# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

# ANA CLAUDIA KOKI SAMPAIO ISSAKOWICZ

# Efeitos do transporte e do tempo de espera no bem-estar e na qualidade de carne de cordeiros

Versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Piracicaba

# ANA CLAUDIA KOKI SAMPAIO ISSAKOWICZ

# Efeitos do transporte e do tempo de espera no bem-estar e na qualidade de carne de cordeiros

Versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Helder Louvandini

Piracicaba

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

# Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Issakowicz, Ana Claudia Koki Sampaio

Efeitos do transporte e do tempo de espera no bem-estar e na qualidade de carne de cordeiros / Ana Claudia Koki Sampaio Issakowicz; orientador Helder Louvandini versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016. 88 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Carnes e derivados 2. Cortisol 3. Estabulação 4. Estresse 5. Haptoglobina 6. Ovinos 7. Produção animal 8. Termografia 9. Transporte de animais I. Título

CDU 636.033 (591.5 + 614.96)

# Momentos...

"É exatamente disso que a vida é feita, de momentos.

Momentos que temos que passar, sendo bons ou ruins, para o nosso próprio aprendizado.

Nunca esquecendo do mais importante:

Nada nessa vida é por acaso.

Absolutamente nada.

Por isso, temos que nos preocupar em fazer a nossa parte, da melhor forma possível.

> A vida nem sempre segue a nossa vontade, mas ela é perfeita naquilo que tem que ser."

> > Chico Xavier.

### **DEDICO**

# Juliano Issakowicz, meu esposo

"Se encontrou alguém capaz de despertar o melhor de você. O melhor na cama. O melhor na família. O melhor no trabalho. O melhor na viagem. O melhor no desespero. É o meu conselho, case. Porque somos julgados por aquilo que fizemos, é difícil achar uma pessoa que nos julga por aquilo que podemos fazer. Já não é somente amor, mas fé.

Se encontrou alguém que não é preciso muito para ser feliz, case.

...

Se encontrou alguém que valoriza a sua profissão, que lhe reconhece como exemplo, que pede abertamente o seu apoio, que convoca a sua opinião, case.

...

Se encotrou alguém que inventa códigos e expressões, uma língua só dos dois, feita de lembranças e observações comuns, case.

...

Se encontrou alguém que mostra o quanto é fundamental e indispensável na vida, que nada seria igual sem você, case.

• • •

Se você encontrou alguém que divide piadas e segredos, que lhe reserva as maiores confidências, case.

Não é somente a pessoa que precisa, porém a que merece.

O amor é raro, mas às vezes acontece de ser sublime."

"O melhor de você no outro" Fabrício Carpinejar

Te amo pelo o que você foi, é e está sendo na minha vida, meu alicerce. E é a você que dedico mais essa conquista, agora como marido. Você é quem acredita nas minhas loucuras e nelas embarca comigo para darmos continuidade na nossa jornada. E que venha o FUTURO!!!

# Joaquim André Sampaio e Janete Koki de Lima Sampaio, meus pais

Vocês me mostraram o que é ser família, e por isso decidi ter a minha...

Vocês me mostraram que nada é fácil, e que com o suor de todos os dias as conquistas são mais prazerosas...

Vocês me mostraram que tudo que vem fácil, vai fácil...

E vocês me mostraram que ter garra, é decidir, é ter fé, é nunca desistir...

Vocês me mostram que a distância é pequenina quando o amor é infinito...

Vocês confiaram nas minhas decisões e é por isso que cheguei até aqui, porque tive suporte emocional para superar todas as dificuldades que apareceram no caminho.

Há tempos escutei uma conversa de sonhos... e as vezes não conseguimos realizá-los, não por força de vontade, mas pelas circunstâncias.

Se a sensação de sonho realizado e de conquista puder ser compartilhada, aproveitem comigo!

Amo vocês, pai e mãe, de forma irracional!

Isso tudo é nosso!!!

Espero que um dia (quem sabe um dia) eu possa ser e fazer por alguém um pouquinho de tudo o que vocês sempre fizeram por mim!

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por iluminar todo o percurso, fazendo os espinhos me fortalecer e as flores alegrar o meu caminho.

Ao meu orientador, doutor Helder Louvandini, pela confiança no desenvolvimento desse trabalho. A ciência é feita de oposição e construções de idéias, e é a partir daí que surgem os trabalhos. Obrigada pelas discussões construtivas durante esses anos de convivência, principalmente no desenvolver dessa tese, sem a sua qualificação e sua visão ampla na ciência esse trabalho não teria os pontos abordados de forma coerente.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudos e reserva técnica, vinculada ao Processo 2012/23471-6, para o desenvolvimento deste trabalho.

Meus irmãos Roberta e André Eduardo e cunhados Emerson e Ana Carolina. As minhas princesas Isabeli, Taysa e meu príncipe Miguel, vocês são a minha alegria, cada sorriso, cada palavra de carinho me fortalece.

A minha vó, Rita Sampaio, que acredita!

Aos meus sogros Romão Carlos e Maria das Graças que sempre nos auxiliaram. Aos sobrinhos e amigos Michelly e Miguel, e aos cunhados Jeferson e Geana, Roseane e Vilmar (*in memorian*) Rosnei e Ana.

Ao Instituto de Zootecnia (Nova Odessa/SP), em especial ao Dr. Ricardo Lopes Dias da Costa, pela disponibilidade do caminhão e do motorista para transporte dos animais e a doutora Luciana Katiki, pelas análises sanguíneas.

Ao doutor Mauro Sartori Bueno, que sugeriu o tema para o experimento.

Aos proprietários e funcionários do Sítio Paraíso (Leme/SP), por abrir as porteiras e nos deixar trabalhar juntos.

Agradeço, em especial, o aluno André Torres Geraldo, que embarcou conosco nessa jornada, de idas e vindas, noites em claro para que o trabalho pudesse ser realizado da melhor forma possível.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição Animal (LANA): Carina Nazato, Andressa Santanna Natel, Patrícia Righeto, Alessandra Romero, Érika Breda Canova, Alline Mariá Schumann, Letícia de Abreu Faria, Samy Emanuelle, Fernanda Campos, Adibe Luiz Abdalla Filho, Rafael Meneghini, Paulo Tavares, Egon Hion Ieda, Tairon Pannuzio, Linander Campos, Gabriel Sakita, Dinesh Kumar, Thiago Bompadre, Natasha Mantuan, Thainá Graciano, Mayara de Andrade, Nathalia Maciel, Nathan Gomes da Silva, Larissa Viana e

André Joaquim de Souza, pelas horas de distração, pela contribuição nas avaliações comportamentais, pelas risadas.

Aos funcionários do LANA, Regina Peçanha, Lécio Castilho e Everaldo dos Santos pela contribuição e momentos de distração.

Aos amigos Keila Maria Roncato Duarte, Luiz Humberto Gomes, que sempre me auxiliaram e estiveram presentes apoiando e compartilhando comigo grandes momentos.

A professora Concepta McManus que sempre esteve disposta a tirar as dúvidas e auxiliar na estatística, ao doutor Adibe Luiz Abdalla, pelo incentivo e a doutora Késia Oliveira da Silva, por me aceitar como monitora e nas discussões sobre este trabalho.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, por toda estrutura para desenvolvimento deste trabalho; a todo staff de pós-graduação, pela pronta assistência e esclarecimentos, pelo auxílio financeiro para participar do 61° ICoMST na França. Em especial ao Fábio Antônio de Souza Oliveira, pela paciência e pelos bate-papos. A dona Roseli, que sempre me recebeu com sorriso nos lábios e fortes abraços.

Aos amigos Mara e Lico, e seus filhos Laura e Alex, meus sobrinhos do coração.

Agradeço a todos que contribuíram direta e indiretamente para que este trabalho pudesse ser executado.

Muito obrigada!

#### **RESUMO**

ISSAKOWICZ, A. C. K. S. Efeitos do transporte e do tempo de espera no bem-estar e na qualidade de carne de cordeiros 2016. 84 p. Tese (Doutorado) — Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

Com este estudo objetivou-se avaliar os níveis de estresse e a qualidade de carne de cordeiros mestiços Santa Inês x Dorper, submetidos a transporte de percurso curto (duas horas) e longo (seis horas) e em dois períodos de espera pré-abate (12 ou 24 horas). Foram utilizados 32 cordeiros com 127 ± 7 dias de idade e 30,4 ± 2,1 kg de peso vivo. Antes de serem submetidos aos períodos de transporte, os animais estavam alocados em baias coletivas e receberam ração concentrada (farelo de soja e milho, calcário calcítico e núcleo com monensina), bagaço úmido de citros e capim Napier (Pennisetum purpureum) e água ad libitum. Foram realizadas avaliações de reatividade dos animais no momento do embarque, desembarque e durante a contenção dos animais para as colheitas de sangue, urina e temperatura ocular por termografia infravermelho. Durante o período de espera pré-abate, realizou-se a colheita de dados comportamentais dos animais. Foram avaliadas as concentrações de cortisol no soro, na urina e as concentrações de haptoglobina no soro nos períodos que antecederam a insensibilização, assim como no momento do abate. Os animais apresentaram baixa reatividade durante todos os manejos. Houve diferença significativa no comportamento dos cordeiros durante os períodos de espera (P < 0,05) que durante as 12 horas apresentaram frequência de comportamentos que indicaram bem-estar favorável, enquanto que o período de transporte não afetou (P > 0,05). Os níveis de cortisol no soro mantiveram-se semelhantes da saída dos animais para o transporte até o final do período de espera (P > 0,05), enquanto houve oscilação dessas concentrações no cortisol na urina (P < 0,05), com pico no desembarque dos animais de duas horas de transporte e diminuição ao final do período de descanso. Os níveis de haptoglobina mantiveram-se semelhantes da colheita realizada antes do transporte, no embarque e no desembarque (P > 0,05) e diminuíram no final do período de espera pré-abate (P < 0.05). A temperatura ocular elevou-se no embarque e no desembarque dos animais, com diminuição da temperatura ao final do período de espera (P < 0,05). No momento do abate, foi observado aumento das concentrações de haptoglobina (P < 0,05), enquanto não houve alteração nas concentrações de cortisol no soro (P > 0,05). Animais que permaneceram por 24 horas de espera pré-abate apresentaram maior força de cisalhamento e menor luminosidade (L\*) e intensidade de amarelo (b\*). As variáveis comportamentais foram pouco afetadas pelos períodos de transporte e de espera pré-abate, porém o período de 12 horas de espera favoreceu a qualidade da carne.

**Palavras-chave:** Cortisol. Estresse. Haptoglobina. Ovinos. Termografia infravermelho.

#### **ABSTRACT**

ISSAKOWICZ, A. C. K. S. Effects of transport and lairage period in the welfare and meat quality of lamb 2016. 84 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

This study aimed to evaluate the stress levels and the meat quality from crossbred Santa Inês x Dorper lambs transported in short route (two hours) and long route (six hours) and maintained in two lairage periods (12 or 24 hours). Thirty-two crossbred Dorper x Santa Inês lambs with  $127 \pm 7$  days of age and  $30.4 \pm 2.1$  kg of body weight were used. Before the transport, the animals were allocated in collective pens and received concentrated feed (soy and corn meal, limestone and nucleus with monensin), wet bagasse citrus, Napier grass (Pennisetum purpureum) and water ad libitum. Reactivity evaluations were performed at loading, unloading and restraint of animals during the blood and urine collection and eye temperature by infrared thermography. During the pre-slaughter period (lairage), behavioral data were collected. Cortisol and haptoglobin serum concentrations and urine cortisol concentrations were measured in periods prior to stunning and at bleeding. The animals had low reactivity for all managements. The lairage periods changed the behavior of lambs (P < 0.05) with animals which have remained for 12 hours showed frequency of behaviors that indicate favorable welfare. The transport period did not affect (P > 0.05) the behavior of animals. The serum cortisol levels remained similar of the output for transport to the end of the lairage period (P > 0.05), while there was oscillation these concentrations in urine (p < 0.05) with peak on unloading in animals transported for two hours and a decrease at the end of the lairage period. The haptoglobin levels were similar between the collection performed before transportation, loading and unloading (P > 0.05) and decreased at the end of pre slaughter lairage (P <0.05). Ocular temperature rose at loading and unloading, with decreasing at the end of lairage period (P < 0.05). At slaughter was observed increase of haptoglobin concentrations (P < 0.05), while there was no change in cortisol concentrations in serum (P> 0.05). Animals that remained for 24 hours lairaged before slaughter had higher shear force and lower luminosity (L \*) and yellow intensity (b \*). Behavioral variables were little affected by transport and lairage periods, but 12 hours of lairage favored the quality of meat.

**Keywords:** Cortisol. Haptoglobin. Sheep. Stress. Thermography Infrared.

# SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
1.1.	Hipóteses	17
1.2.	Objetivos	18
2.	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1.	Bem-estar animal: comportamento e reatividade animal	19
2.2.	Transporte	21
2.3.	Espera pré-abate	23
2.4.	Índice de Temperatura e Umidade – ITU	25
2.5.	Cortisol	25
2.6.	Haptoglobina	29
2.7.	Termografia infravermelho	31
2.8.	Abate	33
2.9.	Carcaça e qualidade de carne	34
Refe	erências	37
3.	COMPORTAMENTO E ESTRESSE DE CORDEIROS SUBMETIDOS A	L
	DIFERENTES PERÍODOS DE TRANSPORTE E DESCANSO	
	PRÉ-ABATE	50
3.1.	Introdução	51
3.2.	Material e Métodos	52
3.3.	Resultados	56
3.4.	Discussão	66
3.5.	Conclusão	69
Refe	erências	69
4.	INFLUÊNCIA DOS PERÍODOS DE TRANSPORTE E ESPERA PRÉ-AH	<b>SATE</b>
	SOBRE A QUALIDADE DE CARNE DE CORDEIROS	73
4.1.	Introdução	74
4.2.	Material e Métodos	75
4.3.	Resultados	78
4.4.	Discussão	82
4.5.	Conclusão	84
Refe	erências	85

# 1. INTRODUCÃO

As boas práticas na produção animal estão em evidência, em amplitude mundial, visando a qualidade de vida dos animais, assim como a qualidade de alimento disponível para o consumo humano.

O comportamento animal é um bom indicativo das condições físicas e psicológica dos indivíduos, sendo possível, diante das características comportamentais, qualificar o bem-estar (bom ou ruim) e assim auxiliar na melhora dos índices produtivos. Grande parte dos rebanhos nacionais destinados à produção de carne são criado em confinamento, e são totalmente dependentes dos seres humanos, sendo o comportamento uma peça chave e útil para melhorar os índices produtivos da cadeia. O manejo realizado de forma cordial beneficia a interação homem-animal, diminuindo a reatividade dos animais, melhora o bem-estar dentro da propriedade e consequentemente, diminui os níveis do hormônio vinculado ao estresse, o cortisol. Atualmente, outros biomarcadores têm sido utilizados para associar o nível de bem-estar ao estresse, como por exemplo, a haptoglobina, que embora seja aplicada na detecção de mecanismos de defesa do organismo, tem apresentado respostas ao estresse não associado a inflamação e infecção.

Para que se tenha uma excelente qualidade de alimento, técnicas de manejo devem ser empregadas para que favoreça as características do produto, adotando práticas de controle de qualidade desde a saída dos animais da propriedade com destino ao abatedouro, assim como no próprio abatedouro. Os períodos de percurso e de espera pré-abate, assim como as características ambientais em que os animais são inseridos, devem ser estudados para que maximizem o bem-estar dos animais, e melhorem a qualidade da carne que será consumida pelo homem.

# 1.1. Hipóteses

As hipóteses deste estudo foram:

- As concentrações de cortisol, haptoglobina e a temperatura ocular de cordeiros são bons parâmetros para avaliar o estresse fisiológico no manejo de transporte e de descanso de cordeiros.
- Períodos de transporte e de descanso pós-transporte afetam o comportamento animal;

- Períodos de transporte e de espera pré-abate alteram os padrões de qualidade de carne;
- Os períodos de transporte e de espera pré-abate alteram as concentrações de cortisol e haptoglobina e influenciam no aumento da temperatura ocular de cordeiros.

# 1.2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar os períodos de duas ou seis horas de transporte e de 12 ou 24 horas de espera pré-abate quanto:

- Aos níveis de reatividade no embarque, desembarque e durante a contenção dos animais;
- O comportamento animal durante os perídos de espera pré-abate;
- As concentrações de cortisol, haptolgobina e temperatura ocular de cordeiros durante o período de transporte e espera pré-abate;
- As caracteríticas de carcaça: peso de carcaça quente e fria, conformação, cobertura de gordura, dimensões do lombo, espessura de gordura e rendimento de carcaça fria;
- A qualidade de carne dos cordeiros: queda de temperatura e pH (no abate, as duas, quatro, seis, oito, dez, 12 e 24 horas pós-abate em camara de refrigeração), perda por cocção, força de cisalhamento e cor (L\* = intensidade de luminosidade, a\* = intensidade de vermelho, b\* = intensidade de amarelo).

# 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Bem-estar animal: comportamento e reatividade animal

O termo "Bem-Estar", segundo definição de Broom (1991), refere-se ao estado (fisiológico e psicológico) de um indivíduo quando relacionado ao ambiente em que está inserido. Pode ser classificado como adequado ou bom, quando o ambiente favorece o indivíduo, ou pobre ou ruim, quando algo pode interferir negativamente (BROOM; MOLENTO, 2004).

O reflexo do adequado bem-estar dos animais é caracaterizado pelo comportamento deste indivíduo em condições pouco ou nunca vivenciado, além de sua caracterização ser dependente de fatores endo e exógenos (fisiológicos, psicológicos e ambientais). A Comissão Técnica Permanente de Bem-Estar Animal – CTBEA, criada a partir da Portaria nº 524 (BRASIL, 2011) tem utilizado o conceito de bem-estar animal da OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) que afirma que "um bom grau de bem-estar animal significa um animal que está seguro, saudável, confortável, bem nutrido, liver para expressar comportamentos naturais e sem sofrer de estados mentais negativos, como dor, frustação e estresse".

Diante do que rege a legislação brasileira, segundo o MAPA (2016) para avaliar o bem-estar em animais de produção, o estudo comportamental pode auxiliar na determinação das necessidades do animal, e serve de base para fundamentar os critérios de bem-estar, pois a ocorrência de alguns comportamentos, como a ruminação, interações positivas de brincadeiras, alimentação, descanso entre outras, serve como indicadores de bom bem-estar, enquanto que comportamento de dor e medo (RUSHEN et al., 2008), caracteriza o baixo nível de bem-estar.

As avaliações comportamentais auxiliam na predição do bem-estar, visto que, se os comportamentos em ambientes diferentes tenham sido semelhantes aos comportamentos em ambientes conhecidos, como por exemplo, a ruminação e períodos de descanso, acredita-se que os animais estejam com bons níveis de bem-estar (MARQUES et al., 2005). Matarazzo (2007) relatou que a posição deitada dos animais é de grande importância, pois indica os períodos de descanso e melhora o bem-estar dos animais. O ato de ruminar pode ocorrer quando os animais estão em pé ou deitados, porém Leme (2009) observou em seus estudos que na posição deitada a frequência dessa atividade foi maior, o que indica um melhor bem-estar animal.

Os animais podem demonstrar algumas reações que indicam os baixos níveis de bemestar. Utiliza-se como forma de avaliar essas reações a reatividade animal, que é definida como a consistência das respostas dos indivíduos a um ambiente calmo ou no desafio de algumas situações (MARTIN; RÉALE, 2008). Tseimazides, Barbalho e Paranhos da Costa (2004) definiram reatividade como sendo a resposta comportamental do animal ao meio e as ações humanas as quais são submetidos, sendo de grande importância para o aprimoramento do manejo e conhecer melhor a relação entre homem e animal dentro do sistema de produção.

Deiss et al. (2009) relataram que os maiores níveis de reatividade em ovinos foram observados quando os animais ficavam isolados, o que mostra a coerência na reatividade emocional diante de inúmeras situações estressantes, dentre elas, o dia do abate, onde ocorreram atividades em locais onde os animais não tinham prévio conhecimento. Grandin (2013) afirmou que o medo da novidade, ou seja, o lugar desconhecido pode ser o maior fator que tenha contribuição para o aumento do estresse no abatedouro.

A presença do ser humano no ambiente dos animais, que na maioria das vezes são criados de forma extensiva (com pouco contato com os seres humanos) favorece a fuga dos animais (LERUSTE et al., 2012), sendo esta uma forma de proteção intrínseca, pois o homem passa ser classificado como predador. Porém, em alguns sistemas de produção, semi ou intensivos, há maiores períodos de contato entre animais e humanos, como no momento da alimentação e de limpeza das instalações (ZULKIFLI, 2013). Esses momentos são favoráveis para que ocorra a interação homem-animal, e diminua a reatividade dos animais, tornando-se um manejo vantajoso para ambos.

A interação tende a facilitar o manejo em diversos aspectos, e principalmente prevenir alguns problemas no rebanho, muitas vezes problemas sanitários. Segundo Zulkifli (2013) os animais podem responder a estímulos táteis, visuais, olfativos, palatáveis e auditivos dos seres humanos. Têm-se dado ênfase na diminuição da reatividade dos animais na promoção do bem-estar no momento do manejo dentro das criações, principalmente quando estes são destinados a alguns tipos de eventos, como por exemplo, leilões e exposições (NAKANISHI et al., 2009). Os animais, através de estímulos, têm a capacidade de reconhecer as pessoas (ZULKIFLI, 2013), e Hötzel et al. (2005) afirmaram que os animais aprendem a reconhecer pessoas que as tratam aversivamente, passando a manter-lhes maior distância de fuga, aumentando assim a reatividade em relação a pessoa.

Raussi et al. (2003) mencionaram sobre a afinidade entre tratador e animal, que está associado aos baixos níveis de estresse fisiológico. Há anos estudos têm relatado os benefícios da interação positiva entre tratador e animais (DE PASSILLLÉ et al., 1996; LENSINK, 2002;

SIMÃO DA ROSA, 2004), e associado a manejos positivos; em algumas ocasiões são necessários manejos aversivos, como a colheita de sangue e fezes, que podem desencadear uma situação de estresse. Zimecki e Arthym (2004) afirmaram que quando um animal é imobilizado, há maior liberação de hormônios que sinalizam o estresse em seu organismo. Com os manejos sendo efetuados de forma menos agressiva, é possível que os animais associem determinados manejos como rotina, diminuindo a secreção desses hormônios. Segundo Paschual-Alonso et al. (2014) as atividades positivas efetuadas pelo tratador podem desencadear alterações na parte fisiológica e comportamental dos animais. Pilcher (2004) relatou que ovinos são ótimos em reconhecer indivíduos (humanos e animais), lembrando suas características e atitudes, o que pode influenciar diretamente na resposta comportamental e fisiológica quando se depara com indivíduos que os trataram aversivamente.

Quando há mudança de ambiente, como a saída do piquete e/ou baia de criação para o embarque no caminhão de transporte, o organismo dos animais tende a dar uma resposta ao estímulo provocado, normalmente caracterizado pelo medo, que então é denominado estresse. Segundo Leme et al. (2012), o baixo nível de bem-estar no transporte animal pode estar ligado diretamente à dificuldade de adequação ou inadequação do individuo ao ambiente, que geralmente está associado a algum tipo de sofrimento e distúrbios comportamentais, que pode acarretar na morte dos animais antes do período desejado, ou até mesmo na qualidade da carne.

#### 2.2. Transporte

O transporte, para toda e qualquer espécie animal, torna-se desconfortável quando não é realizado dentro dos preceitos de bem-estar animal, como por exemplo a luminosidade (GRANDIN, 2000), a velocidade do caminhão e a visualização de todo o trajeto da propriedade do destino final dos animais (LEME et al., 2009). Os animais experimentam estímulos que podem nunca ter sentido antes, como o movimento do caminhão e navio (quando for o caso), que inclui também as vibrações e os impactos que podem ocorrer durante o transporte, por exemplo, o aumento de velocidade ou estradas pavimentadas com muitos buracos, a luz do dia, o ruído, a superlotação e temperaturas extremas, que favorecem alterações físicas, fisiológicas e comportamentais dos animais, e que podem ser minimizadas, para beneficiar a parte econômica, como redução de hematomas na carcaça, e de bem-estar dos animais (WEEKS; NICOL, 2000).

O transporte de animais (destinado ao consumo humano) é um procedimento estressante, porém necessário, e têm aumentado a preocupação dos consumidores quanto ao estresse que os animais são sujeitos, estimulando assim pesquisas sobre o bem-estar dos animais, e quantificando o grau de tensão imposto pelas etapas envolvidas durante esse procedimento, buscando, assim, metodologias para minimizar os efeitos negativos do transporte (KNOWLES; WARRISS, 2000).

Deiss et al. (2009) relataram que para reduzir o estresse dos animais durante o período de abate, é necessário entender o que o causa, visto que esse período é muito complexo e pode representar diferentes tipos de estresse no animal.

Lima e Barbosa Filho (2013) relataram que dentre as perdas que ocorrem a partir da saída dos animais com destino ao abatedouro, as principais são os prejuízos na carcaça e a mortalidade dos animais, sendo assim, essa fase deve receber atenção especial, pois devido à escassez de informações dentro da ovinocultura, sabe-se que são fatores importantes para qualidade da carne ofertada para o mercado consumidor.

O manejo pré-abate envolve estresse e esforço dos animais no momento do embarque, no período do transporte até a chegada ao abatedouro. No momento do desembarque, fatores como densidade tanto no transporte quanto no local de espera, tamanho dos animais, sexo, além do período de espera após o transporte podem estressar sobremaneira os animais, que estão diretamente ligados à qualidade da carne (LEME et al., 2009). Broom (2003) relatou que o aumento do estresse durante o transporte é proporcionado pelas condições desfavoráveis, além de não apresentarem adequadas instalações para obedecer às mínimas condições de conforto e bem-estar dos animais. Para ruminantes de grande porte (500 kg) a área adequada por animal no caminhão para transporte é de 1,35 m² para deslocamentos até 12 horas e de 2,03 m² para períodos superiores a 12 horas, enquanto que para os de pequeno porte deslanados com até 40 kg, a área adequada é de 0,21 m², 0,24 m² ou 0,38 m² para deslocamentos até quatro horas, de quatro a 12 horas e mais que 12 horas respectivamente, áreas essas obtidas para animais de regiões de clima temperado (BROOM, 2008).

Um transporte eficiente e de qualidade deve estar associado às características dos animais que serão transportados. A visualização do ambiente externo do caminhão durante o deslocamento pode aumentar os níveis de estresse, devido a variação de luminosidade causada pelas ripas de madeira que constituem a carroceria do caminhão (GRANDIN, 2000). Para aves e suínos existem veículos de transportes já estabelecidos, com condições adequadas, porém para ovinos, no Brasil isso ocorre apenas quando se trata de animais que tem valor agregado, como por exemplo, animais de elite.

No Brasil, a Instrução Normativa N° 56, de 06 de novembro de 2008 (BRASIL, 2008), é quem rege as boas práticas de bem-estar para animais de produção de interesse econômico, generalizando as espécies. A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2015), formada por 180 países, incluindo o Brasil, têm discutido e trabalhado no desenvolvimento de normas e recomendações viáveis para o bem-estar de animais de produção.

O Código Sanitário de Animais Terrestres (OIE, 2015) disponibiliza na sessão 7 (Bem-Estar Animal) quais as necessidades e os deveres a serem cumpridos no transporte de animais de produção.

# 2.3. Espera pré-abate

O período de espera pré-abate é uma prática que deveria ser realizada nos abatedouros. Segundo Toohey, Hopkins e Nielsen (2006), este é um período que os animais devem passar por dieta hídrica, por razões higiênicas antes de serem abatidos. Além do controle higiênico, é também um período em que os animais tendem a estar estressados (ALTINÇEKIÇ; KOYUNCU, 2015), tanto pelo período de transporte ao qual foram submetidos, quanto pelo novo ambiente no qual foram inseridos (LISTE et al., 2011), e que podem influenciar diretamente na qualidade da carcaça e da carne.

Segundo a legislação vigente no Brasil (RIISPOA, Título VII - Inspeção Industrial e Sanitária de Carnes e Derivados – Capítulo I – Inspeção "Ante-mortem") o abate de animais de produção (bovinos, equinos, suínos, ovinos, caprinos e coelhos, além de aves domésticas e de caça) destinados ao consumo humano, é proibido o abate de animais que não tenham permanecido por 24 horas em descanso, jejum e dieta hídrica no abatedouro (artigo 110), porém pode-se diminuir este período quando o tempo de viagem não for superior a duas horas de transporte, não sendo permitido período inferior a seis horas de descanso para o abate (paragrafo 1°) (BRASIL, 1952)

Atualmente é comum que animais sejam abatidos ainda em fase de aleitamento, com 90-100 dias de idade, quando atingem o peso para abate. A separação abrupta entre ovelhacordeiro no momento do embarque causa um estresse adicional (GALLO; HUERTAS, 2015), que será influenciado nos níveis hormonais, no comportamento e na qualidade da carne desses cordeiros. Sendo assim, o período de espera pré-abate pode ser utilizado de forma preventiva (ALTINÇEKIÇ; KOYUNCU, 2015), visando o bem-estar animal e a qualidade da carne (LISTE et al., 2011).

Estrada, Strappini e Gallo (2009) relataram que animais que foram transportados por curtos períodos (3 horas) apresentaram comportamentos agonísticos na espera pré-abate. Já Pérez et al. (2002) relataram que animais abatidos logo após o desembarque apresentaram características de qualidade de carne inferior a animais que passaram por este procedimento. A associação de ambos os fatores (transporte curto e o desuso do período de espera) podem desfavorecer todo o trabalho realizado na propriedade onde os animais foram criados. A ausência do período de espera pré-abate influencia significativamente nos parâmetros de estresse fisiológico (LISTE et al., 2011).

Este tempo despendido entre a chegada ao abatedouro e o abate é dependente do tempo em que os animais foram transportados, as intempéries ambientais e da raça dos animais para determinar o melhor período para que o abate seja realizado (ALTINÇEKIÇ; KOYUNCU, 2015). É necessário que o local onde os animais serão alocados pelo período de espera seja silencioso para que os animais se re-hidratem, descansem e se recuperem do transporte (FERGUSON; WARNER, 2008), pois locais com muitos ruídos os animais passam a se movimentar mais e aumentar a incidência de contusões na carcaça (ELDRIDGE et al., 1989).

O tempo de descanso de uma a três horas após o desembarque é suficiente para diminuir o estresse nos animais (YOUNG; BERTRAM; OKSBJERG, 2009). Na Espanha, o abate realizado *over night*, quando o término do transporte é ao final do dia e o abate realizado no amanhecer, é considerado adequado para que os animais tenham a oportunidade de se recuperar da viagem e também preservar os bons níveis de bem-estar, assegurando um produto de qualidade para o consumidor (LISTE et al., 2011).

A retirada do alimento entre 16 e 24 horas antes do abate tem sido considerada o melhor método para reduzir o volume de alimentos do trato gastrintestinal, assim como o risco de contaminação microbiana da carcaça (MARTIN-PELÁEZ et al., 2009). Quanto maior o período de jejum alimentar e hídrico (superior a 24 horas), o organismo inicia o processo de catabolismo dos tecidos e desidratação, que contribuirá para a perda em peso dos animais (LIU et al., 2012).

Poucos são os estudos que descrevem qual o período de espera pré-abate que pode afetar a qualidade de carne de cordeiros (TOOHEY; HOPKINS, 2006). Longos períodos de estabulação pré-abate possuem efeitos positivos, quando relacionado à homeostase do organismo do animal (LISTE et al., 2011), e negativos, na carcaça e na qualidade de carne de cordeiros, em consequência da manipulação sofrida pelos animais (KNOWLES et al., 1995).

# 2.4. Índice de Temperatura e Umidade - ITU

O ambiente em que os animais são criados pode interferir diretamente na produção. A causa do estresse calórico é a junção dos fatores ambientais sobre os animais, que reduzidos a uma variável, o representa (NEVES et al., 2009).

O índice de temperatura e umidade (ITU) foi proposto incialmente para avaliação do conforto humano (Thom, 1959), e passou a ser utilizado também como indicador de estresse térmico dentro da pecuária, sendo ajustado para as condições dos animais. Para este índice, levam-se em consideração as temperaturas de termômetros de bulbo seco e úmido ou então a temperatura do ponto de orvalho (SILVA, 2000). Esses dados podem ser disponibilizados em estações meteorológicas (Martins, 2011) ou por aparelhos que meçam as variáveis continuamente ou em períodos pré-determinados, e, segundo Almeida (2011) sendo mais indicado a sua utilização quando os animais estão em abrigos.

A soma dos efeitos ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) são capazes de estimar o grau de estresse térmico (SHEHAB-EL-DEEN et al., 2010)

A equação para o ITU é: ITU = Ta + 0.36Tpo + 41.5, onde Ta = temperatura do ar (°C), Tpo = temperatura do ponto de orvalho (°C).

Segundo Marai et al. (2007), em relação a estresse térmico ambiental para ovinos, quando o ITU é menor do que 82, considera-se que o ambiente ausente de estresse animal, quando entre 82 e 84 estresse moderado, entre 84 e 86 estresse severo e acima de 86 extremamanete severo. Já para bovinos, classifica-se como ITU normal quando os valores estão abaixo de 70, ameno / brando quando entre 71 e 78 e crítico quando entre 79 e 83 (AZEVEDO et al., 2005).

Na décad de 90, poucos eram os trabalhos que afirmavam o melho índice de ITU para ovinos (BARBOSA; SILVA, 1995). Siqueira et al. (1990) obtiveram valores de ITU de 71 a 95 para ovinos Merino Australiano, Ideal, Corridale, Romney Marsh e Ile de France em câmara climática.

#### 2.5. Cortisol

O funcionamento do organismo é dependente de sequencias de eventos que rotineiramente ocorrem e se repetem (ciclicamente) dentro das 24 horas do dia, que é denominado de "ritmo circadiano", onde os eventos como fome e sono ocorrem em horas definidas do dia devido as constantes alterações de intensidade das atividades que os órgãos desempenham no organismo animal (AGUIAR; LEITE; ELOY, 2007). A secreção de cortisol

não é contínua, mas sim de natureza episódica, sua secreção é intermitente por curtos períodos de tempo e o espaçamento entre os picos pode durar por horas (CANDIDA, 2006). Segundo Mormède et al. (2007) a secreção de cortisol é pulsátil. Quando o indivíduo está em perigo iminente, aumenta-se a capacidade metabólica e consequentemente há aumento na secreção de cortisol na corrente sanguínea, sendo então uma condição fisiológica para o estresse, porém quando a secreção do hormônio é constante, denomina-se essa condição de estresse crônico, caracterizando uma condição patológica para a secreção do cortisol (SOUSA et al., 2015). O cortisol é um glicocorticoide, que tem como função sinalizar para os tecidos a necessidade do aumento das concentrações de glicose na corrente sanguínea, que é retirada da gordura (ácidos graxos livres), portanto, com o aumento da glicose no sangue, aumenta-se consequentemente a protólise, que pode ser via oxalacetato ou via piruvato, aumentando assim o gasto energético no organismo.

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é quem controla a liberação do hormônio cortisol, e este é ativado quando o indivíduo, em situações ambientais, apresenta características de medo, dor, emoções, traumas entre outros, caracterizando assim um estresse fisiológico. Para que o cortisol seja liberado na corrente sanguínea, no hipotálamo ocorre a liberação do fator de liberação de corticotrofina (hormônio corticotrófico) que sinalizará a hipófise, que irá estimular a produção de corticotrofina (hormônio adrenocorticotrópico), que cairá na corrente sanguínea e sinalizará na medula adrenal a produção de adrenalina e hormônios esteroides (dentre eles o cortisol), e então aumentará a produção de cortisol e consequentemente aumentará sua concentração na corrente sanguínea (LIMA; BARBOSA FILHO, 2013).

Nwe et al. (1996) relataram que o ritmo circadiano em ovinos dentro das propriedades é alterado quando submetidos a diferentes manejos. Os autores ainda relataram que estímulos ambientais favorecem a liberação de hormônios que causam estresse, e o mais comumente utilizado para essa avaliação é o cortisol, que podem ser facilmente detectados no plasma/soro ou na urina (GUYTON, 1998). Alvarado (1999) e Cunningham (1999) afirmaram que o cortisol é eliminado pela urina em 75 % e nas fezes, 25 %. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal desempenha um papel fundamental na resposta a estímulos internos e externos, que agem como estressores, sendo a sua ativação e a consequente mudança nos níveis de cortisol plasmático as primeiras respostas de um animal enfrentando condições estressantes (TITTO et al., 2010).

Segundo Rhodes, Nippo e Gross. (1994) e McEwen (2005), é sabido que nos ovinos o primeiro hormônio secretado como resposta as injúrias é o cortisol. Peres (2011) afirmou que

as alterações nas concentrações plasmáticas de cortisol ajudaram a avaliar os efeitos das práticas de manejos as quais os cordeiros foram submetidos.

O cortisol aumenta a disponibilidade de energia e as concentrações de glicose no sangue, porque estimula a proteólise, lipólise, a gliconeogênese no fígado aumentando a síntese de enzimas implicadas na conversão de aminoácidos, glicerol e lactato na glucose, aumentando a mobilização de aminoácidos desde o músculo (MUNCHENJI et al., 2009).

O período da avaliação das concentrações do cortisol no sangue é variável durante o dia, relacionado com o ritmo circadiano. Em estudos com ovinos foi observado que os níveis de cortisol plasmático são mais elevados nas primeiras horas da manhã, além de ser uma particularidade de cada indivíduo (PARRAGUEZ et al.,1989), porém há contradições dentro da literatura em que não são observadas alterações (PAULL et al., 2008). Silva (2014) afirmou que o meio estimula reações integradas no comportamento e nos hormônios. O aumento da temperatura ambiente e, consequentemente do estresse calórico, aumentam a secreção do hormônio cortisol (STARLING et al., 2005), provocando uma série de efeitos no metabolismo do animal que alterem o seu comportamento e bem-estar (SILANIKOVE, 2000).

Os hormônios podem afetar o comportamento animal (DANTZER; MORMÈD, 1983). Quando as concentrações de cortisol estão alteradas, os animais procuram fazer os ajustes comportamentais e fisiológicos necessários para adequarem as condições adversar do meio, minimizando seus efeitos e restabelecendo o equilíbrio do organismo (FRASER, 1975).

É difícil estabelecer uma concentração de cortisol para a avaliação de bem-estar animal. Em estudos no Brasil, Leme et al. (2012) consideraram 24 ng/mL de cortisol em ovinos, após 3 horas de estabulação pós-transporte como nível normal do hormônio. Já Hargreaves e Hutson (1990) e Minton (1995) tomaram como referência o valor médio de cortisol para ovinos de 20 ng/mL, enquanto que Encarnação (1989) afirmou que a concentração plasmática média em ovinos oscila entre 6 e 14 ng/mL, e Mellor et al. (2002) estabeleceram como linha de base do cortisol em cordeiros a concentração de 26 ng/mL para animais que não foram submetidos a qualquer tipo de estresse. Hall, Broom e Kiddy (1998), observaram valores próximos a 49,6 ng/mL de cortisol é indicativo de estresse.

Outro fator que influencia nas concentrações do hormônio cortisol é o tempo em que é realizada a colheita de sangue. A determinação do cortisol é dependente do tempo, porque requer entre 10 e 20 minutos para alcançar valores máximos e tem uma vida média de 60 minutos, eliminado principalmente pelo fígado (ALVARADO, 1999; CUNNINGHAM, 1999; BUCKHAN SPORER et al., 2008; AVERÓS et al., 2008).

Parraguez et al. (1989) relataram que os picos nos níveis de cortisol em ovinos são encontrados 80 minutos após o animal ser submetido a dor. Já Silanikove (2000) afirmou que o nível de cortisol aumenta cerca de 20 minutos após a exposição ao estresse agudo, chegando ao seu pico máximo em até duas horas.

O tema ainda é bastante controverso com relatos distintos na literatura. Broom (2003) afirmou que animais jovens sofrem mais estresse durante o transporte rodoviário, enquanto que Zhong et al. (2011) atestaram que animais jovens (seis meses de idade) não sofreram alterações nos níveis de cortisol após 8 horas de transporte rodoviário, com médias de 0,89 nmol/mL para animais que não foram transportados e 1,0 nmol/mL para animais que foram submetidos a transporte por rodovia asfáltica.

Broom et al. (1996) relataram que 8 horas de transporte de ovinos não alteraram os níveis de cortisol no soro (amostras colhidas a cada 30 minutos), porém afirmaram que a idade dos animais interferiu nas concentrações deste hormônio. Os autores ainda afirmaram que o motivo de não ocorrer alterações nos níveis de cortisol se deu pelo fato de que o transporte de 8 horas é suficiente para que as concentrações do cortisol sejam recuperadas.

Há relatos que após o transporte os níveis de cortisol aumentam, mas após o período de descanso, as concentrações sanguíneas diminuem (BÓRNEZ, LINARES; VERGARA, 2009). Esse fato foi evidenciado por Silva (2014), onde a média de concentração de cortisol após o transporte foi de 21,94 μg/dL e no pré-abate 15,13 μg/dL. Tadich et al. (2009) em seus estudos comparando as concentrações de cortisol antes e após o transporte de cordeiros por 48 horas, observaram aumento significativo de 44 % após o transporte, relataram também que após 10 horas de estabulação as concentrações de cortisol diminuíram (3,9 μg/dL após o transporte e 2,6 μg/dL espera pré-abate). Silva (2014) verificou que cordeiros submetidos a período de transporte de 1 hora e 45 minutos, apresentaram médias de concentração de cortisol de 95,21 μg/dL, sendo superiores aos que foram transportados por 3 horas e 52 minutos, 7 horas e 32 minutos e 15 horas e 30 minutos, com médias de 63,30, 41,89 e 85,59 μg/dL respectivamente.

O embarque dos animais para o transporte, o início do percurso e o tempo de transporte que os animais são sujeitos influenciam nos níveis de cortisol. Outro fator que está diretamente ligado ao aumento das concentrações desse hormônio em cordeiros é a chegada ao novo ambiente. Mumma et al. (2006) relataram que os animais, após serem expostos as modificações ambientais, tendem a estimular as respostas corporais ao reestabelecimento de suas condições homeostáticas. Esse reestabelecimento pode levar mais tempo para ocorrer devido aos diferentes manejos dentro de cada sistema de produção e no local de chegada. A

utilização de cães, por exemplo, em abatedouros para manejar ovinos aumenta os níveis de cortisol (HEMSWORTH et al., 2011; KILGOUR; DE LANGEN, 1970).

Em um estudo realizado por Pearson et al. (1977), os autores observaram que a novidade e o ruído podem explicar porque os ovinos abatidos em matadouros mais tranquilos tinham níveis de cortisol mais baixos em comparação com animais abatidos em abatedouros comerciais.

Tadich et al. (2009) observaram que as concentrações de cortisol em ovinos no local conhecido (fazenda), após a estabulação (depois de serem transportados) e na sangria foram semelhantes (2,7, 2,6 e 3,3 μg/dL respectivamente). Gradin (1997) já havia relatado que as concentrações de cortisol no momento do abate eram semelhantes às concentrações após os animais serem manejados.

#### 2.6. Haptoglobina

A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína de fase aguda (PFA), associada a processos infecciosos, inflamatórios e neoplásicos, produzidas pelos hepatócitos (DOBRYSZYCKA, 1997) e os adipócitos (CHIELLINI et al., 2002). Foi descrita em 1938 como sendo uma "substância plasmática" que se liga à hemoglobina (POLONOVSKI; JAYLE, 1938). Quando o organismo vivo é infectado ou está inflamado, ocorre a lise dos glóbulos vermelhos, e então a hemoglobina livre no organismo se ligará a haptoglobina circulante, formando assim o complexo hemoglobina-haptoglobina (Hg-Hp), que será degradada pelo sistema reticuloendotelial, então com a eliminação da hemoglobina livre, a haptoglobina passa a desempenhar papel crucial na prevenção do transtorno vascular induzido pela hemoglobina livre ou lesão (TOLOSANO et al., 2002). A haptoglobina livre tem meia-vida de cinco dias, enquanto que o complexo Hg-Hp tem meia-vida de minutos (KÖRMÖCZY et al., 2006).

Ao iniciar a defesa imunológica contra vírus, bactérias e fungos (células T auxiliares), a haptoglobina passa a funcionar como modulador do sistema imune e pode ser parcialmente responsável por algumas infecções, alergias e distúrbios autoimune (ARREDOUANI et al., 2003).

As PFA's podem ser alteradas em função de desafios internos (fisiológicos) ou externos (estresse), segundo Murata, Shimada e Yoshioka (2004). Sendo assim, as PFA's tem potencial para monitoramento ambiental e a gestão de agentes estressores (PIÑEIRO et al., 2007; MURATA, 2007).

A haptoglobina é considerada a PFA mais importante em ruminantes, podendo aumentar até 100 vezes a sua concentração depois de um estímulo (GONZÁLES; MARTÍNES-SUBIELA; CERÓN, 2007). Ela tem sido analisada em trabalhos experimentais para monitorar o nível de estresse em cães (FAZIO et al., 2014), suínos (PIÑEIRO et al., 2007), bovinos (ALSEMGEEST et al., 1995; MURATA et al., 2004; GONZÁLES; MARTÍNES-SUBIELA; CERÓN, 2007; LOMBORG et al., 2006; HUZZEY et al., 2009), bubalinos (EL-DEEB; WI-BAHR, 2014) e ovinos (PRICE; NOLAN, 2001; NOWROOZI-ASL; NAZIFI; BAHARI, 2008; LA FUENTE et al., 2012; PICCIONE et al., 2012).

A concentração de haptoglobina em bovinos saudáveis é menor que 0,1 g/L, enquanto que em fase aguda, pode chegar a  $1,62 \pm 0,47$  g/L, como relatado por Huzzey et al. (2009). Em cordeiros, os valores de referencia estão entre 0 e 0,2 g/L (PRICE; NOLAN, 2001; NOWROOZI-ASL; NAZIFI; BAHARI, 2008). Nowroozi-Asl, Nazifi e Bahari (2008) ainda afirmaram que a idade e o sexo não interferem significativamente nas concentrações de haptoglobina em ovinos.

A haptoglobina tem sido utilizada para monitorar o estresse em animais, como um marcador bioquímico (GONZÁLES; MARTÍNES-SUBIELA; CERÓN, 2007). Tem-se estudado a haptoglobina devido ao desenvolvimento de métodos de análises baseados na capacidade de interação com a hemoglobina, que não requerem anticorpos específicos para cada espécie animal, sendo assim, mais econômicos e simples (ECKERSALL, 2000).

Fazio et al. (2014) afirmaram que o aumento nas concentrações de haptoglobina em cães transportados pode não estar associado com condições patológicas, mas sim ao estresse físico resultante das mudanças celulares que ocorrem depois do transporte.

A comparação realizada por El-Deeb e Wl-Bahr (2014) entre búfalos transportados e não transportados apresentaram média de concentração de haptoglobina superiores em animais transportados (0,37  $\pm$  0,01 g/L) do que em animais que não foram submetidos ao mesmo manejos (0,1  $\pm$  0,01 g/L).

Em ovinos, foi observado que o período de transporte e o espaço disponível durante o transporte não afetam os níveis de haptoglobina (LA FUENTE et al., 2012). Já Piccione et al. (2012) relataram que ovinos submetidos a transporte alteram as concentrações de Haptoglobina e que durante o período de descanso dos animais as concentrações aumentaram até 48 horas após o transporte.

Bovinos adultos transportados de quatro a seis horas apresentaram aumento das concentrações de haptoglobina após 48 horas do desembarque, alcançando valores máximos de 2,58 g/L, porém acredita-se que o efeito do estresse em resposta a haptoglobina em

bovinos não seja clara, com indícios que a resposta dessa PFA seja complexo (LOMBORG et al., 2006).

#### 2.7. Termografia Infravermelho

Hipócrates foi um médico, filósofo e pesquisador grego que observou as variações de temperatura no corpo humano; séculos se passaram, até que a termografia infravermelho passou a ser uma tecnologia utilizada inicialmente pelo setor militar, na medicina humana, na engenharia e atualmente é empregada também na produção animal (ROBERTO; SOUZA, 2014).

Os instrumentos mais utilizados para avaliação de temperatura em animais são os termômetros (via retal), microship térmico e termômetro infravermelho timpânico, que possuem limitações para serem utilizados (JOHNSON et al., 2011), assim como o tempo necessário para aferir a temperatura, a necessidade de microship implantado nos animais e o scanner para a sua leitura (GOODWIN, 1998; ROBINSON et al., 2008), além do custo por animal para a sua implantação. Além desses fatores, a utilização do termômetro e do microship podem causar desconforto nos animais para a sua manipulação.

A termografia infravermelho apresenta-se como uma metodologia não invasiva (ZIPROUDINA; MING; HÄNNINEN, 2006; SÜMBERA et al., 2007), além de ser passiva, remota e rápida nas mãos de pessoas treinadas (JOHNSON et al., 2011) que afere a emissão de calor através da energia que é emitida via superfícies que dissipam calor, e transforma em imagem visível ao olho humano (ZIPROUDINA; MING; HÄNNINEN, 2006; SÜMBERA et al., 2007), detectando a temperatura no objeto avaliado. As câmeras de imagem infravermelho detectam temperaturas a partir de 0,05 °C (ROBERTO; SOUZA, 2014). Por recomendação do fabricante, deve-se calibrar o equipamento para uma emissividade de 0,98 ao avaliar tecido biológico.

Utilizada na maioria das vezes em avaliações médicas, para diagnostico prévio de enfermidades, como câncer de mama em humanos (NUNES; FILHO; SARTORI, 2007), também tem sido amplamente utilizada na produção animal, como por exemplo, no tempo de ovulação de vacas (TALUKDER et al., 2013), na avaliação de processos inflamatórios em equinos (WALDSMITH; OLTMANN, 1994) e no impacto sobre o bem-estar animal (SCHAEFER et al., 1988; KNÍŽOKOVÁ et al., 2007).

Os fatores que influenciam o desencadeamento do estresse entre os animais de fazenda estão desde o local onde são inseridos, devido a inadequada condição climática, as relações

entre indivíduos, grande concentração de animais num ambiente pequeno, ruídos externos, além dos próprios fatores ambientais, que exige alta grau de adaptação pelos animais, dessa forma os métodos não invasivos devem ser utilizados em inúmeros procedimentos, aumentando os níveis de bem-estar dos animais, causando-lhes pouco e/ou nenhum desconforto (GODÝN; HERBUT; WALCZAK, 2013).

A forma mais comumente utilizada para avaliar o estresse em animais são os parâmetros sanguíneos (STEWART et al., 2005), porém estudos recentes têm relatado que a termografia infravermelho detecta e mensura respostas dos animais em função do estresse (ROBERTO; SOUZA, 2014).

Cook et al. (2001) já haviam relatado uma correlação significativa entre a temperatura do olho com o cortisol plasmático, que assim como os hormônios relacionados ao estresse, a temperatura ocular pode também ser um indicador do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal. Johnson et al. (2011) relataram que o olho é uma boa localização para correlacionar a temperatura corporal. Há também uma correlação alta da temperatura ocular com a temperatura retal e com a frequência respiratória em cordeiros (CARDOSO et al., 2010), visto que temperaturas entre 32 e 40 °C são causas de estresse térmico (CEZAR; SOUZA; SOUZA, 2004).

A alta temperatura ocular pode ser causada pela vasodilatação dos vasos sanguíneos, que aumentam o fluxo de sangue periférico e consequentemente causa aumento da emissividade térmica (GODÝN; HERBUT; WALCZAK, 2013). Stewart et al. (2007) localizaram que a temperatura próxima a carúncula lacrimal tende a aumentar em situação de stress, porém em seu estudo não observaram alterações após estímulos exógenos (isolamento e aplicação de hormônios) em vacas.

A temperatura do olho diminui rapidamente e imediatamente após os animais passarem por processos dolorosos, e a diminuição na temperatura é de curto prazo (aproximadamente cinco minutos após a realização do procedimento invasivo) e então apresenta elevação prolongada (DOWLING et al., 2013). Stewart et al. (2008) observaram que animais que foram submetidos a descorna, com ou sem anestesia local, apresentaram aumento da temperatura do olho após o procedimento, sendo então desconhecido qual o mecanismo envolvido nesta resposta de dor. Vianna e Carrive (2005) observaram que ratos após receberem choques nas patas, apresentaram queda na temperatura da cauda e em seguida aumento na temperatura, superiores a temperatura basal, que sugere uma resposta de termorregulação da cauda para poder dissipar o calor acumulado durante o estresse.

A contenção dos animais e consequentemente o aumento da temperatura ocular, pode ser efeito da tentativa de fuga dos animais quando mantidos com a cabeça presa no tronco de contenção para o procedimento de descorna (STEWART et al., 2008), não sendo possível concluir se o estado de atenção dos animais foi devido a contenção ou do procedimento ao qual foram submetidos.

#### **2.8. Abate**

A World Animal Protection (WAP) vem trabalhando desde 2007 no Brasil e na China para implementação do abate humanitário. Esse trabalho tem como finalidade a redução do sofrimento dos animais de produção destinado a produção de carne, visto as situações de estresse e sofrimento que são submetidos sem necessidade.

Com os trabalhos realizados pela WAP, mais de 300 frigoríficos brasileiros receberam treinamento, com mais de 7000 pessoas, e em 2013, juntamente com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Brasil atualizou as instruções sobre as técnicas de abate para as diversas espécies de animais (WAP, 2016).

A Portaria n°47, de 19 de março de 2013 descreve:

"... identificada a necessidade de padronizar os procedimentos de manejo préabate e abate humanitário, os requisitos mínimos para a proteção dos animais de abate, a fim de evitar dor e o sofrimento desnecessário resolve:

Art. 1° Aprovar o REGULAMENTO TÉCNICO DE MANEJO PRÉ-ABATE E ABATE HUMANITÁRIO, constante nesta Instrução Normativa;

Art. 2° Aprovar os MÉTODOS DE INSENSIBILIZAÇÃO AUTORIZADOS, constante do Anexo 1 desta Instrução Normativa..."

Os métodos de insensibilização autorizados pelo MAPA (BRASIL, 2013) para ovinos são:

# - Métodos mecânicos:

- Percussivo Penetrativo: pistola de dardo cativo penetrante (concussão e lesão irreversível no cérebro).
- Percussivo Não Penetrativo: pistola de dardo cativo não penetrante (concussão cerebral reversível).

#### - Métodos elétricos:

- Insensibilização elétrica (aplicação da corrente apenas na cabeça ou da cabeça ao corpo).

Todos os métodos de insensibilização devem seguir os critérios para determinar se o animal está insensibilizado, para posteriormente realizar a sangria, que são: ausência de respiração rítmica, reflexo córneo, intensão de se levantar, língua pendular, e em aves, ausência coordenada de bater as asas (BRASIL, 2013).

Com o seguimento dessa Portaria e os demais cuidados no pré e pós insensibilização e no pós abate, a carcaça e a carne terão qualidade superior aos que não se preocupam com o bem-estar dos animais.

#### 2.9. Carcaça e qualidade de carne

Há tempos tem-se discutido sobre o antagonismo entre o Bem-Estar Animal e a alta produtividade, visto que o estresse excessivo e o sofrimento dos animais reduzem a produtividade e a qualidade dos alimentos (PINHEIRO; BRITO, 2009).

Os níveis de estresse pré-abate estão diretamente ligados a qualidade da carcaça (hematomas) e da carne dos animais (MIRANDA DE LA LAMA et al., 2011). Broom (2008) relatou a importância da redução do estresse durante a rotina de manejo dos animais de produção, pois animais agitados (que normalmente apresentam maiores níveis de reatividade) correm o risco de acidentes, aumentando assim as contusões de carcaça. Além do manejo dentro da propriedade e no decorrer do transporte das fazendas aos abatedouros, Barbosa Filho e Silva (2004) relataram que os processos pré-abate são na maioria das vezes os responsáveis pelo comprometimento da carcaça e queda na qualidade da carne.

Inúmeras são as transformações bioquímicas que transformam o músculo em carne. A fonte energética para que esse procedimento seja realizado é o glicogênio, que sustenta a contração muscular quando a glicose presente no organismo não é o suficiente (ROÇA, 2001), e, durante esse processo de quebra do glicogênio e da glicose para fornecimento de energia ocorre a liberação de íons H<sup>+</sup> que irá atuar na alteração do pH muscular, e consequentemente, no final da transformação da carne (BRUNEL, 2015).

Miranda de la Lama et al. (2011) relataram que o tipo de estrada (pavimentada ou não) interferiu diretamente na qualidade da carne, devido a oscilação do caminhão nas diferentes pavimentações e pelo tipo de caminhão utilizado no transporte, e consequentemente afetou o

pH da carne. Um dos aspectos mais marcantes da transformação do músculo em carne é a queda do pH, inclusive, a ponto de determinar a futura qualidade da carne. Segundo Gregory (2007), o pH é o maior indicador da qualidade de carne em níveis comerciais. O pH elevado pode caracterizar uma carne mais escura, com maior intensidade de vermelho, que causa baixa concentração de glicogênio muscular *post-mortem* (IMMONEN et al., 2000).

A qualidade da carne é relacionada diretamente com os manejos pré-abate (transporte, tempo de espera, estresse, estação do ano, entre outros) que visa a diminuição das perdas econômicas (MIRANDA DE LA LAMA et al., 2012). Pighin et al. (2013) afirmaram que existe uma correlação negativa entre as mudanças de temperatura interna do animal devido ao estresse físico de ovinos e os níveis de glicogênio no momento do abate.

O estresse sofrido pelos animais, por período prolongado ou exercício muscular intenso no pré-abate causam redução nos níveis de glicogênio, produzindo carnes DFD (escura, firme e seca), que apresentam pH alto (acima de 5,8) (GREGORY, 2007), sendo então mais secas, porém possuem alta capacidade de retenção de água e, quando cozidas, apresentam-se mais suculentas (ZEOLA et al., 2006). Os procedimentos que antecedem o abate podem afetar diretamente na concentração de glicogênio muscular, impossibilitando a recuperação para concentrações basais (BRUNEL, 2015).

Segundo Stranger et al. (2005) pesquisas têm desmonstrado que o tratamento agressivo do humano com o animal prejudica a saúde e consequentemente a qualidade da carne no final da cadeia produtiva. Bovinos que são tratados com gentileza durante o manejo pré-abate apresentam altos níveis de glicogênio muscular ao abate, quando comparado com animais que foram tratados aversivamente (LENSINK et al., 2001), que sugere maior gasto energético dos animais que são tratados inadequandamente (BRUNEL, 2015).

A cor da carne é um dos principais atributos para a aquisição do produto pelo consumidor, pois é indicativo de qualidade e frescor (RESURRECCION, 2003). Cordeiros apresentam carne com coloração mais clara e de sabor suave quando comparado a animais adultos, com idade superior a 12 meses, sendo esta a preferencia do mercado consumidor brasileiro para carne de ovinos (KROLOW, 2005).

Trabalhos realizados no Brasil do final da década de 90 (PEREZ et al., 1997; PRADO, 2000) avaliaram as características de cor da carne de ovinos e observaram que animais mais velhos apresentavam menor índice de luminosidade (L\*), e justificaram que em função do aumento do peso (e consequentemente aumento da idade), a carne apresentava-se com menor umidade e maior proporção de gordura. Cordeiros em aleitamento, com peso vivo médio de 12 kg tendem a apresentar menores concentrações de mioglobina do que animais alimentados

com grãos e forragem e então apresentam coloração mais clara da carne, devido a menor síntese de mioglobina no músculo (BERIAIN et al., 2000). Ekiz et al. (2012) afirmaram que o transporte pode influenciar na intensidade de L\*, visto que animais abatidos após serem submetidos a transporte apresentaram menor L\* quando comparado a cordeiros que não foram transportados. Segundo Dransfield, Nute e Hogg (1990), Sañudo et al. (1997), Vergara, Molina e Gallego (1999), Sañudo et al. (2000) e Velasco et al. (2000), a intensidade de L\* em ovinos varia de 30,03 a 49,47.

Souza et al. (2004) afirmaram que ovinos mais pesados apresentaram maior intensidade de vermelho (a\*) na carne, como sugerido pelos autores citados anteriormente. Segundo Berge et al. (1998) e Berge et al. (1999) esse aumento se dá devido o aumento das concentrações de ferro hêmico (ferro disponível em alimentos de origem animal). A intensidade de a\* pode variar de 8,24 a 23,53 segundo Dransfield, Nute e Hogg (1990), Sañudo et al. (1997), Velasco et al. (2000) e Vergara, Molina e Gallego (1999).

A intensidade de amarelo (b\*) é estimulada pelo betacaroteno presente na gordura (SAÑUDO et al., 1997). Animais alimentados com grãos que contem betacaroteno e com alimentos ricos em vitamina A tendem a ter maior intensidade de amarelo na carne. A intensidade de b\* também pode estar relacionada a queda de pH no início do *post mortem*, segundo Lindahl (2005). Días et al. (2014) observaram que a queda brusca de pH entre as 0 hora e as 3 horas no *post mortem* aumentaram maior intensidade de b\* ao final das 24 horas de resfriamento.

A variação de pH na carne em animais vivos, segundo Zeola et al. (2002) gira em torno de 7,3 a 7,5. Após o abate, ocorre decréscimo, que pode chegar a 5,4, de duas a oito horas após a sangria, quando se inicia o processo de *rigor mortis* (ZEOLA et al., 2007).

Miranda de la Lama et al. (2012) observaram que a temperatura ambiente influencia no pH final da carne de cordeiros e Knowles et al. (1998) relataram que animais transportados por longos períodos apresentaram pH final alto. Já Dalamau et al. (2014) afirmaram que o pH não é afetado pelo tempo de transporte (curto, de uma hora, e logo, de 24 horas). A constatação de valores de pH final por volta de 5,66 a 5,78 (SAÑUDO et al., 1992) indicam boas características para os demais parâmetros de qualidade da carne como cor, maciez e capacidade de retenção de água (LEÃO et al., 2011).

A maciez da carne de ovinos pode ser classificada como macia, com valor inferior a 2,27 kgf / cm², de maciez mediana, com valores entre 2,28 a 3,63 kgf / cm², dura (valores entre 3,64 e 5,44 kgf / cm²) e extremamente dura, acima de 5,44 kgf / cm², segundo Cezar e Souza (2007).

## Referências

AGUIAR, F.C.; LEITE, E.R.; ELOY, A.M.X. Impactos do estresse sobre a produção animal. Sobral, CE: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2007. 23 p. (Documentos, 70). Disponível em: <a href="http://damara.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/043221001201130.doc70.pdf">http://damara.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/043221001201130.doc70.pdf</a>. Acesso em: 03 mar. 2016.

ALMEIDA, A. C. **Avaliação do conforto térmico em ovinos a céu aberto e em ambiente de confinamento na região norte da Bahia**, 2011, 60f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Petrolina, 2011.

ALSEMGEEST, S. P. M. et al. Influence of physical stress on the plasma concentrations of serum amyloid A (SAA)and haptoglobina (HAPTOGLOBINA) in calves. **Veterinary Quarterly**, Abingdon, v. 17, p. 9-12, 1995.

ALTINÇEKIÇ, Ş. Ö.; KOYUNCU, M. Effects of transport and slaughter conditions on meat and carcass quality. **Hayvansal Üretim**, Ankara, v. 56, n. 1, p. 39-47, 2015.

ALVARADO, M. Análises de las concentraciones sanguíneas de algunas de las variables indicadoras de estrés por transporte em bovinos. 1999. Tesis (Grado) - Escuela de Medicína Veterinária, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 1999.

ARREDOUANI, M. et al. Haptoglobin directly affects T cells and suppresses T helper cell type 2 cytokine release. **Immunology**, London, v. 108, p. 144-151, 2003.

AVERÓS, X. et al. Stress response of extensively Young being transported to growing-finishing farms under Spanish summer comercial conditions. **Livestock Sciece**, Amsterdam, v. 119, p. 174-182, 2008.

AZEVEDO, M. et al. Níveis críticos superiores de temperatura e umidade para vacas leiteiras ½, 2/3 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, 2005.

BARBOSA, O. R.; SILVA, R. G. Índice de conforto térmico para ovinos. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 52, p. 29-35, 1995.

BARBOSA FILHO, J. A. D.; SILVA, I. J. O. Abate humanitário: Ponto fundamental do bemestar animal. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 328, p. 36-44, 2004. Disponível em: www.nupea.esalq.usp.br/noticias/producao/ba74c\_20080505.pdf. Acesso em: 03 fev. 2010.

BERGE, P. et al. Lamb meat texture as influenced by age and collagen characteristics. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY - ICoMST, 44., 1998, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona, 1998. p. 304-305.

BERGE, P. et al. Variations of meat composition and quality in different commercial lamb types. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY - ICoMST, 44., 1999, Yokohama. **Proceedings...** Yokohama, 1998. p. 502-503.

BERIAIN, M. J. et al. Characteristics of Lacha and Rasa Aragonesa lambs slaughtered at three live weights. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 3070-3077, 2000.

- BÓRNEZ, R.; LINARES, M. B.; VERGARA, H. Haematological, hormonal and biochemical blood parameters in lamb: effect of age and blood sampling time. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 121, p. 200-206, 2009.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 56, 06 de novembro de 2008. Boas práticas de bem-estar para animais de produção de interesse econômico. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 07 nov. 2008. Seção I. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq\_editor/file/Desenvolvimento\_Sustentavel/Producao-Integrada-Pecuaria/IN%2056%20de%202008.pdf.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n° 47, de 21 de março de 2013. Regulamento técnico de manejo pré-abate e abate humanitário. S.D.A./M.A.A. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 mar. 2013. Seção I. Disponível em: http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPort alMapa&chave=143662794. Acesso em: 29 fev. 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n° 524, de 21 de junho de 2011. Comissão Técnica Permanente de Bem-Estar Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 jun. 2011. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq\_editor/file/Desenvolvimento\_Sustentavel/Producao-Integrada-Pecuaria/Portaria%20524%20de%202011.pdf. Acesso em: 23 mai. 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento MAPA Conceito de Bem-Estar Animal, Brasília, DF, 2016. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br/animal/bem-estar-animal/conceitos-e-metodos">http://www.agricultura.gov.br/animal/bem-estar-animal/conceitos-e-metodos</a>>. Acesso em: 23 mai. 2016.
- BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal RIISPOA. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 mar. 1952. Disponível em: http://http://www.agais.com/normas/riispoa/riispoa\_titulo7a.pdf. Acesso em: 24 mai. 2016.
- BROOM, D. M. Animal welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 4167-4175, 1991.
- BROOM, D. M. Transport stress in cattle and sheep with details of physiological and other indicators. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v. 110, p. 83-89, 2003.
- BROOM, D. M. The walfare of livestock during transport. In: APPLEBY, M.; CUSSEN, V.; GARCÉS, L.; LAMBERT, L.; TURNER, J. (Ed.). Long distance transport and the walfare of farm animals. Wallingford: CABI, 2008. p. 157-181.
- BROOM, D. M. et al. Hormonal and physiological effects of a 15 hours road journey i sheep. Comparison with the responses of loading handling and penning in the absence of transport. **British Veterinary Journal**, London, v. 152, p. 593-604, 1996.
- BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: Conceito e questões relacionadas Revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

- BRUNEL, H. S. S. Avaliação de parâmetros doestresse no manejo pré-embarque e transporte de bovinos, 2015, 122f. Tese (Doutorado em Ciências Animais), Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2015.
- BUCKHAM SPORER, K. R. et al. Transportation stress alters the circulating steroid environment and neutrophil gene expression. In beef bulls. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, New York, v. 121, p. 300-320, 2008.
- CANDIDA, S. C. B. **Efecto de diferentes grados de claudicaciones sobre algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés en vacas lecheras**. 2006. 44 p. Memoria (Título de Médico Veterinario) Faculdad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, 2006.
- CARDOSO, C. C. et al. Tolerância ao calor em animais mestiços de ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. p. 1-3.
- CEZAR, M. F.; SOUZA, B. B.; SOUZA, W. H. Evaluation of physiological parameters of sheep from Dorper, Santa Inês and their crosses in climatic conditions of northeast semi-arid. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, p. 614-620, 2004.
- CEZAR, M. F.; SOUSA, W. H. **Carcaças ovinas e caprinas**: obtenção, avaliação e classificação. Uberaba: Editora Agropecuária Tropical, 2007. 232 p.
- CHIELLINI, C. et al. Obesity modulates the expression of haptoglobin in the white adipose tissue via TNF alpha. **Journal of Cellular Physiology**, New York, v. 190, p. 251-258, 2002.
- COOK, N. J. et al. Adrenocortical and metabolic responses to ACTH injection in horses: na assessment by salivar cortisol and infrared thermography of the eye. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 81, p. 621 (absctrat), 2001.
- CUNNINGHAM, J. Sistema endócrino. In: CUNNINGHAM J. (Ed). **Fisiología veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 409-429.
- DALAMAU, A. et al. Effect of the duration of road transporto n the physilogy and meat quality of lambs. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 54, p. 179-186, 2014.
- DANTZER, R.; MORMÈD, P. Stress in farm animals: a need for reevaluation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 57, p. 6-18, 1983.
- DE PASSILLÉ, A. M. et al. Dairy calves discrimination of people based on previous handling. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, p. 969-974, 1996.
- DEISS, V. et al. Can emotional reactivity predict stress responses at slaughter in sheep? **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 119, p. 193-202, 2009.
- DÍAS, M. T. et al. Effect of lairage time (0h, 3h, 6h ou 12h) on glycogen contente and meat quality parameters in suckling lambs. **Meat Science**, Barking, v. 96, p. 653-660, 2014.

- DOBRYSZYCKA, W. Biological functions of haptoglobin new prices to and old puzzle. **European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, Berlin, v. 35, p. 647-654, 1997.
- DOWLING, S. et al. Infrared theromgraphy for animal health and welfare monitoring: Where to from here? In: AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND SPATIALLY ENABLED LIVESTOCK MANAGEMENT SYMPOSIUM, 4., 2013, Camden, NSW. **Proceedings...** Camden, NSW: Centre for Carbon, Water and Food, The University of Sydney, 2013. p. 19-21.
- DRANSFIELD, E.; NUTE, G. R.; HOGG, B. W. Carcass and eating quality of ram, castred ram and ewe lambs. **Animal Production**, Penicuik, v. 50, p. 291-299, 1990.
- ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Medicine Veterinaire**, Paris, v. 151, p.577-584, 2000.
- EKIZ, B. et al. Effect of pre-slaughter management regarding transportation and time in lairage on certain stress parameters, carcass and meat quality characteristics in Kivircik lambs. **Meat Science**, Barking, v. 90, p. 967–976, 2012.
- EL-DEEB, W. M.; WL-BAHR, S. M. Acute phase proteins and oxidative stress biomarkers in water buffalo calves subjected to transportation stress. **Comparative Clinical Pathology**, London, v.23, n.3, p.577-582, 2014.
- ELDRIDGE, G. A. et al. **Pre-slaughter management and marketing systems for cattle in relation to improving meat yield, meat quality and animal welfare**. Victoria, Australia: Australian Meat & Livestock Research & Development Corporation, 1989. (Report, 56).
- ENCARNAÇÃO, R. O. Stress and animal production. In: INTERNATIONAL CYCLE OF LECTURES ON ANIMAL BIOCLIMATOLOGY, 1., 1989, Jaboticabal, SP. **Proceedings...** Jaboticabal: Funep, 1989. p. 111-129.
- ESTRADA, G.; STRAPPINI, A.; GALLO, C. Comportamiento de novillos em corrales de espera em matadero posterior a transportes largos y cortos. In: ENCUENTRO REGIONAL DE INVESTIGADORES EM BIENESTAR ANIMAL AMERICA, 1., 2009, Valdivia, Chile.
- FAZIO, F. et al. Characterization of acute phase proteins and oxidative stress response to road transportation in the dog. **Experimental Animals**, Tokyo, v. 64, n. 1, p. 19-24, 2014.
- FERGUSON, D. M.; WARNER, R. D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 12-19, 2008.
- FRASER, D. The effects of straw on the behaviour of sows in tethered stall. **Animal Production**, Penicuik, v. 21, p. 59-68, 1975.
- GALLO, C. B.; HUERTAS, S. M. Main animal welfare problems in ruminant livestock during preslaughter operations: a South American view. **Animal**, Cambridge, v. 7, p. 1-8, 2015.

- GODÝN, D.; HERBUT, E.; WALCZAK, J. Infrared thermography as method for evaluating the welfare of animals subject to invasive proedures a review. **Annals of Animal Science**, Berlin, v. 13, n. 30, p. 423-434, 2013.
- GONZÁLES, F. H. D.; MARTÍNES-SUBIELA, S.; CERÓN, J. J. Haptoglobina en ruminantes: generalidades y possibles aplicaciones clinicas. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v. 23, p. 5-17, 2007.
- GOODWIN, S. D. Comparison of body temperature of goats, horses and sheep measure with a tympanic infrared thermometer and implantable microship transponder and rectal thermometer. **Comtemporary Topics in Laboratory Animal Science**, Cordova, v. 37, p. 51-55, 1998.
- GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 249-257, 1997.
- GRANDIN, T. La conducta animal y su importância em el manejo del ganado. Disponível em: <a href="http://www.grandin.com/spanish/conducta.animal.html">http://www.grandin.com/spanish/conducta.animal.html</a>>. 2000. 14 p. Acesso em: 10 fev. 2012.
- GRANDIN, T. Making slaughterhouses more humane for cattle, pigs and sheep. **Annual Review of Animal Bioscience**, Palo Alto, v. 1, p. 491-512, 2013.
- GREGORY, N. G. **Animal welfare and meat production**. 2. ed. Wallinford: CABI Publishing, 2007. 31 p.
- GUYTON, A. C. Fisiologia humana. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- HALL, S. J. G.; BROOM, D. M.; KIDDY, G. N. S. Effect os transportation on plasma cortisol and packed cell volume in different genotypes of sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 29, p. 233-237, 1998.
- HARGREAVES, A. L.; HUTSON, G. D. The stress response i sheep during routine handling procedures. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 83-90, 1990.
- HEMSWORTH, P. H. et al. Human-animal interactions at the abatoir: relationship between handling and animal stress in sheep and cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 135, p. 24-33, 2011.
- HÖTZEL, M. J. et al. Influencia de um ordenhador aversivo sobre a produção leiteira de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Voçosa, v. 34, n. 4, p. 1278-1284, 2005.
- HUZZEY, J. et al. Short communication: Haptoglobin as na early indication of metrits. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 621-625, 2009.
- IMMOONEN, K. et al. Glycogen conctrations in bovine *Longissimus dorsi* muscle. **Meat Science**, Barking, v. 54, p. 163-167, 2000.

JOHNSON, S. R. et al. Thermographic eye temperature as an index to body temperature in ponies. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v. 31, p. 63-66, 2011.

KILGOUR, R.; DE LANGEN, H. Stress in sheep resulting from management practices. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Palmerston, v. 30, p. 65-76, 1970.

KNÍŽOKOVÁ, I. et al. Aplications of infrared thermography in animal production. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Tottori, v. 22, p. 329-336, 2007.

KNOWLES, T. G. et al. Effects on sheep of transport by road for up to 24 hours. **Veterinary Research**, London, v. 136, p. 431–438, 1995.

KNOWLES, T. G. et al. Effects of stocking density on lambs being transported by road. **Veterinary Record**, London, v. 142, p. 503–509, 1998

KNOWLES, T. G.; WARRIS, P. D. Stress physiology os animals during transport. In: GRANDIN, T. **Livestock handling and transport**. 2. ed. Wallingford: CABI International, 2000. chap. 19, p. 385-407.

KÖRMÖCZY, G. F. et al. Influence of clinical factors on the haemolysis marker haptoglobin. **European Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v. 36, p. 202-209, 2006.

KROLOW, A. C.R. Qualidade do alimento x perspectiva de consumo das carnes caprina e ovina. In: In: CONGRESSO PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, **CONGRESSO PAULISTA** DE BUIATRIA, 4.; **CONGRESSO** BRASILEIRO DE ODONTOLOGIA VETERINÁRIA, 1.; ENCONTRO DAS ENTIDADES DE CLASSE, CONFERÊNCIA ANUAL SOCIEDADE DA PAULISTA DE VETERINÁRIA, 59., 2004, Santos. Anais... Santos: Sociedade Paulista de Medicina Disponível Veterinária, 2005. Secão palestras, f. resumos. 13 http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/42403/1/AAC-Qualidade-do-alimento-Ana-Cristina-Krolov.pdf. Acesso em: 26 fev. 2016.

LA FUENTE, J. et al. The effects of journey duration and space allowance on the behaviour and biochemical measurements of stress responses in suckling lambs during transport to an abattoir. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 142, p. 30-41, 2012.

LEÃO, A. G. et al. Características físico-químicas e sensoriais da carne de cordeiros terminados com dietas contendo cana-de-açúcar ou silagem de milho e dois níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.5, p.1253-1262, 2011.

LEME, T. M. C. et al. Cortisol plasmático em cordeiros após transporte rodoviário em diferentes condições. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.

LEME, T. M. C. et al. Influence of transportation methods and préslaugther rest periods on cortisol level in lambs. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 107, p. 8-11, 2012.

LENSINK, B. J. et al. The influence of farmer's behaviour on calve's reactions to transport and quality of veal meat. **Journal of Animal Science**, Champaing, v. 79, p. 642-652, 2001.

- LENSINK, B. J. A relação homem-animal na produção animal. In: CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 1., 2002, Corumbá. **Anais...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002.
- LERUSTE, H. et al. Evalution on on-farm veal calves' responses to unfamiliar humans and potential influencing factors. **Animal**, Cambridge, v. 12, p. 2003-2010, 2012.
- LIMA, L. R.; BARBOSA FILHO, J. A. D. Impacto do manejo pré-abate no bem-estar de caprinos e ovinos. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, Mossoró, v. 1, n. 2, p. 52-60, 2013.
- LINDAHL, G. Colour characteristics of fresh pork. 2005. 43 p. Thesis (PhD) Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.
- LISTE, G. et al. Effect of lairage on lamb welfare and meat quality. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 51, p. 952-958, 2011.
- LIU, H. W. et al. Effects of lairage time after road transporto n some blood indicators of welfare and meat quality traits in sheep. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 96, p. 1127-1135, 2012.
- LOMBORG, S. R. et al. Acute phase proteins as possible markers of stress in cattle. EUROPEAN COLLOQUIUM ON ACUTE PHASE PROTEINS, 6., 2006, Frederiksberg. **Proceedings...** Frederiksberg: Center for Skov, Landskab og Planlægning/Københavns Universitet, 2006. p. 72, 2006.
- MARAI, I. F. M. et al. Physiological traits as affected by heat stress in sheep: a review. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 71, n. 1, p. 1-12, 2007.
- MARQUES, J. A. et al. Comportamento de touros jovens em confinamento alojados isoladamente ou em grupo. **Archivos Latinoamericanos de Produccinon Animal**, Mayagüez, Puerto Rico, v. 13, n. 3, p. 97-102, 2005.
- MARTIN, J. G. A.; RÉALE, D. Animal temperament and human disturbance: Implications for the response of wildlife to tourism. **Behaviour Processes**, Amsterdam, v. 77, p. 66-72, 2008.
- MARTIN-PELÁEZ, S. et al. Different feed withdrawal times before slaughter influence caecal fermentation and faecal Salmonella sheeding in pigs. **Veterinary Journal**, London, v. 182, p. 469-473, 2009.
- MARTINS, R. F. S. Índices de conforto térmico e temperatura superficial por termografia infravermelha em ovinos, 2011, 95f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2011.
- MATARAZZO, S. V. et al. Monitoramento eletronico das respostas comportamentais de vacas em lactação alojadas em freestall climatizado. **Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas**, Tupã, v. 1, p. 40-49, 2007.

MCEWEN, B. S. Glucocorticoids, depression and mood disorders. Structural remodeling in thr brain. **Metabolism**, New York, v. 54, n. 2, p. 20-23, 2005.

MELLOR, D. J. et al. A comparison of catecholamine and cortisol responses of young lambs and calves to paintful husbandry procedures. **Australian Veterinary Journal**, Oxford, v. 80, p. 228-233, 2002.

MINTON, J. E. Stress associated concentrations of plasma cortisol cannot account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in lambs exposed to restraint and isolation stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 2, p. 812-817, 1995.

MIRANDA DE LA LAMA, G. et al. Effects of road type during transport on lamb walfare and meat quality in dry hot climates. **Tropical Animal Health and Production**, Heidelberg, v.43, p. 915-922, 2011.

MIRANDA DE LA LAMA, G. C. et al. Effects of two transport systems n lamb welfare and meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 92, p. 554-561, 2012.

MORMÈDE, P. et al. Exploration of the hypotalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Physiology & Behaviour**, Oxford, v. 92, p. 317-339, 2007.

MUMMA, J. O. et al. Physiological stress in laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, p. 761-769, 2006.

MUNCHENJI, V. et al. Relationship between pre-slaughter stress responsiveness and beef quality in three cattle breeds. **Meat Science**, Barking, v. 81, p. 653-657, 2009.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, K. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: na overview. **Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 28-40, 2004.

MURATA, H. Stress and acute phase protein response: an incospicuous but essential linkage. **Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 473-474, 2007.

NAKANISHI, E. Y. et al. Efeito da frequencia de manejo sobre a reatividade e o aprendizado em bovinos sob adestramento. In: ZOOTEC, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Pirassununga: FZEA; ABZ, 2009.

NEVES, M. L. M. W. et al. Níveis críticos do índice de conforto técnico para ovinos da raça Santa Inês criados a pasto no agreste do Estado de Pernambuco. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 169-175, 2009.

NOWROOZI-ASL, A.; NAZIFI, S.; BAHARI, A. Determination of sérum haptoglobin reference value in clinically healthy Iranian fat-tailed sheep. **Iranian Journal of Veterinary Research**, Shiraz, v. 9, n. 2, p. 171-173, 2008.

NUNES, L. A. O.; FILHO, A. C. C.; SARTORI, J. L. Camera termográfica nacional. **Revista Prática Hospitalar**, São Paulo, v. 49, p. 18-21, 2007.

NWE, T. M. et al. Significance of catecholamines and cortisol levels in blood during transportation stress in goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 20, n. 2, p. 129-135, 1996.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL - OIE. Terrestrial Animal Health Code. 2015. Disponível em: <a href="http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/">http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/</a>. Acesso em: 06 mar. 2016.

PARRAGUEZ, V. H. et al. Ontogeny of the cicardian rhytm of cortisol in sheep. **Biology of Reproduction**, New York, v. 40, n. 6, p. 1137-1143, 1989.

PASCUAL-ALONSO, M. et al. Effect of psteweaning handling strategies on welfare and productive traots in lambs. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, London, v. 18, n. 1, p. 42-56, 2014.

PAULL, D. R. et al. Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs and epidural anaesthesia in reducing the pain and stress responses to a surgical husbandry procedure (mulesing) in sheep. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 48, n. 1, p. 1034-1039, 2008.

PERES, L. C. T. **Avaliações do estresse em cordeiros submetidos a quatro métodos de caudectomia.** 2011. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2011.

PEREZ, J. R. O. et al. Efeitos de dejetos de suínos na qualidade de carne de ovinos. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora, MG. Anais... Juiz de Fora, MG: SBZ, 1997. v. 1, p. 391.

PÉREZ, M. P. et al. Influence of lairage time on som welfare and meat quality parameters in pigs. **Veterinary Research**, London, v. 33, p. 239-250, 2002.

PERSON, A. J. et al. Hormonal responses of lambs to trucking, handling and electrical stunning. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Wellington, v. 37, p. 243-248, 1977.

PICCIONE, G. et al. Utility of acute phase proteins as biomarkers of transport stress in ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 107, p. 167-171, 2012.

PIGHIN, D. G. et al. Relationship between changes in core body temperature in lambs and post-slaughter muscle glycogen content and dark-cutting. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 54, n. 4, p. 459-463, 2013.

PILCHER, H. Friendly faces calm stressed sheep. **Nature. News**, London, 2004. Disponível em: <a href="http://www.nature.com/news/2004/040823/full/news040823-7.html">http://www.nature.com/news/2004/040823/full/news040823-7.html</a>. Acesso em: 15 set 2015.

PIÑEIRO, M. et al. Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. **Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 669-670, 2007.

- PINHEIRO, A. A.; BRITO, I. F. Bem-estar e produção animal. Sobral, CE: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2009. 27 p. (Documentos, 93). Disponível em: <a href="https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/748310/1/doc93.pdf">https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/748310/1/doc93.pdf</a>. Acesso em: 03 mar. 2016.
- POLONOVSKI, M.; JAYLE, M.F. Existence dans le plasma sanguin d'une substance activant l'action peroxydasique de l'hemoglobine. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences**, Paris, v. 129, p. 457–460, 1938.
- PRADO, O. V. **Qualidade de carne de cordeiros Santa Inês e Bergamácia abatidos em diferentes pesos**. 2000. 109 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- PRICE, J.; NOLAN, A. M. Analgesia of newborn lambs before castration and tail docking with rubber rings. **Veterinary Record**, London, v. 149, p. 321-324, 2001.
- RAUSSI, S. et al. The effect of contact with conspecifics and humans on calves behaviour and stress responses. **Animal Welfare**, Hertfordshire, v. 12, p. 191-203, 2003.
- RESURRECCION, A. V. A. Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 66, p. 11–20, 2003.
- RHODES III, R. C.; NIPPO, M. M.; GROSS, W. A. Stress in lambs (*Ovis aries*) during a routine management procedure: evaluation of acute and chronic responses. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 107 A, n. 1, p. 181-185, 1994.
- ROBERTO, J. V. B.; SOUZA, B. B. Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e produção animal. **Journal of Animal Behaviour Biometeorology**, Mossoró, v. 2, n. 3, p. 73-84, 2014.
- ROBINSON, T. R. et al. Comparison of temperature Reading from a percutaneous termal sensing microship with temperature readings from a digital rectal thermometer in equids. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 233, p. 613-617, 2008.
- ROÇA, R. O. Abate humanitário: manejo *ante-mortem*. **Revista TeC Carnes**, Campinas, v. 3, p. 7-12, 2001.
- RUSHEN, J. et al. Animal behavior. In: RUSHEN, J. et al. (Ed.). **The welfare of cattle**. Heidelberg: Springer, 2008. chap. 4, p. 70-111.
- SAÑUDO, C. et al. Breed effect on carcass and meat quality of suckling lambs. **Meat Science**, Barking, v. 46, p. 357-365, 1997.
- SAÑUDO, C. et al. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in the EU carcass classification system. **Meat Science**, Barking, v. 56, p. 89-54, 2000.
- SAÑUDO, C. A.; DELFA, R.; CASAS, M. Influencia del genótipo en la calidad de la carne del ternasco de Aragón. In: JORNADAS CIENTÍFICAS DE LA SOCIEDADE ESPÂNOLA

DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA, 16., 1992, Pamploma. Anais... Pamploma: SEOC, 1992. p. 473-479.

SCHAEFER, A. I. et al. The effects of fasting and transportation on beef cattle. 1. Acid-base-electrolyte balance and infrared heat loss of beef cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 20, p. 15-24, 1988.

SHEHAB-EL-DEEN et al. Cicardian rhythm of metabolic changes associated with summer heat stress in high producing dairy cattle. **Tropical Animal Health and Production**, Heidelberg, v. 42, p. 119-1125, 2010.

SILANIKOVE, N. Effects of het stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 67, p. 1-18, 2000.

SILVA, F. V. Estresse em cordeiros pelo transporte rodoviário e seu efeito sobre características da carcaça e carne. 2014. 171 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

SILVA, R. G. Instrução à Bioclimatologia Animal. Editoda Nobel, São Paulo, 286 p., 2000.

SIMÃO DA ROSA, M. **Ordenha sustentável: a interação retireiro-vaca**. 2004. 83 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Meslquita Filho", Jaboticabal, 2004.

SOUSA, M.B.C. et al. Resposta ao estresse:I. Homeostase e teoria da alostase. **Estudos de Psicologia**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 2-11, 2015.

SOUZA, X. R. et al. Efeitos do grupo genético, sexo e peso ao abate sobre as propriedades físico-químicas da carne de cordeiros em crescimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 543-549, 2004.

STARLING, J. M. C. et al. Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do cortisol em ovinos em ambiente tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2064-2073, 2005.

STEWART, M. et al. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare, **Animal Welfare**, Hertfordshire, v. 14, n. 4, p. 319-325, 2005.

STEWART, M. et al. Noninvasive measureament of stress in dairy cows using infrared thermography. **Physiology & Behaviour**, Oxford, v. 92, p. 520-525, 2007.

STEWART, M. et al. Eye temperature and heart variability of calves disbudded with or without local anesthetic. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 93, p. 789-797, 2008.

STRANGER, K. J. et al. The affect os transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. **Journal os Animal Science**, Champaing, v. 83, p. 2631-2636, 2005.

SÜMBERA, R. et al. Patterns of surfasse temperatures in two mole-rats (Bathyegidae) with different social systems as revelated by IR Thermography. **Physiology & Behaviour**, Oxford, v. 92, p. 526-532, 2007.

- TADICH, N. et al. Effects of weaning and 48 h transport by road and ferry on some blood indicators of welfare in lambs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 121, p. 132-136, 2009.
- TALUKDER, S. et al. Evaluation of infrared thermography for predictiong ovulation time in dairy cows. In: AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND SPATIALLY ENABLED LIVESTOCK MANAGEMENT SYMPOSIUM, 4., 2013, Sydney. **Proceedings...** Camden, NSW: Centre for Carbon, Water and Food, The University of Sydney, 2013. p. 43.
- THOM, E. C. The discomfort index. Weatherwise, Philadelphia, v. 12, p. 57-59, 1959.
- TITTO, E. A. L. et al. Reactivity of Nellore steers in two feedlot systems and its relationship with plasmatic cortisol. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 129, p. 146-150, 2010.
- TOLOSANO, E. et al. Enhance splenomegaly and severe liver inflammation in haptoglobin/hemopexin double-null mice after acute hemolysis. **Blood**, New York, v. 100, p. 4201-4208, 2002.
- TOOHEY, E. S.; HOPKINS, D. L. Effects of lairage time and electrical stimulation on sheep meat quality. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 46, p. 863–867, 2006.
- TOOHEY, E. S.; HOPKINS, D. L.; NIELSEN, S. G. Effectiveness of electrolytes for alleviating dehydration and improving carcass characteristics of adult sheep in lairage. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 46, p. 903–908, 2006.
- TSEIMAZIDES, S.P.; BARBALHO, P.C.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Avaliação da reatividade de bovinos no Box de atordoamento. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 22., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Etologia, 2004. CD ROM.
- VELASCO, S. et al. Carcass and meat quality of talaverana breed sucking lambs in relation to gender and slaughter weight. **Animal Science**, Cambridge, v. 70, p. 253-263, 2000.
- VERGARA, H.; MOLINA, A.; GALLEGO, L. Influence of Sex and Slaughter Weight on Carcass an Meat Quality in Light and Medium Weight Lambs Produced in Intensive Systems **Meat Science**. Barking, v. 52, n. 2, p. 221 226, 1999.
- VIANNA, D. M. L.; CARRIVE, P. Changes in cutaneous and body temperature during and after conditioned fear to context in the rat. **The European Journal of Neuroscience**, Oxford, v. 21, p. 2505–2512, 2005.
- WALDSMITH, J. K.; OLTAMANN, J. I. Thermography: subclinical inflammation, diagnosis, rehabilitation and atletic evaluation. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v. 14, p. 8-10, 1994.
- WEEKS, C.; NICOL, C. Poultry handling and transport. In: GRANDIN, T. **Livestock handling and transport**. 2. ed. Wallingford: CABI International, 2000. cap. 18, p.363-384.
- WORLD ANIMAL PROTECTION WAP. Abate humanitário: reduzimos o sofrimento dos animais. São Paulo: WAP. Disponível em: http://www.worldanimalprotection.org.br/nosso-

<u>trabalho/animais-de-producao/abate-humanitario-reduzimos-o-sofrimento-dos-animais</u>. Acesso em: 07 mar. 2016.

YOUNG, J. F.; BERTRAM, H. C.; OKSBJERG, N. Rest before slaughter ameliorates preslaughter stress-induced incresed drip loss but not stress-induced increase in the toughness of pork. **Meat Science**, Barking, v. 83, p. 634-641, 2009.

ZEOLA, N. M. B. L. et al. Influência de diferentes níveis de concentrado sobre a qualidade da carne de cordeiros Morada Nova. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 97, p. 175-180, 2002.

ZEOLA, N. M. B. L. et al. Parâmetros de qualidade da carne de cordeiros submetida aos processos de maturação e injeção de cloreto de cálcio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1558-1564, 2006.

ZEOLA, N. M. B. L. et al. Parâmetros qualitativos da carne ovina: um enfoque à maturação e marinação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 102, p. 215-224, 2007.

ZHONG, R. Z. et al. The effects of road transportation on physiological responses and meat quality in sheep differeing in age. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, p. 3742-3751, 2011.

ZIMECKI, M.; ARTYM, J. The effect of physic stress on the imune response. **Postepy Higieny i Medycyny Doświadczalnei**, Warsaw, v. 58, p. 166-175, 2004.

ZIPROUDINA, N.; MING, Z.; HÄNNINEN, O. O. P. Plantar infrared thermography measurements and low back pain intensity. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutic**, Lombard, v. 29, p. 219-223, 2006.

ZULKIFLI, I. Review of human-animal interactions and their impact on animal productivity and welfare. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 4, n. 1, p. 25, 2013. doi: 10.1186/2049-1891-4-25.

# 3. COMPORTAMENTO E ESTRESSE DE CORDEIROS SUBMETIDOS A DIFERENTES PERÍODOS DE TRANSPORTE E DESCANSO PRÉ-ABATE

#### Resumo

Objetivou-se avaliar os níveis de reatividade, comportamento animal, concentrações de cortisol no soro e na urina, haptoglobina e temperatura ocular de cordeiros mestiços (Santa Inês x Dorper) submetidos a transporte de duas ou seis horas e descanso pós-transporte de 12 ou 24 horas. Foram utilizados 32 cordeiros mestiços Dorper x Santa Inês, com 127  $\pm$  7 dias de idade e média de  $30.4 \pm 2.1$  kg de peso vivo. Sete dias antes do embarque realizou-se a colheita de sangue e urina e no dia do embarque foram realizadas colheitas de sangue, urina e termografia infravermelho no momento do embarque, no desembarque e ao final do período de descanso (12 ou 24 horas). Foi realizada a avaliação da reatividade dos animais durante a sua contenção em todas as colheitas. Os animais apresentaram boa adaptação a contenção durante o manejo de colheita de urina, sangue e foto termográfica. Os níveis de reatividade não apresentaram diferenças entre os períodos de transporte e descanso (P > 0.05). O período de transporte não alterou o comportamento dos animais (P > 0,05), enquanto que no período de descanso os ovinos apresentaram maior frequência nas atividades de deslocamento, ruminação, interação positiva entre os animais durante as 24 horas de descanso (P < 0,05) e sem atividade aparente durante as 12 horas de descanso. Não foi observado efeito dos transportes e dos períodos de descanso nas concentrações de cortisol no soro (P > 0,05). As concentrações de cortisol na urina e haptoglobina não diferiram entre as colheitas realizadas na fazenda, no embarque e no desembarque (P > 0,05), porém ao final do período de descanso, as concentrações diminuíram em relação as colheitas anteriores (P < 0,05). A temperatura ocular sinalizou o estresse, com pico no desembarque e diminuição ao final do período de descanso (P < 0,05). Ambos os tempos de transporte não influenciam nas respostas comportamentais dos cordeiros, enquanto que o período de descanso de 12 horas mostrou-se suficiente para que os níveis de bem-estar mantivessem-se adequados, possibilitando menor tempo de descanso após o transporte. A haptoglobina, o cortisol na urina e a termografia infravermelho apresentaram maior sensibilidade para as alterações fisiológicas que poderiam sinalizar o estresse.

Palavras-chave: Bem-estar animal. Cortisol. Dorper. Haptoglobina. Santa Inês.

# 3.1.Introdução

O transporte de animais podem causar injúrias, doenças e, na maioria das vezes, causar estresse aos animais, e este pode ser detectado por avaliações comportamentais, físicas e fisiológicas. A não familiaridade com o novo local onde os animais são inseridos após o transporte influencia diretamente na resposta comportamental e fisiológica dos animais, e que podem ser utilizadas como indicadores de bem-estar (APPLEBY, 2008).

O período de descanso após o trajeto percorrido é fundamental para que o organismo retome suas funções e entre em equilíbrio (MUMMA et al., 2006). Esse reestabelecimento é de fundamental importância para que os animais passem a expressar seu comportamento normal, além de ser indispensável para qualquer ser animal senciente.

Inúmeros trabalhos têm relatado a utilização do cortisol como hormônio do estresse (RHODES; NIPPO; GROSS, 1994; MCEWEN, 2005), e atualmente, tem-se avaliado também a haptoglobina, uma proteína de fase aguda (BETARGGIA et al., 2014), como biomarcador de estresse em diversas espécies de animais (PIÑEIRO et al., 2007; HUZZEY et al., 2009; PICCIONE et al., 2012; FAZIO et al., 2014; EL-DEEB, WL-BAHR, 2014).

Metodologias diversificadas têm sido aplicadas, juntamente com avaliações hematológicas para diagnosticar estresse em animais, sejam eles de produção ou não. Valera et al. (2012) afirmaram que a termografia infravermelho é uma metodologia não-invasiva e rápida para diagnosticar o estresse. Em diversas espécies tem-se utilizado a temperatura do ocular em resposta ao estresse, relacionando o aumento da dilatação dos vasos sanguíneos e o aumento da atenção visual dos animais (YARNELL; HALL; BILLETT, 2013). A temperatura ocular é uma alternativa para a avaliação dos níveis de estresse nos animais, pois devido à sua proximidade com o cérebro, é considerado um bom indicador da temperatura interna, que mesmo com pequenas alterações, elas podem indicar comprometimento do bem-estar animal (WESCHENFELDER et al., 2013).

Objetivou-se avaliar cordeiros mestiços (Santa Inês x Dorper) quanto aos níveis de reatividade durante a contenção para os manejos de colheita de amostras sanguíneas, urinária, fotografia termográfica e na contenção para embarque e desembarque após o tempo de transporte (duas ou seis horas), a influência do índice de temperatura e umidade no comportamento durante o tempo de descanso de 12 ou 24 horas após o transporte, e as concentrações de cortisol no soro, urinário, haptoglobina e a temperatura ocular durante os procedimentos realizados com os animais.

## 3.2. Material e Métodos

O estudo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP (Protocolo n° 2014-10). O experimento foi desenvolvido no mês de julho de 2014.

#### Local

Os ovinos permaneceram no Sítio Paraíso, localizado na cidade de Leme/SP (22°11'S e 47°23'W), cuja classificação climática de Köppen-Geiger é a Cfa (precipitação abundante é bem distribuídas ao longo de todo o ano) (KOTTEK et al., 2006), desde o nascimento até o momento de embarque e transporte para o Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP - localizado na cidade de Piracicaba/SP (22°43'S e 47°38'W), cuja classificação de Köppen-Geiger é a Cwa (invernos secos - a média do mês mais seco menor que um décimo da precipitação média do mês de verão mais úmido, ou menos de 40 mm) segundo Kottek et al. (2006), onde foram realizados os períodos de descanso após o transporte.

## **Animais**

No Sítio Paraíso, foram selecionados 32 cordeiros com  $127 \pm 7$  dias de idade, com peso médio de  $30,4 \pm 2,1$  kg e sadios (Tabela 3.1). Esses animais foram divididos em dois blocos para realização do experimento, ou seja, 16 animais foram transportados no dia 07/07/2014 e abatidos no dia 08/07/2014, e os demais, transportados no dia 29/07/2014 e abatidos no dia 30/07/2014.

Os animais foram alocados em baias coletivas, recebendo ração concentrada (farelos de soja e milho, calcário calcítico e núcleo com monensina), bagaço úmido de citros e volumoso (capim Napier (*Pennisetum purpureum*)) ad libitum.

**Tabela 3.1.** Hemograma e leucograma de cordeiros com  $127 \pm 7$  dias de idade

Hemograma	Média ± DPm	Valores de referência <sup>a</sup>
Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> / μL sg)	13,4 ± 1,2	$13,4 \pm 2,5$
Hemoglobina (g /dL)	$9,1 \pm 0,8$	$12,6 \pm 1,3$
Hematócrito (%)	$36,0 \pm 3,5$	$37,5 \pm 3,7$
Leucograma		
Leucócitos (/ μL sg)	6,9 ±1,9	$7,1 \pm 1,9$
Neutrófilos (/ $\mu L$ sg)	$3300 \pm 1038$	$4168\pm1501$
Linfócitos (/ µL sg)	$2948 \pm 1034$	$2246 \pm 890$
Monócitos (/ μL sg)	$434 \pm 244$	$389 \pm 195$
Eosinófilos (/ μL sg)	$186 \pm 189$	$219 \pm 145$

sg = sangue

# Manejo

Foram realizadas quatro colheitas de sangue e urina no Sítio Paraíso, com intervalado de sete dias entre elas. As duas primeiras colheitas foram realizadas para que os animais acostumassem com o novo manejo (resultados não incluídos neste estudo), e uma semana antes dos animais do embarque e no dia do embarque foram colhidas as demais amostras de sangue e urina. No dia do embarque, foram também tiradas fotos infravermelho dos olhos dos animais, e então foram transportados para o CENA, onde foram realizadas os mesmos procedimentos em períodos distintos.

Para a colheita de urina no Sítio Paraíso, os animais foram contidos no creep-feeding, onde recebiam concentrado. Foi realizada colheita de urina com a inserção do coletor na região peniana dos cordeiros e retirado logo após a micção. A amostra de urina foi transferida e armazenada em coletor universal de 80 mL (confeccionado em poplipropileno e com tampa de rosca), devidamente identificada com o número do animal e data de colheita, em caixa de isopor com gelo, até a chegada no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) no CENA/USP onde foi armazenada em congelador a – 20 °C até o momento da análise.

Após a colheita de urina, os animais foram contidos fisicamente entre as pernas de um humano, de forma a limitar o movimento do animal para a colheita de sangue. O procedimento foi realizado através da venopunção da jugular, utilizando-se tubos a vácuo sem anticoagulante. Em seguida as amostras foram identificadas com o número do animal e data da colheita, armazenadas em isopor com gelo até a transferencia para congelador a -20 °C, no LANA.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Madureira et al. (2013)

Em todas as colheitas (inserção do coletor, retirada do coletor e colheita de sangue) foi observado o nível de reatividade dos animais, como descrito no etograma de trabalho abaixo (Tabela 3.2), adaptado de Leme (2009).

**Tabela 3.2.** Etograma de trabalho para avaliação de reatividade animal

Nível de reatividade	Classificação da reatividade	Característica da reatividade
1	Tranquilo	Deixa realizar o manejo com tranquilidade sem
1	Tranquilo	movimentação.
2	Tenso	Deixa realizar o manejo, mas tem olhos e orelhas atentos.
3	Agitado	Deixa realizar o manejo, mas movimenta-se com frequência.
4	Muito Agitado	Não deixa realizar o manejo, movimenta-se com intensidade.
5	Agressivo	Não deixa realizar o manejo, pula, foge.

No dia do deslocamento dos animais, realizou-se as colheitas mencionadas acima, além da colheita de fotos termográficas por infravermelho do olho direito (WESCHENFELDER et al., 2013) de todos os animais, com ponto principal a carúncula lacrimal. Também foi avaliado os níveis de reatividade durante este manejo.

Dezesseis animais foram separados aleatoriamente entre o transporte de seis horas e duas horas. No embarque, às 11:00, oito animais (de cada bloco) foram alocados no caminhão, manualmente (os animais foram segurados na base inferior do peito e próximo a virilha, e colocados de forma segura e tranquila no caminhão), transportados por período de quatro horas, em rodovia asfáltica, em um caminhão e mostorita cedido pelo Instituto de Zootecnia (Nova Odessa-SP), e retornou ao Sítio Paraíso para que o demais fossem transportados por duas horas, período esse que levaria da propriedade Paraíso até o CENA/USP, com velocidade média de 90 km/h. O caminhão F4000 com carroceria tipo boiadeira de 12 m², com área disponível de 0,75 m² por animal, medidas essas superiores que as sugeridas por Broom (2008), de 0,24 m² para animais deslanados com até 40 kg de peso vivo. Finalizado o período de transporte, às 17:00, os animais foram descarregados do caminhão manualmente, como descrito anteriormente, e alocados aleatoriamente em duas baias coletivas (área de 15 m² cada), com área de 1,87 m² para cada animal, área superior ao indicado por Paim, McManus e Louvandini (2010) para animais em confinamento (0,8 m²/animal), distinguindo entre os períodos de descanso de 12 ou 24 horas.

Logo após o desembarque, realizou-se as colheitas de sangue e urina, além do registro da foto termográfica de todos os animais.

Durante o período de descanso, foi avaliado o comportamento dos cordeiros, seguindo o etograma de trabalho da Tabela 3.3, adaptado de Leme (2009). Os dados foram obtidos

através de colheita instantânea, preconizada por Martin e Bateson (1993), com amostragem focal e intervalo de 10 minutos, de forma direta. Foi também realizada a colheita de temperatura e umidade ambiente para a utilização do índice de temperatura e umidade (ITU) do local, calculada a partir da fórmula ITU = Ta + 0.36Tpo + 41.5, onde Ta é a temperatura do ar e Tpo é a temperatura do ponto de orvalho, embos em grau Celsius (°C) (THOM, 1959).

**Tabela 3.3** Etograma de trabalho de atividades comportamentais

Atividades Comportamentais		
Deslocamento	Os animais mudam os membros de lugar e saem do local inicial.	
Ingestão de água	Contato direto com a lâmina de água e sucção.	
Ruminação	Movimentos de mastigação após a volta do bolo alimentar.	
Interação entre animais	Os animais tocam, lambem uns aos outros - interação positiva.	
Outras atividades	Atividades de urinar, defecar, balir, coçar, entreter com o ambiente.	
Sem atividade aparente	Os animais apresentam-se parados, sem movimentação aparente.	
Sem an vidade aparente	Os animais apresentani-se parados, sem movimentação aparente.	

# Concentração de Cortisol

Todas as amostras de soro e urina foram analisadas em duplicata, por radioimunoensaio (RIA), seguindo a metodologia do kit comercial (MP Biomedicals, LLC, Orangeburg, New York) para contador automático Gama (Wizard 2; Perking Elmer, Downs Grove, IL. USA).

## Concentração de Haptoglobina

As amostras de soro foram analisadas em duplicatas pelo método imunoturbimétrico (espectrofotometria), seguindo a metodologia do kit comercial (Wiener Laboratorios, Rosario, Argentina), pelo contador automático Epoch<sup>TM</sup> Microplate Spectrophotometer (BioTek<sup>®</sup> Instruments, Inc, Winooski, Vermount, USA), do laboratório Ecologia Aplicada, CENA/USP.

# Termografia Infravermelho

As fotos de termografia infravermelho foram registradas com câmera termográfica (Flir i-Series<sup>®</sup> system) do olho direito de cada animal, adaptado de Stewart et al. (2008), a um metro de distância, e fator de emissão de 0,98, perpendicular ao olho dos animais. O foco das fotos foi a carúncula lacrimal. Para análise das fotos foi utilizado o *Quick Report*<sup>®</sup> (QBS

Software Limited, United Kindom), avaliando-se a área da carúncula lacrimal, e utilizando-se a temperatura máxima da área.

## Análise Estatística

Foi testado o efeito dos diferentes dias da condução do experimento (blocos) e não foi detectada diferença (P > 0,05), assim como não houve interação (P > 0,05) entre os períodos de transportes e de descanso, sendo estes removidos do modelo estatístico e os dados analisados separadamente, assim como realizou-se o teste de normalidade de distribuição em todas as variáveis, na qual apenas uma variável apresentou não linearidade nos dados (reatividade).

Os níveis de reatividade foram analisados através do teste Chi-quadrado/Fisher ao nivel de 5 % de significância e as médias obtidas pelo procedimento FREQ do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC).

Foram utilizadas as frequências relativas de cada atividade comportamental em 4 períodos intermediários (25, 50, 75 e 100 %) de ambos os períodos de descanso. Para verificar o efeito dos tempos de transporte, descanso e os períodos avaliados sobre as variáveis comportamentais, os dados foram submetidos a análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) com medidas repetidas no tempo e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Foi utilizado o procedimento PROC CORR do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) entre o ITU e as variáveis comportamentais. Foi realizado o procedimento PROC FACTOR do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) como propósito de constatar a relação entre as variáveis em ambos os tempos de descanso.

Para verificar o efeito dos tempos de transporte e descanso sobre os níveis de cortisol, haptoglobina e termografia ocular, os dados foram submetidos a análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) com medidas repetidas no tempo e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Foi utilizado o procedimento PROC CORR do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) entre as variáveis cortisol (sanguíneo e urinário), haptoglobina e termografia ocular (carúncula lacrimal). Foi realizado o procedimento PROC FACTOR do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) como propósito de constatar a relação entre as variáveis.

#### 3.3. Resultados

Os níveis de reatividade não apresentaram diferenças estatísticas (P > 0,05) entre os períodos de transporte (2 ou 6 horas) ao retirar o coletor de urina ( $\chi^2 = 3,042$ , P = 0,385) e durante a colheita de sangue ( $\chi^2 = 3,294$ , P = 0,3). O mesmo ocorreu para os períodos de descanso (12 ou 24 horas) (P > 0,05) na retirada do coletor de urina ( $\chi^2 = 3,172$ , P = 0,4) e durante a colheita de sangue ( $\chi^2 = 0,152$ , P = 1,0). Ao colocar o coletor, todos os animais apresentaram reatividade baixa (nível 1), desta forma, não foi possível relacionar os níveis de reatividade entre os tempos de transportes e de descanso.

Os períodos (25, 50, 75 e 100 %), os tempos de descanso após o transporte e o ITU influenciaram (P < 0.05) no comportamento dos cordeiros, enquanto que o tempo de transporte, a interação entre transporte e período e a interação entre transporte e descanso não foram influenciados (P > 0.05) (Tabela 3.4).

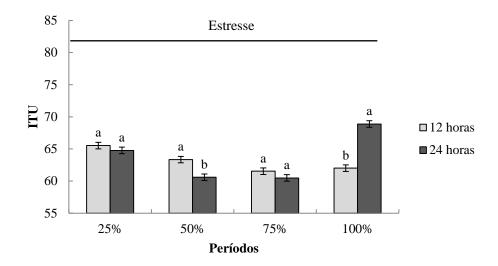
**Tabela 3.4.** Resumo da análise de variância da atividade comportamental e ITU de cordeiros submetidos a duas ou seis horas de transporte e 12 ou 24 horas de descanso

	Atividade Comportamental					
Efeitos	Desloc	Ing. Agua	Rumin	Int. Animais	OA	SAA
% do Período de observação (P)	0,028	0,603	<0,0001	0,001	0,049	0,0003
Transporte (T)	0,947	0,977	0,109	0,58	0,848	0,231
T*P	0,578	0,178	0,387	0,348	0,913	0,855
Descanso (D)	0,0003	0,67	0,001	0,001	0,788	0,025
D*P	0,555	0,133	<0,0001	<0,0001	0,002	0,0005
T*D	0,718	0,19	0,519	0,148	0,607	0,435
ITU	0,967	0,839	0,005	0,0001	0,354	0,85

% do Período de observação: frequência relativa de cada atividade comportamental em 4 períodos intermediários (25, 50, 75 e 100%); Desloc: deslocamento; Ing. Água: ingestão de água; Rumin: ruminação; Int. Animais: interação positiva entre animais; OA: outras atividades; SAA: sem atividade aparente; P: proporção (%) do período de observação; T: transporte; D: descanso; ITU: índice de temperatura e umidade.

O índice de temperatura e umidade (ITU) variou entre os períodos avaliados nos tempos de descanso dos cordeiros (Figura 3.1). As médias de ITU para os animais que permaneceram em descanso por 12 horas foram 65,53, 63,34, 61,54 e 62,01 para os períodos 25, 50, 75 e 100 %, dos quais o período 25 % difere (P < 0,05) dos demais períodos, assim como 50 e 75 % também diferem (P < 0,05) entre si, enquanto que o período 100 % é semelhante a eles. Para os animais do grupo de descanso de 24 horas, a média de ITU para o período de 25, 50, 75 e 100 % foi de 64,8, 60,6, 60,5 e 68,9, dos quais, o período 100 % obteve a maior média, diferindo (P < 0,05) dos demais períodos, o período de 25 % diferiu (P < 0,05) dos períodos 50 e 75 %, que não diferiram (P > 0,05) entre si. O período 50 e 100 %

apresentaram diferenças significativas (P < 0.05) entre os tempos de descanso, onde aos 50 %, a média de ITU para o tempo 12 horas foi superior ao de 24 horas (63,3 e 60,6 respectivamente) e aos 100 %, o tempo de 24 horas apresentou média superior (68,9) em relação aos tempo de 12 horas (62,01).



**Figura 3.1.** Índice de temperatura e umidade durante os períodos de 25, 50, 75 e 100 % de avaliação comportamental de cordeiros submetidos a dois tempos de descanso.

As avaliações comportamentais estão apresentadas na Tabela 3.5. Os animais que permaneceram 12 horas de descanso após o transporte apresentaram diferenças (P < 0,05) entre os períodos avaliados, permanecendo mais tempo em deslocamento nos primeiros 25 % do período avaliado (12,8), em relação aos demais períodos, com frequências de 8,7, 7,2 e 8,5 nos 50, 75 e 100 % dos períodos, respectivamente. Já os animais que permaneceram 24 horas de descanso após o transporte não apresentaram diferenças entre os períodos avaliados. Para esta mesma variável, foi observada que os animais com menor tempo de descanso (12 horas) apresentaram maior frequência no comportamento de deslocamento nos períodos de 25, 50 e 75 % em relação ao grupo de descanso de 24 horas (Tabela 4) e não diferiu no período 100 %.

A atividade de ruminar, para os animais que permaneceram por 12 horas de descanso, teve maior frequência nos períodos 75 (31,2) e 100 % (26,5) que não diferiram entre si (P>0,05), e diferiram (P<0,05) entre os períodos de 25 e 50 %, apresentaram frequência de 17,3 e 15,1 respectivamente, não apresentando diferenças entre si (P>0,05). Para os animais que permaneceram por 24 horas de descanso, houve diferença (P<0,05) entre as frequências

esta atividade, onde aos 75 % do período, eles apresentaram maior frequência de ruminação, seguido do período de 50 %, enquanto que nos períodos de 25 e 100 % apresentaram as menores frequências, não apresentando diferenças entre si (P > 0,05). Os animais que permaneceram por 24 horas de descanso apresentaram maior frequência desta atividade (P < 0,05) nos 50 e 75 % em relação aos animais com 12 horas de descanso, enquanto que no período de 100 %, os animais que permaneceram por menor período de descanso, apresentaram maior frequência de ruminação do que os animais com maior tempo de descanso (Tabela 3.5).

Observou-se que os animais com 12 horas de descanso pós transporte apresentaram maior frequência de interação positiva entre os animais nos primeiros 25 % do período avaliado, diferindo (P < 0.05) do período 50 %, no qual foi observado diminuição dessa atividade. Já os períodos 75 e 100 % não diferiram entre si (P > 0.05), porém diferem (P < 0.05) dos demais períodos. Os animais que permaneceram por 24 horas de descanso pós transporte, apresentaram maior comportamento de interação no período final avaliado (100 %), diferindo (P < 0.05) dos períodos 25 e 75 %, que não diferiram entre si (P > 0.05); o período 50 % foi o que apresentou menor frequência dessa atividade, diferindo (P < 0.05) dos demais períodos. Foi observado diferença (P < 0.05) entre os tempos de descanso de 12 ou 24 horas nas frequências de 75 e 100 %, onde os animais das 24 horas apresentaram maior frequência dessa atividade em ambos os períodos.

Atividades de balir, defecar e urinar, denominadas de outras atividades, não apresentaram diferenças (P > 0.05) entre os períodos 25, 50, 75 e 100 % para os animais de 12 horas de descanso, enquanto que para o outro grupo, essas atividades tiveram uma maior frequência no ultimo período avaliado, diferindo (P < 0.05) dos demais períodos. Entre os tempos de descanso foi observado diferença (P < 0.05) nos períodos 50 %, com maior frequência dessa atividade nos cordeiros que permaneceram menor tempo de descanso e no período de 100%, nos animais que permaneceram maior tempo de descanso.

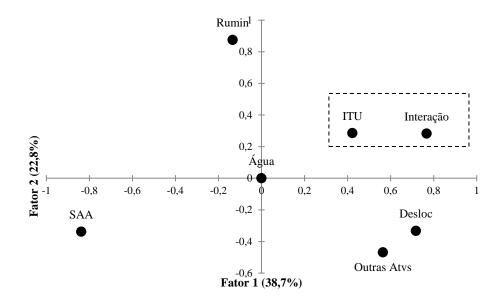
O item sem atividade aparente foi diferente estatisticamente (P < 0.05) nos períodos das 24 horas de descanso, onde as maiores frequências dessa atividade foram nos 25 e 50 % do período avaliado em relação aos 75 e 100 %, que não diferiram entre si (P > 0.05). Houve diferença (P < 0.05) entre os tempos de descanso nos períodos 75 e 100%, onde os animais de 12 horas apresentaram maior frequência dessa atividade em ambos os períodos.

**Tabela 3.5.** Avaliação comportamental de cordeiros submetidos a dois tempos de descanso pós transporte em quatro períodos (25, 50, 75 e 100 %)

	Deslocame	ento	
Período	12 horas	24 horas	±EPM
25%	12,8aA	6,98aB	1,97
50%	8,67bA	3,35aB	2,08
75%	7,17bA	2,18aB	1,98
100%	8,52b	7,46a	2,62
	Ruminaç	ão	
25%	17,3b	17,70c	4,22
50%	15,12bB	36,15bA	4,45
75%	31,17aB	53,10aA	4,23
100%	26,52aA	15,13cB	5,59
	Interação entre	Animais	
25%	8,88a	7,31b	2,07
50%	3,50b	0,96c	2,17
75%	0,53bcB	6,91bA	2,07
100%	0,01cB	15,35aA	2,7
	Outras ativi	dades	
25%	17,22	13,45b	3,4
50%	19,00A	9,24bB	3,58
75%	13,83	10,77b 3,41	
100%	12,72B	27,14aA	4,49
	Sem Atividade	Aparente	
25%	43,39	53,88a	5,33
50%	53,27	50,18a 5,61	
75%	46,9A	26,90bB	5,35
100%	52,8A	34,03bB	6,97

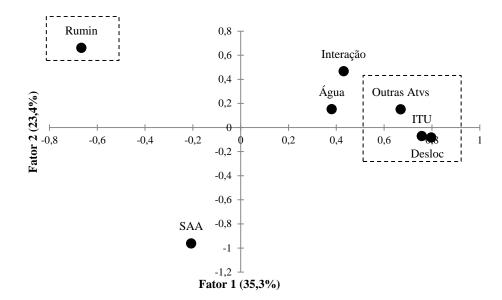
Valores seguidos de letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, são estatisticamente diferentes (P > 0.05) pelo teste de Tukey.

A análise de correlação, entre a variável ambiental e as variáveis comportamentais em 12 horas de descanso, foi positiva entre o ITU e a interação entre animais (r = 0.49; P = 0.004). Não foram observadas (P > 0.05) correlações entre o ITU e as demais variáveis comportamentais. Estas relações estão exemplificadas na análise dos componentes principais para o tempo de descanso de 12 horas (Figura 3.2).



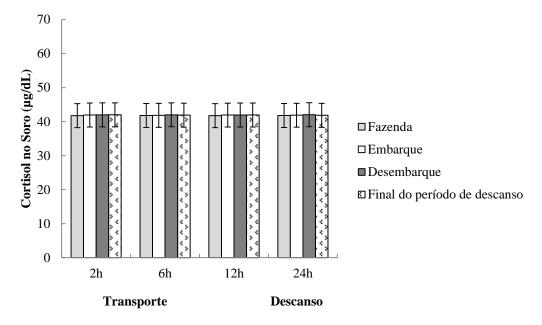
**Figura 3.2.** Dois primeiros fatores principais mostrando a relação entre o ITU e as variáveis comportamentais de cordeiros em período de descanso de 12 horas. ITU=índice de temperatura e umidade, Desloc=deslocamento, Água=ingestão de água, Rumin=ruminação, Int. Animais= interação positiva entre animais, Outras Atvs=outras atividades (balir, defecar, urinar), SAA=sem atividade aparente.

No período de descanso de 24 horas, houve correlação positiva entre o ITU e as variáveis deslocamento (r = 0.51; P = 0.002) e outras atividades (r = 0.52; P = 0.002), enquanto que a variável ruminação apresentou correlação negativa (r = -0.37; P = 0.03). Não foram observadas (P > 0.05) correlações entre o ITU e as variáveis comportamentais ingestão de água, interação entre animais e sem atividade aparente. Estas relações estão exemplificadas na análise dos componentes principais para o tempo de descanso de 24 horas (Figura 3.3).



**Figura 3.3.** Dois primeiros fatores principais mostrando a relação entre o ITU e as variáveis comportamentais de cordeiros em período de descanso de 24 horas. ITU=índice de temperatura e umidade, Desloc=deslocamento, Água=ingestão de água, Rumin=ruminação, Int. Animais= interação positiva entre animais, Outras Atvs=outras atividades (balir, defecar, urinar), SAA=sem atividade aparente.

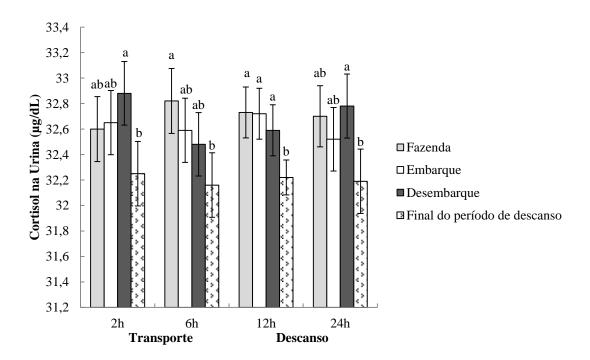
Não houve efeito (P > 0,05) do tempo de transporte e do tempo de descanso nos níveis de cortisol no soro entre a colheita realizada no Sítio Paraíso, no dia do embarque, no desembarque e no final do período de descanso (Figura 3.4).



**Figura 3.4.** Níveis de cortisol no soro de cordeiros submetidos a dois tempos de transporte (2 ou 6 horas) e dois tempos de descanso (12 ou 24 horas).

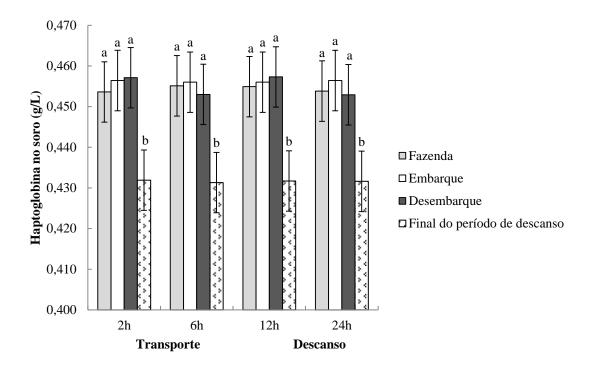
O tempo de transporte assim como o tempo de descanso alteraram (P < 0.05) os níveis de cortisol na urina entre as colheitas realizadas (Figura 3.5). No tempo de transporte de duas horas, os níveis de cortisol na urina diferiram (P < 0.05) entre o desembarque e o final do período de descanso, com médias de 32,9 e 32,2 µg/dL respectivamente, não diferindo (P > 0.05) das demais colheitas. No transporte de seis horas, houve diferença significativa entre a colheita realizada no Sítio Paraíso (sete dias antes do início do experimento) e o final do período de descanso (32,8 e 32,2 µg/dL), não diferindo das demais colheitas (P > 0.05).

No tempo de descanso de 12 horas, foi observado queda nos níveis de cortisol na urina no final do período (32,2  $\mu$ g/dL), que diferiu (P > 0,05) das colheitas realizadas no Sítio Paraíso (32,7  $\mu$ g/dL), no embarque (32,7  $\mu$ g/dL) e no desembarque (32,6  $\mu$ g/dL), visto que estes não diferiram (P > 0,05) entre si. No período de 24 horas, a média do nível de cortisol na urina foi mais baixa no final do período de descanso, com média de 32,2  $\mu$ g/dL, diferindo da colheita realizada no Sítio Paraíso (32,7  $\mu$ g/dL) e do desembarque (32,8  $\mu$ g/dL), enquanto que a média para a colheita realizada no embarque (32,5  $\mu$ g/dL) não diferiu (P > 0,05) das demais.



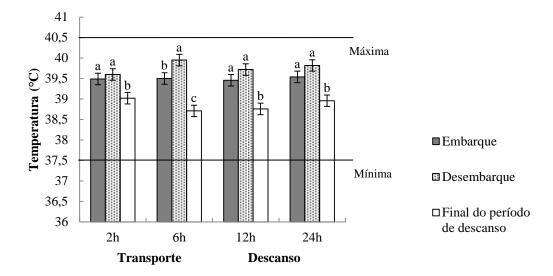
**Figura 3.5.** Níveis de cortisol na urina de cordeiros submetidos a dois tempos de transporte (2 ou 6 horas) e dois tempos de descanso (12 ou 24 horas).

Os níveis de haptoglobina apresentaram menores concentrações no final do período de descanso (Figura 3.6), tanto nos animais submetidos a 2 ou 6 horas de transporte (0,432 e 0,431 g/L) como para os animais que permaneceram por 12 ou 24 horas em descanso (0,432 e 0,432 g/L), diferindo estatisticamente ( P < 0,05) da colheita realizada no Sítio Paraíso (0,454 e 0,455 g/L para os animais transportados por 2 ou 6 horas e 0,455 e 0,454 g/L para os animais submetidos a 12 ou 24 horas de descanso), no embarque (0,456 g/L tanto para os tempos de transporte quanto para os tempos de descanso), e no desembarque (0,457 e 0,453 g/L para 2 ou 6 horas de transporte assim como para 12 ou 24 horas de descanso), que não diferiram estatisticamente (P > 0,05) entre si.



**Figura 3.6.** Concentração de haptoglobina no soro em cordeiros submetidos a dois tempos de transporte (2 ou 6 horas) e dois tempos de descanso (12 ou 24 horas).

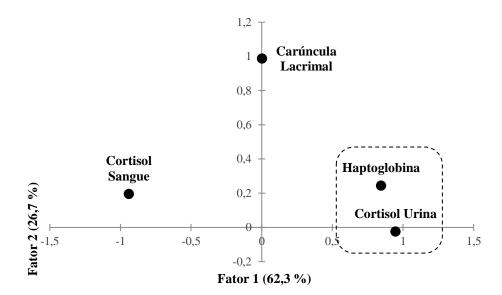
A termografia infravermelha da carúncula lacrimal de cordeiros submetidos aos dois períodos de transporte e a dois períodos de descanso está apresentada na Figura 3.7.



**Figura 3.7.** Média da temperatura máxima da carúncula lacrimal de cordeiros submetidos a tempos de transporte de duas ou seis horas e descanso de 12 ou 24 horas.

Em todos os tratamentos, a média da temperatura máxima da carúncula lacrimal dos cordeiros (Figura 3.7) foram mais baixas após o período de descanso (39,0 °C no transporte de duas horas, 38,7 °C para o transporte de seis horas, 38,8 ° no período de descanso de 12 horas e 38,9 °C no período de 24 horas de descanso), diferindo (P < 0,05) das medidas realizadas no embarque (39,5 e 39,5 °C para os transportes de duas ou seis horas e 39,5 e 39,5 °C para os períodos de descanso de 12 ou 24 horas) e no desembarque (39,6 e 39,9 °C para os transportes de duas ou seis horas e 39,7 e 39,8 °C para os períodos de descanso de 12 ou 24 horas), que não diferiram (P > 0,05) entre si.

Entre as variáveis fisiológicas, houve correlação negativa entre o cortisol no soro e o cortisol na urina (r = -0.89; P < 0.0001) e a haptoglobina (r = -0.67; P < 0.0001), e positiva entre o cortisol na urina e a haptoglobina (r = 0.68; P < 0.0001).



**Figura 3.8.** Dois primeiros fatores principais mostrando a relação entre as variáveis fisiológicas de cordeiros.

#### 3.4. Discussão

A contenção dos animais para colheita de amostras pode representar fator estressante, neste sentido tomou-se o cuidado de realizar duas colheitas antes do início do experimento conforme detalhado no material e métodos para que os ovinos se habituassem com os procedimentos e as pessoas envolvidas, reduzindo o estresse das colheitas de amostras, pois segundo a OIE (2014), quanto maior o contato dos animais com os humanos, menor a distância de fuga, quando comparado a animais criados extensivamente, assim como os animais podem ser preparados para manejo prévio adequando (BROOM, 2005).

Os períodos de duas ou seis horas de transporte não alteraram o comportamento dos animais, muito provavelmente pelo fato dos animais serem contemporâneos e já conviverem juntos na fazenda, sugerindo então bom bem-estar para os animais, pois Llonch et al. (2015) relataram que um dos fatores que afetam o comportamento dos animais no transporte é a inclusão de animais desconhecidos, sexo e idades distintas, aumentando consequentemente o nível de estresse.

Já o período de descanso interferiu no comportamento dos ovinos, pois os animais que permaneceram por 12 horas de descanso apresentaram maior frequência de atividades variadas (vocalizar, urinar, defecar, entre outras) aos 50 % do tempo e mantiveram a frequência de ruminação moderada, enquanto que os animais de 24 horas aumentaram a frequência das atividades variadas no final da avaliação (100 %), e diminuíram a ruminação,

muito provavelmente devido ao período de jejum por sólidos, ao qual foram submetidos, que poderia estar sinalizando estresse. Cockram (2004) relatou que as respostas comportamentais como vocalizar, urinar e defecar são indicativos de estresse, porém como esses comportamentos foram pouco observados, sugere-se que os animais se adaptaram bem ao novo ambiente, e, embora a frequência de ruminação tenha diminuído, ainda esteve presente até o final das medidas comportamentais.

A variável sem atividade aparente foi mais recorrente no grupo de descanso de 12 horas, quando as temperaturas apresentaram-se mais amenas (com mínima de 11 °C) e durante a noite, em aproximadamente 50 % de todos os períodos de observação (25, 50, 75 e 100 %). Para os animais do grupo de 24 horas houve maior frequência da falta de atividade nos períodos 25 e 50 %, porém com o aumento da temperatura (com máxima de 24,7 °C) durante o dia. A frequência da falta de atividade diminuiu nos animais de 24 horas de descanso no período 75 e 100 %, o que pode ter acontecido foi que, devido o tempo de jejum por sólido dos animais do período de 24 horas, os animais passaram a aumentar a frequência dos demais comportamentos talvez na busca por alimento pelo estresse da fome (Tabela 3.4). Zanine et al. (2006) relataram que o comportamento sem atividade aparente ocorre mais intensamente nos horários mais quentes do dia, de forma que o animal busque, na maioria das vezes, o equilíbrio térmico do seu corpo, dissipando o calor, mas tal observação não se refere a ovinos que estão sob jejum, como é o caso aqui relatado.

A avaliação ambiental durante o período de descanso dos animais sugere um ambiente sem estresse, ou seja, confortável, visto que valores de ITU abaixo de 82 caracterizam ambiente favorável para ovinos, enquanto que valores de ITU entre 82-84 considera-se um ambiente moderado, de 84-86 severo e acima de 86 extremamente severo (MARAI et al., 2007). Nos ovinos que permaneceram por 12 horas de descanso (Figura 3.2), observou-se que as características do ambiente (ITU) agiram de forma sinérgica com a variável interação positiva favorecendo o bem-estar. Já os animais que permaneceram por 24 horas de descanso (Figura 3.3), o ITU se relaciona com as características associadas ao estresse com aumento de deslocamento, outras atividades e diminuição da ruminação. Sinalizando mais uma vez que o tempo de espera de 24 horas diminui o bem-estar dos animais.

Em ambos os períodos de transporte não foram observadas alterações nas concentrações de cortisol no soro em todas as colheitas realizadas (P > 0,05), com média de 41,9 ± 3,52 μg/dL. Broom et al. (1996) relataram que a concentração de cortisol aumenta 30 minutos após o embarque, e retorna para valores basais em aproximadamente uma hora. Como no presente trabalho não houve colheita de sangue durante o transporte, somente no

embarque e desembarque, é possível que não tenham sido observadas diferenças no cortisol do soro por este motivo, pois o intervalo entre uma colheita e outra foi de no mínimo de duas horas para o período de transporte menor e de seis horas para o maior, não sendo observado o pico de cortisol no soro dos ovinos nesta fase. Tadich et al. (2009) relataram que 10 horas de estabulação foi suficiente para que ovinos retornassem seus níveis de cortisol no soro aos níveis basais e Liu et al. (2012) relataram que o retorno da concentração do cortisol inicial ocorre de seis a 12 horas de descanso, enquanto que períodos de descanso entre 24 e 48 horas podem influenciar no aumento dos níveis deste hormônio.

Animais transportados por duas horas apresentaram pico de cortisol na urina no momento do desembarque em relação ao período final de descanso (P < 0,05), denotando que o curto período de transporte foi possível verificar o aumento do cortisol no animal uma vez que o teor presente na urina reflete o sanguíneo (HAY; MORMÈDE, 1998). Enquanto que nos animais transportados por seis horas, ocorreu a queda gradual do cortisol na urina, indicando tempo suficiente para adaptação dos ovinos a esta situação nova imposta a eles, conforme descrito também por Cockram et al. (1997).

Já nas avalições de cortisol na urina nos períodos de descanso, observou-se que, no desembarque os animais que permaneceram por 24 horas de descanso apresentaram maiores concentrações desse hormônio em relação ao final do período de descanso (P < 0,05) e que os animais que permaneceram por 12 horas de descanso apresentaram queda gradual das concentrações de cortisol, com baixas concentrações ao final do período de espera. Tendo em vista que o cortisol do sangue não apresentou alterações entre os períodos avaliados, e na urina sim, sugere-se maior confiabilidade do exame na urina em virtude dos tempos quando foram realizadas as colheitas.

A haptoglobina tem apresentado alta correlação com estresse (GONZÁLES et al., 2007), embora esteja comumente relacionada a sinalização de inflamação, infecção e processos neoplásicos (DOBRYSZCKA, 1997). Price e Nolan (2001), em estudo realizado na Escócia, e Tadich et al. (2009) no Chile, consideraram como valores de referência para haptoglobina em cordeiros de zero a 0,2 g/L. Os parâmetros hematológicos (Tabela 3.1) estavam dentro dos valores de referência da espécie (MADUREIRA et al., 2013), e confirmaram que os ovinos estavam saudáveis, deste modo as alterações de haptoglobina encontradas aqui são sugestivas de estarem associadas ao estresse.

Segundo Morrow-Tesch e Whitehead (1998), Murata, Shimada e Yoshioka (2004) e Piccione et al. (2012), o aumento das concentrações de haptoglobina ocorre após os animais receberem estímulo estressante. Infere-se, deste modo, que os resultados de haptoglobina foram

referentes ao estresse dos animais, no transporte e no período de descanso, na fazenda, no embarque e no desembarque (Figura 3.6), visto que ao final do período de descanso os animais apresentaram concentrações mais baixas de haptoglobina, do que quando foram submetidos ao transporte (P < 0,05). Sendo assim, observou-se que a haptoglobina não atua apenas associada aos mecanismos de defesa do corpo, mas também em relação ao estresse social e ambiental. O estresse pode ser desencadeado em consequência de uma simples alteração no manejo dos animais, o que pode ter influenciado nas altas concentrações de haptoglobina na colheita realizada na fazenda, e em decorrência do transporte, mantiveram-se altas, quando comparadas com as concentrações ao final do período de descanso. Ao final do período de descanso foi observado que suas concentrações diminuíram, em ambos os tratamentos (Figura 3.6), sugerindo que o local em que os animais foram inseridos era favorável ao seu bem-estar.

A utilização da termografia infravermelho vem sendo usada com frequência na produção animal, com enfoque no bem-estar (MCMANUS et al., 2016). A técnica de termografia infravermelho é baseada no princípio que os corpos emitem radiação infravermelha, que é proporcional a sua temperatura (ROBERTO; SOUZA, 2014), que varia de 37,5 a 40,5 °C (VERÍSSIMO, 2009). No presente estudo, as temperaturas no embarque e o desembarque apresentaram-se aumentadas (média de 39,2 °C), retornando a temperaturas mais baixas (38,3 °C) após o descanso (P < 0,05), indicando situação de estresse imposta aos animais (Figura 3.7), pois Stubsjøen et al. (2009) também observaram que ovinos submetidos a manejos diferentes do usual, como o transporte, apresentam temperaturas mais altas na região ocular no primeiro manuseio, e diminuem com o tempo. Ao final do período de descanso, tanto os animais do período de 12 horas quanto os de 24 horas apresentaram queda de aproximadamente 1 °C na temperatura da carúncula lacrimal, quando comparadas as colheitas realizadas no embarque e no desembarque.

A haptoglobina e o cortisol na urina apresentaram comportamentos semelhantes no organismo animal (Figura 3.8), sugerindo melhor sinalização em relação ao estresse, quando comparadas ao cortisol sérico, pelo protocolo de colheita utilizado no presente estudo.

## 3.5. Conclusão

Ambos os tempos de transporte não influenciam nas respostas comportamentais dos cordeiros, enquanto que o período de descanso de 12 horas mostrou-se suficiente para que os níveis de bem-estar mantivessem-se adequados. A haptoglobina, o cortisol na urina e a

termografia infravermelho são métodos que permitem avaliar as alterações no organismo animal que sinalizam o estresse.

#### Referências

APPLEBY, M. C. Science of animal welfare. In: APPLEBY, M. C.; CUSSEN, V.; GARCÉS, L.; LAMBERT, L. A.; TURNER, J. (Ed.). **Long distance transport and welfare of farm animals**. Wallingford, UK: CAB International, 2008. p. 1-17.

BETARGGIA, E. et al. Haptoglobin is required to prevent oxidative stress and muscle atrophy. **Plos ONE**, San Francisco, v. 9, n. 6, e100745, p. 1-5, 2014.

BROOM, D. M. The welfare of livestock during transport. In: APPLEBY, M. C.; CUSSEN, V.; GARCÉS, L.; LAMBERT, L. A.; TURNER, J. (Ed.). **Long distance transport and welfare of farm animals**. Wallingford, UK: CAB International, 2008. p. 157-181.

BROOM, D. M. The effects of land transport on animal welfare. **Revue Scientifique et Technique**, Paris, v. 24, n. 2, p. 683-691, 2005.

BROOM, D. M. et al. Hormonal and physiological effects of a15 hour road journey in sheep: comparison with the responses to loading, handling and penning in the absence of transport. **British Veterinary Journal**, London, v. 152, p. 593–604, 1996.

COCKRAM, M. S. et al. Effect of lairage during 24 h of transport on the behavioural and physiological responses of sheep. **Animal Science**, Cambridge, v. 65, p. 391–402, 1997.

COCKRAM, M. S. A review of behavioural and physiological responses of sheep to stressors to identify potential behavioural signs of distress. **Animal Welfare**, Hertfordshire, v. 13, p. 283–291, 2004.

DOBRYSZYCKA, W. Biological functions of haptoglobin – new prices to and old puzzle. **European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, Berlin, v. 35, p. 647-654, 1997.

EL-DEEB, W. M.; WL-BAHR, S. M. Acute phase proteins and oxidative stress biomarkers in water buffalo calves subjected to transportation stress. **Comparative Clinical Pathology**, London, v. 23, n. 3, p. 577-582, 2014.

FAZIO, F. et al. Characterization of acute phase proteins and oxidative stress response to road transportation in the dog. **Experimental Animals**, Tokyo, v. 64, n. 1, p. 19-24, 2014.

GONZÁLES, F. H. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J. J. Haptoglobina en rumiantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v. 23, p. 5-17, 2007.

HAY, M.; MORMÈDE, P. Urinary excretion of catecholamines, cortisol and their metabolites in Meishan and Large White sows: validation as a non-invasive and integrative assessment of

adrenocortical and sympathoadrenal axis activity. **Veterinary Research**, London, v. 29, n. 2, p. 119-128, 1998.

HUZZEY, J. et al. Short communication: Haptoglobin as na early indication of metrits. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 92, p. 621-625, 2009.

KOTTEK, M. et al. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 15, n. 3, p. 259-263, 2006.

LEME, T. M. C. **Métodos de transporte e períodos de Descanso pré-abate sobre nível de estresse e qualidade de carne de ovinos**, 2009, 96f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

LINDNER H. R. Enterohepatic circulation and pattern of urinary excretion of cortisol metabolites in the ewe. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 52, p. 19-20, 1972.

LIU, H. W. et al. Effects of lairage time after road transporto on some blood indicators of welfare and meat quality traits in sheep. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 96, p. 1127-1135, 2012.

LLONCH, P. et al. A systematic review of animal based indicators of sheep welfare on farm, at Market and during transport, and qualitative appraisal of their validity and feasibility for use in UK abattoirs. **Veterinary Journal**, London, v. 206, p. 289-297, 2015.

MADUREIRA, K. M. et al. Parametros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. **Semina: Ciências Agrarias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 811-816, 2013.

MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring behaviour**: an introductory guide. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1993. 221 p.

MARAI, I. F. M. et al. Physiological traits as affected by heat stress in sheep: a review. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 71, n. 1, p. 1-12, 2007.

MCEWEN, B. S. Glucocorticoids, depression na mood disorders. Structural remodeling in thr brain. **Metabolism**, New York, v. 54, n. 2, p. 20-23, 2005.

MCMANUS, C. et al. Infrared thermography in animal production: na overview. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 123, p. 10-16, 2016.

MORROW-TESCH, J.; WHITEHEAD, K. The effect of sampling site on measures of stress in dairy cattle. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Lincoln, v. 58, p. 218-219, 1998.

MUMMA, J. O. et al. Physiological stress in laying hens. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, p. 761-769, 2006.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, K. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 28-40, 2004.

PAIM, T. P.; McMANUS, C.; LOUVANIDNI, H. **Confinamento de cordeiros**. Belo Horizonte, MG: INCT - Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira, 2010. 8 p. (Série Técnica: Genética). Disponível em: <a href="http://inctpecuaria.com.br/images/informacoestecnicas/serie\_tecnica\_confinamento\_cordeiros.pdf">http://inctpecuaria.com.br/images/informacoestecnicas/serie\_tecnica\_confinamento\_cordeiros.pdf</a>. Acesso em: 07 mar. 2016.

PICCIONE, G. et al. Utility of acute phase proteins as biomarkers of transport stress in ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 107, p. 167-171, 2012.

PIÑEIRO, M. et al. Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. **Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 669-670, 2007.

PRICE, J.; NOLAN, A. M. Analgesia of newborn lambs before castration and tail docking with rubber rings. **Veterinary Record**, London, v. 149, p. 321-324, 2001.

RHODES III, R. C.; NIPPO, M. M.; GROSS, W. A. Stress in lambs (Ovis aries) during a routine management procedure: evaluation of acute and chronic responses. **Comparative. Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 107 A, n. 1, p. 181-185, 1994.

ROBERTO, J. V. B.; SOUZA, B. B. Utilização da termografia infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. **Journal Animal Behaviour Biometeorology**, Mossoró, v. 2, n. 3, p. 73-84, 2014.

STEWART, M. et al. Eye temperature and heart variability of calves disbudded with or without local anesthetic. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 93, p. 789-797, 2008.

STUBSJØEN, S. M. et al. Exploring non-invasive methods to assess pain in sheep. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 98, p. 640-648, 2009.

TADICH, N. et al. Effects of weaning and 48 h transport by road and ferry on some blood indicators of welfare in lambs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 121, p. 132-136, 2009.

THOM, E. C. The discomfort index. Weatherwise, Philadelphia, v. 12, p. 57-59, 1959.

VALERA, M. et al. Changes in eye temperature and stress assessment in horses during show jumping competitions. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v. 32, p. 827-830, 2012.

VERÍSSIMO, C. J. Tolerância ao calor em ovelhas lanadas e deslanadas, em Nova Odessa, Estado de São Paulo. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 8 p. Disponível em: <a href="http://www.iz.sp.gov.br/artigo.phaptoglobina?id=97">http://www.iz.sp.gov.br/artigo.phaptoglobina?id=97</a>>. Acesso em: 10 jan 2016.

WESCHENFELDER, A. V. et al. Use of infrared ocular thermography to assess physiological conditions of pigs prior to slaughter and predict pork quality variation. **Meat Science**, Barking, v. 95, p. 616-620, 2013.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE. Transport of animal by land. In: \_\_\_\_\_\_. **Animal welfare, terretrial animal health code**. Paris, 2014. chap. 7.3, Disponível em: <a href="http://www.oie.int/index.phaptoglobina?id=169&L=0&htmfile=chapitre aw land transpt.ht">http://www.oie.int/index.phaptoglobina?id=169&L=0&htmfile=chapitre aw land transpt.ht</a> m. Acesso em: jan 2015.

YARNELL, K.; HALL, C.; BILLETT, E. Na assessment of the aversive nature of an animal management procedure (clipping) using behaviour and physiological measures. **Physiology & Behaviour**, Oxford, v. 188, p. 32-39, 2013.

ZANINE, A. M. et al. Comportamento ingestivo de ovinos e caprinos em pastagens de diferentes estruturas morfológicas. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 7, n. 4, p. 1-10, 2006.

# 4. INFLUENCIA DOS PERÍODOS DE TRANSPORTE E ESPERA PRÉ-ABATE SOBRE A QUALIDADE DE CARNE DE CORDEIROS

#### Resumo

Objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos de diferentes tempos de transporte e de espera pré-abate sobre os níveis de estresse (cortisol e haptoglobina) e a qualidade de carne de cordeiros ao final do período de descanso e no momento do abate. Trinta e dois cordeiros mestiços (Dorper x Santa Inês), com idade aproximada de 130 dias e 30,4 kg de peso vivo foram transportados por duas ou seis horas e permaneceram por período de descanso pré-abate por 12 ou 24 horas. Ao finalizar o período de descanso, foram realizadas colheitas de sangue (soro) para as avalições dos níveis de cortisol e haptoglobina. Os animais foram insensibilizados e então realizou-se a colheita de sangue no momento da sangria para avaliar os níveis de cortisol e haptoglobina no momento do abate. As carcaças foram pesadas (PCQ), aferindo o pH e a temperatura inicial, com o auxílio de um pHmetro portátil com termômetro, e alocados na câmara fria. Os monitoramentos do pH e da temperatura foram realizados no músculo Semimembranosus, duas, quatro, seis, oito, 12 e 24 horas após a colheita inicial. Ao término das 24 horas de refrigeração, realizou-se a avaliação de cobertura de carcaça e conformação, pesadas (PCF) para a obtenção do rendimento de carcaça fria. No Longíssimus lumborum realizou-se a determinação da cor (L\*, a\*, b\*), área de olho de lombo, perdas por cocção e força de cisalhamento. As concentrações de haptoglobina aumentaram no momento do abate (P < 0,05) em relação ao final do período de espera em ambos os tratamentos (transporte e espera). O pH e a temperatura apresentaram queda gradual (P < 0,05) nas 24 horas de avaliação. O período de espera pré-abate influenciou na qualidade de carne dos cordeiros, na força de cisalhamento (2,3 e 2,9 kgf para 12 e 24 horas, respectivamente), no índice de luminosidade (L\*), com médias de 44, 52 para animais em espera de 12 horas e 42,23 para os de 24 horas e no índice de amarelo (b\*), com médias de 13,46 e 12,5 para as 12 e 24 horas de espera pré-abate. O período de 12 horas de espera pré-abate é suficiente para manter a qualidade da carne de cordeiros, melhorando a maciez e a cor. A haptoglobina pode ser utilizada como biomarcador de estresse pré-abate.

Palavras chave: Abate. Cortisol. Haptoglobina. Maciez.

### 4.1. Introdução

A produção de alimentos de origem animal é avaliada atualmente tanto dentro da fazenda quanto fora, e o manejo aos quais os animais são submetidos pode interferir no seu bem-estar. Dentre os fatores estressantes, pode-se observar o transporte dos animais, na propriedade, quando há necessidade de alterar indivíduos entre os grupos (LIMA; BARBOSA FILHO, 2013), por exemplo, assim como o transporte da propriedade para o abatedouro (FERGUSON; WARNER, 2008). Instituições governamentais e até consumidores têm se preocupado com relação ao bem-estar dos animais de produção durante o transporte (KETTLEWELL et al., 2001). Parâmetros como tipo de manipulação dos animais, o tempo de jejum sólido e hídrico, densidade no veículo, tipo de veículo, tempo de viagem e condições climáticas (EDGE; BARNETT, 2009) têm disso objeto de estudos desde a década de 90 a fim de avaliar os prejuízos do transporte ao bem-estar dos animais e qualidade de carne (TARRANT, 1990).

Para os ovinos, o menor período de transporte, de 30 minutos a 1 hora, aumentam os níveis de cortisol sanguíneo (ANDRONIE et al., 2011), enquanto que em jornadas mais longas, esses níveis retornam ao nível basal (BOBEK et al., 1986). Segundo Gebresenbet et al. (2011), com o aumento da especialização e centralização de abatedouros, tem-se aumentado as paradas intermediárias durante o transporte, o que pode influenciar nos níveis de cortisol dos animais. A haptoglobina tem sido também utilizada como biomarcador em estudos de bem-estar animal. Há relatos que em bovinos pode aumentar em até 100 vezes a sua concentração após um estímulo desfavorável (GONZÁLES; MARÍNEZ-SUBIELA; CERÓN, 2007).

O período de espera nos abatedouros é necessário para que os animais possam descansar do percurso ao qual foram submetidos e para que esvaziem o seu trato digestório (NORTHCUTT; SAVAGE; VEST, 1997), além de possibilitar atividades comportamentais que favoreçam o seu bem-estar, além da possibilidade de associar o efeito da estabulação com o bem-estar e a qualidade de carne (DÍAZ et al., 2014).

O tempo de espera pode afetar a concentração de glicogênio e, consequentemente o pH final (FERGUSON; WARNER, 2008). Associado ao pH, utilizam-se também as características como cor e maciez para qualificar a carne (DÍAZ et al., 2014). Liste et al. (2011) não observaram alterações na qualidade de carne de cordeiros quando abatidos logo na chegada ao abatedouro e de cordeiros estabulados no período da noite, já Ekiz et al. (2012) relataram que 30 minutos de estabulação antes do abate influencia negativamente na qualidade da carne de cordeiros. Objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos de diferentes tempos de

transporte e de espera pré-abate sobre os níveis de estresse (cortisol e haptoglobina) e a qualidade de carne de cordeiros ao final do período de descanso e no momento do abate.

#### 4.2. Material e Métodos

Trinta e dois cordeiros mestiços (Dorper x Santa Inês), recém-desmamados e sadios (Tabela 3.1. do capítulo anterior), com idade aproximada de 130 dias e 30,4 kg de peso vivo foram utilizados. O estudo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) de acordo com o protocolo apresentado no Capítulo anterior desta tese.

A alimentação dos animais foi constituída por mistura concentrada (farelo de soja e de milho, calcário calcítico e núcleo com monensina), bagaço úmido de cítros e capim Napier (*Pennisetum purpureum*) ad libitum (Tabela 4.1) do desmame até o embarque para serem transportados. O experimento foi realizado em duas datas diferentes (blocos) com intervalo de 21 dias entre elas, adotando-se os mesmos procedimentos para ambos os blocos, como descritos a seguir: oito ovinos foram transportados por período de quatro horas em rodovia asfáltica e o caminhão retornou ao local de origem (Sítio Paraíso, Leme/SP) e então o restante dos animais (oito cordeiros) foram embarcados e transportados por mais duas horas, totalizando assim, para o primeiro grupo de animais transportados, seis horas, até a chegada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP, em Piracicaba (SP). A área total do caminhão era de aproximadamente 12 m², divido em duas áreas de aproximadamente 6 m² cada, por uma divisória, onde foram separados os grupos. A área disponível para cada animal durante os períodos de transporte foi de aproximadamente 0,75 m².

**Tabela 4.1.** Composição bromatológica da dieta em relação a matéria seca

	Concentrado	Bagaço úmido de	Capim Napier		
	2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	cítros	(Pennisetum purpureum)		
Matéria Seca (%)	90,50	18,97	47,14		
Matéria Orgânica (%)	95,04	99,24	93,52		
Proteína Bruta (%)	19,52	5,79	5,59		
$aFDN_{MO}(\%)$	63,20	74,31	77,44		
$FDA_{MO}(\%)$	14,98	63,69	48,10		
Lignina (%)	5,24	8,91	9,72		
Extrato Etéreo (%)	2,52	2,75	1,03		
Matéria Mineral	4,95	0,76	6,47		

aFDN<sub>MO</sub> = amilase Fibra Detergente Neutro Matéria Orgânica

FDA<sub>MO</sub> = Fibra Detergente Ácido Matéria Orgânica

Finalizado o período de transporte, os animais foram descarregados do caminhão manualmente, e alocados aleatoriamente em duas baias coletivas, com 15 m² cada, distinguindo-se entre os períodos de espera de 12 ou 24 horas, e ao final do período de espera pré-abate, foram colhidas amostras de sangue, através da venopunção da jugular, utilizando-se tubos à vácuo sem anticoagulante (soro) para avaliação dos níveis de cortisol e haptogobina. O teor de cortisol foi derminado em duplicata, por radioimunoensaio (RIA) em contador automático Gama (Wizard 2; Perking Elmer, Downs Grove, IL. USA), seguindo a metodologia do kit commercial *ImmuChem*<sup>TM</sup> *Coated Tube* Cortisol <sup>125</sup>I RIA (MP Biomedicals, LLC, Orangeburg, New York) e a concentração de haptoglobina foi determinada também em duplicata, analisada em contador automático Epoch<sup>TM</sup> Microplate Spectrophotometer (BioTek<sup>®</sup> Instruments, Inc, Winooski, Vermount, USA) no Laboratório de Ecologia Aplicada (CENA/USP), seguindo a metodologia do kit commercial Haptoglobin – Linea Turbitest AA (Wiener Laboratorios, Rosario, Argentina).

Finalizado o período de espera estipulado, os animais foram pesados (peso ao abate (PA)) e insensibilizados (com uso de pistola propulsora provida de dardo cativo, seguindo a Portaria N° 47/2013 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA- Brasil) seguido da sangria através da secção da veia jugular. Em seguida coletou-se o sangue para avaliações de cortisol e haptoglobina. Após esfola e evisceração, as carcaças foram enviadas para o Instituto de Zootecnia (Nova Odessa / SP), onde foram pesadas (PCQ), aferindo o pH e a temperatura inicial, com o auxílio de um pHmetro portátil com termômetro (QUIMIS®, modelo Q400HM), e alocados na câmara fria. Os monitoramentos do pH e da temperatura foram realizados no músculo *Semimembranosus*, duas, quatro, seis, oito, 12 e 24 horas após a colheita inicial.

Foi realizada na carcaça a avaliação de cobertura de gordura e a conformação, adotando uma escala de 1 para carcaça exageradamente magra e carente de gordura e 5 para carcaça exageradamente gorda com intervalo de 0,5 ponto. Para a avaliação de conformação, atribui-se valor 1 para carcaça muito pobre e 5 para excelente (ISSAKOWICZ et al., 2013). Decorridas 24 horas na câmara de refrigeração, as carcaças foram pesadas (PCF) e então foi obtido o rendimento da carcaça fria (RCF), obtido pela seguinte razão:  $RCF = \frac{PCF}{PA} * 100$ .

Para a determinação da cor da carne, as carcaças foram seccionadas ao meio, e remouveu-se o músculo *Longíssimus lumborum*, que foi exposto ao ar durante 30 minutos; as medidas foram obtidas em três pontos distintos para obter a média da cor da carne. Foi usado o espectrofotômetro (MINOLTA modelo CM-600d), para leitura dos parâmetros

L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho) e b\* (intensidade de amarelo) conforme citado em Macdougall (1994). A determinação da área de olho de lombo (AOL) foi realizada utilizando o método do papel quadriculado de 1 cm², e a altura e largura do lombo foi obtido através de régua milimetrada.

Para a determinação da maciez e perda por cocção da carne, o músculo *Longíssimus lumborum* foi aquecido em forno até atingir a temperatura interna de aproximadamente 75 °C e então resfriado até a temperatura interna de 40°C. O líquido exsudado foi pesado para obtenção da perda de água por cocção, e então o *L. lumborum* foi divididos em quatro amostras para a retirada de três amostras menores e cilíndricas, de 1,27 cm de diâmetro, utilizando Warner Bratzler (3 mm espessura), em corte transversal a fibra. O equipamento foi calibrado com peso padrão de 5 kg com padrão rastreável. A velocidade de descida do dispositivo foi de 200 mm/min (AMSA, 1995).

#### Análise Estatística

Realizou-se o teste de normalidade de distribuição em todas as variáveis. Foi testado o efeito dos diferentes dias do experimento (Blocos) e não foi detectada diferença significativa (P > 0.05), assim como não houve interação (P > 0.05) entre os períodos de transportes e de descanso, sendo estes removidos do modelo estatístico e os dados analisados separadamente.

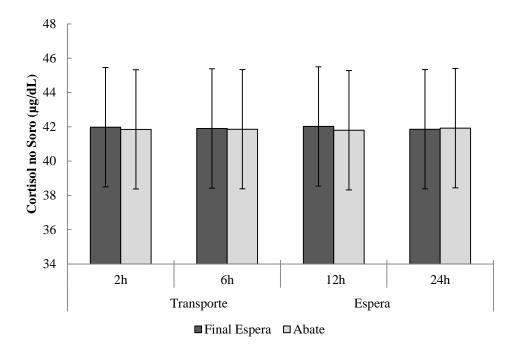
Para verificar o efeito dos tempos de transporte e de espera ao final do período de espera pré-abate e no abate sobre os níveis de cortisol, haptoglobina, queda de pH e temperatura das carcaças nos tempos zero, duas, quatro, seis, oito, 10, 12 e 24 horas após o abate, os dados foram submetidos a análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) com medidas repetidas no tempo e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Os dados de características de carcaça foram analisados pelo procedimento PROC GLM do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC), para comparar os efeitos entre os tratamentos, e a comparação de médias foi realziada pelo teste de Tukey.

Foi utilizado o procedimento PROC CORR do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) entre as variáveis cortisol, haptoglobina e as caracteristicas de carcaça e coloração da carne. Para as análises dos componentes principais, utilizou-se as variáveis cortisol, haptoglobina, pH inicial, pH final, L\*, b\* e perdas por cocção para realizar o procedimento PROC FACTOR do SAS® (SAS v. 9.2® Cary, NC) como propósito de constatar a relação entre as variáveis.

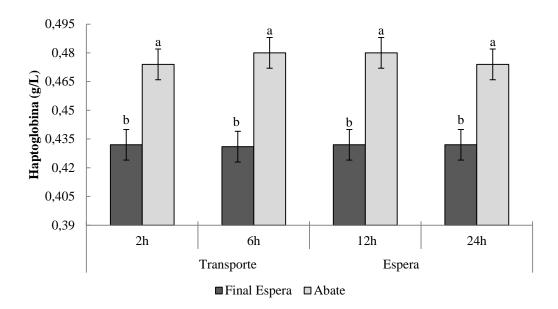
## 4.3. Resultados

As concentrações de cortisol não diferiram (P > 0,05) entre as colheitas realizadas ao final do período de espera e no momento do abate dos ovinos nos diferentes tempos de transporte e espera com média  $41.9 \pm 3.5 \,\mu\text{g}$  / dL (Figura 4.1).



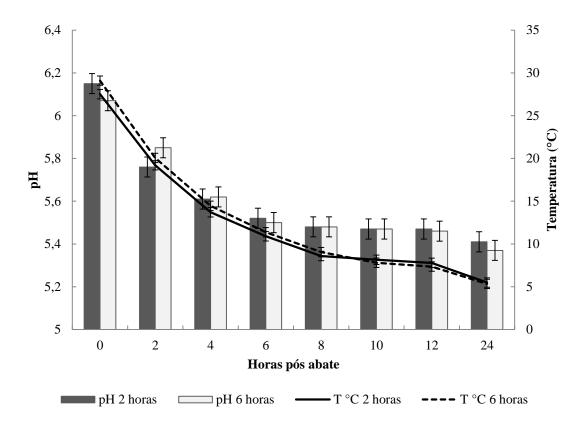
**Figura 4.1.** Concentração de cortisol no soro em cordeiros submetidos a dois períodos de transporte (duas ou seis horas) e dois períodos de espera pré-abate (12 ou 24 horas).

Diferente do ocorrido com o cortisol, as concentrações de haptoglobina apresentaram influencias dos períodos transporte e espera pré-abate no momento do abate, diferindo (P < 0.05) das concentrações ao final do período de espera (Figura 4.2).

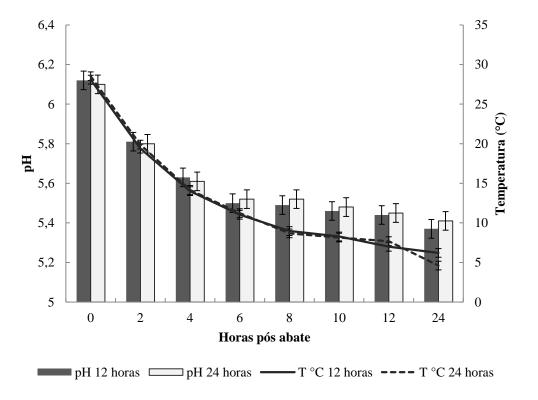


**Figura 4.2.** Concentração de haptoglobina no soro em cordeiros submetidos a dois períodos de transporte (duas ou seis horas) e dois períodos de espera pré-abate (12 ou 24 horas).

Nas avaliações de carcaça dos animais submetidos a dois períodos de transportes (Figura 4.3) e a dois períodos de espera pré-abate (Figura 4.4), a queda de pH e temperatura foi gradual, visto que para o pH, o tempo inicial, as duas e as quatro horas diferiram (P < 0.05) entre si e entre os demais tempos avaliados, que se estabilizou a partir das seis horas na câmara de refrigeração, não havendo diferenças (P > 0.05) entre os tratamentos, enquanto que temperatura apresentou diferença (P < 0.05) também da temperatura inicial até as seis horas, estabilizando (P > 0.05) a partir das oito horas. Apenas a temperatura inicial diferiu (P < 0.05) entre os tempos de transporte (Figura 4.3), enquanto que nos períodos de espera foi observado diferenças (P < 0.05) na temperatura final (Figura 4.4).



**Figura 4.3**. Queda de pH e de temperatura de carcaças de cordeiros submetidos a duas ou seis horas de transporte rodoviária via asfáltica.



**Figura 4.4.** Queda de pH e de temperatura de carcaças de cordeiros submetidos a 12 ou 24 horas de espera pré-abate.

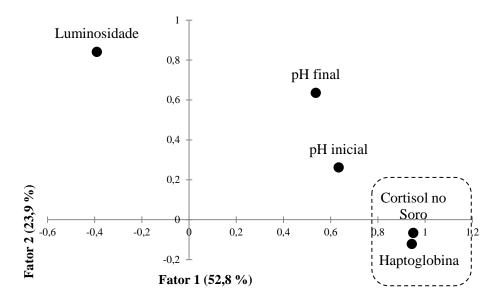
Nas avaliações realizadas nas carcaças (Tabela 4.3.) observa-se que o rendimento de carcaça foi superior para os animais que foram submetidos a mais tempo de transporte e com o maior período de espera pré-abate, diferindo (P < 0.05) estatisticamente entre os tratamentos. A variável força de cisalhamento e L\* apresentaram diferenças (P < 0.05) significativas entre os períodos de espera pré-abate aos quais foram submetidos. As demais variáveis não apresentaram diferenças (P > 0.05) entre o tempo de transporte e o período de espera pré-abate.

**Tabela 4.3.** Características de carcaça de cordeiros submetidos a dois períodos de transporte e dois períodos de espera pré-abate

_	Transporte		- P	Espera		- P	DPM
Variáveis	2h	6h	- P	12h	24h	r	DPM
Peso de carcaça quente (Kg)	18,28	18,74	0,531	18,28	18,75	0,524	0,51
Peso de carcaça fria (Kg)	17,54	17,96	0,555	17,5	18	0,479	0,49
Conformação (1-5)	3,51	3,45	0,411	3,45	3,51	0,411	0,05
Cobertura Gordura (1-5)	3,34	3,33	0,891	3,23	3,44	0,084	0,08
Altura Lombo (cm)	7,08	7,21	0,506	7,07	7,22	0,437	0,14
Largura Lombo (cm)	3,16	3,27	0,339	3,23	3,2	0,782	0,08
AOL (cm²)	16,31	17,01	0,442	16,63	16,69	0,949	0,63
Espessura Gordura (mm)	0,57	0,51	0,451	0,54	0,545	0,945	0,06
Rendimento de carcaça fria (%)	48,73	50,17	0,002*	48,85	50,05	0,009*	0,3
Perda por Cocção (%)	10,53	11,83	0,309	11,47	10,88	0,642	0,89
Força de Cisalhamento (Kgf)	2,63	2,54	0,685	2,3	2,9	0,021*	0,17
pH inicial	6,15	6,07	0,481	6,12	6,1	0,859	0,08
pH final	5,41	5,37	0,209	5,37	5,41	0,183	0,02
Temperatura inicial (°C)	27,52	29,1	0,162	28,09	28,53	0,692	0,78
Temperatura final (°C)	4,71	4,43	0,343	4,54	5,61	0,816	0,21
Índice de luminosidade (L*)	43,75	43,01	0,476	44,52	42,23	0,033*	1,02
Índice de vermelho (a*)	11,97	11,72	0,588	12,09	11,59	0,272	0,45
Índice de amarelo (b*)	13,21	12,76	0,256	13,46	12,50	0,020*	0,39

DPM = desvio padrão da média.

Houve correlação positiva entre o cortisol e a haptoglobina (r = 0.937; P < 0.0001) e entre as variáveis de qualidade de carne, com correlação positiva entre o pH inicial (r = 0.484; P = 0.005 para cortisol e r = 0.455; P = 0.008 para haptoglobina) e pH final (r = 0.425; P = 0.01 para cortisol e r = 0.397; P = 0.02 para haptoglobina), e correlação negativa entre as variável L\* (r = -0.351; P = 0.048 e r = -0.396; P = 0.024 para cortisol e haptoglobina). Estas relações estão exemplificadas na análise dos componentes principais (Figura 4.5).



**Figura 4.5.** Dois primeiros fatores principais mostrando a relação entre o cortisol e a haptoglobina e as variáveis de carcaça e carne de cordeiros submetidos a tempo de transporte de duas ou seis horas e período de espera pré-abate de 12 ou 24 horas.

#### 4.4. Discussão

Como relatado no capítulo anterior, é provável que não se tenha observado o pico de cortisol no soro dos animais durante o transporte (tempo mínimo de 2 horas), e dessa forma, não foi verificada diferença do cortisol com os valores de espera para que fosse possível afirmar que os animais estavam com o bem-estar alterado por esta variável. Sendo assim o valor médio do cortisol no soro foi de 41,9 ± 3,5 µg/dL e considerado nível normal deste hormônio para estes ovinos nesta situação. Leme (2009) observou que três horas de espera pré-abate foram suficientes para que os cordeiros diminuíssem as concentrações de cortisol sérico, após uma hora transporte. Cabe ressaltar que o tempo de transporte neste caso foi de apenas uma hora, mais próximo ao tempo de pico de cortisol conforme relatado por Broom (1996) que seria de 30 minutos, justificando-se desta maneira a diferença dos resultados observados entre os referidos trabalhos.

Tendo em vista que o tempo de transporte e o tempo de espera não interferiram no teor de haptoglobina, considerou-se como concentração basal o valor médio obtido na colheita final do período de espera, com média de 0,432 g/L. Na sangria as concentrações de haptoglobina aumentaram, com médias de 0,477 g/L, sugerindo estresse no momento do abate. Tadich et al. (2009) relataram que as concentrações de haptoglobina em ovinos não foram alteradas entre o período de espera de pré-abate de 10 horas (0,9 g/L) e no momento do abate (1,0 g/L),

após os animais serem submetidos a período de 48 horas de transporte, e Fazio et al. (2015) também não observaram alterações nas concentrações de haptoglobina 12 e 24 horas depois de submeter ovelhas a transporte de seis horas. No presente trabalho a haptoglobina foi eficiente, podendo ser considerada um bom indicador de estresse, não atuando apenas os mecanismos de defesa do corpo, como citado por Dobryszcka (1997) no capítulo anterior, e sim relacionado ao estresse social e ambiental ao qual são submetidos. Têm-se a necessidade de mais estudos com ovinos para melhor comprender a relação entre a haptoglobina e o estresse, visto que são poucos os dados disponíveis na literatura até o momento.

O peso vivo dos ovinos, avaliado antes do abate foi utilizado como referência para o cálculo do rendimento de carcaça fria, deste modo os animais que foram submetidos a períodos de transporte e espera mais prolongados apresentaram-se mais leves, com rendimento de 50,2 % no transporte de seis horas e 50,0 % na espera pré-abate de 24 horas, em decorrência da eliminação do conteúdo gastrintestinal pelas fezes, urina e a falta da ingestão de alimentos devido ao jejum de sólidos ao qual foram submetidos. Thompson et al. (1987) relataram rápida perda em peso no período inicial de jejum (12 a 24 horas).

O estresse, causado no transporte e durante a espera pré-abate, pode influenciar na qualidade de carne (MIRANDA DE LA LAMA et al., 2013), conforme observado aqui. O pH é determinante para a qualidade final da carne, influenciando diretamente na cor, maciez (força de cisalhamento) e perdas de água por cocção. Em ambos os manejos (tempos de transporte e espera pré-abate) os valores de pHs inicial e final, encontraram-se dentro dos valores considerados normais para a espécie ovina, entre 5,5 e 5,8, sendo que valores acima de 6,0 podem caracterizar estresse dos animais antes do abate (SILVA SOBRINHO et al., 2005). Os manejos pré-abate podem causar estresse, levando a diminuição das reservas de glicogênio, com aumento do valor de pH final (WARRIS, 2010) na carne, conforme observado por Devine et al. (1993), quando os ovinos foram submetidos a estresse metabólico e nutricional e por Apple et al. (1995) quando submeteram os animais a isolamento social, o pH ficou acima de 5,8.

Assim como o pH, a temperatura pode influenciar na maciez da carne, devido o rápido resfriamento no pré-rigor (BENDALL, 1973), ocorrendo assim o encurtamento das fibras musculares pelo frio ou *cold shortening* (CATTELAM et al., 2013), e a associação dos fatores pH e temperatura no estabelecimento do *rigor mortis*, podem ser decisivos no grau de encurtamento das fibras pelo frio (HANNULA; POULANNE, 2004). O resfriamento das carcaças foi gradual, como pode ser observado nas Figuras 4.3 e 4.4. Os animais que permaneceram por 24 horas de espera pré-abate apresentaram menor temperatura final na carne (4,6 °C) em relação aos de espera pré-abate de 12 horas (6,2 °C) (P < 0,05), que pode ter

influenciado na diferença de força de cisalhamento, de 2,3 kgf e 2,9 kgf, para os períodos de 12 e 24 horas de espera pré-abate respectivamente (P < 0,05). Sañudo et al. (1997), Hopkins e Forgaty (1998) e Safari et al. (2001) afirmaram que a carne é considerada macia quando os valores de força de cisalhamento variam de 2,02 a 4,33 kgf. Embora a força de cisalhamento de ambos os períodos de espera tenham apresentado maciez, o menor tempo de espera pré-abate foi mais favorável.

A cor na carne é avaliada pelas intensidades de luminosidade (L\*), de vermelho (a\*) e amarelo (b\*), e é de fundamental importância na hora da aquisição do produto por parte do consumidor. De acordo com Dransfield et al. (1990), Sañudo et al. (1997), Vergara, Molina e Gallego (1999), Sañudo et al. (2000) e Velasco et al. (2000) os valores normais de L\* estão entre 30,03 a 49,47. No presente estudo, os animais que permaneceram por 12 horas de espera pré-abate apresentaram maiores teores de luminosidade (L\*), com intensidade média de 44,52, quando comparados com os animais que permaneceram em 24 horas de espera pré-abate, com intensidade de 42,23 para L\* (P < 0,05), valores que se encontram dentro da variação normal para ovinos.

Já os valores encontrados para b\* (13,46 e 12,5 para períodos de espera de 12 e de 24 horas, respectivamente) foram superiores aos valores de referência, que variam de 3,38 a 11,10 (DRANSFIELD et al., 1990; SAÑUDO et al., 1997; VERGARA; MOLINA; GALLEGO, 1999). A alta intensidade de b\* em ambos os períodos de espera pode ter favorecido a força de cisalhamento da carne, como citado anteriormente. Bressan et al. (2004) afirmaram que animais alimentados com dieta rica em concentrado (80 % da dieta total) apresentaram maior intensidade de amarelo, proveniente dos pigmentos carotenoides presentes nos ingredientes da dieta, que foram acumulados na gordura. A alimentação dos cordeiros neste experimento foi composta de milho, bagaço úmido de citros (laranja e limão) e capim Napier fresco, todos com altas concentrações de caroteno, o que pode ter contribuído para a elevação da intensidade de b\*.

A avaliação dos componentes principais (Figura 4.5) mostraram que com o aumento das concentrações de cortisol e haptoglobina, os pHs inicial e final da carne também aumentaram com diminuição da luminosidade da carne, caracterizando a importância do manejo não-invasivo para a qualidade da carne.

#### 4.5. Conclusão

O período de 12 horas de espera pré-abate é o suficiente para manter a qualidade da carne de cordeiros, melhorando a maciez e a cor. A haptoglobina pode ser utilizada como biomarcador de estresse pré-abate.

#### Referências

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION – AMSA. Research guidelines for cookery sensory and instrumental tenderness measurement of fresh meat. Ithaca, NY: University Cornell, 1995.

ANDRONIE, I. et al. Effects of transport on live weight and behavior of lambs. **Animal Science and Biotechnologies**, Warszawa, v. 44, n. 2, p. 367-369, 2011.

APPLE, J. K. et al. Effects of restrain and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and indice of darck-cutting longissimus muscle of sheep. **Journal of Animal Science**, Champaingn, v. 73, p. 2295-2307, 1995.

BENDALL, J. R. Post mortem changes in muscle. In: BOURNE, G. H. **The structure and function of muscle**. New York: Academic Press, 1973. p. 244-306.

BOBEK, S. et al. Changes in circulating levels of iodothyronines, cortisol and endogenous thiocyanate in sheep during emotional stress caused by isolation of the animal from the flock. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlin, v. 33, p. 698-705, 1986.

BRESSAN, M. C. et al. Influência do sexo e faixas de peso ao abate nas características físico-químicas da carne de capivara. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 357-362, 2004.

CATTELAM, J. et al. Características de carcaça e qualidade de carne de novilhos confinados em diferentes espaços individuais. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 14, n. 2, p. 185-198, 2013.

DEVINE, C. E. et al. The effect of growth rate and ultimate pH on meat quality of lamb. **Meat Science**, Barking, v. 35, p. 63-77, 1993.

DÍAZ, M. T. et al. Effect of lairge time (0h, 3h, 6h or 12h) on glycogen contente and meat quality parameters in suckling lambs. **Meat Science**, Barking, v. 96, p. 653-660, 2014.

DOBRYSZCKA, W. Biological functions of haptoglobin – new prices to and old puzzle. **European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, Berlin, v. 35, p. 647-654, 1997.

EDGE, M. K.; BARNETT, J. L. Development of animal welfare standarts for the livestock transport industry: Process, challenges, and implementation. **Journal of Veterinary Behaviour: Clinical Applications and Research**, New York, v. 4, p. 187-192, 2009.

- EKIZ, B. et al. Effect of pre-slaughter managment regarding transportation and time in lairage on certain stress parameters, carcass and meat quality characteristics in Kivircik lambs. **Meat Science**, Barking, v. 90, p. 967-976, 2012.
- FAZIO, F. et al. Utility of acute phase proteins as biomarkers of transport stress in ewes beef cattle. **Italian Journal of Food Safety**, Pavia, v. 4, n. 2, p. 1-7, 2015. doi: http://dx.doi.org/10.4081/ijfs.2015.4210.
- FERGUSON, D. M.; WARNER, R. D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, v. 80, p. 12–19, 2008.
- GEBRESENBET, G. et al. Optimisation analysis of large and small-scale abattoirs in relation to animal transport and meat distribuition. **Australian Journal of Agricultural Engineering**, Melbourne, v. 2, p. 31-39, 2011.
- GONZÁLES, F. H. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J. J. Haptoglobina en rumiantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v. 23, p. 5-17, 2007.
- HANNULA, T.; PUOLANNE, E. The effect of cooling rate on beef tenderness: The significance of pH at 7 °C. **Meat Science**, Barking, v. 7, p. 403-408, 2004.
- HOPKINS, D. L.; FOGARTY, N. M. Diverse lamb genotypes. 2. Meat pH, colour and tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 49, p. 4459-475, 1998.
- ISSAKOWICZ, J. et al. Effect of concentrate level and live yeast (Sacchamoryces cerevisiae) supplementation on Texel lamb performance and carcass characteristics. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 155, p. 44-52, 2013.
- KETTLEWELL, P. J. et al. Animal production technology: Desiing and operation of a prototype mechanical ventilation system for livestock transport vehicles. **Journal of Agricultural Engineering Research**, New York, v. 79, p. 429-439, 2001.
- LEME, T. M. C. **Métodos de transporte e períodos de descanso pré-abate sobre nível de estresse e qualidade de carne de ovinos**. 2009. 95 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.
- LIMA, L. R.; BARBOSA FILHO, J. A. D. Impacto do manejo pré-abate no bem-estar de caprinos e ovinos. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, Mossoró, v. 1, n. 2, p. 52-60, 2013.
- LISTE, G. et al. Effect of lairage on lamb welfare and meat quality. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 51, p. 952-958, 2011.
- MIRANDA-DE LA LAMA, G. C. et al. Attitudes of meat retailers to animal welfare in Spain. **Meat Science**, Barking, v. 95, p. 569–575, 2013.
- NORTHCUTT, J. K.; SAVAGE, S. I.; VEST, L. R. Relationship between feed withdrawal and viscera condition of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, p. 410-414, 1997.

SAFARI, E. et al. Diverse lamb genotypes. 3. Eating quality and the relationship between its objective measurement and sensory assessment. **Meat Science**, Barking, v. 57, p. 153-159, 2001.

SAÑUDO, C. et al. Breed effect on carcass and meat quality of suckling lambs. **Meat Science**, Barking, v. 46, p. 357-365, 1997.

SAÑUDO, C. et al. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in the EU carcass classification system. **Meat Science**, Barking, v. 56, p. 89-54, 2000.

SILVA SOBRINHO, A. G. et al. Características de qualidade da carne de ovinos de diferentes genótipos e idades ao abate. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, p. 1070-1078, 2005.

TADICH, N. et al. Effects of weaning and 48 h transport by road and ferry on some blood indicators of welfare in lambs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 121, p.132-136, 2009.

TARRANT, P. V. Transporto f cattle by road. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 28, p. 153-170, 1990.

THOMPSON, J. M. et al. The effect of fasting on live weight and carcass characteristics in lambs. **Meat Science**, Barking, v. 20, p. 293–309, 1987.

VELASCO, S. et al. Carcass and Meat Quality of Talaverana Breed Sucking Lambs in Relation to Gender and Slaughter Weight. **Animal Science**, Hamilton, v. 70, p. 253-263, 2000.

VERGARA, H.; MOLINA, A.; GALLEGO, L. Influence of sex and slaughter weight on carcass an meat quality in light and medium weight lambs produced in intensive systems. **Meat Science**, Barking, v. 52, p. 221-226, 1999.

WARRIS, P. D. **Meat science**. An introductory text. 2. ed. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2010.