



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**

**ANA BEATRIZ ALVES OLIVEIRA**

**EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O COMPORTAMENTO E  
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS OVINOS E CAPRINOS  
CONFINADOS EM INSTALAÇÕES EXPERIMENTAIS**

**FORTALEZA**

**2022**

ANA BEATRIZ ALVES OLIVEIRA

EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O COMPORTAMENTO E  
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS OVINOS E CAPRINOS CONFINADOS  
EM INSTALAÇÕES EXPERIMENTAIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Carla Renata Figueiredo Gadelha.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- O45e Oliveira, Ana Beatriz Alves.  
EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O COMPORTAMENTO E  
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS OVINOS E CAPRINOS CONFINADOS EM  
INSTALAÇÕES EXPERIMENTAIS / Ana Beatriz Alves Oliveira. – 2022.  
22 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências  
Agrárias, Curso de Zootecnia, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Prof. Carla Renata Figueiredo Gadelha.

1. Enriquecimento ambiental. 2. Ovinocaprinocultura. 3. Bem-estar. I. Título.

CDD 636.08

---

ANA BEATRIZ ALVES OLIVEIRA

EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O COMPORTAMENTO E  
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS OVINOS E CAPRINOS CONFINADOS  
EM INSTALAÇÕES EXPERIMENTAIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Carla Renata Figueiredo Gadelha.

Aprovado em: 10/02/2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dra. Carla Renata Figueiredo Gadelha  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. José Antonio Delfino Barbosa Filho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>7</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>9</b>
<i>Localização e Animais</i>	9
<i>Manejo e Infraestrutura</i>	9
<i>Coleta de sangue, análises hematológicas e bioquímicas</i>	9
<i>Comportamento animal e Enriquecimento ambiental</i>	9
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>11</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>19</b>

## **EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O COMPORTAMENTO E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS OVINOS E CAPRINOS CONFINADOS EM INSTALAÇÕES EXPERIMENTAIS**

OLIVEIRA<sup>1</sup>, Ana Beatriz Alves \*; GADELHA<sup>2</sup>, Carla Renata Figueiredo.

### **RESUMO**

O enriquecimento ambiental para animais de produção surge como uma forma de diminuir os comportamentos anormais, por fornecer melhores condições de bem-estar, diminuir os níveis de estresse, e conseqüentemente, aumentar os índices produtivos. Objetivou-se verificar se a aplicação de técnicas de enriquecimento ambiental em animais confinados teve ação benéfica sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados. Foram utilizados oito animais, sendo quatro caprinos e quatro ovinos, alojados em baias individuais. A observação foi direta, animal focal e *ad libitum* durante as três fases do experimento. Na primeira fase foi confeccionado um etograma a partir da observação *ad libitum* do comportamento dos animais antes do enriquecimento ambiental. Posteriormente, três tipos de enriquecimento ambiental foram aplicados, o alimentar, sensorial e físico. Para avaliar os parâmetros sanguíneos, coletas de sangue foram realizadas antes e após a aplicação do enriquecimento ambiental. Ao analisar os dados dos parâmetros sanguíneos observou-se que na fase de pré-enriquecimento alguns animais apresentaram alterações como: anisocitose, leucocitose, dentre outras, que podem ser indicativos claros de estresse, mostrando que já puderam acarretar mudanças fisiológicas, uma vez que essas alterações não foram mais constatadas após a fase de enriquecimento. Com a aplicação do enriquecimento ambiental observou-se um maior comportamento alimentar na fase pós-enriquecimento quando comparado com a fase pré-enriquecimento, menos na fase de enriquecimento sensorial onde os animais mantiveram-se mais em estado de repouso, também constatou-se uma pronunciada diminuição dos comportamentos anormais. Desse modo, conclui-se que a aplicação do enriquecimento ambiental foi viável e satisfatória apresentando resultados benéficos para o comportamento das espécies, melhorando os parâmetros hematológicos e bioquímicos, e diminuindo os níveis de estresse.

**Palavras-chave:** Enriquecimento ambiental. Ovinocaprinocultura. Bem-estar.

---

<sup>1</sup> Graduanda em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. E-mail: anabeatrizalves@alu.ufc.br

<sup>2</sup> Professora Dr<sup>a</sup>. do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. E-mail: crgadelha@yahoo.com.br

## INTRODUÇÃO

O condicionamento dos animais para produção de alimentos e produtos industriais é, em geral, em ambientes pobres em estímulos, onde maior ênfase é dada a facilitação de medidas de manejo geral e sanitário, a fim de obter melhores índices zootécnicos, deixando as condições de bem-estar em segundo plano. Muitas variáveis atuam em um ambiente de criação para comprometer o bem-estar, desde o isolamento até as relações entre o homem e o animal. Com isso, o animal busca se adaptar às condições de manejo e de ambiente artificial, modificando seu comportamento.

Na tentativa de minimizar os efeitos do confinamento, têm-se utilizado a técnica denominada enriquecimento ambiental, que surge como uma medida alternativa no intuito de aumentar a atividade do animal em um ambiente pobre em estímulos, proporcionando uma melhor qualidade de vida para esses animais, sendo uma prática de grande importância para animais em confinamento, pois promove o bem-estar para que assim tenham menores níveis de estresse e de comportamentos anormais. No entanto, a aplicação de estímulos artificiais para enriquecer o ambiente deve ser baseada no conhecimento da história natural dos animais para ser efetivo e para que os resultados sejam realmente benéficos para os animais.

De acordo com Shepherdson et al. (1998), o enriquecimento ambiental é um princípio de manejo animal que busca melhorar a qualidade do cuidado à animais cativos, pela identificação e pelo uso dos estímulos ambientais necessários ao seu bem-estar psicológico e fisiológico ótimo. Na prática, abrange uma variedade de técnicas originais, criativas para manter os animais cativos ocupados através do aumento da gama e diversidade de oportunidades comportamentais e do oferecimento de ambientes mais estimulantes.

Sendo o ambiente de cativeiro diferente daquele no qual a espécie evoluiu ele pode afetar o bem-estar desses animais que, por falta de estímulo físico e mental, podem apresentar agressividade, baixos índices de produtividade, automutilação, problemas reprodutivos, estereotípias (comportamentos inadequados ou anormais à raça), apatia ou depressão, levando até mesmo à morte (BURN et al., 2010; HAMMERSCHMIDT, 2010). Contudo, determinar um ambiente ideal é uma tarefa muito complicada, pois para tanto, deve-se levar em consideração as necessidades comportamentais do animal e estas ainda não são bem definidas ou não conseguem se adequar completamente ao ambiente de confinamento (YEATES, 2011).

Ademais o enriquecimento ambiental bem aplicado produzirá a redução dos níveis de estresse, melhoria na saúde e desempenho reprodutivo e produtivo do animal (PIZZUTO et al., 2009; CAMPOS et al., 2010; MENDES et al., 2011), resultados interessantes para produção comercial de qualquer espécie animal. O estudo do comportamento animal visando o bem-estar, por intermédio do uso do enriquecimento ambiental, possibilita ao produtor e ao pesquisador conhecer os hábitos dos animais e, a partir de alterações nos padrões comportamentais, conduzir adequadamente as práticas de manejo, visando à redução de custos com a produção e o aumento da produtividade, diminuindo os níveis de estresse dos animais (RIBEIRO et al., 2009; SILVA, 2011).

Pequenos ruminantes são animais gregários, não agressivos, que experimentam medo, ansiedade e frustração durante manejos simples, e não se adaptam bem a confinamentos, principalmente em baias individuais. Isto deve-se ao fato de serem altamente sociais, sendo o isolamento do rebanho uma das situações mais estressantes na prática da pecuária moderna e a avaliação do comportamento fornece uma boa indicação das reações dos animais, podendo possibilitar a identificação de comportamentos anormais (CAROPRESE, 2008).

Os comportamentos agonísticos e estereotipados relatados mais frequentemente pelo autor Paranhos da Costa (1988), para animais de produção são: dar cabeçada (seja uns

nos outros ou em estruturas das instalações), ameaçar (também observado entre membros do mesmo grupo através de impor autoridade com o olhar ou intimidar os tratadores), morder, automutilação, empurrar o outro animal impedindo ou dificultando sua alimentação, perseguir outro animal para impor dominância, apetite depravado (roer, morder ou comer objetos da instalação), reatividade anormal (depressão, apatia, isolamento ou hiperatividade), dentre outros diversos comportamentos anormais.

O enriquecimento ambiental deve proporcionar aos animais de cativeiro a possibilidade de terem um comportamento o mais próximo possível do exibido no meio natural, possibilitando a exibição de comportamentos típicos da espécie, é um dos critérios para avaliar se um animal se encontra em boas condições. Através do enriquecimento, pode-se proporcionar ao indivíduo escolha do tipo de ambiente a ser usufruído, maiores possibilidades de exploração, imprevisibilidade, um pouco de controle de sua dieta, companheirismo e privacidade. É também uma forma de otimizar o espaço disponível para os animais cativos, promovendo uma maior interação destes com o ambiente, respeitando as características da espécie em questão. Muitas vezes, a área de vida do animal em natureza é tão grande que seria impossível disponibilizar essa quantidade de espaço no cativeiro (TANG et al., 2001)

Embora seja uma ferramenta mais comumente usada em zoológicos para diminuir os efeitos do estresse do cativeiro experimentado por animais selvagens, o enriquecimento ambiental pode ser valioso para melhorar a qualidade de vida de animais de produção confinados. São possíveis a aplicação de cinco tipos de técnicas de enriquecimento ambiental, sendo estes: enriquecimento alimentar, que se baseia na apresentação do alimento de forma diferente; enriquecimento físico que consiste na introdução de elementos às instalações com os quais os animais irão interagir; enriquecimento social, quando há a possibilidade de convivência com coespecíficos ou com animais de espécies diferentes; enriquecimento sensorial, em que busca-se aguçar os sentidos dos animais, provocando respostas comportamentais específicas; e o enriquecimento cognitivo em que uma série de atividades ou problemas são apresentados para que os animais os resolvam, configurando uma espécie de enigma para os animais (BELZ et al., 2003).

Estudos fisiológicos em laboratório têm trazido resultados da efetividade de técnicas de enriquecimento ambiental para a promoção do bem-estar, bem como da observação de efeitos claramente mensuráveis, como o aumento nos níveis de noradrenalina (NAKA et al., 2002), a redução nos níveis de hormônio adrenocorticotrópico (BELZ et al., 2003), o aumento nos níveis de neurotrofina (TURNER, LEWIS, 2003), a facilitação do desenvolvimento de animais jovens (CHEAL et al., 1986), o aumento de peso sem um maior consumo de nutrientes (VAN DE WEERD et al., 2006), a redução dos efeitos danosos do isolamento social (BREDY et al., 2003), as alterações nos parâmetros de células sanguíneas (WILSON et al., 1999), o aumento da densidade celular cerebral (JOHANSSON, BELICHENKO, 2002), a recuperação de danos cerebrais (FARREL et al., 2001; WAGNER et al., 2002), melhores parâmetros de proteínas totais no sangue (PARE, KLUCZYNSKI, 1997), a melhora na aprendizagem, memória ou cognição (HOPLIGHT et al., 2001; SCHRIJVER et al., 2002; TANG et al., 2001), melhores índices na análise do hemograma (GREER et al., 1981) e a melhora na percepção visual (PRUSKY et al., 2000).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi verificar se a aplicação de técnicas de enriquecimento ambiental seria viável e se possibilitaria alcançar o melhor nível de bem-estar para animais confinados e isolados em uma unidade experimental.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Localização e Animais

O experimento foi realizado na instalação experimental do Laboratório de Estudos em Reprodução Animal (LERA), na Universidade Federal do Ceará, no Departamento de Zootecnia, durante o período de 01 à 28 de outubro de 2019.

Foram utilizados oito animais divididos em dois grupos experimentais. Um grupo foi formado por quatro cabras jovens, sendo compostos por animais mestiços, Boer e Marota (animais 1, 2, 3 e 4), com aproximadamente 12 meses de idade e o outro foi constituído por quatro ovinos Morada Nova Vermelho e Branco, e Somalis Brasileira (animais 5, 6, 7 e 8), sendo três machos e uma fêmea, com aproximadamente 3 anos de idade.

### Manejo e Infraestrutura

Os animais foram vermifugados e vacinados, e posteriormente alocados em baias individuais previamente higienizadas. O aprisco no qual os animais foram alocados apresenta orientação norte-sul, com meia-paredes de alvenaria, exceto na frente que é de madeira, na forma de grade ripada. O piso das baias era de concreto e dispunham de comedouros e bebedouros.

A dieta foi formulada de acordo com as recomendações do NRC (2007), adotando uma relação volumoso:concentrado de 60:40, sendo composta de feno de Tifton-85, milho grão moído, farelo de soja, fosfato bicálcico e premix mineral. O fornecimento da ração total era realizado duas vezes ao dia, às 08:00h e às 16:00h. A água foi fornecida *ad libitum*.

### Coleta de sangue, análises hematológicas e bioquímicas

Para avaliação dos parâmetros bioquímicos e hematológicos dos animais experimentais, amostras de sangue, foram coletadas por veno-punção da jugular antes e depois da introdução do enriquecimento ambiental. Essas coletas foram realizadas por uma pessoa treinada utilizando tubos plásticos para coleta de sangue a vácuo de 4 ml com EDTA (Labor Import, Osasco – SP - Brasil) e tubos plásticos Vacutainers de 4 ml sem anti-coagulante (BD Vacutainers, Juiz de Fora – Mg – Brasil).

As amostras de sangue obtidas com EDTA foram resfriadas e enviadas para o laboratório particular Pathovet para análise dos parâmetros hematológicos e de proteínas totais. O sangue obtido sem anti-coagulante foi levado ao Laboratório de Estudos de Reprodução Animal (LERA), em até 30 minutos após sua coleta, onde foi centrifugado por cerca de 15 minutos, a 2.000 g ou 3.000 rpm, posteriormente, o soro obtido foi transferido com auxílio de uma pipeta de alta precisão para microtubo tipo “eppendorf”, armazenado e refrigerado para posterior análise. As amostras de soro foram analisadas quanto às concentrações de glicose e triglicerídeos, utilizando kits comerciais monoreagentes (QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda, Bioclin, Brasil). Todas as análises foram realizadas em duplicata, em Espectrofotômetro Digital (IL-226-NM, Kasuaki). Desse modo, as análises foram realizadas segundo o que é proposto pelo fabricante do kit utilizado (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY).

### Comportamento animal e Enriquecimento ambiental

Um período de adaptação prévia foi conduzida com os animais experimentais, por três dias consecutivos, para que eles se habituassem com a presença de um observador. Essa

adaptação foi realizada para que o comportamento típico dos animais não fosse alterado durante o registro do etograma de referência.

Para registro do comportamento dos animais antes da implementação do enriquecimento ambiental foi confeccionado um etograma. A observação foi direta, *ad libitum* e animal focal, sendo conduzida a cada cinco minutos, onde observava-se e anotava-se cada ação expressada pelos animais. Posteriormente, fez-se a seleção e a tabulação dos comportamentos mais frequentes, de modo que, esse etograma é referente à fase de pré-enriquecimento, e foi adotado como padrão para todo o experimento, sendo utilizado em todas as fases posteriores.

A segunda fase do trabalho consistiu na introdução do enriquecimento ambiental dos tipos alimentar (i), sensorial (ii) e físico (iii), que foram aplicados de modo não simultâneo, com duração de um dia, e com intervalo de três dias entre eles. A observação foi direta, animal focal, *ad libitum* e foi feito o registro da interação entre o animal e o elemento de enriquecimento implementado. No enriquecimento alimentar (i), pela manhã, fez-se a utilização de cortina de forragem suspensa na baia e picolé de fruta (optou-se pelo uso do caju, por ser uma fruta da estação) para os horários mais quentes do dia, ou seja, a tarde (FIGURA 1). O enriquecimento sensorial (ii), foi realizado colocando-se músicas clássicas para os animais ouvirem durante todo o período de observação. O enriquecimento físico (iii), foi conduzido utilizando-se garrafas pet contendo concentrado ou cascalhos (FIGURA 2). As garrafas pet foram retiradas após duas horas de exposição aos animais, dividindo esse tempo durante os dois turnos do dia, isso a fim de evitar algum risco de acidente com os animais experimentais.

Foi realizada um total de cinco horas de observação por dia nas três fases de estudo, os horários preestabelecidos foram de 10 às 12 horas da manhã, 13 às 15 horas e 17 às 18h da tarde, isto com o principal intuito de não interferir nas práticas de manejo diária, como fornecimento da ração total e limpeza do aprisco no qual os animais estavam alojados.

**Figura 1** – Cortina de forragem e picolé de frutas.



Fonte: Autor

**Figura 2** – Garrafas pet com cascalhos e concentrado.



Fonte: Autor

A última fase teve a duração de um dia, onde buscou-se analisar a duração do efeito do enriquecimento ambiental sobre o comportamento dos animais, ou seja, se os mesmos ainda iriam está sobre os efeitos benéficos mesmo após a retirada dos incrementos do enriquecimento.

Quanto a análise estatística adotada, como o número de animais, dentro de cada espécie, foi pequeno, impossibilitando a submissão de um teste estatístico, optou-se pela análise descritiva dos dados individuais de comportamento, hematológicos e bioquímicos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados das análises hematológicas da fase de pré-enriquecimento de todos os animais estão expressos na tabela 1. Foram encontrados alterações no eritrograma do animal 1 (caprino), com concentração de hemoglobina e hematócrito baixos, em relação à referência para a espécie (QUADRO 1). Já para os animais 2, 3 e 4, os resultados mostraram alterações no leucograma, sugerindo leucocitose pronunciada, com neutrofilia, linfocitose e monocitose nos três indivíduos e eosinofilia no animal 2 (TABELA 1).

Diante disso, os animais criados sob diferentes condições edafoclimáticas e de manejo podem apresentar evidentes variações dos elementos constituintes do hemograma (OLADELE et al., 2005; OKONKWO et al., 2011). Sendo assim, esse exame tem muito valor tanto em sistemas de criação zootécnica e conservação de espécies, quanto em ambientes experimentais, uma vez que, permite verificar as condições dos animais para prevenir doenças e realizar ajustes de manejo ou instalações, principalmente nas condições ambientais experimentadas pelos animais. Dentre as situações impostas aos animais dentro do sistema de produção, o confinamento para pequenos ruminantes, o isolamento, o espaço reduzido, a ausência de estímulos e a intensa convivência com os humanos podem ser os fatores mais estressantes. O que no presente trabalho pode ter sido um fator bastante relevante, podendo justificar essas pequenas mudanças nos parâmetros hematológicos dos animais avaliados,

constatando que a situação em que se encontravam anteriormente à implementação do enriquecimento ambiental pode ter contribuído para essas modificações (CAROPRESE, 2008).

A anisocitose verificada em alguns animais desse estudo, como em um macho ovino e uma fêmea caprina, foi discreta e pode não significar problemas maiores, uma vez que o tamanho desigual das hemácias pode ser um tipo de achado comum em ruminantes, devido a características das membranas das hemácias nesses animais (ESMAEILNEJAD, et al., 2012). Em outras espécies poderia significar uma reação da medula óssea a uma condição de anemia, mas hemácias jovens não foram verificadas, o que para o estudo não foi um achado preocupante.

No entanto, verificou-se em outro animal, na fase de pré-enriquecimento, uma quantidade muito alta de hemácias, sendo que essa condição pode sugerir um certo grau de estresse nesse animal, uma vez que hormônios relacionados a essa condição como o ACTH, os corticoesteróides e a tiroxina são estimuladores da eritropoese, e também servem como sinalizadores da presença de estresse. O animal em questão era uma fêmea, sendo assim, o hemograma de fêmeas deveria ter um número de eritrócitos menor que o dos machos, uma vez que os andrógenos aumentam a demanda de oxigênio pelos tecidos, aumentando assim o número de hemácias, e os estrógenos têm efeitos negativos sobre a eritropoese.

Leucocitoses, como as apresentadas pelos ovinos na fase pré-enriquecimento nesse estudo, podem ser uma resposta fisiológica a distúrbios emocionais e físicos, pois este deve-se principalmente ao aumento de neutrófilos e linfócitos ou, ainda, uma reação a fatores neuro-hormonais como observados no estresse, influenciando no aumento de monócitos e eosinófilos. Desse modo, a leucocitose fisiológica ocorre como uma resposta à adrenalina, como em situações de medo e excitação, no qual o compartimento, marginal de neutrófilos e/ou linfócitos são mobilizados para a circulação geral, aumentando a contagem total de leucócitos e o número de neutrófilos absoluto e/ou linfócitos. Essas alterações de aumento no número de leucócitos são mais comuns do que as leucopenias e não são indicativos de maus prognósticos.

Estas alterações observadas durante a análise do hemograma podem ser indicativos claros de estresse, que por sua vez, já poderam acarretar mudanças fisiológicas no corpo dos animais. Esse indicativo de estresse pode se dar por diferentes fatores dentro do ambiente de criação que o animal está inserido, desde práticas simples como o fato do confinamento isolado em baia, imposto sobre cada animal avaliado neste experimento, como uma condição mais complexa e que está diretamente correlacionado ao estresse, como por exemplo, as práticas de vacinação, contenção para casqueamento, dentre outros manejos.

Vale salientar que todas as alterações foram observadas na fase de pré-enriquecimento, sendo assim, pode-se justificar esse tipo de alterações devido aos animais estarem sendo mantidos em condições ambientais pobres ou com nenhum estímulo, isso faz com que o nível de estresse e de ócio nos animais se eleve consideravelmente.

#### QUADRO 1- Valores de referência para hemograma.

Parâmetros (Unidade)	Espécies	
	Caprinos	Ovinos
Hemácias ( $10^6/\mu\text{L}$ )	8,0 – 18,0	8,0 - 16,0
Hemoglobina(g/dL)	8,0 - 12,0	9,0 - 15,0
Hematócrito (%)	22 - 38	24 - 50
VCM (fL)	15 - 30	23 - 48
HCM (pg)	5,0 - 7,5	9,0 - 13,0
CHCM (%)	33 - 42	31 - 38

Leucócitos totais ( $\mu\text{L}$ )	4.000 - 13.000	4.000 - 12.000
Neutrófilos	$\leq 5.000$	$\leq 5.000$
Eosinófilos	0 - 750	0 - 1.000
Linfócitos	2.000 - 9.000	2.000 - 9.000
Monócitos	0 - 550	0 - 750
Plaquetas ( $10^3/\text{mm}^3$ )	300 - 800	300 - 600

Fonte: adaptado de Abdel- Samee et al., 1992; SCHALM's Veterinary Hematology, 2011.

**Tabela 1** - Hemograma completo de caprinos (1, 2, 3, 4) e ovinos (5, 6, 7, 8) confinados em instalações experimentais na fase de pré-enriquecimento ambiental.

Fase Pré-enriquecimento Ambiental								
Hemograma	Animais							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Hemácias ( $10^6/\mu\text{L}$ )	9,5	13,9	13,8	13,3	10,4	10,1	9	9,4
Hemoglobina(g/dL)	7,1	10,3	10,3	9,7	11,8	11,6	10,3	11,1
Hematócrito (%)	21	30,6	30,4	28,6	35,2	34,9	30,7	33,6
VCM (fL)	22,1	22	22	21,5	34	34,6	34,1	35,7
HCM (pg)	7,5	7,4	7,5	7,3	11,4	11,5	11,4	11,8
CHCM (%)	33,8	33,7	33,9	33,9	33,5	33,2	33,6	33
Leucócitos totais ( $\mu\text{L}$ )	12.600	81.200	86.600	71.600	2.850	6.950	7.550	3.550
Neutrófilos	4.788	38.976	49.362	41.528	1.026	5.004	4.908	1.846
Eosinófilos	0	3248	0	716	57	139	755	142
Linfócitos	7.560	38.164	32.042	20.048	1.511	1.460	1.586	1.314
Monócitos	252	812	5.196	9.196	257	348	302	249
Plaquetas( $10^3/\text{mm}^3$ )	800	800	800	800	581	359	436	452

Fonte: Dados da Pesquisa.

VCM: Volume celular médio; HCM: Hemoglobina celular média; CHCM: Concentração de hemoglobina celular média.

Na fase pós-enriquecimento os parâmetros para os animais se encontravam dentro dos intervalos considerados normais, exceto para o animal 2 que apresentou uma concentração maior de hemácias e discreta leucocitose, especialmente por linfocitose (TABELA 2). O que pode ser atribuído à implementação do enriquecimento ambiental para os animais, uma vez que os animais não receberam nenhuma outra modificação dentro do seu sistema de manejo.

Vários estudos demonstraram os benefícios do enriquecimento ambiental na qualidade de vida dos animais em cativeiro, inclusive para os parâmetros de células sanguíneas (WILSON et al., 1999). Nesse estudo, verificou-se que a aplicação do enriquecimento ambiental melhorou o eritograma e o leucograma de animais que, antes de iniciar a aplicação das técnicas de enriquecimento ambiental, apresentavam alterações

significativas. Embora os animais em questão não apresentassem sinais clínicos de doença ou qualquer problema visível, essas alterações detectadas em exame de sangue já demonstram uma tentativa do organismo para se ajustar a um ambiente difícil e às condições de manejo mais intensos, mobilizando a energia que poderia ir para crescimento, produção e reprodução. Com o uso das técnicas de manejo aplicando o enriquecimento ambiental favoreceu-se a melhoria desses parâmetros, assim como, do comportamento expressado pelo animal.

Não foram verificados promielócitos, mielócitos, metamielócitos ou bastonetes, nem basófilos no leucograma de nenhum animal. Os neutrófilos, mesmo nos animais que apresentavam neutrofilia na fase de pré-enriquecimento (TABELA 1), não continham granulações tóxicas e linfócitos e plaquetas apresentavam morfologia normal. Uma microcitose discreta foi observada no animal 1 e anisocitose também discreta no animal 2, conforme observado na tabela 2.

Sendo assim, todas as alterações encontradas desapareceram após a aplicação de enriquecimento ambiental, sugerindo fortemente a diminuição do estresse dos animais em confinamento.

**Tabela 2** - Hemograma completo de caprinos (1, 2, 3, 4) e ovinos (5, 6, 7, 8) confinados em instalações experimentais na fase de pós-enriquecimento ambiental.

Fase Pós-enriquecimento ambiental								
Hemograma	Animal							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Hemácias ( $10^6/\mu\text{L}$ )	11	27	14,3	12,5	9,3	9,4	9,7	10,6
Hemoglobina(g/dL)	9,6	11,6	10,3	10,6	10	10,6	10,4	11,3
Hematócrito (%)	29	35	31	32	28,5	31	29	33
VCM (fL)	26,4	13	21,6	25,6	30,7	33	30	31
HCM (pg)	8,7	4,3	7,2	8,5	10,7	11,3	10,7	10,7
CHCM (%)	33,1	33,1	33,2	33,1	34,7	34,3	36	34,3
Leucócitos totais ( $\mu\text{L}$ )	15.300	19.700	14.750	10.450	5.000	7.300	8.350	4.700
Neutrófilos	5.202	7.092	5.310	4.703	1.950	1.950	3.674	3.149
Eosinófilos	0	197	0	105	100	219	251	141
Linfócitos	9.792	12.214	9.145	5.434	2.700	2.993	3.758	1.175
Monócitos	306	197	295	209	250	219	251	141
Plaquetas( $10^3/\text{mm}^3$ )	125	135	166	235	488	398	468	452

Fonte: Dados da Pesquisa.

VCM: Volume celular médio; HCM: Hemoglobina celular média; CHCM: Concentração de hemoglobina celular média

Pode-se observar ainda que as alterações para as concentrações de glicose e triglicerídeos também sumiram após a aplicação do enriquecimento ambiental (TABELA 3). Isso porque, em situações de estresse, o organismo animal mobiliza moléculas para produção de energia na forma de glicose. Em ruminantes, a produção de glicose se dá no fígado,

principalmente a partir da utilização do ácido propiônico absorvido no rúmen. Em condições normais, os níveis de glicose plasmáticos são mais baixos nesses animais, mas podem aumentar em condições de estresse (KOZLOSKI, 2017). O mesmo acontece com os triglicerídeos, que são a principal forma de armazenamento de gordura no tecido animal, sendo sintetizado no fígado, no tecido adiposo, na glândula mamária e no intestino delgado (BRUSS, 2008). Em situações de estresse o cortisol pode aumentar os triglicerídeos no sangue pela mobilização das reservas de gordura para produção de energia (neoglicogênese).

Os níveis de triglicerídeos observados são maiores do que aqueles observados em cabras SRD, no Rio grande do Norte, em estudo de Araújo e Silva (2008), que encontraram uma média de 28,3 mg/dL. Entretanto, foram mais baixos do que os encontrados por Pinheiro et al. (2020), em que os valores ficaram entre 139 e 145 mg/dL, para reprodutores ovinos, das raças Morada Nova, variedade vermelha e branca, e Santa Inês, o que demonstra variação dos níveis. Isso porque, valores de referência para triglicerídeos no plasma sanguíneo de caprinos e ovinos ainda não foram estabelecidos.

As análises bioquímicas revelaram valores de glicose variando de 54 a 214 mg/dL na fase de pré-enriquecimento e com os animais 1, 3 e 6 apresentando valores acima do intervalo considerado normal. Na fase pós-enriquecimento os valores de glicose variaram de 19 a 97 mg/dL, em que, praticamente todos os animais apresentaram hipoglicemia, exceto o animal 6, com 62 mg/dL, que apresentava glicose sérica dentro do intervalo normal que é de 50 a 80 mg/dL para ovinos, e o animal 3 com 97mg/dL, que apresentou hiperglicemia se comparado a valores de referência para caprinos que é de 50 a 75mg/dL (TABELA 3).

Os valores de triglicerídeos variaram de 70 a 150 mg/dL na fase pré-enriquecimento ambiental e de 41 a 137 mg/dL na fase de pós-enriquecimento. Os valores de proteínas totais se aproximaram dos valores de referência para ovinos e caprinos (6 a 7,5) nas duas fases do estudo, exceto para o animal 5 que apresentou valores de 8,6 e 8,8 nas fases pré e pós-enriquecimento, respectivamente (TABELA 3).

**Tabela 3** - Valores séricos de glicose, triglicerídeos e proteína total de caprinos e ovinos confinados em instalações experimentais antes e após aplicação de enriquecimento ambiental.

Animal	Pré-enriquecimento ambiental			Pós-enriquecimento ambiental		
	Glicose (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Proteína total	Glicose (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Proteína total
1	95	91	7,4	41	65	8,4
2	68	104	7	46	70	7,4
3	214	70	8	97	54	7,4
4	65	100	8	43	41	8
5	54	150	8,6	32	137	8,8
6	100	83	8	62	48	8,2
7	69	126	8	22	70	7,8
8	73	113	8	19	111	8,4

Fonte: Dados da Pesquisa.

A aplicação do enriquecimento ambiental foi viável e satisfatória para todos os animais e apresentou resultados benéficos para o comportamento das espécies estudadas. As ferramentas utilizadas para o enriquecimento, que foram forragem suspensa e picolé de caju, como enriquecimento alimentar (i); música (instrumental clássica), como enriquecimento sensorial (ii); e garrafas pets furadas contendo concentrado ou garrafas pets intactas, contendo pedras de cascalho, como enriquecimento físico (iii) mostraram-se bastante eficazes para as espécies estudadas, indicando que podem ser utilizadas facilmente como incremento para

enriquecimento ambiental (TABELA 4).

Além disso, o comportamento alimentar foi maior na fase pós-enriquecimento alimentar, quando comparado com a fase pré-enriquecimento, porém apresentou uma diminuição na fase que foi aplicado o enriquecimento sensorial, o que pode-se inferir que os animais mantiveram-se bem mais tranquilos na aplicação deste tipo de enriquecimento. Desse modo, observou-se também que durante toda a fase de enriquecimento físico esta frequência de observações manteve-se alto. A interação com elementos da baia, inclusive com os artefatos de enriquecimento, foram maiores justamente na fase de aplicação do enriquecimento ambiental, exceto para a fase de enriquecimento sensorial, quando apresentou valores mais baixos para essa fase, isso porque os animais permaneceram um maior período de tempo em estado de repouso (FIGURA 3).

Sendo assim, dentro do contexto do enriquecimento ambiental, o estímulo sonoro, especificamente a música, vêm sendo estudado a fim de verificar sua eficácia como ferramenta de mitigação do estresse em animais de produção confinados, principalmente para vacas leiteiras e suínos, estes estudos apresentam resultados que validam a ação em reduzir os comportamentos anormais, mantendo os animais mais calmos, desprendendo menos interações agonísticas (ROCHER, 2010; MASSARI et al., 2010).

**Figura 3** – Animais em estado de repouso na aplicação do enriquecimento sensorial.



Fonte: Autor

Durante a aplicação do enriquecimento alimentar, houve um incremento de vocalizações. Entretanto, para os outros dois tipos de enriquecimento houve decréscimo na frequência de vocalizações. Os animais alternam o descanso com as posturas em pé e deitado, mas com a aplicação do enriquecimento sensorial houve um aumento pronunciado da postura deitada, totalizando cerca de 119 observações, como demonstrado na figura 3, e diminuição de atividades como alimentação, interação, vocalizações e comportamentos anormais e um incremento da ruminação nesse tratamento (TABELA 4).

A ruminação foi maior nas fases pré-enriquecimento alimentar e físico e menor na fase pós-enriquecimento para esses dois tipos de enriquecimento. Houve uma redução considerável nos comportamentos anormais desde o início do estudo até o seu final, com frequências mínimas nas fases pós-enriquecimento alimentar e sensorial e nas fases pré-enriquecimento e durante o enriquecimento físico, esse sendo o último a ser aplicado. Os

comportamentos anormais mais observados foram raspar as patas no cocho de alimentação e no chão; urinar ou defecar no cocho; cabeçadas nos portões ou paredes; morder portões e argolas das baias; esfregar-se insistentemente nas paredes; derramar água do bebedouro; em pé na parede (ovinos) e girando a cabeça (caprinos).

Desse modo, foi notório o benefício do enriquecimento ambiental também para o padrão comportamental dos animais, principalmente quando se observou a diminuição de frequência dos comportamentos anormais. Esse tipo de comportamento é um indicador muito importante para avaliação de estresse nos animais.

Os comportamentos anormais observados, nesse estudo, corroboram com os que foram elencados por Paranhos da Costa (1988), para animais de produção como dar cabeçada em grades, paredes, cochos e bebedouros, apetite depravado (roer, morder ou comer cochos, bebedouros, paredes, grades, madeiras, terra, fezes, beber urina), e estereotípias.

Observou-se ainda que todos os tipos de enriquecimento ambiental aplicados cumpriram muito bem com objetivo de diminuir o estresse dos animais, uma vez que os comportamentos anormais verificados no etograma de início do estudo (fase pré-enriquecimento alimentar) tiveram uma frequência alta, cerca de 41 observações, e já estavam bem diminuídos verificando-se apenas duas observações na última etapa de aplicação da técnica, que foi a fase de enriquecimento físico (TABELA 4). Isso comprova que as ferramentas escolhidas para enriquecer o ambiente do animal estavam de acordo com sua história natural.

O enriquecimento ambiental bem aplicado produz a redução dos níveis de estresse, melhora no desempenho produtivo dos animais, resultando em índices interessantes para produção comercial de qualquer espécie animal (SILVA, 2011).

Os animais em cativeiro têm espaço reduzido, ambiente com ausência ou sem muitos estímulos, dieta controlada, que reduz o tempo de forrageio, além de estarem isolados, condições que determinam estresse e exibição de comportamento anormais e indesejáveis. Nesse estudo, observou-se que as técnicas de enriquecimento aplicadas permitiram o aumento de atividades motoras, a possibilidade de escolha de atividades pelos animais, a quebra da monotonia de um ambiente pobre em estímulos, a previsibilidade das situações experimentadas e a associação da presença humana com eventos prazerosos para os animais, refletindo assim na melhora de suas condições físicas e mentais.

**Tabela 4-** Frequência de comportamentos apresentados pelos animais (ovinos e caprinos) confinados em instalações experimentais antes, durante e após a aplicação do enriquecimento ambiental (PRE, ENR, POS).

Tratamento		Comportamentos						
		AL	INT	VOC	EP	DEIT	RUMIN	ANORM
1	PRE	54	17	4	40	47	37	41
	ENR	51	64	14	37	50	20	4
	POS	83	31	4	47	63	11	2
2	PRE	76	11	10	39	71	19	12
	ENR	40	8	1	39	119	31	2
	POS	77	12	3	47	84	19	1
3	PRE	87	15	12	42	51	31	2
	ENR	83	32	9	50	50	15	1
	POS	72	2	0	66	84	11	3

Fonte: Autor.

1- Enriquecimento alimentar; 2- enriquecimento sensorial (música); 3- enriquecimento físico; AL- alimentação no cocho; INT- interação com outro animal ou com elementos do recinto; VOC- vocalização; EP: em pé; DEIT- deitado; RUMIN- ruminando; ANORM- comportamentos anormais.

## **CONCLUSÃO**

Conclui-se que a aplicação do enriquecimento ambiental foi viável e satisfatória apresentando resultados benéficos para o comportamento das espécies estudadas, melhorando os parâmetros hematológicos bioquímicos e comportamentais, diminuindo os níveis de estresse, e conseqüentemente melhorando o bem-estar de animais mantidos em confinamento isolados em unidades experimentais.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-SAMEE, A. M. et al. Alleviation of the heat load on lactating goats with the use of diuretics and drinking cool water. **Beitrag zur tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin**, v. 30, n. 1, p. 91-99, 1992.
- ARAÚJO, D. F.; SILVA, I. P. Valores de amilase, glicose, colesterol e triglicérides em soro de cabras de Mossoró, RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 3, p. 97-100, 2008.
- BELZ, E. E. et al. Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 76, p. 481-6, 2003.
- BREDY, T. W. et al. Partial reversal of the effect of maternal care on cognitive function through environmental enrichment. **Neuroscience**, v. 118, p. 571-6, 2003.
- BRUSS, L. M. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, W. J.; BRUSS, L. M. **Clinical Biochemistry of H COUNCIL- NRC. Nutrient requirements of small ruminants**. Washington; National Academies Press, 2007.
- BURN, C.C.; DENNISON, T.L.; WHAY, H.R. Relationships between behaviour and health in working horses, donkeys, and mules in developing countries. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 126, p. 109-118, 2010.
- CAMPOS, J. A.; TINÔCO, I. F.F.; SILVA, F.F. et al., 2010 Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dia. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.2, p. 272-278, 2010.
- CARL, A. B.; EDWARD R. A. **Tietz Textbook of Clinical Chem.** 2nd ed., 928-997.
- CAROPRESE, M. 2008. Sheep housing and welfare. **Small Ruminant Research**, 76, 21-25, 2008.
- CHEAL, M.; FOLEY, K; KASTENBAUM, R. Brief periods of environmental enrichment facilitate adolescent development of gerbils. **Physiology and Behavior**, v. 36, p. 1047-51, 1986.
- ESMAEILNEJAD, B. et al. Investigation of hematological and biochemical parameters in small ruminants naturally infected with *Babesia ovis*. **Veterinary Research Forum**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, p. 31, 2012.
- FARRELL, R.; EVANS, S.; CORBETT, D. Environmental enrichment enhances recovery of function but exacerbates ischemic cell death. **Neuroscience**, v. 107, p. 585-92, 2001.
- GREER, E. R.; DIAMOND, M. C.; TANG, J. M. W. Increase in thickness of cerebral-cortex in response to environmental enrichment in brattleboro rats deficient in vasopressin. **Experimental Neurology**, v. 72, p. 366-78, 1981.
- HAMMERSCHMIDT, J. Desenvolvimento e aplicação de perícia em bem-estar animal. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Paraná, 2010.

HOPLIGHT, B. J. *et al.* Effects of neocortical ectopias and environmental enrichment on Hebb-Williams maze learning in BXSB mice. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 76, p. 33-45, 2001.

JOHANSSON, B. B.; BELICHENKO, P. V. Neuronal plasticity and dendritic spines: effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain, **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 22, p. 89-96, 2002.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia- Editora UFSM, 2017.

LOTT, J. A.; TURNER, K., **Clin. Chem.**, 1987, 21:1754, 1970.

MASSARI, J. M. et al. Efeito da música no bem-estar animal de suínos na fase de creche. O CONSUMO E MARKETING DA CARNE SUÍNA E OS DESAFIOS E AS OPORTUNIDADES DA PRODUÇÃO MUNDIAL Anais... **PorkExpo & Fórum Internacional de Suinocultura**, setembro, 2010.

MENDES, R.C.; FARIA, H.A.de; SALVIO, G.M.M. Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche no IF Sudeste MG–campus Barbacena. In: **Simpósio de pesquisa e inovação** Anais... Barbacena: IF Sudeste MG, p.22-24, 2011.

NAKA, F. *et al.* An enriched environment increases noradrenaline concentration in the mouse brain. **Brain Research**, v. 924, p. 124-6, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington; National Academies Press, 2007.

OKONKWO J.C., OKONKWO I.F., EBYH G. U. Effect of breed, sex and source within breed on the haematological parameters of the Nigerian goats. **Online J. Anim. Feed Res.** p. 8-13, 2011.

OLADELE S.B., AYO J.O., OGUNDIPE S.O., ESIEVO K. Seasonal and sex variations in packed cell volume, haemoglobin and total protein of the guinea fowl (*Numida meleagris*) in Zaria, Northern Guinea Savannah zone of Nigeria. **J. Trop. Biosci.** p. 67-71, 2005.

PARANHOS DA COSTA, M.J.R., ANDRIOLO, A. Amamentação e Alo-amamentação em Búfalos (*Bubalus bubalis*). In: M. J. R. PARANHOS DA COSTA; CROMBERG V. U. (editores). Comportamento materno em mamíferos: bases teóricas e aplicações aos ruminantes domésticos, Ribeirão Preto - SP, p. 247-261, 1998.

PARE, W. P.; KLUCZYNSKI, J. Developmental factors modify stress ulcer incidence in a stress-susceptible rat strain. **Journal of Physiology-Paris**, v. 91, p. 105-11, 1997.

PINHEIRO, J. S. et al.,2020. Características produtivas e reprodutivas de ovelhas deslanadas criadas em pastagens na região tropical do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e331997287, 2020.

PIZZUTO, C.S.; SGAI, M.G.F.G.; GUIMARÃES, M.A.B.V. O enriquecimento ambiental como ferramenta para melhorar a reprodução e o bem-estar de animais cativos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, n. 3, p.129-138, 2009.

PRUSKY, G. T.; REIDEL, C.; DOUGLAS, R. M. Environmental enrichment from birth enhances visual acuity but not place learning in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 114, p. 11-5, 2000.

RIBEIRO, V.L.; BATISTA, A.M.V.; CARVALHO, F.F.R. et al. Seletividade e Composição da dieta ingerida por caprinos recebendo alimentação à vontade e restrita. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.4, n.1, p.91-94, 2009.

SCHRIJVER, N. C. A. *et al.* Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 73, p. 209-24, 2002.

SHEPHERDSON, D J.; MELLEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Eds.). Second Nature: environmental enrichment for captive animals. **Washington: Smithsonian Institution Press**, p. 01-12, 1998.

SILVA, C.M. Comportamento e descrição do etograma de três grupos genéticos de caprinos confinados através do monitoramento de imagens. 2011, 102f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Paraíba, 2011.

SILVA, G. M. et al., 2011. Avaliação do comportamento fisiológico de caprinos da raça Saanen no semiárido paraibano. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 6, n. 1, p. 21, 2011.

TANG, Y. P. *et al.* Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR2B transgenic mice. **Neuropharmacology**, v. 41, p. 779-90, 2001.

TONKS, D. B., **Quality Control in Clinical Laboratories**, 1983.

TRINDER, P., **Ann. Clin. Biochem.**, 6-24, 1969.

TURNER, C. A.; LEWIS, M. H. Environmental enrichment: effects on stereotyped behavior and neurotrophin levels. **Physiology and Behavior**, v. 80, p. 259-66, 2003.

VAN DE WEERD, H.A.; DOCKING, C.M.; DAY, J.E.L.; et al. Effects of speciesrelevant environmental enrichment on the behaviour and productivity of finishing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 99, p. 230–247, 2006.

WAGNER, A. K. *et al.* Intervention with environmental enrichment after experimental brain trauma enhances cognitive recovery in male but not female rats. **Neuroscience Letters**, v. 334, p. 165-8, 2002.

WEISS, Douglas J.; WARDROP, K. Jane (Ed.). **Schalm's veterinary hematology**. John Wiley & Sons, 2011.

WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. **WHO/DIL/LAB/99.1** rev. 2, 2002:31. 6 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

WILSON, L.L. *et al.* Effects of individual housing design and size on behavior and stress indicators of special-fed Holstein veal calves. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1341-7, 1999.

YEATES, J. W. Maximising canine welfare in veterinary practice and research: a review. **The Veterinary Journal**, v. 2, p. 271-278, 2011.