquecimento estrutural que oferece conforto térmico para os animais, evitando comportamentos relacionados ao estresse e consequente melhora no desempenho produtivo.

## 2. Referências Bibliográficas

AKHONDZADEH, S. et al. Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 27, n. 1, p. 123–7, fev. 2003.

ALEXANDROVA, M. L.; BOCHEV, P. G. Oxidative stress during the chronic phase after stroke. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, n. 3, p. 297–316, 1 ago. 2005.

ALLAHVERDIYEV, A. et al. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. **Phytomedicine**, v. 11, n. 7–8, p. 657–661, nov. 2004.

AMAZAN, D. et al. Natural vitamin E (D- $\alpha$ -tocopherol) supplementation in drinking water prevents oxidative stress in weaned piglets. **Livestock Science**, v. 145, n. 1–3, p. 55–62, 2012.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation research**, v. 350, n. 1, p. 103–8, 19 fev. 1996.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.

BEATTIE, V. E.; CONNELL, N. E. O.; MOSS, B. W. Influence of environmental enrichment on the behaviour, performance and meat quality of domestic pigs. v. 65, p. 71–79, 2000.

BENCH, C. J.; GONYOU, H. W. Effect of environmental enrichment and breed line on the incidence of belly nosing in piglets weaned at 7 and 14 days-of-age. v. 105, p. 26–41, 2007.

BENCH, C. J.; GONYOU, H. W. Effect of environmental enrichment at two stages of development on belly nosing in piglets weaned at fourteen days 1. p. 3397–3403, 2014.

BEZERRA, B. M. O. FORTALEZA -CEARÁ. p. 0–57, 2014.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.

BLACKSHAW, J. K.; THOMAS, F. J.; LEE, J. The effect of a fixed or free toy on

the growth rate and aggressive behaviour of weaned pigs and the influence of hierarchy on initial investigation of the toys. v. 1591, n. 96, 1997.

BLOOMSMITH, M. A.; BRENT, L. Y.; SCHAPIRO, S. J. Guidelines for developing and managing an environmental enrichment program for nonhuman primates.

**Laboratory animal science**, v. 41, n. 4, p. 372–7, ago. 1991.

BOLKENT, S. et al. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: A morphological and biochemical study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 3, p. 391–398, jul. 2005.

BOND, G. B. et al. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1286–1293, 2012.

BROOM, D. M. INDICATORS OF POOR WELFARE. p. 524–526, 1986.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem estar animal: conceito e questões relacionadas - revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1–11, 2004.

CAMPOS, JOSIANE A. TINOCO, I. F. F. SILVA F. F. PUPA, J. M. R. S. I. J. O. Environmental enrichment for piglets during nursery coming from weaning at 21 and 28 days Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias nursery coming from weaning at 21 and 28 days. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. APRIL 2010, p. 272–278, 2010.

CARNAT, A. P. et al. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 72, n. 5, p. 301–305, jan. 1998.

CERUTTI, P.; SHAH, G. Oxidant stress and carcinogenesis. p. 1–5, 1991.

CHALOUPKOVÁ, H. et al. Prewaning housing effects on behavior and physiological measures in pigs during the suckling and fattening periods. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 7, p. 1741, jul. 2007.

CORRÊA JÚNIOR, C. et al. As plantas medicinais, aromáticas e condimentares e a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 376–376, set. 2014.

DALLA COSTA, O. A. et al. ASPECTOS ECONÔMICOS E DE BEM ESTAR ANIMAL NO MANEJO DOS SUÍNOS DA GRANJA ATÉ O ABATE. 2005.

DOCKING, C. M. et al. The influence of age on the use of potential enrichment objects and synchronisation of behaviour of pigs. v. 110, p. 244–257, 2008.

DOS SANTOS-NETO, L. L. et al. The use of herbal medicine in Alzheimer's disease-a systematic review. **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM**, v. 3, n. 4, p. 441–5, dez. 2006.

FAWC. Farm Animal Welfare Council. **updates the five freedoms Veterinary Record**, v. 17, p. 357, 1992.

FAWC. Farm Animal Welfare in Great Britain: Past, Present and Future. n. October, p. 1–70, 2009.

FERNANDES, H. C. et al. Efeito do aquecimento e resfriamento de pisos no desempenho de matrizes e leitões. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 701–709, dez. 2011.

FRASER, D. Observations on the behavioural development of suckling and early-weaned piglets during the first six weeks after birth. **Animal Behaviour**, v. 26, p. 22–30, 1978.

GONYOU, H. W. Why the study of animal behavior is associated with the animal welfare issue. **Journal of animal science**, v. 72, n. 8, p. 2171–7, ago. 1994.

GUY, J. H. et al. Health conditions of two genotypes of growing-finishing pig in three different housing systems: implications for welfare. **Livestock production science**, v. 75, n. 3, p. 233–243, 2002.

GUY, J. H. et al. The effect of combining different environmental enrichment materials on enrichment use by growing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 144, n. 3–4, p. 102–107, 1 mar. 2013.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition reviews**, v. 52, n. 8 Pt 1, p. 253–65, ago. 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 246, n. 2, p. 501–514, 1986.

HEMSWORTH, P. H. et al. A study of the relative aversiveness of a new daily injection procedure for pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, n. 4, p. 389–401, 15 set. 1996.

HÖTZEL, M. J.; NOGUEIRA, S. S. DA C.; MACHADO FILHO, L. C. P. **Revista de Etologia**. [s.l.] Sociedade Brasileira de Etologia, 2010. v. 9

HUGHES, B. O. Preference floors decisions of domestic hens for wire or litter. v. 2, p. 155–165, 1976.

JANSEN, J. et al. Spatial learning in pigs: effects of environmental enrichment

and individual characteristics on behaviour and performance. 2008.

JASKULKE, S.; MANTEUFFEL, G. No apparent effect of an experimental narrow confinement on heart activity and cortisol in domestic pigs. **Animal**, v. 5, n. 3, p. 433–438, 2011.

KASHYAP, N.; KUMAR, N.; KUMAR, M. N. V. R. Hydrogels for Pharmaceutical and Biomedical Applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 22, n. 2, p. 107–150, 2005.

KENNEDY, D. O. et al. Anxiolytic effects of a combination of Melissa ofcinalis and Valeriana ofcinalis during laboratory induced stress. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 2, p. 96–102, 1 fev. 2006.

LANFERDINI, E. . et al. **Digestibility of diets and metabolism of pigs fed with diets containing citric extracts.** [s.l.] Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Zootecnia, 2013. v. 62

LAURITZEN, B.; LYKKESFELDT, J.; FRIIS, C. Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of danofloxacin in treatment of Actinobacillus pleuropneumoniae infection in pigs. **Research in Veterinary Science**, v. 74, n. 3, p. 271–277, jun. 2003.

LOPES, E. Análise do bem-estar e desempenho de suínos em sistema de cama sobreposta. 2004.

LOVATTO, P. A. et al. Relation to fumonisins in diets in post weaning piglets and suckling vice occurrence, performance and characteristics of some organs | Relação entre fumonisinas na dieta de leitões na creche e a ocorrência do vício de sucção, desempenho e características . **Ciencia Rural**, v. 37, n. 4, p. 1091–1096, 2007.

LUEHRING, M.; BLANK, R.; WOLFFRAM, S. Vitamin E-sparing and vitamin E-independent antioxidative effects of the flavonol quercetin in growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 169, n. 3–4, p. 199–207, nov. 2011.

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. **The Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 502–511, 2007.

MAIA, A. P. D. A. et al. Enriquecimento Ambiental Como Medida Para O Bem-Estar Positivo De Suínos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 14, n. 14, p. 2862–2877, 2013.

MÜLLER, S. F.; KLEMENT, S. A combination of valerian and lemon balm is

effective in the treatment of restlessness and dyssomnia in children. **Phytomedicine**, v. 13, n. 6, p. 383–387, jun. 2006.

MÜZELL, D. P. Propriedades biológicas de extratos de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) em ratos Wistar. 2006.

PALME, R. et al. Steroid extraction: Get the best out of faecal samples. **Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria**, 1996.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift für Vitamin- und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition**, v. 67, n. 5, p. 289–97, 1997.

RIBEIRO, M. .; BERNARDO-GIL, M. .; ESQUÍVEL, M. . *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 21, n. 1, p. 51–60, set. 2001.

RIESENBERG, L. A.; LEISCH, J.; CUNNINGHAM, J. M. Nursing Handoffs: A Systematic Review of the Literature. **AJN, American Journal of Nursing**, v. 110, n. 4, p. 24–34, abr. 2010.

RIGUEIRO, M. P. Plantas que curam: manual ilustrado de plantas medicinais. **Ed. Paulinas**, p. 183, 1992.

ROHR, S. Produção de teoria e prática. 2014.

ROSSI, R.; PASTORELLI, G.; CORINO, C. Application of KRL test to assess total antioxidant activity in pigs: Sensitivity to dietary antioxidants. **Research in Veterinary Science**, v. 94, n. 2, p. 372–377, 2013.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. DE. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308–313, ago. 2004.

SCOTT, K. et al. Influence of different types of environmental enrichment on the behaviour of finishing pigs in two different housing systems. 3. Hanging toy versus rootable toy of the same material. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 116, n. 2–4, p. 186–190, 2009.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213–219, jul. 1993.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American journal of clinical nutrition**, v. 62, n. 6 Suppl, p. 1315S–1321S, dez. 1995.

SIMMEN, U. et al. Binding of STW 5 (Iberogast®) and its components to intestinal 5-HT, muscarinic M3, and opioid receptors. **Phytomedicine**, v. 13, p. 51–55, nov. 2006.

SVOBODOVÁ, A.; PSOTOVÁ, J.; WALTEROVÁ, D. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 147, n. 2, p. 137–145, 2003.

TAIWO, O. et al. Methylome analysis using MeDIP-seq with low DNA concentrations. **Nature Protocols**, v. 7, n. 4, p. 617–636, 8 mar. 2012.

TEMPLE, D. et al. Assessment of animal welfare through behavioural parameters in Iberian pigs in intensive and extensive conditions. v. 131, p. 29–39, 2011.

VAN DE WEERD, H. A. et al. A systematic approach towards developing environmental enrichment for pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 84, n. 2, p. 101–118, 25 nov. 2003.

VAN DE WEERD, H. A.; DAY, J. E. L. A review of environmental enrichment for pigs housed in intensive housing systems. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 116, n. 1, p. 1–20, 2009.

VEISSIER, I.; BOISSY, A. Stress and welfare : Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. v. 92, p. 429–433, 2007.

WAGENBERG, A. V. VAN et al. Effect of Floor Cooling on Farrowing Sow and Litter Performance: Field Experiment Under Dutch Conditions. **Transactions of the ASABE**, v. 49, n. 5, p. 1521–1527, 2006.

WARING, C. P. et al. Plasma Prolactin, Cortisol, and Thyroid Responses of the Brown Trout (*Salmo trutta*) Exposed to Lethal and Sublethal Aluminium in Acidic Soft Waters. **General and Comparative Endocrinology**, v. 102, n. 3, p. 377–385, 1996.

ZWICKER, B. et al. Short- and long-term effects of eight enrichment materials on the behaviour of finishing pigs fed ad libitum or restrictively. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 144, n. 1–2, p. 31–38, 15 fev. 2013.



## **Capítulo 2. Respostas comportamentais e fisiológicas relacionadas ao bem-estar em leitões na fase de creche**

### **1. Introdução**

A produção de animais passou por intensas modificações após a Segunda Guerra Mundial, visando principalmente o aumento da produtividade e a redução dos custos na produção (RATTNER, 1967). Estas mudanças exigiam maior número de animais em espaços reduzidos. Na suinocultura brasileira, prevalece esse sistema de confinamento intensivo com este mesmo propósito de melhorar o desempenho produtivo e econômico (BAPTISTA; BERTANI; BARBOSA, 2011). Assim, para alcançar o almejado sucesso na produção com o retorno econômico adequado, muitas vezes o bem-estar animal é deixado em segundo plano (HÖTZEL; NOGUEIRA; MACHADO FILHO, 2010).

Atualmente, o tema bem-estar animal é foco de intensos debates, sobretudo, na suinocultura industrial, em que é explorado o máximo potencial produtivo dos animais mantidos em confinamento. Por esse motivo, a sociedade se preocupa cada vez mais não somente com a qualidade da carne, mas também com a qualidade de vida e as condições em que os animais foram criados (VELONI et al., 2013).

Na suinocultura, a fase de creche é considerada crítica, pois o desmame dos leitões acontece de forma abrupta e geralmente entre os 21 e 28 dias de vida. Em condições naturais, o desmame é um processo que acontece gradualmente e pode levar entre 8 a 19 semanas (KEELING, 2001). Na produção comercial de suínos, o desmame envolve inúmeros fatores que contribuem para o aumento do estresse dos leitões, por exemplo: a separação da mãe, a mudança na dieta que, de líquida, passa a ser sólida, a troca de ambiente, onde saem da maternidade e vão para a creche, a mistura com animais de outras baias e a hierarquia estabelecida entre eles. Estes fatores podem levar ao aumento de problemas relacionados ao desmame tais como a baixa ingestão de alimento e a conseqüente diminuição do crescimento, além de alta incidência de diarreias, intensas vocalizações e também aumenta a incidência de comportamentos anômalos a espécie (estereotípias). Todos esses fatores interferem diretamente no comportamento, bem-estar e na produtividade desses animais (SOUZA, 2007). O bem-estar animal é relacionado prioritariamente com

sentimentos, ou seja, animais devem ter saúde física e mental, viver em ambientes harmônicos, e ter capacidade de adaptar-se a esse meio sem sofrimento (WOROBEK; DUNCAN; WIDOWSKI, 1999).

Alguns parâmetros bioquímicos podem ser utilizados como marcadores de estresse em suínos e as alterações desses parâmetros podem refletir falta de homeostase, caracterizando o baixo desempenho (BUZZARD et al., 2013). Existem poucos trabalhos que discutem as condições de estresse nos sistemas de criação brasileiro de acordo com as fases de criação e sua influência sobre os parâmetros bioquímicos dos suínos. Uma das maneiras de estimar as respostas fisiológicas do animal ao estresse é avaliar os níveis de cortisol, que pode ser medido via fluídos corporais como: sangue, saliva ou urina. Além disso, as alterações fisiológicas podem levar ao estresse oxidativo, que é resultante do excesso na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e/ou da diminuição na capacidade antioxidante do organismo (BERNABÉ et al., 2013).

Conforme mencionado, a ausência de bem-estar, originado pelo sistema intensivo na suinocultura, pode causar alterações fisiológicas nos animais, podendo comprometer sua saúde. Desta forma, torna-se importante o conhecimento das possíveis alterações em parâmetros bioquímicos, com ênfase nos metabólitos relacionados ao estresse, produzidos nas condições inerentes à fase de pós-desmame, já que essas alterações podem repercutir sobre o desequilíbrio entre a produção de ERO's e a capacidade antioxidante do organismo, afetando a saúde desses leitões e comprometendo sua produtividade.

Neste contexto, considerando a problemática acima exposta relacionada ao bem-estar em leitões, o presente estudo objetivou avaliar possíveis formas de minimizar o estresse em leitões na fase de pós-desmame. Uma delas utilizando produto natural fitoterápico com capacidade calmante e antioxidante, e outra, fazendo uso do enriquecimento ambiental como estratégia para reduzir o estresse e conseqüentemente reduzir a ocorrência de comportamentos estereotipados desses animais. Assim, os efeitos da utilização de estratégias de enriquecimento ambiental e também da suplementação com extrato da planta *Melissa officinalis*, que é um fitoterápico rico em antioxidantes, foram avaliados em parâmetros comportamentais e fisiológicos relacionados ao bem-estar de leitões na fase de creche.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Local, animais e tratamentos

O experimento foi realizado na Unidade Produtora de Leitões (UPL) da Frísia Cooperativa Agroindustrial, localizada na cidade de Carambeí, no Estado do Paraná, Brasil; no período entre fevereiro e março de 2017, com duração de 35 dias. Foram utilizados 300 leitões machos, castrados e provenientes do cruzamento comercial, e que foram desmamados aos 21 dias de idade. Os animais foram alojados em 6 baias contendo 50 leitões cada. O delineamento foi em blocos ao acaso, com duas repetições de cada tratamento. Os critérios de bloqueamento foram o sexo e o peso inicial dos leitões. Os animais foram identificados por meio de brincos.

Os leitões foram alocados em baias medindo 3,2m (de frente) x 4,75m (na lateral), com grade divisória vazada de 0,74m de altura e espaços entre as barras de ferro de 0,20m, permitindo o contato com os animais da baia ao lado. As salas da creche possuíam temperatura controlada que variou entre 22,1 e 28.6°C. Os comedouros eram automáticos e continham bebedouros conjugados com 5 boxes de alimentação de 0,36m cada, medindo 1,80m de comprimento, 0,90m de altura e 0,50m de largura. Cada baia também possuía 5 bebedouros tipo nipple com 0,38m de altura.

Os tratamentos utilizados foram: T1 - Controle, T2 – Enriquecimento ambiental e T3 – *M. officinalis*. No tratamento com enriquecimento ambiental (T2), foram distribuídos brinquedos confeccionados com garrafas PET (Poli tereftalato de etila), correntes e pneus. As correntes e pneus foram pendurados em barras de ferro localizadas acima da baia e as garrafas PET foram colocadas no piso da baia e lavadas a cada dia, para que os leitões não perdessem o interesse pelo objeto, devido a sujeira (TRICKETT; GUY; EDWARDS, 2009). No T3, foi adicionado 1% de extrato seco de *Melissa officinalis* à ração que, foi ofertada todos os dias pela manhã.

As coletas de sangue e a pesagem dos leitões foram realizadas nos dias 0 (dia de desmame); 7; 21 e 35 do experimento. O extrato seco de *Melissa officinalis* foi adquirido comercialmente. O consumo diário de ração, o ganho

médio diário de peso e a conversão alimentar foram estimadas com base na pesagem periódica e individual dos animais e da quantidade de ração armazenada nos comedouros.

## 2.2. Avaliação da atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos do extrato da planta *Melissa officinalis*

As amostras que foram utilizadas no presente estudo para complementar um dos grupos de tratamento, foram avaliadas quanto à sua capacidade antioxidante para confirmação de sua eficácia. Para isso foi avaliada a capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH• segundo o método descrito por Choi et al. (2002). A porcentagem de inibição do radical DPPH foi calculada a partir da seguinte relação:

$$I(\%) = 100 - \left[ \frac{(Abs_{Amostra} - Abs_{Branco}) \times 100}{Abs_{Controle}} \right]$$

Onde “Abs amostra” é a absorbância obtida na presença das diferentes concentrações do extrato e “Abs controle” refere-se à absorbância na ausência do extrato. A partir dos resultados obtidos para a porcentagem de inibição para cada uma das concentrações do extrato, foi construída a curva de porcentagem de inibição versus a concentração dos extratos. A partir da equação obtida, foi possível calcular o valor de CI<sub>50</sub>, que é a concentração de extrato necessária para inibir 50% do radical DPPH. As análises foram realizadas em triplicata.

A concentração de compostos fenólicos totais foi mensurada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteau (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTOS, 1998). Foi calculado o teor de compostos fenólicos totais para a amostra a partir da curva de calibração de ácido gálico (AG) e o resultado foi expresso em mgAG.g<sup>-1</sup> de extrato. Além disso, a concentração de flavonoides totais foi realizada a partir da complexação com o alumínio (WOISKY; SALATINO, 1998). A leitura da absorbância foi será realizada no espectrofotômetro de placas BioTeck µQuant® (Synergy H1 Hybrid Reader) a 420 nm. O teor de flavonoides totais foi calculado a partir da curva padrão de quercetina e expresso como mg.g<sup>-1</sup> de extrato. As análises foram realizadas em triplicata.

### 2.3. Avaliação do comportamento animal

A avaliação comportamental dos leitões foi realizada por um único avaliador treinado, com observações pontuais de 5 minutos por baia, monitoradas por câmeras de vídeo. As amostragens focais tiveram início no período da manhã e foram realizadas entre 10:00 e 10:30, através do equipamento de mídia Digiforte Enterprise Suveirllance Client®.

Foram avaliados os seguintes padrões comportamentais, conforme tabela 1: comportamento locomotor, comportamento ingestivo, relações agonísticas, interação com o objeto proposto como enriquecimento ambiental, interação com o colega, interação com o ambiente, e estereotípias (PINHEIRO, 2009).

<b>Comportamento</b>	<b>Descrição</b>
Dormir	Ato de deitar de lado ou de barriga com os olhos fechados
Permanecer em pé	Permanecer em pé sem a realização de qualquer outro comportamento descrito
Comer	Ato de alimentar-se no comedouro
Beber	Ato de beber água potável
Montar	Ato de colocar as duas patas dianteiras na parte traseira de um companheiro
Morder	Ato de morder quais partes do corpo do companheiro de baia
Explorar	Ato de explorar a baia e seus componentes
Manipular umbigo	Mordiscar, succionar o umbigo de um companheiro de baia
Manipular orelhas	Mordiscar, mascar ou cheirar a orelha de um companheiro de baia
Manipular caudas	Mordiscar, mascar ou cheirar a cauda de um companheiro de baia
Brincar	Ato de Brincar com os companheiros de baia ou com os brinquedos

Quadro 1. Etograma comportamental com atividades realizadas por leitões no período de avaliação.

Fonte: Adaptado de Pinheiro (2009).

### 2.3. Coletas de sangue para análises bioquímicas

As coletas de sangue para avaliações bioquímicas foram realizadas por punção venosa no período da tarde, sendo que as amostras foram coletadas e devidamente acondicionadas para o transporte até o laboratório para realização das análises bioquímicas. No laboratório, as amostras de sangue foram submetidas a separação do soro e do eritrócito e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

### 2.4. Avaliações de parâmetros relacionados ao estresse oxidativo

#### 2.4.1. Avaliação da peroxidação lipídica – TBARS

Para determinação da peroxidação lipídica no sangue dos animais, foi utilizado o método de TBARS conforme descrito por Ohkawa et al. (1979). O sangue foi coletado com heparina, homogeneizado lentamente, precipitado com ácido tricloroacético (TCA) 20%, na proporção de 1:1 (sangue:TCA) e centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm. O sobrenadante foi incubado com água, ácido fosfórico 10% e o ácido tiobarbitúrico (TBA) 1.2%, durante 1 hora e 30 minutos a  $100^{\circ}\text{C}$ . Após este período, foi realizada a leitura da absorbância em placa ELISA em espectrofotômetro a 532 nm. Os resultados foram expressos em nmol de malondialdeído (MDA) / mL de eritrócito.

#### 2.4.2. Avaliação da atividade da enzima catalase

A atividade da enzima catalase foi determinada utilizando o método de Aebi (1984). Os eritrócitos foram hemolizados pela adição de água destilada. Foram utilizados 7  $\mu\text{L}$  do hemolizado, transferido para uma cubeta e a reação teve início pela adição de 24,5  $\mu\text{L}$  do substrato peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a 300 mM preparado na hora do uso, e 668,5  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (50 mM, pH 7.0). A decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi determinada em espectrofotômetro a 540nm durante 120 segundos. A atividade da catalase foi expressa como  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{ml}$  eritrócito/min.

### 2.4.3. Avaliação de Vitamina C

A determinação do ácido ascórbico foi realizada como descrito por Jacques-Silva et al. (2001). Os eritrócitos foram precipitados em ácido tricloroacético a 10% e centrifugado a 3.000 rpm por 5 minutos. Uma alíquota de 300  $\mu$ L dos sobrenadantes foi misturada com 2,4-dinitrofenil-hidrazina (4,5 mg/mL),  $\text{CuSO}_4$  (0,075 mg/mL e ácido tricloroacético 10% e incubadas durante 3 horas a 37°C. Em seguida, 1 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  65% foi adicionado ao meio. O teor de ácido ascórbico foi calculado utilizando uma curva padrão (1,5 a 4,5 mol / L de ácido ascórbico) e expresso como mol de ácido ascórbico/mL de eritrócito).

### 2.5. Análise estatística

Os resultados da avaliação comportamental, foram expressos na forma de média. As análises foram realizadas a partir do estudo de correlações de Pearson ao nível de 5% de significância. Foi realizada também, por análises de variância (ANOVA) seguida do teste de *Tukey* para identificar diferenças significativas entre as médias ( $p < 0,05$ ), por meio do programa MINITAB 16 (Minitab Inc., State College, USA).

Os resultados relacionados aos parâmetros de estresse oxidativo foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão. Para a análise estatística dos resultados, foi utilizado o programa *Graph Pad Prism 6* para análises de variância (ANOVA) e o teste de *Tukey* para identificar diferenças significativas entre as médias ( $p < 0,05$ ).

### 3. Resultados

#### 3.1. Avaliação do ganho de peso e conversão alimentar

Observou-se, conforme demonstrado na tabela 1, um aumento linear no ganho de peso dos leitões com o passar dos dias, e que não houve diferença estatística entre os tratamentos controle, enriquecimento ambiental e *M. officinalis* ( $P < 0,05$ ), demonstrando que os tratamentos não interferiram nas variáveis de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

Tabela 1. Média de peso, consumo estimado de ração e conversão alimentar de leitões em creche submetidos ao enriquecimento ambiental e à administração de extrato seco de *M. Officinalis* 1%

	Tratamentos			P
	Controle	Enriquecimento. Ambiental	<i>M.</i> <i>officinalis</i>	
N (CV%)	102 (13,8)	94 (13,2)	102 (13,4)	
<i>Média de peso dos leitões, kg</i>				
Inicial, kg	7,10	7,00	6,91	0,386
7 dias, kg	7,52	7,60	7,30	0,123
14 dias, kg	9,85	9,93	9,60	0,361
21 dias, kg	16,25	16,25	15,70	0,092
35 dias, kg	22,50	22,60	21,90	0,075
<i>Consumo estimado de ração<sup>1</sup>, kg/d</i>				
7 dias, kg/d	0,128	0,128	0,128	-
14 dias, kg/d	0,198	0,198	0,198	-
21 dias, kg/d	0,538	0,538	0,538	-
35 dias, kg/d	1,110	1,110	1,110	-
<i>Conversão alimentar</i>				
	1,254	1,225	1,220	-

<sup>1</sup>Oferta de ração estimada com base na pesagem diária da ração no T3.

#### 3.2. Avaliação da atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos do extrato da planta *Melissa officinalis*

O conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais e a capacidade de inibição do radical livre DPPH do extrato de *M. officinalis* obtidos neste estudo estão apresentados na tabela 2. O extrato da planta *M. officinalis* apresentou atividade antioxidante pelo método de inibição do radical livre 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH), com a capacidade de inibir 50% dos radicais livres (figura 1).



Tabela 2. Avaliação da atividade antioxidante da planta *M. officinalis* pelos métodos de DPPH, fenólicos totais e flavonoides totais.

	Fenólicos totais (mg AG/g planta)	Flavonoides totais (mg QER/g planta)	DPPH CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Melissa officinalis</i>	18,65±1,21	3,62±1,22	172,11±7,15

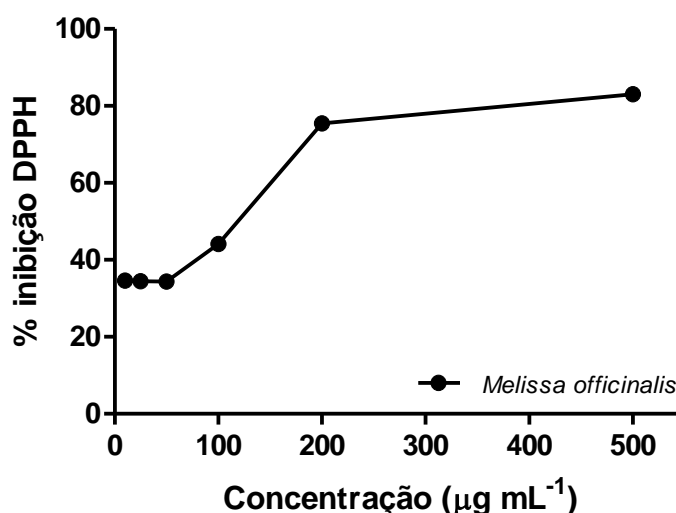


Figura 1. Porcentagem de inibição do radical DPPH do extrato da planta *M. officinalis*. Os dados apresentados demonstram a média ± desvio padrão de 3 experimentos independentes realizados em triplicata.

### 3.3. Avaliação do comportamento animal

A tabela 2 apresenta as correlações entre os comportamentos considerados anômalos e os comportamentos naturais dos leitões. Houve uma correlação negativa forte entre os comportamentos “brincar” e “vício de sucção” ( $P < 0,001$ ), indicando que, quanto maior o tempo em que os animais passam brincando (entre eles ou com os objetos propostos como enriquecimento ambiental), menor será o tempo exercendo o “vício de sucção”. O T2 interferiu positivamente sobre os comportamentos de “brincar” (Figura 2), com 69,8% de incidência com relação ao T1 (14,7%) e T3 (15,5%), e também sobre comportamento de “vício de sucção” (Figura 3), onde pode-se observar maior eficiência deste tratamento que obteve 14,1% da frequência quando comparado

com os demais, onde T1 e T3 obtiveram 45,4% e 40,5% de frequência, respectivamente, sobre este comportamento ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Correlação entre os tipos de comportamento observados em leitões na fase de creche no período de 35 dias

Variável	Trat	Dia	Monta	Morder	Briga	Vício de sucção	Manip. orelha	Manip. Cauda
<b>Trat<sup>1</sup></b>	1							
<b>Dia<sup>2</sup></b>	0,001ns	1						
<b>Monta<sup>3</sup></b>	-0,224*	-0,212*	1					
<b>Morder<sup>4</sup></b>	-0,124*	-0,091ns	0,560*	1				
<b>Briga<sup>5</sup></b>	0,024ns	0,357*	0,391***	0,059ns	1			
<b>Vício de sucção<sup>6</sup></b>	-0,054ns	-0,498*	0,024ns	0,095ns	0,123*	1		
<b>Manip. Orelha<sup>7</sup></b>	0,036ns	-0,235*	0,293*	0,125*	0,145*	0,369*	1	
<b>Manip. Cauda<sup>8</sup></b>	-0,393*	-0,174*	0,475*	0,285*	0,125*	0,233*	0,057ns	1
<b>Explorar<sup>9</sup></b>	0,069ns	0,02ns	0,022ns	-0,087ns	-0,333*	-0,857*	-0,065ns	-0,098ns
<b>Brincar<sup>10</sup></b>	0,011ns	0,596**	-0,665**	-0,369*	-0,376**	-0,751**	-0,501**	-0,359*
<b>Pneu<sup>11</sup></b>	0,01ns	0,224**	-0,389*	-0,269*	-0,337*	-0,352*	-0,428**	-0,491*
<b>Pet<sup>12</sup></b>	0,350*	0,069*	-0,458*	-0,275*	-0,481*	-0,593*	-0,492*	-0,398*
<b>Corrente<sup>13</sup></b>	0,01ns	0,059ns	-0,087ns	-0,499**	-0,328*	-0,558*	-0,087ns	-0,391*
<b>Barra<sup>14</sup></b>	0,500*	0,554*	-0,258*	0,484*	-0,446*	-0,125*	-0,045ns	-0,056ns
<b>Comer<sup>15</sup></b>	0,228*	-0,393*	-0,283*	0,369*	-0,725**	-0,589**	-0,069ns	-0,548**
<b>Beber<sup>16</sup></b>	0,126*	0,016ns	-0,123*	-0,085ns	-0,058ns	-0,235*	-0,025ns	-0,069ns
<b>Dormir<sup>17</sup></b>	0,600**	-0,490*	-0,482*	-0,045ns	-0,025ns	-0,259*	-0,089ns	-0,159*
<b>Em pé<sup>18</sup></b>	0,025ns	0,716*	0,085ns	0,096ns	0,078ns	-0,087ns	0,069ns	0,087ns

<sup>1</sup>Tratamentos; <sup>2</sup>Período observado; <sup>3</sup>Leitões montando sobre outros leitões; <sup>4</sup>Leitões mordendo partes do corpo de outros leitões; <sup>5</sup>Leitões brigando entre eles; <sup>6</sup>Comportamento de sugar o umbigo de outros leitões; <sup>7</sup>Manipulação da orelha de outros leitões; <sup>8</sup>Manipulação da cauda de outros leitões; <sup>9</sup>Comportamento de explorar a baia; <sup>10</sup>Leitões brincando com brinquedos ou entre eles; <sup>11,12,13</sup>Objetos adicionados à baia com enriquecimento ambiental; <sup>14</sup>Barras de ferro que separam as baias; <sup>15</sup>Comportamento de ingestão de alimento; <sup>16</sup>Comportamento de ingestão de água; <sup>17</sup>Leitões deitados com os olhos fechados; <sup>18</sup>Comportamento locomotor.  $P < 0,001$ \*\*\*;  $P < 0,01$ \*\*;  $P < 0,05$ \* e  $P > 0,05$ ns

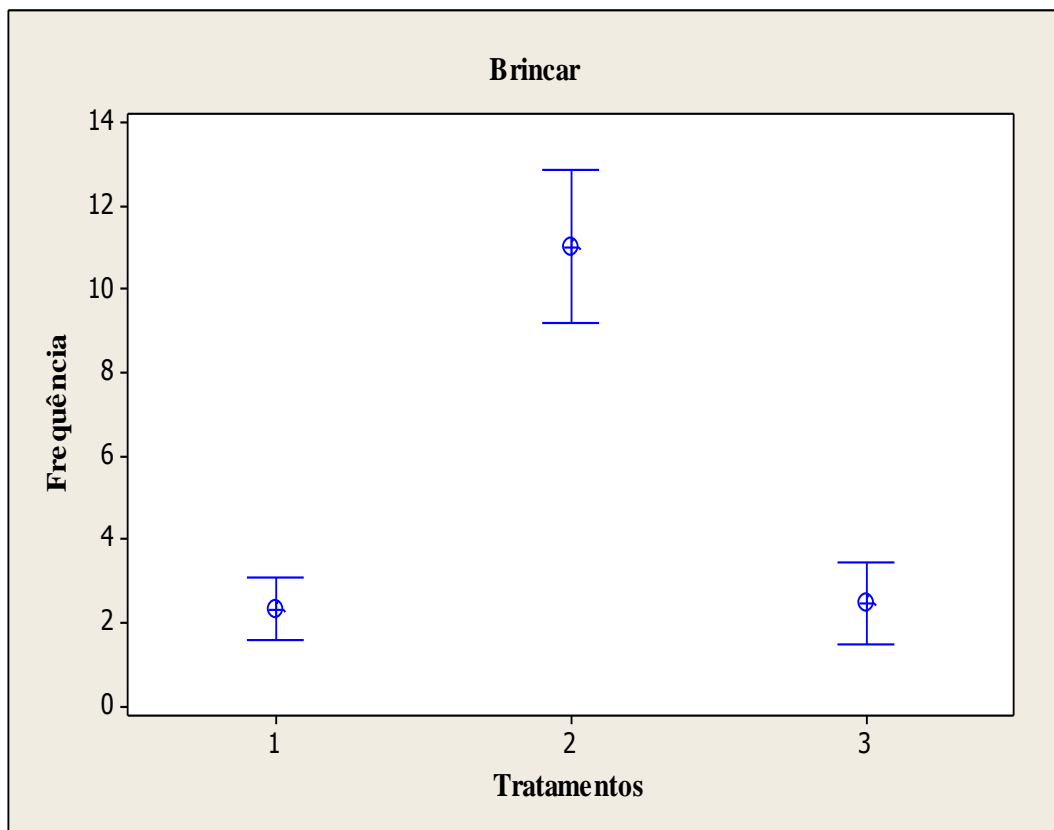


Figura 2. Frequência do comportamento de brincar, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias em um total de 8 observações.

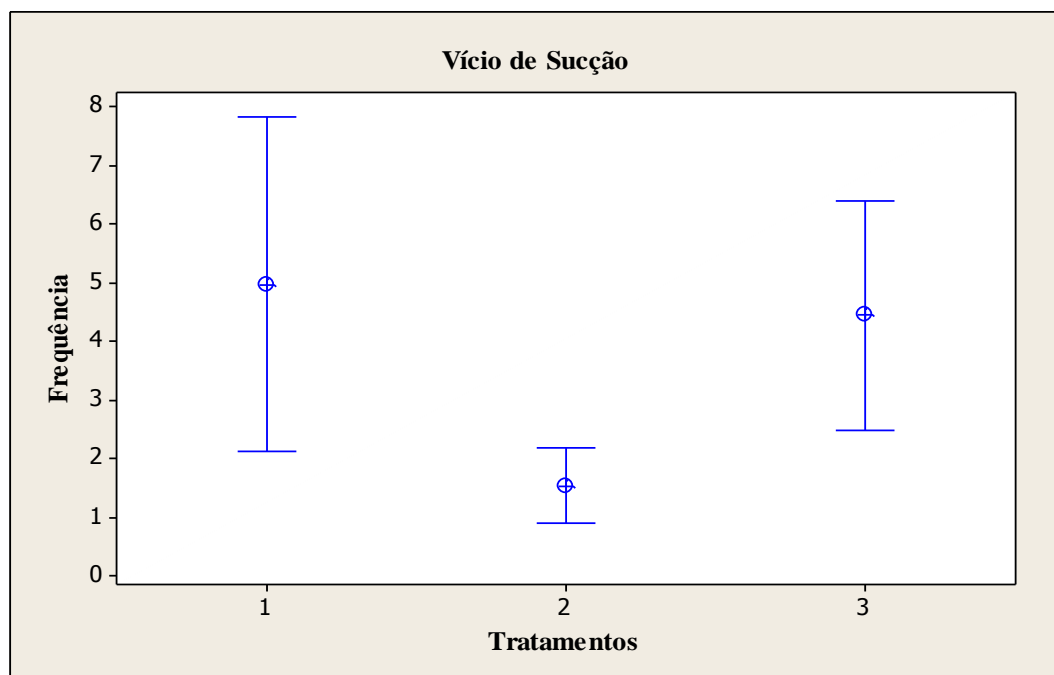


Figura 3. Frequência do comportamento de vício de sucção, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias em um total de 8 observações.

O comportamento de monta faz parte do grupo de comportamentos anômalos, e este interferiu negativamente sobre o comportamento “brincar”, mostrando uma correlação negativa moderada entre eles ( $P < 0,001$ ), o que indica que quanto mais os leitões praticam o ato de montar sobre seus companheiros de baia, menos eles brincam entre eles ou com os objetos propostos de enriquecimento ambiental (Tabela1). O comportamento de “monta” (figura 4) aconteceu com maior frequência no T1 (43,4%) que nos T2 (29,1%) e T3 (27,5%), ( $P < 0,05$ ). Esses fatos sugerem que os tratamentos com *M. officinalis* e baia enriquecida obtiveram melhores resultados para o bem-estar dos leitões.

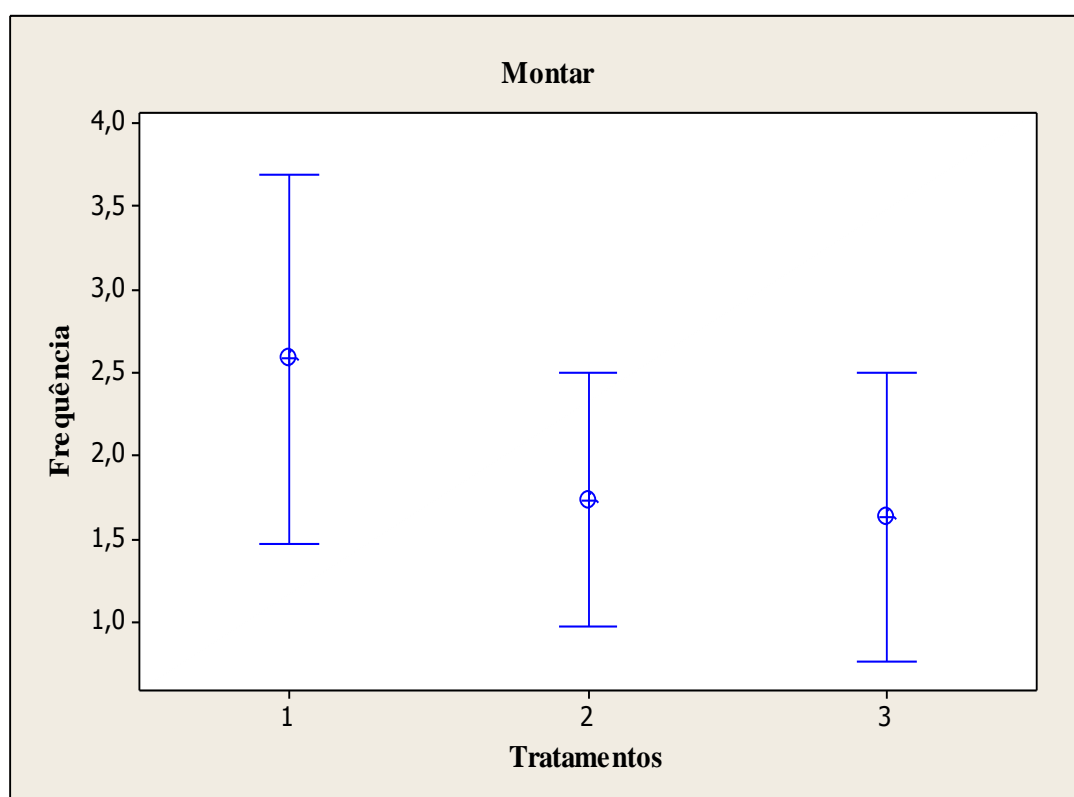


Figura 4. Frequência do comportamento de montar (sobre outros animais), observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias

A manipulação da cauda dos leitões companheiros de baia, é considerado um comportamento prejudicial ao bem-estar desses animais, pois esse é um tipo de comportamento que pode levar ao canibalismo e grandes perdas na produção. Houve correlação negativa moderada entre a alimentação e o comportamento de manipulação de cauda, mostrando que quanto maior a frequência desse comportamento estereotipado dentro da baia, menor será a frequência de alimentação dos leitões, podendo prejudicar no crescimento e

ganho de peso dos leitões. O comportamento de manipulação de cauda teve maior incidência no T1 (50,99%) quando comparado aos tratamentos T2 (21%) e T3 (28,1%).

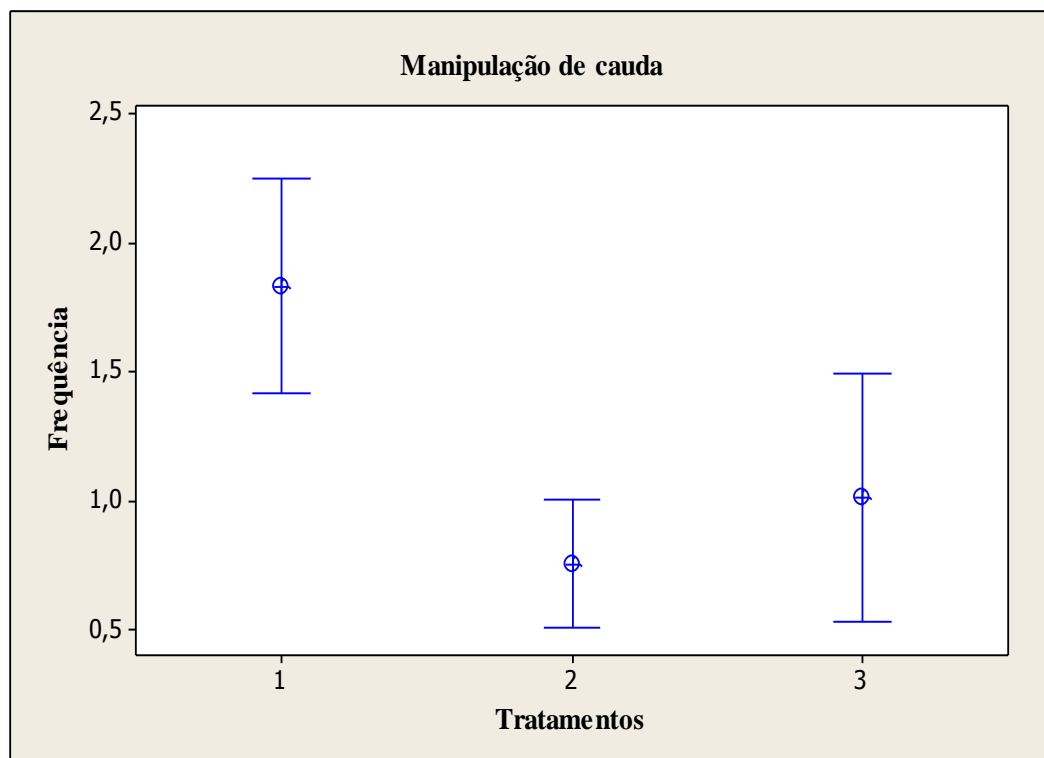


Figura 5. Frequência do comportamento “manipular cauda”, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período experimental de 35 dias de experimento

A atividade exploratória é considerada um comportamento natural da espécie suína, portanto, considerando-se adequado para o bem-estar dos leitões. Para esta variável, observou-se que houve correlação negativa moderada com ralação ao comportamento de briga ( $P < 0,05$ ), mostrando que quanto mais os leitões exploram o ambiente, menos haverá brigas entre eles. Houve correlação negativa forte entre o comportamento exploratório e o vício de sucção ( $P < 0,001$ ), indicando que quanto mais os leitões realizarem os comportamentos naturais da espécie, menor será a incidência de comportamentos agonísticos, contemplando o bem-estar animal. Na figura 6, observa-se que os leitões do tratamento controle, exploram menos o ambiente (24,1%) quando comparados com os leitões dos tratamentos com enriquecimento ambiental (38,3%) e *M. officinalis* (37,6%), ( $P < 0,05$ ).

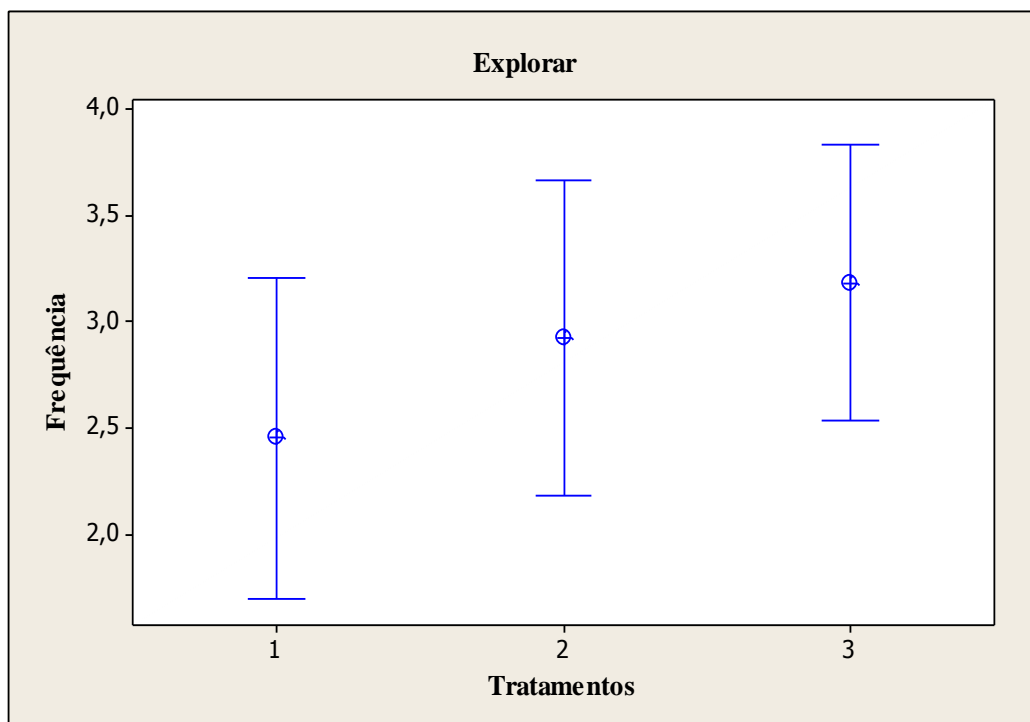


Figura 6. Frequência do comportamento de explorar, observado em leitões na fase de creche, com os tratamentos: Controle (trat. 1), expostos a Enriquecimento ambiental (trat. 2) ou tratados com *M. officinalis* (trat. 3) durante o período de 35 dias de experimento.

### 3.4. Avaliações de estresse oxidativo

Nos dias 21 e 35, não houve diferença entre os tratamentos na avaliação da peroxidação lipídica, entretanto, no dia 7 ocorreu diferença entre os grupos tratados com Enriquecimento ambiental e *M. officinalis* e também entre os grupos controle e *M. officinalis* ( $P > 0.05$ ), o que indica que os leitões tratados com *M. officinalis* obtiveram menor quantidade de TBARS, comprovando assim a eficiência deste tratamento na prevenção da peroxidação lipídica. Os tratamentos Controle e Enriquecimento ambiental apresentaram maiores níveis de peroxidação lipídica no dia 7, onde provavelmente os leitões estavam estabelecendo a hierarquia entre eles dentro das baias.

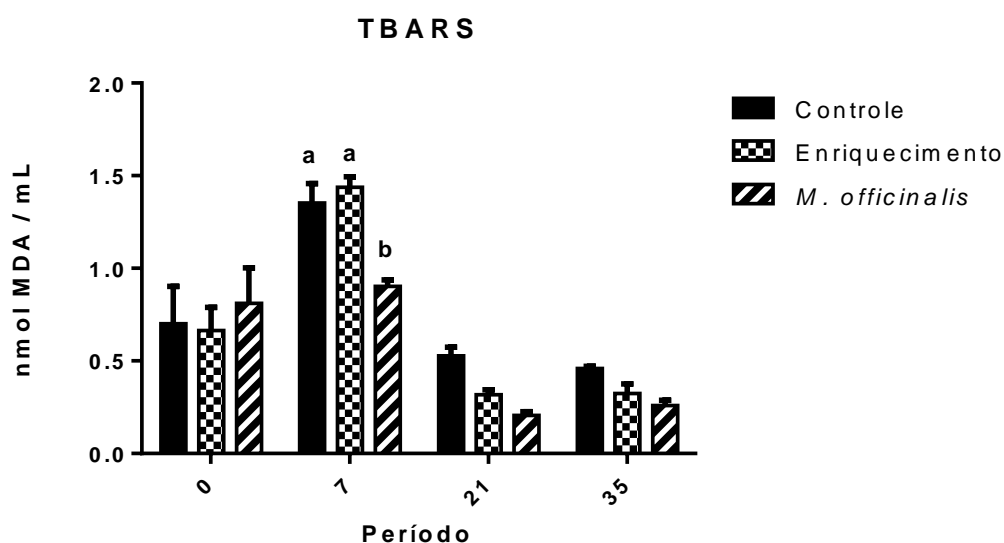


Figura 7. Níveis de TBARS (nmol MDA/ mL de eritrócito) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos a Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ( $P>0.05$ ) dentro do mesmo período

Na avaliação da atividade da catalase, não houve diferença estatística entre os três tratamentos no dia 0. No dia 7 do experimento, houve diferença estatística entre Enriquecimento e *M. officinalis* ( $P>0.05$ ) e entre os tratamentos Controle e *M. officinalis*, mostrando que houve uma menor atividade da enzima catalase no sangue dos leitões tratados com *M. officinalis*.

No dia 21, não houve diferença significativa entre os tratamentos com Enriquecimento ambiental e *M. officinalis* ( $P>0.05$ ). Entretanto, apresentou diferença estatística entre os tratamentos Controle e Enriquecimento ( $P>0.05$ ) e entre os tratamentos Controle e *M. officinalis* ( $P>0.001$ ), isso indica que tanto o T2 quanto o T3 foram eficientes para evitar o estresse oxidativo neste período do experimento. No dia 35, não houve diferença significativa entre os tratamentos com Enriquecimento ambiental e *M. officinalis* ( $P>0.05$ ), porém houve diferença estatística entre os tratamentos Controle e Enriquecimento ( $P>0.05$ ) e também nos tratamentos Controle e *M. officinalis* ( $P>0.001$ ), evidenciando melhor desempenho dos tratamentos com Enriquecimento e *M. officinalis*, na prevenção de estresse oxidativo.

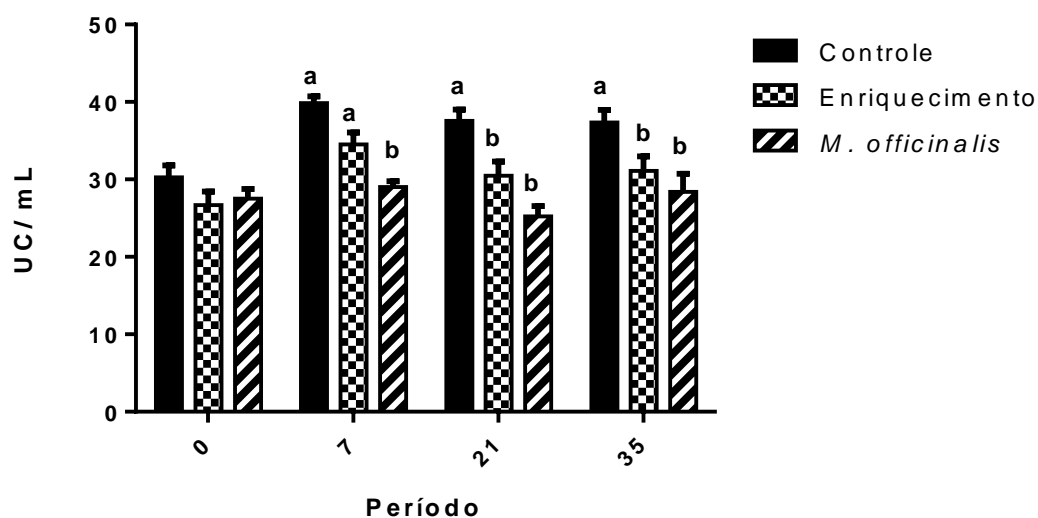


Figura 7. Concentração de Catalase (UC/ mL de eritrócito) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos ao Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas

No dia 0, na avaliação da quantidade de Vitamina C no sangue dos leitões, não houve diferença significativa entre os grupos Controle, Enriquecimento Ambiental e *M. officinalis*. No dia 7, não houve diferença significativa entre os tratamentos Controle e *M. officinalis* ( $P > 0.05$ ), porém, houve diferença significativa entre os tratamentos Controle e Enriquecimento Ambiental e também entre *M. officinalis* e Enriquecimento Ambiental, o que indica que a Vit. C. foi mais oxidada no grupo Enriquecimento Ambiental, mostrando um maior nível de estresse oxidativo no organismo dos leitões quando comparado aos demais tratamentos, neste mesmo período.

No dia 21 do experimento, houve diferença entre os tratamentos Controle e Enriquecimento e também entre os tratamentos Controle e *M. officinalis* ( $P > 0.001$ ), porém não houve diferença entre os tratamentos com *M. officinalis* e Enriquecimento Ambiental nesse período, indicando que os dois tratamentos obtiveram o mesmo efeito sobre a quantidade de Vit. C. no sangue dos leitões, neste período. No dia 35 do experimento, não houve diferença significativa entre os tratamentos Controle e Enriquecimento Ambiental, porém, houve diferença significativa entre os tratamentos Controle e *M. officinalis* ( $P > 0.001$ ) e entre Enriquecimento ambiental e *M. officinalis* ( $P > 0.05$ ) neste período, o que mostra que a *M. officinalis* proporcionou maior eficiência



manutenção dos níveis de Vit. C. quando comparado aos tratamentos Controle e Enriquecimento Ambiental, assim como apresentado na figura 1.

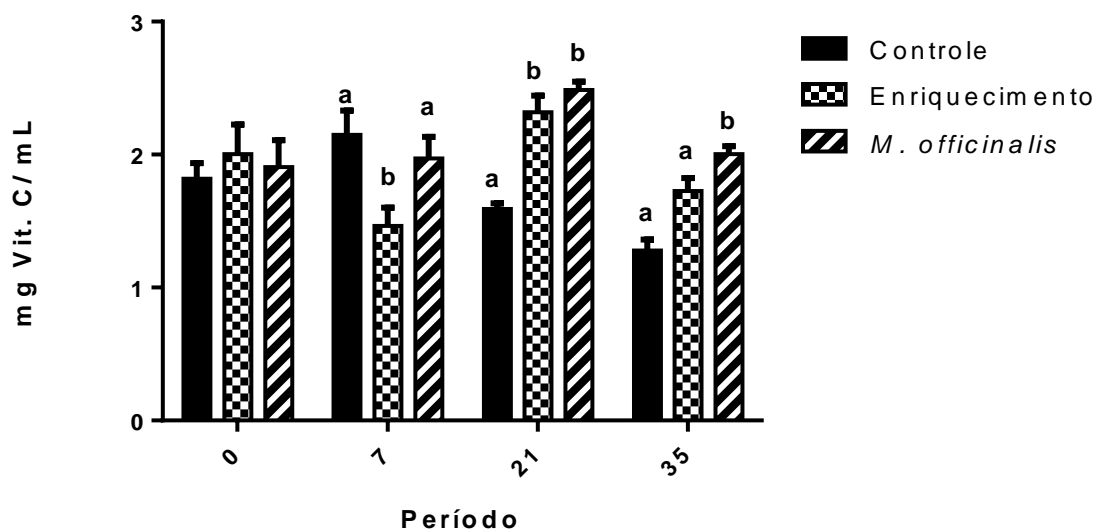


Figura 8. Concentração de Vitamina C (mg Vit. C/ mL de eritrócito) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos ao Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0.05$ ) dentro do mesmo período.

### 3.5. Avaliação do cortisol

A figura 10 mostra a quantidade de cortisol no soro dos leitões, no período de 35 dias de experimento. No dia 0, apresentou maior índice de cortisol circulante, provavelmente porque foi o dia de desmame e o nível de estresse foi maior quando comparado aos demais dias de experimento. Porém, não houve diferença significativa entre os três tratamentos nos dias avaliados, demonstrando assim que os níveis de cortisol mantiveram-se inalterados, não havendo interferência dos tratamentos neste parâmetro.

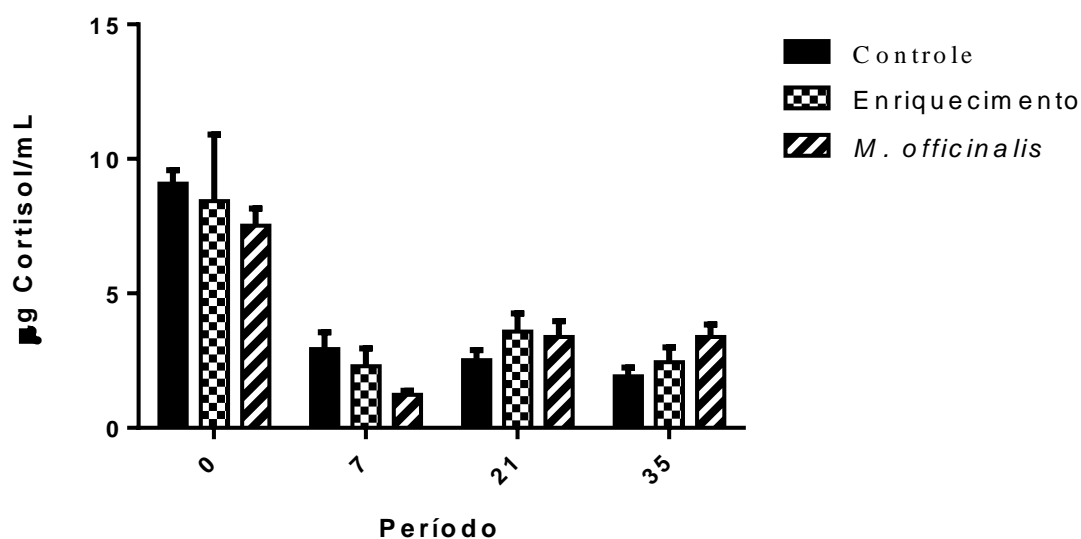


Figura 10. Concentração de cortisol ( $\mu\text{g}$  cortisol/ mL de soro) em eritrócitos de suínos tratados com *M. officinalis* ou expostos a Enriquecimento ambiental em diferentes períodos durante 35 dias.

De maneira geral, os resultados do presente estudo demonstram que a exposição ao enriquecimento ambiental e a suplementação com *M. officinalis* não interferiram no consumo alimentar e no ganho de peso dos animais, sugerindo que a utilização destas estratégias no período avaliado não causou nenhum malefício que pudesse alterar os hábitos normais de alimentação dos animais ou seu crescimento normal. Além disso, observou-se que a exposição ao enriquecimento ambiental potencializou a ocorrência de comportamentos saudáveis relacionados ao bem-estar em leitões, como o ato de brincar e o comportamento exploratório, além de diminuir comportamentos associados ao estresse, como vício de sucção e manipulação da cauda. Ainda em relação aos comportamentos, o grupo tratado com *M. officinalis* também apresentou aumento no comportamento exploratório, além de diminuição no vício de sucção e manipulação da cauda. Em relação aos parâmetros bioquímicos, não houve alteração nos níveis de cortisol entre os grupos dentro de cada período avaliado, mostrando que as estratégias aqui testadas não causaram estresse aos animais. Além disso, a suplementação com *M. officinalis* parece melhorar os parâmetros oxidativos, uma vez que este grupo apresentou maiores níveis de vitamina C no vigésimo primeiro e trigésimo quinto dias de tratamento, além de menor atividade

da enzima Catalase desde o sétimo dia de tratamento até o trigésimo quinto dia e menores níveis de TBARS no sétimo dia de tratamento. O grupo enriquecimento ambiental proporciono melhora sobre os parâmetros oxidativos apenas a partir do vigésimo primeiro dia, demonstrado pelos níveis de vitamina C e atividade da Catalase. Porém, inicialmente, na coleta do sétimo dia, este grupo demonstra uma menor quantidade de vitamina C, o que pode refletir algum nível de estresse provavelmente gerado pela adaptação inicial ao ambiente enriquecido que pode causar algum tipo de competição.

#### 4. Discussão

Nas produções convencionais de suínos, o desmame é imposto de forma brusca envolvendo numerosos aspectos que contribuem para o somatório de fatores estressantes, tais como: a idade de desmame, a separação da mãe, a mudança na alimentação, a troca de ambiente físico (da maternidade para a creche), além da mistura com leitões de outras proles, que resultaram em vocalizações, baixo consumo de alimento, intensos conflitos e ferimentos nos animais. Estes fatores podem contribuir para agravar os problemas relacionados ao desmame, bem como a baixa ingestão de alimento e o conseqüente baixo desempenho no crescimento. Além disso, interfere também no comportamento e bem-estar dos leitões, o que reflete na produtividade, podendo causar grandes perdas na produção (SOUZA, 2007). Visando elucidar estratégias que possam minimizar os fatores adversos acima citados, este trabalho avaliou a influência da inserção do enriquecimento ambiental e também a suplementação com a planta *M. officinalis*, que é rica em antioxidantes, nos parâmetros comportamentais e fisiológicos relacionados ao bem-estar de leitões na fase de creche.

Segundo Prado (2009), métodos de avaliação como DPPH• são práticos e recomendados para a avaliação da capacidade antioxidante total, visto que o sequestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a ação dos antioxidantes. Neste trabalho, foi avaliada a atividade antioxidante do extrato da planta *M. officinalis* pelo método de DPPH•. Neste estudo, a atividade antioxidante foi apresentada em termos de  $CI_{50}$ , que é a concentração do composto necessária para inibir 50% dos radicais DPPH•, ou seja, quanto menor o valor de  $CI_{50}$ , maior a atividade antioxidante do extrato avaliado. O radical livre com coloração púrpura 2,2-difenil-picrilhidrazil (DPPH) foi utilizado após sua dissolução em etanol. Quando uma molécula de DPPH• recebe um átomo de hidrogênio a partir de um composto com atividade antioxidante, no caso deste trabalho, o extrato da planta *M. officinalis*, para se tornar uma molécula estável, ocorre uma descoloração da solução como conseqüência da formação de DPPH. Assim, essa descoloração indica a capacidade do antioxidante da planta em inibir o radical DPPH•.

Estudos comprovam que os flavonoides em extratos aquosos possuem atividades de eliminação de radicais livres, e são mais eficazes do que as vitaminas C e E em proteger as células do dano causado pelos radicais livres (WISEMAN et al. 1997; VINSON et al. 1995).

Neste estudo foi demonstrada a presença de compostos fenólicos totais e flavonoides no extrato da planta *M. officinalis*, que também apresentaram atividade antioxidante, sugerindo que o extrato de *M. officinalis* pode oferecer vários benefícios para a saúde dos animais, uma vez que pesquisas sugerem que os flavonoides são responsáveis por ação antitumoral, antivirais, anti-hemorrágicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes (ZUANAZZI E MONTANHA, 2005; CHEN E YEN, 2007). Os compostos fenólicos, como os flavonoides podem ser considerados os responsáveis pelas atividades farmacológicas de algumas espécies, por isso é indispensável à determinação dos seus teores presentes nas plantas que poderão ser utilizadas como medicamentos vegetais (BARA, et al., 2009). Contudo, não foram encontrados na literatura, limites específicos para a espécie *M. officinalis* L. relacionados as análises realizadas neste trabalho, porém, estes ensaios são de fundamental importância para o controle da qualidade de plantas medicinais e são essenciais para garantir a autenticidade, a estabilidade e a maior segurança na utilização dessas plantas.

O bem-estar está relacionado com conforto físico e mental, e que o conforto mental pode ser determinado como o estado que está relacionado com a condição física do animal, mas não apenas isso, é difícil saber o grau de satisfação do animal com o ambiente em que vive. Portanto, existem manifestações de alguns tipos de comportamentos podem evidenciar desconforto físico e até mesmo mental. A privação de estímulos ambientais (ambiente monótono, com falta de substratos que o enriqueçam) leva à frustração, e isso pode refletir-se em comportamentos estereotipados (VELONI et al., 2013).

Uma vez que o comportamento de brincar é um indicativo de bem-estar e prazer em animais jovens (HELD & SPIN-KA, 2011), e o comportamento estereotipado é de caráter contrário por tratar-se de casos de comportamentos anormais aos da espécie (JANSEN et al., 2008), é importante afirmar que neste estudo, o tratamento que conteve enriquecimento ambiental proporcionou

melhores resultados em ralação ao bem-estar dos leitões, quando comparado aos demais tratamentos, na variável “brincar” (figura 2). Este resultado evidencia que quando existe um ambiente com enriquecimento, os leitões direcionam suas atividades e comportamentos para o material existente no ambiente, enquanto em uma baia estéril, os suínos buscam alternativas para que o ambiente seja menos monótono (HUNTER et al., 2001).

O vício de sucção é um comportamento estereotipado, resultante de uma alteração psíquica que leva os leitões ao hábito de sugar o umbigo, a vulva ou partes das orelhas (Smith, Penny, 1986; Luescher, 1989). De acordo com Sobestiansky et al. (1999), qualquer fator que gere estresse e desconforto aos leitões logo após o desmame, especialmente o ambiente inóspito, pode causar o princípio do hábito ou vício de sucção. Neste trabalho, o comportamento de sucção de umbigo apresentou menor frequência em relação a outros encontrados na literatura (BENCH; GONYOU, 2007; LI; GONYOU, 2002). No experimento de Li e Gonyou (2002) sucção de umbigo e o comportamento comer, não ocorreram frequentemente em sequência e por isso os pesquisadores concluíram que a motivação para sugar o umbigo pode ser diferente da motivação para se alimentar, e pode estar relacionado com interações sociais, isso indica que os leitões não sugam o umbigo de outros leitões quando estão com fome e sim para manter o vício. Hötzel *et al.* (2004) em sua pesquisa, encontraram que após o desmame, os leitões confinados gastaram mais tempo sugando o umbigo de outros leitões e direcionando outros comportamentos oro-nasais e agonísticos em seus companheiros de baia, quando comparados com leitões criados ao ar livre, que passam mais tempo se alimentando e explorando ambiente. Isso indica que o ambiente também pode influenciar na frequência desse comportamento. No presente estudo, nas observações feitas nos dias 7 e 10 pós-desmame, a incidência da sucção de umbigo mostrou-se mais alta, e conforme descrito por Gonyou *et al.* (1998), geralmente aparece entre o quarto e o sétimo dias após o desmame, atingindo sua frequência máxima próximo aos 15 dias, diminuindo a assiduidade logo na sequência.

Outro comportamento anômalo é o de monta, onde animais montam com as duas patas dianteiras sobre o dorso do animal montado. Este comportamento é classificado como social manipulativo, ou seja, alguns animais subjugam a

outros animais e não permitem que eles pratiquem este comportamento (DUDINK et al., 2006). A seu estudo com leitões machos castrados, Moi et al., (2016) encontraram uma menor incidência do comportamento de monta no tratamento que possuía o ambiente enriquecido com feno, esse resultado se assemelha com o obtido neste trabalho, pois, tanto o tratamento com enriquecimento, quanto o tratamento com *M. officinalis* apresentaram valores visivelmente inferiores, quando comparados com o tratamento controle.

Os resultados obtidos neste trabalho apontam que tanto o enriquecimento ambiental quanto a suplementação com *M. officinalis*, obtiveram resultados positivos com relação ao estresse oxidativo, porém nenhum dos tratamentos interferiu significativamente nos níveis de cortisol sérico dos leitões. Grandin (1994) observou que, em situações de extremo estresse, os valores de cortisol podem dobrar ou quadruplicar. Shaw e Trout (1995) avaliaram a concentração de cortisol plasmático em suínos estressados que resultou em carne PSE (*Pale, Soft e Exudative*), encontrando valores elevados de até 16,63 µg/mL. Conforme Brown (1998), suínos mantidos em situações de estresse mínimo trazem resultados de cortisol próximos a 7,62 mcg/dL, resultado semelhante às médias encontradas neste trabalho, enquanto suínos criados em condições estressantes, apresentam aproximadamente 17,02 mcg/dL. A liberação do cortisol estimulada pela liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) atua sobre o metabolismo animal, aumentando o catabolismo proteico, a gliconeogênese no fígado, impede a absorção e a oxidação da glicose, também estimula o catabolismo de triglicerídeos no tecido adiposo. E a importância disso é que os fatores de estresse crônicos mobilizam energia constantemente, desviando-a da produção (CHILLIARD et al., 2000), conseqüentemente ocasionando menor ganho de peso, quando comparados com animais que vivem em ambiente com menores níveis de estresse. Existem evidências de que as respostas fisiológicas ao estresse crônico podem ser responsáveis pela diminuição na produtividade dos suínos (HEMSWORTH; BARNETT; HANSEN, 1981). Quando o bem-estar animal é comprometido, ocorre um retardo no ganho de peso, atraso no início da reprodução e em casos extremos, pode levar os animais à morte (BROOM; MOLENTO, 2004).

Para conservar as condições fisiológicas apropriadas, o organismo necessita do equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes (PAJK et al., 2006). Este

trabalho demonstrou que tanto o tratamento com enriquecimento ambiental, quanto o tratamento com a planta *M. officinalis* foram eficientes contra os prováveis danos causados pelas espécies reativas de oxigênio, como por exemplo a peroxidação dos lipídeos das membranas celulares. Com isso, a suplementação com *M. officinalis* pareceu melhorar os parâmetros oxidativos dos leitões, uma vez que os animais do T3 apresentaram maiores níveis de vitamina C nos dias 21 e 35 do experimento tratamento, além de menor atividade da enzima Catalase desde o dia 7 até o dia 35 de tratamento e também apresentou menores níveis de TBARS no dia 7 de experimento. O grupo enriquecimento ambiental proporcionou uma melhora nos parâmetros oxidativos apenas a partir do dia 21, demonstrado pelos níveis de vitamina C e atividade da Catalase, isso provavelmente ocorreu pela competição intrínseca pelos objetos de enriquecimento adicionados no T2. A mistura de diferentes leitegadas, quando realizada a homogeneização dos lotes e a definição da hierarquia entre esses animais é formada principalmente nas primeiras duas semanas após o desmame dos leitões, é quando ocorrem muitos dos comportamentos agressivos (PLUSKE; VERSTEGEN, 2003).

É necessário unir todos os elos do processo de produção, do manejo na propriedade, nas primeiras fases da criação, até a fase de terminação, manejo no transporte e no frigorífico. Já que o mercado consumidor se torna cada vez mais exigente com a origem e métodos de produção, pelo qual o animal passou até a compra do produto final é necessário cada vez mais atentar para os procedimentos pelos quais o animal passa até a formação do produto final, sendo que em todos os processos, o bem-estar animal deve ser levado em consideração. Segundo Bonfim (2003), os problemas pertinentes ao bem-estar animal estão sempre relacionados com instalações e equipamentos inadequados, falta de treinamento dos funcionários, falta de manutenção dos equipamentos e manejo inadequado, de forma que os cuidados com o bem-estar dos animais devem começar com um manejo bem feito desde o início. Assim, é essencial que sejam respeitados os preceitos desde o início da produção até o abate humanitário dos animais, para que sofrimentos desnecessários sejam evitados e, com isso, possamos obter carne de melhor qualidade, porém, sem comprometer o bem-estar dos animais.



## 5. Considerações Finais

Conforme mencionado no presente estudo, existe uma crescente preocupação com a busca de novas estratégias para melhorar o bem-estar animal durante a produção. O interesse por parte de produtores, pesquisadores e consumidores no aspecto do bem-estar envolve questões éticas e econômicas, tornando-se cada vez mais abrangente e necessitando assim de maiores estudos relacionados ao tema. Porém, existem ainda muitas limitações na compreensão acerca de melhores estratégias a serem utilizadas na promoção do bem-estar e também em relação aos melhores parâmetros comportamentais e bioquímicos de cada espécie que possam refletir claramente situações de estresse ou bem-estar. Desta forma, faz-se necessário a execução de mais trabalhos visando elucidar parâmetros bioquímicos e comportamentais que possam refletir o grau de bem-estar animal. Uma das estratégias testadas no presente estudo foi a utilização de enriquecimento ambiental e a outra foi a suplementação alimentar com a planta *M. officinalis*, uma espécie vegetal conhecida por sua composição rica em compostos antioxidantes e suas propriedades calmantes em diferentes espécies animais. Este trabalho demonstra, de maneira geral, que as estratégias testadas para a melhoria do bem-estar em leitões parecem eficazes para este fim. Assim, tais ferramentas poderiam ser utilizadas em conjunto na produção animal melhorando aspectos bioquímicos e comportamentais associados à saúde e bem-estar dos animais. Mais estudos poderiam ser conduzidos visando avaliar a melhor qualidade do produto obtido a partir destas estratégias de maximização do bem-estar em suínos.

## 6. Conclusão

A exposição ao enriquecimento ambiental e a suplementação com *M. officinalis* não interferiram no consumo alimentar e no ganho de peso dos animais, sugerindo que a utilização destas estratégias no período avaliado não causou nenhum malefício que pudesse alterar os hábitos normais de alimentação dos animais ou seu crescimento normal.

A exposição ao enriquecimento ambiental potencializou a ocorrência de comportamentos saudáveis relacionados ao bem-estar em leitões, como o ato

de brincar e o comportamento exploratório, além de diminuir comportamentos associados ao estresse, como vício de sucção e manipulação da cauda. Não houve alteração nos níveis de cortisol entre os grupos dentro de cada período avaliado, mostrando que as estratégias aqui testadas foram estresse aos animais. A suplementação com *M. officinalis* melhorou os parâmetros bioquímicos dos animais, uma vez que este grupo apresentou menores níveis de TBARS no 7º dia de tratamento, maiores níveis de vitamina C no 21º e 35º dias de tratamento menor atividade da enzima Catalase desde o 7º dia de tratamento até o 35º dia.

De maneira geral, as estratégias testadas para a melhoria do bem-estar em leitões parecem eficazes para este fim. Assim, tais ferramentas poderiam ser utilizadas em conjunto na produção animal melhorando aspectos bioquímicos e comportamentais associados à saúde e bem-estar dos animais.

## 7. Referências Bibliográficas

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121–126, 1984.
- AKHONDZADEH, S. et al. Comparison of Lavandula angustifolia Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 27, n. 1, p. 123–7, fev. 2003.
- ALEXANDROVA, M. L.; BOCHEV, P. G. Oxidative stress during the chronic phase after stroke. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, n. 3, p. 297–316, 1 ago. 2005.
- ALLAHVERDIYEV, A. et al. Antiviral activity of the volatile oils of Melissa officinalis L. against Herpes simplex virus type-2. **Phytomedicine**, v. 11, n. 7–8, p. 657–661, nov. 2004.
- AMAZAN, D. et al. Natural vitamin E (D-??-tocopherol) supplementation in drinking water prevents oxidative stress in weaned piglets. **Livestock Science**, v. 145, n. 1–3, p. 55–62, 2012.
- BAPTISTA, R. I. A. D. A.; BERTANI, G. R.; BARBOSA, C. N. Indicadores do bem-estar em suínos. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1823–1830, 2011.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BEATTIE, V. E.; CONNELL, N. E. O.; MOSS, B. W. Influence of environmental enrichment on the behaviour, performance and meat quality of domestic pigs. v. 65, p. 71–79, 2000.
- BENCH, C. J.; GONYOU, H. W. Effect of environmental enrichment and breed line on the incidence of belly nosing in piglets weaned at 7 and 14 days-of-age. v. 105, p. 26–41, 2007.
- BENCH, C. J.; GONYOU, H. W. Effect of environmental enrichment at two stages of development on belly nosing in piglets weaned at fourteen days 1. p. 3397–3403, 2014.
- BERNABÉ, J. et al. Effects of a citrus based juice on biomarkers of oxidative stress in metabolic syndrome patients. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 3, p. 1031–1038, 2013.
- BEZERRA, B. M. O. FORTALEZA -CEARÁ. p. 0–57, 2014.
- BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.
- BLACKSHAW, J. K.; THOMAS, F. J.; LEE, J. The effect of a fixed or free toy on the growth rate and aggressive behaviour of weaned pigs and the influence of hierarchy on initial investigation of the toys. v. 1591, n. 96, 1997.

BLOOMSMITH, M. A.; BRENT, L. Y.; SCHAPIRO, S. J. Guidelines for developing and managing an environmental enrichment program for nonhuman primates. **Laboratory animal science**, v. 41, n. 4, p. 372–7, ago. 1991.

BOLKENT, S. et al. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: A morphological and biochemical study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 3, p. 391–398, jul. 2005.

BROOM, D. M. INDICATORS OF POOR WELFARE. p. 524–526, 1986.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem estar animal: conceito e questões relacionadas - revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1–11, 2004.

BROWN S, WARRISS P, NUTE G, EDWARDS J, K. T. Meat quality in pigs subjected to minimal preslaughter stress. **Meat Science**, v. 49, n. 3, p. 257–265, 1 jul. 1998.

BUZZARD, B. L. et al. Evaluation of blood parameters as an early assessment of health status in nursery pigs. **Journal of Swine Health and Production**, v. 21, n. June, p. 148–151, 2013.

CAMPOS, JOSIANE A. TINOCO, I. F. F. SILVA F. F. PUPA, J. M. R. S. I. J. O. Environmental enrichment for piglets during nursery coming from weaning at 21 and 28 days Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias nursery coming from weaning at 21 and 28 days. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. APRIL 2010, p. 272–278, 2010.

CARNAT, A. P. et al. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 72, n. 5, p. 301–305, jan. 1998.

CHALOUPKOVÁ, H. et al. Prewaning housing effects on behavior and physiological measures in pigs during the suckling and fattening periods. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 7, p. 1741, jul. 2007.

CORRÊA JÚNIOR, C. et al. As plantas medicinais, aromáticas e condimentares e a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 376–376, set. 2014.

DOS SANTOS-NETO, L. L. et al. The use of herbal medicine in Alzheimer's disease-a systematic review. **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM**, v. 3, n. 4, p. 441–5, dez. 2006.

FAWC. Farm Animal Welfare Council. **updates the five freedoms Veterinary Record**, v. 17, p. 357, 1992.

FERNANDES, H. C. et al. Efeito do aquecimento e resfriamento de pisos no desempenho de matrizes e leitões. **Revista Ceres**, v. 58, n. 6, p. 701–709, dez. 2011.

GUY, J. H. et al. The effect of combining different environmental enrichment materials on enrichment use by growing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 144, n. 3–4, p. 102–107, 1 mar. 2013.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 246, n. 2, p. 501–514, 1986.

HEMSWORTH, P. H. et al. A study of the relative aversiveness of a new daily injection procedure for pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, n. 4, p. 389–401, 15 set. 1996.

HEMSWORTH, P. H.; BARNETT, J. L.; HANSEN, C. The influence of handling by humans on the behavior, growth, and corticosteroids in the juvenile female pig. **Hormones and behavior**, v. 15, n. 4, p. 396–403, dez. 1981.

HOTZEL, M.J., MACHADO FILHO, L.C. P., WOLF, F. M., COSTA, O. A. D. Behaviour of sows and piglets reared in intensive outdoor or indoor systems. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, n. 1–2, p. 27–39, 20 maio 2004.

HÖTZEL, M. J.; NOGUEIRA, S. S. DA C.; MACHADO FILHO, L. C. P. **Revista de Etologia**. [s.l.] Sociedade Brasileira de Etologia, 2010. v. 9

JACQUES-SILVA, M. C. et al. Diphenyl Diselenide and Ascorbic Acid Changes Deposition of Selenium and Ascorbic Acid in Liver and Brain of Mice. p. 119–125, 2001.

JANSEN, J. et al. Spatial learning in pigs: effects of environmental enrichment and individual characteristics on behaviour and performance. 2008.

JASKULKE, S.; MANTEUFFEL, G. No apparent effect of an experimental narrow confinement on heart activity and cortisol in domestic pigs. **Animal**, v. 5, n. 3, p. 433–438, 2011.

KASHYAP, N.; KUMAR, N.; KUMAR, M. N. V. R. Hydrogels for Pharmaceutical and Biomedical Applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 22, n. 2, p. 107–150, 2005.

KEELING, L. Social Behaviour in Farm Animals. 2001.

KENNEDY, D. O. et al. Anxiolytic effects of a combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during laboratory induced stress. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 2, p. 96–102, 1 fev. 2006.

LANFERDINI, E. . et al. **Digestibility of diets and metabolism of pigs fed with diets containing citric extracts**. [s.l.] Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Zootecnia, 2013. v. 62

LAURITZEN, B.; LYKKESFELDT, J.; FRIIS, C. Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of danofloxacin in treatment of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. **Research in Veterinary Science**, v. 74, n. 3, p. 271–277, jun. 2003.

LI, Y.; GONYOU, H. W. Analysis of belly nosing and associated behaviour among pigs weaned at 12–14 days of age. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 77, n. 4, p. 285–294, 28 jun. 2002.

LOPES, E. Análise do bem-estar e desempenho de suínos em sistema de cama sobreposta. 2004.

LUEHRING, M.; BLANK, R.; WOLFFRAM, S. Vitamin E-sparing and vitamin E-independent antioxidative effects of the flavonol quercetin in growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 169, n. 3–4, p. 199–207, nov. 2011.

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. **The Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 502–511, 2007.

MARSON, F. L.; OLIVEIRA, F. A.; PRÓSPERO, A.; FILHO, . L.; BRANDI, P.; NETO, R. A.; CHIQUETELLI, M. Estresse bovino ante-mortem x qualidade de carne. **V Simpósio de Ciências da UNESP – Dracena**, 2009.

MOI, A. et al. COMPORTAMENTO DE LEITÕES DESMAMADOS SUBMETIDOS A AMBIENTE ENRIQUECIDO COM A UTILIZAÇÃO DE FENO. **ÁGORA Revista Eletrônica**, v. 22, p. 79–83, 2016.

MÜLLER, S. F.; KLEMENT, S. A combination of valerian and lemon balm is effective in the treatment of restlessness and dysomnia in children. **Phytomedicine**, v. 13, n. 6, p. 383–387, jun. 2006.

MÜZELL, D. P. Propriedades biológicas de extratos de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) em ratos Wistar. 2006.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

PINHEIRO, J. V. JULIANA DE VAZZI PINHEIRO A pesquisa com bem estar animal tendo como alicerce o enriquecimento ambiental através da utilização de objeto suspenso no comportamento de leitões desmamados e seu efeito como novidade. 2009.

RATTNER, H. Produtividade e desenvolvimento. **Revista de Administração de Empresas**, v. 7, n. 25, p. 53–78, dez. 1967.

RIBEIRO, M. .; BERNARDO-GIL, M. .; ESQUÍVEL, M. . *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 21, n. 1, p. 51–60, set. 2001.

RIESENBERG, L. A.; LEISCH, J.; CUNNINGHAM, J. M. Nursing Handoffs: A Systematic Review of the Literature. **AJN, American Journal of Nursing**, v. 110, n. 4, p. 24–34, abr. 2010.

RIGUEIRO, M. P. Plantas que curam: manual ilustrado de plantas medicinais. **Ed. Paulinas**, p. 183, 1992.

ROHR, S. Produção de teoria e prática. 2014.

ROSSI, R.; PASTORELLI, G.; CORINO, C. Application of KRL test to assess total antioxidant activity in pigs: Sensitivity to dietary antioxidants. **Research in Veterinary Science**, v. 94, n. 2, p. 372–377, 2013.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. DE. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308–313, ago. 2004.

SCOTT, K. et al. Influence of different types of environmental enrichment on the behaviour of finishing pigs in two different housing systems. 3. Hanging toy versus rootable toy of the same material. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 116, n. 2–4, p. 186–190, 2009.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American journal of clinical nutrition**, v. 62, n. 6 Suppl, p. 1315S–1321S, dez. 1995.

SIMMEN, U. et al. Binding of STW 5 (Iberogast®) and its components to intestinal 5-HT, muscarinic M3, and opioid receptors. **Phytomedicine**, v. 13, p. 51–55, nov. 2006.

SOUZA, G. P. P. a Influência Do Ambiente Físico E Social No Bem-Estar De Leitões Desmamados. 2007.

SVOBODOVÁ, A.; PSOTOVÁ, J.; WALTEROVÁ, D. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palack??, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 147, n. 2, p. 137–145, 2003.

TAIWO, O. et al. Methylome analysis using MeDIP-seq with low DNA concentrations. **Nature Protocols**, v. 7, n. 4, p. 617–636, 8 mar. 2012.

TRICKETT, S. L.; GUY, J. H.; EDWARDS, S. A. The role of novelty in environmental enrichment for the weaned pig. v. 116, p. 45–51, 2009.

VAN DE WEERD, H. A. et al. A systematic approach towards developing environmental enrichment for pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 84, n. 2, p. 101–118, 25 nov. 2003.

VAN DE WEERD, H. A.; DAY, J. E. L. A review of environmental enrichment for pigs housed in intensive housing systems. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 116, n. 1, p. 1–20, 2009.

VELONI, M. L. et al. Bem-estar animal aplicado nas criações de suínos e suas implicações na saúde dos rebanhos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, n. 21, 2013.

WAGENBERG, A. V. VAN et al. Effect of Floor Cooling on Farrowing Sow and Litter Performance: Field Experiment Under Dutch Conditions. **Transactions of the ASABE**, v. 49, n. 5, p. 1521–1527, 2006.

WARING, C. P. et al. Plasma Prolactin, Cortisol, and Thyroid Responses of the Brown Trout (*Salmo trutta*) Exposed to Lethal and Sublethal Aluminium in Acidic Soft Waters. **General and Comparative Endocrinology**, v. 102, n. 3, p. 377–385, 1996.

WOROBEC, E. K.; DUNCAN, I. J. H.; WIDOWSKI, T. M. The effects of weaning at 7 , 14 and 28 days on piglet behaviour. 1999.

ZWICKER, B. et al. Short- and long-term effects of eight enrichment materials on the behaviour of finishing pigs fed ad libitum or restrictively. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 144, n. 1–2, p. 31–38, 15 fev. 2013.