



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

DARÍLIA CHRISTIANE BOMFIM DE REZENDE

**A INATIVIDADE EM PACAS (*Cuniculus paca*) COMO INDICADOR DE
BEM-ESTAR**

**Ilhéus
25 de abril de 2022**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

DARÍLIA CHRISTIANE BOMFIM DE REZENDE

**A INATIVIDADE EM PACAS (*Cuniculus paca*) COMO INDICADOR DE
BEM-ESTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção e Comportamento Animal

Orientadora: Profa. Dra. Selene Siqueira da Cunha Nogueira

Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Gama Nogueira-Filho

**Ilhéus
25 de abril de 2022**

R467 Rezende, Darília Christiane Bomfim de.
A inatividade em pacas (*cuniculus paca*) como indicador de bem-estar / Darília Christiane Bomfim de Rezende. – Ilhéus, BA: UESC, 2022.
57 f. : il.

Orientadora: Selene Siqueira da Cunha Nogueira.
Co-orientador: Sergio Luiz Gama Nogueira-Filho.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

Referências: f. 46-57.

1. Animais – Comportamento. 2. Animais – Alimentação e rações. 3. Etologia. 4. Estresse. I. Título.

CDD 591.51

DARÍLIA CHRISTIANE BOMFIM DE REZENDE

**A INATIVIDADE EM PACAS (*Cuniculus paca*) COMO INDICADOR DE
BEM-ESTAR**

Ilhéus–BA, 25/04/2022

Prof.Dra. Selene Siqueira da Cunha Nogueira
UESC/DCB
(Orientadora)

Prof.Dr. SérgioLuiz Gama Nogueira-Filho
UESC/DCAA
(Co-orientador)

Prof.Dr. Yvonnick Le Pendu
UESC/DCB

Prof.Dr. Eduardo Ary Villela Marinho
UESC/DCS

**Ilhéus – Ba
2022**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu avô Josué Gomes de Rezende (in memoriam), que hoje descansa aos braços do Senhor.

“A menos que modifiquemos à nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por ter me proporcionado a benção de viver essa experiência que foi a pós-graduação e por ter me permitido chegar até o fim com saúde.

Quero agradecer à minha família (meus pais, avós, tios, tias e aos meus queridíssimos primos) por terem sido o meu porto seguro durante todos esses anos, me apoiando e me incentivando a ser um ser humano melhor. Em especial à minha tia Fabiana Sampaio, à minha mãe Regina Bomfim e à minha avó Maria Eunice, por acreditarem no meu potencial e por nunca desistirem de mim. A vocês, todo o meu amor!

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Selene Siqueira da Cunha Nogueira, pela paciência quando a ansiedade apertava e por toda dedicação e companheirismo, e ao meu co-orientador Prof. Dr. Sérgio Luiz Gama Nogueira-Filho, pelo fundamental apoio, proporcionando a realização desse trabalho. Meus mais sinceros agradecimentos!

Agradeço a pós-doutoranda do Laboratório de Etologia Aplicada, Dra. Vanessa Altino, por compartilhar comigo todo o seu conhecimento e experiência. E principalmente por toda ajuda, paciência, aconselhamento e orientação. Gratidão!

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, por sempre serem solícitos e dispostos a ajudar nas questões burocráticas.

Agradeço a todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, pelos ensinamentos e sugestões.

Agradeço aos meus colegas de Pós-graduação, em especial à Juliette Silva e a Andressa Cruz, pela amizade sincera, companheirismo e ajuda nos momentos difíceis.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Etologia Aplicada (LABET) e do Grupo de Estudos de Etologia Aplicada (GETAP), por todos os momentos únicos de conhecimento compartilhado.

Agradeço a todos os meus amigos por tornarem meus dias mais felizes e por dividirem comigo não só meus momentos ruins, mas também meus melhores dias. Sem o apoio e o amor de vocês, pouco eu seria.

Por último, porém não menos importante, um especial agradecimento às Pacas, objetos de estudo deste trabalho.

VALIDAÇÃO DA INATIVIDADE EM PACAS (*Cuniculus paca*) COMO INDICADOR DE BEM-ESTAR

Darília Christiane Bomfim de Rezende: darirezende95@gmail.com,

¹Laboratório de Etologia Aplicada, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil. Endereço: UESC/ Laboratório de Etologia Aplicada Rodovia Jorge Amado km 16, Ilhéus, Bahia CEP: 45662-900.

RESUMO

A preocupação com o bem-estar animal foi intensificada no decorrer das últimas décadas. Em decorrência disso, pesquisadores vêm desenvolvendo técnicas para medir e identificar o estado emocional dos animais e inferir na melhoria de seu bem-estar. Neste contexto, a busca por indicadores de bem-estar espécie-específicos é necessária, principalmente para espécies neotropicais ainda pouco estudadas como as pacas (*Cuniculus paca*). Desta forma, o objetivo deste estudo foi encontrar correspondência entre os padrões de inatividade comportamental dos animais em *Inatividade enquanto acordado (IBA)* e o estresse desses animais mensurado pela curva de excreção de metabólitos de glicocorticóides fecais durante o teste de desafio do hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH). Neste estudo foi utilizado o modelo quadrado latino (4x4) onde os animais foram submetidos ao teste de desafio do ACTH) exógeno durante os seguintes tratamentos: sem manejo; injeção intramuscular de solução salina; injeção intramuscular de ACTH baixo (0,18 mL ACTH) e injeção intramuscular de ACTH alto (0,37 mL ACTH). Os procedimentos associados à injeção (captura, contenção, aplicação) começaram às 7:30 e levou cerca de 15 minutos para ser concluído para todos os animais. O comportamento dos animais durante os tratamentos foi filmado e registrado por meio do método animal focal para posterior análise. Foi realizada análise aplicando o modelo linear misto e teste post-hoc de Tukey para comparação de médias da percentagem de tempo de inatividade, dormindo e alimentação em pacas. Os dados não apresentaram efeito significativo entre os tratamentos (desafio com ACTH exógeno) para a porcentagem de tempo em inatividade, dormindo e comendo. As pacas permaneceram mais tempo inativas na manhã após a aplicação dos tratamentos ($P = 0,005$), retornando ao nível inicial de inatividade na noite, 24h após o desafio. Houve redução na percentagem de tempo em que as pacas foram observadas alimentando-se na manhã da aplicação dos tratamentos (desafio) (média: 13,1%, DP = 18,0%) em relação à manhã do dia anterior (pré-desafio) (média = 43,5%, DP = 8,5%), voltando a apresentar o mesmo tempo gasto alimentando-se no sétimo dia após desafio ($P = 0,004$). Quanto ao comportamento de dormir, não foi observado efeito do dia em relação ao tratamento aplicado, apenas de horário, sendo que as pacas dormiram mais à noite. Conclui-se que o comportamento de inatividade (IBA), bem como a diminuição brusca do comportamento de alimentação são bons indicadores de estresse em *Cuniculus paca*, podendo, portanto, servir como auxílio para os criadores da espécie analisarem os agentes estressores na espécie.

Palavras-chave: bem-estar animal, estresse, etologia aplicada, inatividade.

VALIDATION OF INACTIVITY IN PACAS (*Cuniculus paca*) AS AN WELFARE INDICATOR

ABSTRACT

Concerns about animal welfare has intensified over the last decades. As a result, researchers have been developing techniques to measure, and identify the emotional state of animals and infer about their well-being. In this context, the search for species-specific welfare indicators is necessary, especially for neotropical species that are still poorly studied, such as pacas (*Cuniculus paca*). Thus, the aim of this study was to find a correspondence between the behavioral inactivity patterns of animals in *Inactivity but awake (IBA)*, and the stress of these animals measured by the excretion curve of fecal glucocorticoid metabolites during the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) challenge test. In this study, the latin square model (4x4) was used, where the animals were submitted to the exogenous (ACTH) challenge test during the following treatments: without handling; intramuscular injection of saline solution; low ACTH intramuscular injection (0.18 mL ACTH) and high ACTH intramuscular injection (0.37 mL ACTH). The injection procedures (capture, restraint, application) started at 7:30 a.m and took about 15 minutes to complete for all animals. The behavior of the animals during the treatments was filmed and recorded using the focal animal method for further analysis. Analysis was performed using a mixed linear model and Tukey's post-hoc test to compare means of the percentage of inactivity, sleeping and feeding time in pacas. The data showed no significant effects between treatments (exogenous ACTH challenge) for percentage of time in inactive, sleeping and eating. For the inactive state, the pacas remained inactive longer in the morning after the treatments ($P = 0.005$), returning to the initial level of inactivity the night after the challenge, 24 hours after the challenge. Regarding the feeding behavior, there was a reduction in the percentage of time in which the pacas were observed feeding on the morning of the treatments application (challenge) (mean 13.1%, DP = 18.0%), in relation to the morning of the previous day (pre-challenge) (mean = 43.5%, DP = 8.5%) showing the same time spent feeding on the seventh day after challenge ($P = 0.004$). Regarding sleeping behavior, there was no effect of the day in relation to the treatments, only of the time, moreover the pacas slept more at night. We conclude that inactivity IBA behavior, as well as the absence of feeding, seems to be good indicators of stress in *Cuniculus paca*, and may, therefore, serve as cue for breeders of the species to analyze the stressors in the species.

Keywords: applied ethology, animal welfare, inactivity, stress.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Croqui da disposição espacial das gaiolas durante o desafio de ACTH realizado no Laboratório de Etologia Aplicada (LABET) no Campus da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).....28
- Figura 2. Vista interna da estrutura das gaiolas onde as Pacas foram alojadas, contendo um bebedouro, um comedouro e um abrigo29
- Figura 3. Média (\pm erro padrão) de concentração de metabólitos glicocorticóides (GCM) em ng por g de fezes secas de paca em ng por g de fezes secas de paca durante as horas extras para os tratamentos: 1º controle (sem manuseio); 2º controle (injeção intramuscular (IM) de solução salina); baixa dose de ACTH (injeção IM de 0,18 mL ACTH); e alta dose de ACTH (injeção IM de 0,37 mL ACTH) pelo EIA de corticosterona.....32
- Figura 4. Média (\pm erro padrão) de concentração de metabólitos glicocorticóides (GCM) em ng por g de fezes secas de paca de planície para os tratamentos: 1º controle (sem manuseio); 2º controle (injeção intramuscular (IM) de solução salina); baixa dose de ACTH (injeção IM de 0,18 mL ACTH); e alta dose de ACTH (injeção IM de 0,37 mL ACTH) pelo EIA cortisol.....33
- Figura 5. Médias da percentagem de tempo em que as pacas (N=4) foram observadas em inatividade de acordo com o dia e período de observação. Barras acima das colunas indicam o erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam que as médias diferem significamente pelo teste de Turkey $P < 0,005$38

Figura 6. Médias da percentagem de tempo em que as pacas (N=4) foram observadas alimentando-se de acordo com o dia e período de observação. Barras acima das colunas indicam o erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam que as médias diferem significativamente pelo teste de turkey P < 0,005.....40

Figura 7. Médias da percentagem de tempo em que as pacas (N=64) foram observadas dormindo de acordo com o dia e período de observação. Barras acima das colunas indicam o erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam que as médias diferem significativamente pelo teste de Turkey P < 0,00541

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos padrões de comportamento observados para as pacas.....	39
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
CEUA	Comitê de Ética para Uso de Animais
CRF	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DP	Desvio Padrão
EIA	Ensaio Imunoenzimático
GCM	Concentração de Metabólitos Glicocorticóides
GH	Growth Hormone
GLM	Modelo Linear Generalizado
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IBA	Inactive But Awake
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IT	Imobilidade tônica
IUCN	União Internacional para a Conservação da Natureza
LABET	Laboratório de etologia aplicada
SGA	Síndrome Geral da adaptação
SM	Sem Manejo
SS	Solução Salina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVO.....	16
	2.1 Objetivo geral.....	16
	2.2 Objetivos específicos.....	16
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
	3.1 A espécie <i>Cuniculus</i> <i>paca</i>	17
	3.2 Bem-estar animal e estresse.....	19
	3.3 A inatividade enquanto acordado (IBA).....	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
	4.1 Local de estudo, animais e alojamento.....	27
	4.2 Procedimentos.....	30
	4.2.1 Desafio do ACTH.....	30
	4.2.2 Validação do imunoenensaio enzimático.....	31
	4.2.3 Coleta de dados e análise comportamental.....	34
	4.2.4 Análise estatística.....	36
5	RESULTADOS.....	36
6	DISCUSSÃO.....	42

7	CONCLUSÃO.....	46
8	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

A presença de distúrbios comportamentais muitas vezes é um indicativo de que os animais estão com algum grau de sofrimento, que compromete seu bem-estar (BROOM, 1986; HOSEY; MELFI; PANKHURST, 2013; MASON, 2010). Geralmente, isso ocorre porque o ambiente de cativeiro expõe os animais a fontes persistentes de estresse, tais como espaço reduzido (NOGUEIRA; NOGUEIRA FILHO, 2018), restrição de movimentos para a obtenção de alimento (BASHAW et al., 2003), proximidade forçada com humanos (MALLAPUR; CHELLAM, 2002), isolamento social (HERSKIN; JENSEN, 2000), além de outras restrições a estímulos necessários para a manifestação dos comportamentos naturais da espécie (MORGAN; TROMBORG, 2007; MCPHEE; CARLSTEAD, 2010). Estas situações podem gerar estresse crônico, causando mudanças metabólicas que consequentemente reduzem a imunidade do animal (NAZAR; MARIN, 2011), incrementando a circulação de hormônios associados ao estresse (cortisol ou corticosterona) (LANE, 2006), além de gerar aumento da inatividade do indivíduo (MEAGHER et al., 2013).

O tempo em que um animal passa em inatividade tem sido sugerido como uma medida para avaliar seu estado emocional e consequente bem-estar. A inatividade é definida como a ausência ou a diminuição brusca da atividade geral do animal (FUREIX; MEAGHER, 2015). Acredita-se que em humanos, a *inatividade enquanto acordado* (IBA) ocorra em decorrência de um estado afetivo negativo (MUHSEN et al, 2010). Da mesma forma, a presença da IBA em animais também parece estar associada a um bem-estar reduzido (LESS et al., 2012; MEAGHER et al., 2013; HARVEY et al., 2019). Portanto, mensurar o padrão de inatividade dos animais mantidos em cativeiro, para ser usado como indicador de bem-estar, parece promissor. No entanto, para que a IBA seja usada como um indicador de bem-estar, é necessário que haja validação desta variável. Deste modo, o objetivo deste estudo foi validar a IBA como indicador de bem-estar em pacas (*Cuniculus paca*) por meio da associação entre os padrões de inatividade comportamental e o teste de desafio para monitoramento de estresse por meio de metabólitos de corticosterona nas fezes.

A paca (*Cuniculus paca*) é um roedor neotropical que está presente em quase todo o território da América Central e Sul, exceto Chile (EMMONS, 2016). São animais majoritariamente solitários, territoriais, com hábitos crepusculares e noturnos (SILVA, 1984). Seu estado de conservação mundial é considerado como ‘menos preocupante’ segundo o livro vermelho da União Internacional para a Conservação da Natureza-IUCN (EMMONS, 2016). No entanto, em várias regiões, como o Rio Grande do Sul e o Paraná, a espécie está localmente ameaçada, principalmente pela perda de hábitat e devido à forte pressão de caça (EMMONS, 2016), uma vez que sua carne é a mais apreciada entre as carnes de caça (NOGUEIRA; NOGUEIRA-FILHO; 2011; VALSECCHI; EL BIZRI; FIGUEIRA, 2014). Nos países Neotropicais, a espécie tem sido criada para consumo de carne, deste modo a produção em cativeiro é considerada como uma das estratégias tanto para a segurança alimentar (SMYTHE, GUANTI, 1995), como para auxiliar na conservação de suas populações naturais evitando a caça (GALLINA; PÉREZ-TORRES; GUZMÁN, 2012). Alguns estudos sobre o repertório comportamental das pacas em cativeiro foram desenvolvidos, onde buscou-se categorizar estes comportamentos e quantificá-los de acordo com sua frequência de ocorrência (HOSKEN et al, 2021), e importância para o fitness desses indivíduos (SABATINI; PARANHOS, 2006; ALDRIGUI et al., 2018a, 2018b). No entanto, poucas informações estão disponíveis sobre o efeito do sistema de produção da espécie sobre seu bem-estar (SABATINI; PARANHOS, 2006). Assim, se faz urgente a identificação de indicadores de bem-estar não invasivos para a espécie, para que os produtores possam conhecer melhor as necessidades desses animais em cativeiro. Neste contexto, espera-se encontrar correspondência entre os padrões de inatividade comportamental dos animais em *IBA* e o estresse desses animais mensurado pela curva de excreção de metabólitos de glicocorticóides fecais durante o teste de desafio do hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Validar a *inatividade enquanto acordado* (IBA) em pacas (*Cuniculus paca*) como um indicador de bem-estar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o desafio do ACTH nas pacas.
- Analisar o comportamento das pacas quando submetidas ao desafio do ACTH.
- Identificar e quantificar o comportamento de *inatividade enquanto acordado* (IBA) em pacas quando submetidas a diferentes níveis de estresse endógeno.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A ESPÉCIE *Cuniculus paca*

A paca (*Cuniculus paca*) é o segundo maior roedor neotropical (EMMONS, 2016). São mamíferos pertencentes ao filo Chordata, subclasse Theriiformes, infraclasse Holotheria, ordem Rodentia, subordem Hystricognatha, família Cuniculidae, gênero *Cuniculus* e espécie *Cuniculus paca* (WILSON; REEDER, 2005). Na literatura são descritas cinco subespécies de pacas: *C. p. paca*, *C. p. quanta*, *C. p. mexicanae*, *C. p. nelsoni* e *C. p. virgata* (WILSON; REEDER, 2005). A sistemática estabelecida para as pacas indica que a espécie foi inicialmente agrupada dentro do gênero *Agouti*, onde se encontram diversas publicações que relatam desta forma (BONILLA-MORALES; PULIDO; PACHECO, 2013). Atualmente, a Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica incluiu a paca dentro do gênero *Cuniculus*, sugerido por Brisson em 1762, passando o gênero *Agouti* ser um sinônimo pouco usual.

A distribuição geográfica do gênero estende-se desde o sudeste do México até o norte da Argentina, ocorrendo também em Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname, Trinidad e Tobago, Uruguai e Venezuela (PÉREZ-TORRES, 1996; EISENBERG; REDFORD, 1999; EMMONS, 2016).

O comprimento da paca adulta varia em torno de 60 a 82 cm, com peso médio variando de 6,30 a 10,00 kg, no entanto, alguns animais podem pesar até 12 kg. Os espécimes apresentam orelhas médias arredondadas, olhos grandes e pretos, que parecem vermelhos à noite, uma pequena cauda (1-2 cm de comprimento), as pernas dianteiras curtas têm quatro dedos dispostos para a frente e as pernas posteriores, mais longas, têm cinco dedos, as unhas são fortes e adequadas para correr (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 1999). Possuem pelos curtos e ásperos, com fundo de castanho avermelhado a castanho ou castanho escuro (PÉREZ-TORRES, 1996). Possuem de três a cinco linhas pontilhadas na lateral do seu corpo, além de apresentar uma coloração branca de seus pelos ventrais (AUGUSTO; RIOS, 2002).

Os dentes frontais dessa espécie crescem continuamente, assim como em outros roedores, portanto, o animal os desgasta roendo troncos de madeira e outros objetos rígidos (PEREZ-TORRES, 1996). A longevidade da paca varia de 10 a 15 anos em ambiente natural (CARRETA-JUNIOR, 2008), e cerca de 20 anos em cativeiro (OLIVEIRA et al., 2007).

Os animais são majoritariamente solitários, territoriais, com hábitos crepusculares e noturnos (SILVA, 1984). Essa espécie, considerada generalista com relação ao hábito alimentar, habita florestas tropicais úmidas, no entanto, pode ocupar diferentes tipos de habitats, como manguezais, florestas decíduas, semidecíduas, mas usualmente procuram áreas florestadas próximas de cursos d'água (PEREZ-TORRES, 1996; ZUCARATTO; CARRARA; FRANCA, 2010). Também podem ser encontradas em áreas de vegetação secundária, bem como em áreas de cultura agrícola, sendo nesses casos, consideradas potenciais pragas, devido ao consumo desses produtos (LOBÃO; NOGUEIRA-FILHO, 2011). Quanto aos hábitos alimentares, a paca forrageia ao entardecer e no crepúsculo, percorrendo trilhas fixas, e que geralmente são próprias de cada animal (PEREZ-TORRES, 1996). Em vida livre, possuem cerca de 87% de sua dieta baseada no consumo de frutas, podendo também consumir folhas verdes (DUBOST; HENRY, 2006). Contudo, em cativeiro, são alimentadas com frutas, folhas, raízes, milho em grão e ração comercial formulada para coelhos (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 1999). Devido a seus hábitos alimentares, eles desempenham um papel importante na dispersão de sementes e, portanto, são essenciais para a manutenção e regeneração das florestas (NAGY-REIS ET AL., 2019; BECK-KING; HELVERSEN; BECK-KING, 1999; JANINI, 2000).

As pacas são descritas majoritariamente como animais solitários (SMYTHE; BROWN DE GUANTI, 1995), porém já foram descritos relatos desses animais vivendo em grupos na natureza (FIGUEROA-DE-LEÓN et al., 2016). Corroborando com esses achados, um estudo realizado por Lima et al. (2018), constatou que as pacas em cativeiro possuem um vasto repertório vocal, apresentando vocalizações de rugido e gemido, por exemplo, que podem indicar uma comunicação de alerta entre os indivíduos. A complexidade de comunicação encontrada sugere compatibilidade com espécies que vivem em grupo.

O estado de conservação da espécie é classificado como ‘menos preocupante’ segundo livro vermelho da união Internacional para a conservação da Natureza-IUCN (EMMONS, 2016). Este estado de conservação é atribuído a sua ampla distribuição nos países em que ocorre (EMMONS, 2016), porém, a paca é considerada como localmente ameaçada em algumas áreas de sua ocorrência, como no Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro, devido à perda de hábitat e forte pressão de caça (BENITÉZ-LÓPEZ et al., 2017). A caça ocorre principalmente pela qualidade da carne desse animal que é muito apreciada (NOGUEIRA-FILHO; NOGUEIRA, 1999; GOMES; KARAM; MACEDO, 2013). A pressão oriunda da caça dificulta a manutenção das populações silvestres dessa espécie, paralelamente, o mercado econômico existente na comercialização da carne da Paca faz com que a criação de animais em cativeiro seja uma alternativa com impactos positivos, tanto econômicos – geração de renda na venda de animais e carne – como no aspecto ambiental – já que espera-se que ocorra a diminuição na caça desses animais na natureza (BONILLA-MORALES; PULIDO; PACHECO, 2013).

3.2 BEM-ESTAR ANIMAL E ESTRESSE

A preocupação com bem-estar de animais em ambientes confinados tornou-se crescente nas últimas décadas (RICCI; TITTO; DE SOUZA, 2017). Pesquisadores voltaram sua atenção para o estudo das condições fisiológicas, comportamentais e cognitivas desses indivíduos (MOBERG; MENCH, 2000; WIELEBNOWSKI, 2003). Para proporcionar uma melhoria no bem-estar dos animais criados em cativeiro, no entanto, é necessário à priori investigar quais são as variáveis que influenciam no seu bem-estar (HÖTZEL; NOGUEIRA; MACHADO-FILHO, 2010; NICK; VANDENHEEDE, 2014). A falta de um ambiente enriquecido, por exemplo, pode levar o animal ao estresse crônico, podendo acarretar distúrbios comportamentais tais como aumento da agressividade (WÜRBEL; STAUFFACHER, 1994), inatividade (MEAGHER, 2013; HARVEY et al., 2019), *padding* (AZEVEDO et al., 2016), e outras estereotipias (NEVISON; HURST; BARNARD, 1999).

O conceito de estresse foi definido a primeira vez por Hans Selye (1956), que o definiu como “uma resposta inespecífica do corpo a uma demanda – interna ou externa –, exercida sobre ele” (Selye, 1946). O autor descreve ainda que os sintomas do estresse, cientificamente conhecido como Síndrome Geral da Adaptação (SGA), manifestam-se em 3 fases: 1) fase de alarme, que ocorre quando o indivíduo entra em contato com o agente estressor, perturbando o seu equilíbrio, caracterizada por manifestações agudas; 2) Fase de resistência, quando o organismo começa a restabelecer o seu equilíbrio, e as manifestações agudas somem; 3) Fase de exaustão, onde há o retorno dos sintomas agudos, sobrecarregando o organismo, podendo levá-lo ao colapso (Selye, 1956).

Outros autores definem ainda o estresse como o mecanismo de defesa do organismo, diante das situações normais do cotidiano, bem como daquelas extraordinárias e extremas, as quais são reguladas por vias neuroendócrinas (STOTT, 1981). Já Broom (2010), define o estresse como um estímulo ambiental, que pode desafiar e sobrecarregar os sistemas de controle do animal, resultando em efeitos indesejáveis que comprometem a sua adaptação (BROOM, 2010). Logo, na presença do estresse, o bem-estar torna-se pobre (BROOM, FRASER, 2010). Diversas são as causas que podem levar o animal ao estresse. Quando um animal está frente a um agente estressor, como a perseguição por um predador ou a competição com um coespecífico, uma série de processos hormonais são desencadeados em seu organismo. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) é ativado, estimulando a produção de hormônios glicocorticoides (cortisol ou corticosterona) pelo córtex adrenal (SAPOLSKY, 2002).

A maioria dos mamíferos produz cortisol, no entanto, roedores e logomorfos produzem corticosterona (MATTERI; CARROLL; DYER, 2000). Esses hormônios são responsáveis por fazerem com que o animal consiga lidar com a situação de estresse que perturba a sua homeostase (PALME et al.,2005). Desta forma, quando o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) é estimulado, ocorre a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRF) pelo hipotálamo que estimula a pituitária anterior a liberar hormônio

adrenocorticotrófico (ACTH) na corrente sanguínea (LANE, 2006). Ao atingir as glândulas adrenais, o ACTH estimula a síntese e secreção de glicocorticoides (WASSER et al., 2000; HEISTERMANN; PALME; GANSWINDT, 2006). Os glicocorticoides são responsáveis pela rápida mobilização de aminoácidos e ácidos graxos das reservas celulares, tornando-os imediatamente disponíveis para a síntese de glicose, necessária para fornecer energia aos diferentes do corpo, em situações de um estímulo estressor, permitindo desta forma que o indivíduo consiga enfrentá-lo (SAPOLSKY; KREY; MCEWEN, 1983).

Entretanto, do ponto de vista fisiológico, o incremento de glicocorticóides no organismo dos animais não pode ser considerado unicamente indesejável e produto de situações aversivas (DAWKINS et al, 2004), uma vez que os hormônios liberados em situações estressantes estão relacionados, inclusive ao cortejo sexual, a cópula, a caça e o parto (BROOM; JOHNSON, 1993), assim como resposta ao enriquecimento ambiental, brincadeiras e mudanças na dieta (NOGUEIRA et al. 2011). Ademais, os glicocorticóides permitem aos animais se prepararem para enfrentar situações em que será necessário grande dispêndio de energia, como situações de risco de vida do animal, que em conjunto com o Sistema Nervoso simpático, ativa a resposta de “luta ou fuga” (SAPOLSKY; KREY; MCEWEN, 1983; BROOM; ZANELLA, 2004). Portanto, o estresse é um mecanismo adaptativo para a sobrevivência (BOERE, 2002; MELLOR, 2016). Por outro lado, o estresse crônico e/ou intermitente, também conhecido como distresse, pode causar prejuízos produtivos, reprodutivos e alterações comportamentais (ROSA, 2017; VASCONCELOS; DEMETRIO, 2011).

Para determinar se o animal está sofrendo de estresse, é possível analisar os hormônios desencadeadores do estresse por meio do sangue, da saliva e das fezes (ABÁIGAR; DOMINÉ; PALOMARES, 2010; ALTINO; NOGUEIRA-FILHO; DA CUNHA NOGUEIRA, 2018). O método que utiliza amostras de sangue é considerado invasivo, pois há necessidade de contenção do animal, sendo este contato humano- animal, por si só um fator de estresse, resultando em mudanças fisiológicas e incremento de glicocorticóides no organismo desses animais (WAIBLINGER et al., 2006; BAUER et al., 2008; HEMSWORTH;

COLEMAN, 2011). O método da saliva, contanto que o animal seja treinado para vir espontaneamente até o pesquisador, também se torna estressante no momento de contenção para coleta de material. A técnica considerada menos invasiva é o monitoramento do estresse por meio da quantificação de metabólitos de glicocorticóides nas fezes (PALME et al., 2005; ALTINO; NOGUEIRA-FILHO; DA CUNHA NOGUEIRA, 2018). Para a coleta dessas amostras não há necessidade de contenção e os metabólitos de glicocorticóides nas fezes são relativamente estáveis por até 72 horas (ABÁIGAR et al., 2010).

Sabe-se que com a elevação da taxa de ACTH, provocado por um agente estressor, mudanças comportamentais podem ocorrer, como estereotípias (MASON et al, 2007), *padding* em arara-azul-de-lear (AZEVEDO et al., 2016) e *ema* (*Rhea americana*) (AZEVEDO et al., 2010), bater de dentes e grunhir em queixadas (NOGUEIRA et al., 2016), entre outras. Estas alterações comportamentais podem ser usadas como indicadores de bem-estar, desde que haja validação da relação estresse/comportamento. Portanto, análises comportamentais quando usadas em conjunto com as medidas fisiológicas diminuem as chances de erros de interpretação dos resultados obtidos (ALTINO; NOGUEIRA-FILHO; DA CUNHA NOGUEIRA, 2018).

Broom (1986) define que “o bem-estar de um indivíduo é seu estado no que diz respeito às suas tentativas de lidar com seu meio ambiente”. Historicamente, os estudos em bem-estar passaram a se basear no desenvolvimento de metodologias de avaliação que fossem passíveis de identificar a ausência de condições ambientais e emoções negativas nos animais criados em cativeiro, como a dor, o medo, bem como a privação das necessidades fundamentais dos animais, como a alimentação e contato social (CEBALLOS et al., 2018). O bem-estar animal é um termo que descreve uma qualidade potencialmente mensurável de um animal vivo em um determinado momento, podendo ser medido cientificamente, e varia em uma faixa de muito bom a muito ruim. Deste modo, entende-se que o bem-estar do indivíduo será ruim se houver dificuldade ou fracasso em enfrentar o seu ambiente (BROOM, 2011). Enfrentar, entende-se como ter controle da estabilidade mental e corporal (BROOM; JOHNSON, 1993). O indivíduo falha em suas tentativas de enfrentamento quando não

consegue alcançar esse controle. Todavia, assim que alcança o controle, o indivíduo está enfrentando (BROOM, 2001). Uma ou mais estratégias de enfrentamento podem ser usadas para tentar lidar com um desafio específico, portanto, uma ampla gama de medidas de bem-estar pode ser necessária para avaliar o bem-estar (FRASER, 2004)

Os mecanismos de enfrentamento que um indivíduo pode apresentar variam desde componentes comportamentais, fisiológicos, imunológicos, até uma gama de outros mecanismos induzidos por processos cerebrais e cognitivos. O bem-estar, no entanto, não diz respeito somente a ausência de patologias, mas os sentimentos, tais como, dor, medo ou até mesmo a percepção do sentimento de prazer, devem ser levados em consideração para avaliar se o animal goza de um bem-estar satisfatório (DAWKINS, 1990). Muitas das evidências usadas na avaliação do bem-estar indicam a extensão dos problemas dos indivíduos, mas também é importante reconhecer e avaliar o bem-estar, ou seja, indicativos de felicidade, contentamento, controle das interações com o meio ambiente e possibilidades de explorar habilidades (BROOM, 2001).

Muitas das evidências usadas na avaliação do bem-estar indicam a extensão do mal-estar dos indivíduos, contudo, também é importante reconhecer e avaliar o bem-estar globalmente positivo (MELLOR; BEAUSOLEIL, 2015; MELLOR, 2016). Desta forma, vários pesquisadores dedicaram-se em avaliar indicadores de bem-estar globalmente positivo em animais cativos, a fim de integrá-los nos protocolos de avaliação de bem-estar animal (PROCTOR; CARDER, 2014; RIUS et al., 2018). Segundo Broom e Fraser (2007), a avaliação do bem-estar deve ser realizada de forma objetiva, sem levar em conta questões éticas sobre os sistemas, práticas ou condições dos indivíduos que estão sendo avaliados, porém, após a obtenção dos dados e evidências científicas sobre o bem-estar, decisões éticas podem ser tomadas. Portanto, é necessário identificar e quantificar indicadores de estado de bem-estar.

3.3 A INATIVIDADE ENQUANTO ACORDADO/ INACTIVE BUT AWAKE (IBA)

Embora pareça simples, a definição de inatividade é um assunto complexo, uma vez que não existe consenso dessa definição na literatura. Esse conceito varia conforme o tipo de estudo empregado. Além disso, não tem sido o foco dos trabalhos científicos comportamentais (LIMA et al., 2005; LEVITIS et al., 2009), onde muitas vezes a inatividade é considerada simplesmente como um estado padrão, em vez de um comportamento (FUREIX; MEAGHER, 2015). Na literatura, a definição de inatividade frequentemente se refere a características específicas, como por exemplo, em ratos dormindo ou deitado sem alerta e com os dois olhos fechados (ABOU-ISMAIL et al., 2008), ou congelamento, como a ausência completa de movimento visível, exceto a respiração (FANSELOW, 1982). Em outros casos, a constatação de inatividade surge não como um foco principal da avaliação no estudo, mas sim como um subproduto, ou uma consequência pela falta de atividade, uma vez que a maioria dos trabalhos avalia os níveis de atividade realizados pelos animais.

A atividade em estudos de animais em vida livre bem como de cativeiro, geralmente é avaliada como relacionada com os níveis de locomoção do animal (LOUVART et al., 2005; O'CALLAGHAN et al., 2003; ROWCLIFFE et al., 2014). Nesses casos a inatividade seria definida como o tempo gasto parado, mas não necessariamente, sem realizar outros movimentos intencionais sem implicar em locomoção. Por outro lado, em pesquisas de etologia aplicada, qualquer movimento é normalmente considerado atividade, mesmo se o animal permanecer em um lugar (BURRELL; ALTMAN, 2006; ROCHLITZ; PODBERSCEK; BROOM, 1998). Nesses casos, a definição de inatividade seria quando o animal permanecer relativamente imóvel, mas acordado sem movimento pronunciado ou função aparente, mas incluiria outros movimentos leves (mexer a cabeça, mudar de posição) (RUSHEN et al., 2001).

Segundo Fureix e Meagher (2015), o aumento da inatividade pode estar associada como um sinal de estado afetivo negativo, contudo a inatividade também pode ser expressa em decorrência de um estado positivo ao indivíduo. As autoras discriminam ainda a inatividade em 3 tipos, sendo eles: 1) A inatividade decorrente de um estímulo a uma ameaça

percebida, sendo este tipo de curta duração, apresentando respostas comportamentais como Freezing, imobilidade tônica e ocultação; 2) A inatividade prolongada, decorrente de um estado afetivo negativo, como tédio e depressão, causando quadros de letargia e diminuição das atividades diárias, e por fim; 3) A inatividade decorrente de estados afetivos positivos, podendo estes ser de alta excitação, como por exemplo, um gato imóvel espreitando sua presa, ou de baixa excitação, como indivíduos realizando banho de sol, ou pós-cópula, ambos gerando estímulos prazerosos e hedônicos (FUREIX; MEAGHER, 2015).

A alteração na inatividade em resposta a uma ameaça pode expressar, geralmente, as respostas de “*FREEZING*” ou congelamento (maior imobilidade e aumento da rigidez), imobilidade tônica e ocultação. O aumento ou diminuição da inatividade associada a estados afetivos negativos pode ser expressa em resposta a uma ameaça percebida, relatada por Mendl, Burman e Paul (2010) como um estados afetivos de alta excitação negativa, geralmente associado a situações de ameaça, e também pode estar associado a experiências de perda ou falta de recompensa, relatado pelo autor citado como estado de baixa excitação (tristeza ou depressão), ao qual os animais podem promover baixa atividade e conservação de energia em condições de falta de recursos.

O comportamento de congelamento tem sido bem descrito em roedores, podendo ser definido como a ausência de todos os movimentos visíveis do corpo, exceto movimento de respiração (FANSELOW, 1982), tendo sido descrito por indução a um odor de predador (KNOX et al., 2012), bem como por estímulos não naturais, como aplicação de choque elétrico (LUYTEN et al., 2011). Segundo Trocino e Xiccato (2003), o comportamento de congelamento nos coelhos é usado para confundir e escapar dos agressores. Já Ferrante et al. (1992), relatou um maior tempo desse comportamento (congelamento) em coelhos mantidos em uma maior densidade populacional (17 coelhos/m²), quando comparado a coelhos mantidos em uma menor densidade (12 coelhos/m²), segundo os autores, o congelamento mais longo e a imobilidade representam uma reação negativa. O comportamento de congelamento tem sido observado em capivaras, onde os animais mantêm-se paralisados até que possam definir uma estratégia de fuga do agente estressor.

A imobilidade tônica (IT), também conhecida como hipnose animal ou “fingir-se de morto” é caracterizada por um estado de profunda inatividade física e relativa falta de responsividade ao meio ambiente, sendo uma resposta defensiva do animal e último recurso utilizado pelo animal num esforço para reduzir a probabilidade do ataque (ROCHA; MENESCAL; DA SILVA, 2017), já que a movimentação da presa estimula a sua continuidade, como tem sido comprovado por exemplo, em ataques de gatos em codornas (THOMPSON et al., 1981), e de raposas a patos (SARGEANT; EBERHARDT, 1975). A IT tem sido relatada em várias espécies de vertebrados e invertebrados também (GALLUP; NASH; WAGNER, 1971; RATNER, 1967; ROCHA; MENESCAL-DE-OLIVEIRA; DA SILVA, 2017).

Outro comportamento de inatividade é a ocultação, que na prática trata-se na ação de esconder-se. Os animais escondidos ficam parados fora da vista do potencial agente estressor, ou camuflados, usando qualquer tipo de abrigo ou barreira visual (MEAGHER et al., 2013). Em roedores, a exposição a um predador ou até mesmo o seu odor, induz uma resposta de ocultamento (DIELENBERG; MCGREGOR, 1999). A translocação para novos ambientes também induz a ocultação em felinos (CARLSTEAD; BROWN; SEIDENSTICKER, 1993; ROCHLITZ; PODBERSCEK; BROOM, 1998). Por outro lado, a inatividade pode estar relacionada não a estados de ameaça, mas a sinais de depressão ou tédio, motivados por condições de bem-estar empobrecido. Segundo McFarland (1989), quando as necessidades físicas de animais em cativeiro são satisfeitas, mas por outro lado eles são impedidos de exercer as atividades que desempenhariam na natureza, como reprodução, acasalamento, interação com outros animais, forrageamento e caça, eles entram em um estado de ‘limbo’ e provavelmente sofrerão.

Fureix et al. (2012, 2015) descreveram estados de “retração” inativos de longa duração em certos cavalos de equitação, caracterizados por ataques de insensibilidade, permanecendo imóveis com olhos que não piscam com um olhar aparentemente fixo e anedonia. Embora a etiologia dessa forma específica de inatividade seja atualmente desconhecida, sua associação com características da depressão clínica humana torna provável

que esteja associada a um estado afetivo negativo. Veissier et al. (2009), argumentam que ovelhas são sensíveis às mesmas características de estímulos que induzem o tédio em humanos, sendo assim, potencialmente capazes de experimentá-lo, o que obviamente, poderia ser aplicado a outras espécies animais. Nesse sentido, a inatividade é geralmente considerada uma consequência comum da habitação em gaiolas ou recintos relativamente pobres de estímulos, sendo um sinal de bem-estar precário (DEMONTE; LEPAPE, 1997).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nota ética

O protocolo para este experimento seguiu a legislação brasileira sobre cuidados com animais e foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) na Universidade Estadual de Santa Cruz (Protocolo #004/2015) e autorização para sua manutenção em cativeiro pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis IBAMA nº 1/29/2001 / 00022-7.

4.1. LOCAL DE ESTUDO, ANIMAIS E CONDIÇÕES DE ALOJAMENTO

Este estudo foi executado no Laboratório de Etologia Aplicada- LABET da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, Brasil. Foram utilizados quatro machos adultos de paca (*Cuniculus paca*), nascidos e criados em cativeiro oriundos de uma fazenda comercial localizada em Salvador, BA e transferidos para o LABET para a realização do estudo. Foram utilizados apenas indivíduos machos para evitar o viés causado pelas variações hormonais do ciclo estral em fêmeas. Os animais estavam com cerca de três anos de idade e peso médio de 7,0 kg (desvio padrão =0,5). No local, as pacas foram alojadas em gaiolas

individuais (1,2 m de comprimento, 0,8 largura e 0,8 m altura) (Figura 1). Cada gaiola continha uma toca de madeira (0,4 m de comprimento, 0,3 largura e 0,3 m altura), um bebedouro (0,2 m de diâmetro e 0,2 m altura) e um comedouro (0,2 m de diâmetro e 0,2 m altura). Durante o período experimental, cada animal foi alimentado com 80g de ração peletizada para coelhos, 100 g de banana (*Musa ssp.*), 120 g de batata doce (*Ipomoea batatas*) e 200 g de manga (*Mangifera indica*) fornecidos uma vez por dia às 08h00 da manhã. Os níveis de proteína e energia da dieta (9,3% proteína bruta e 17,5 MJ/kg de matéria seca) seguiram às exigências da nutricionais da espécie (NOGUEIRA-FILHO et al., 2016). A água foi fornecida *ad libitum* .

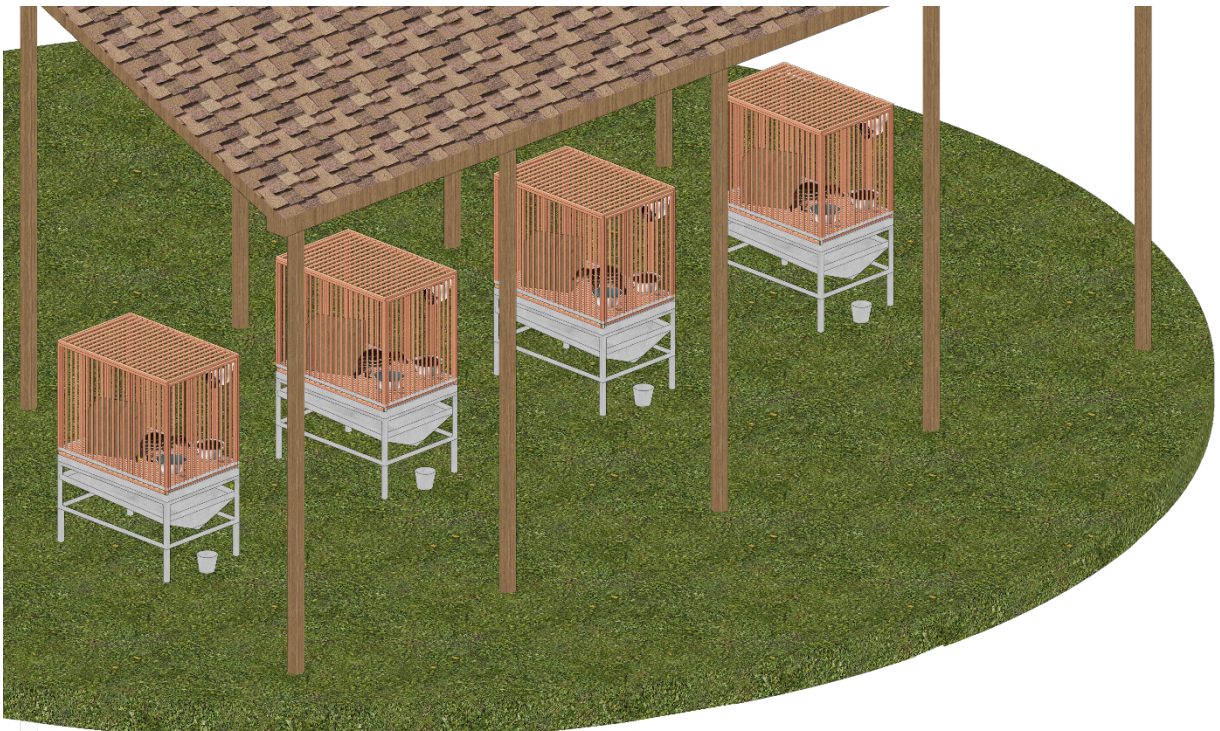


Figura 1. Croqui da disposição espacial das gaiolas durante o desafio de ACTH realizado no Laboratório de Etologia Aplicada (LABET) no Campus da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

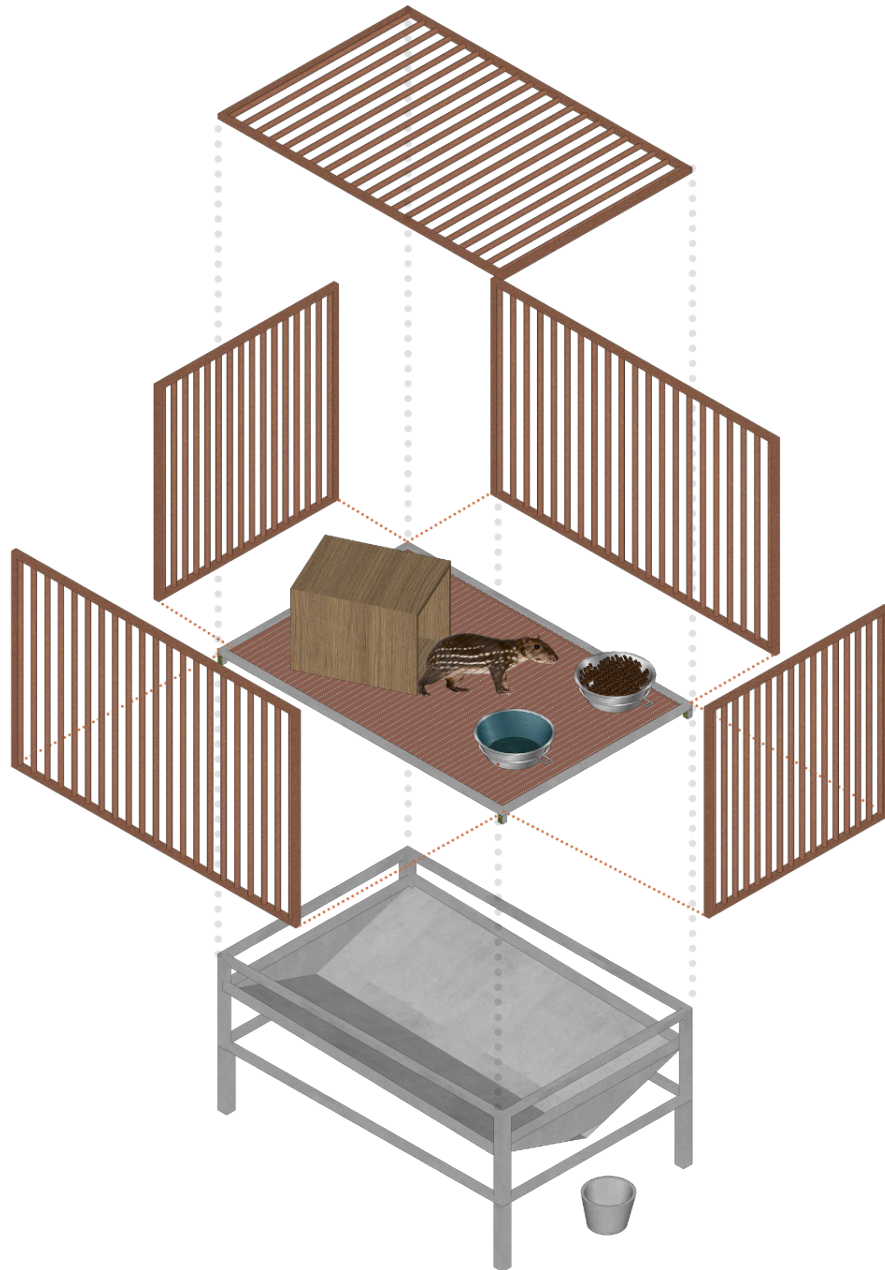


Figura 2. Vista interna da estrutura das gaiolas onde as Pacas foram alojadas, contendo um bebedouro, um comedouro e um abrigo.

4.2 PROCEDIMENTOS

4.2.1. Desafio do ACTH

Os animais passaram por um período de 30 dias de aclimação antes da aplicação dos tratamentos para que se habituassem à presença dos observadores durante o experimento. Posteriormente, submetemos os animais aos tratamentos seguindo o delineamento de quadrado latino (4 x 4), no qual todos os animais passaram por todos os tratamentos em fases distintas (detalhes a seguir). Os tratamentos testados foram: 1) sem manejo (SM) – animal que não foi capturado ou contido e tampouco recebeu qualquer tipo de injeção; 2) solução salina (SS) – animal que foi capturado, contido e recebeu injeção intramuscular de 2,0 mL de solução salina (0,9%); 3) ACTH dose baixa (ACTHb) – animal que foi capturado, contido e recebeu injeção intramuscular de 0,18mL de ACTH (uso humano, tetracosactídeo, Synacthen® Depot; ampola 1mg/1mL; Novartis Pharma S / A, Nürnberg, Alemanha) diluída em solução salina até alcançar o volume de 2,0 mL e 4) ACTH dose alta (ACTHa) – animal que foi capturado, contido e recebeu injeção intramuscular de 0,37 mL de ACTH diluída em solução salina até alcançar o volume de 2,0 mL. O ACTH (Synacthen® Depot; ampola 1mg/1mL; Novartis Pharma S/A, Nürnberg, Germany) e a solução salina foram aplicados por via intramuscular na parte superior da coxa (bíceps femoris) utilizando seringa de 3 mL e agulha 25X7. Para esses procedimentos, os animais foram capturados um a um com auxílio de uma rede de captura (puçá) e, depois de contidos, foram dispostos sobre uma mesa para a aplicação da injeção. Todo o processo de captura e aplicação das injeções era iniciado 15 minutos após seu início, onde todos as pacas receberam as injeções no mesmo dia.

As dosagens de ACTH usadas foram baseadas nas recomendações indicadas para humanos (1,0 mg / 70 kg) (HARPER ET AL., 1976; BERCOVICI ET AL., 2005) e ajustadas para o uso nas pacas deste estudo por extrapolação alométrica. Para esse ajuste consideramos o peso metabólico de cada paca (peso metabólico = massa corporal elevado à potência de 0,75). Aplicamos duas dosagens de ACTH, por não haver informações na literatura sobre as dosagens necessárias para estimular a produção de glicocorticóides pelas glândulas

suprarrenais na espécie.

Após a aplicação dos tratamentos, coletamos fezes das pacas e dados comportamentais durante sete dias consecutivos, para posterior análise dos glicocorticoides fecais, nas fases experimentais. Como as pacas possuem o ceco funcional e realizam o comportamento de cecotrofia (SMYTHE E BROWN DE GUANTI, 1995, ALDRIGUI et al. 2018A, B), era esperado que a excreção de metabólitos de glicocorticoides ocorresse entre 24 e 48 h após um estímulo estressor agudo (PALME et al., 2005). Desta forma, decorrido o período de 24 h após a contenção e aplicação intramuscular de cada tratamento, foram coletadas amostras de fezes a cada três horas entre 6h e 18h, para cada indivíduo, durante sete dias consecutivos após a aplicação dos tratamentos. Contudo, entre uma fase e outra do delineamento do quadrado latino, foi dado um intervalo de 14 dias para assegurar que a concentração de metabólitos de glicocorticoides nas fezes retornasse aos níveis basais e, assim, evitar que o tratamento anterior afetasse o seguinte; uma vez que o período de excreção de metabólitos de glicocorticoides fecais poderia exceder o período da coleta de dados.

4.2.2. Validação do imunoensaio enzimático

A validação do imunoensaio enzimático (EIA) para a espécie *Cuniculus paca*, foi realizada em trabalho anterior desenvolvido por Altino (2018). A validação foi determinada por um ensaio de paralelismo entre o antígeno padrão e os antígenos presentes nos extratos (TOUMA; PALME, 2005). Segundo descrição dos autores, foram utilizada uma amostra composta pelo pool de 90 extratos fecais dos três dias após a injeção da alta dose de ACTH, sendo realizada uma diluição em série (em tampão de AIA) de 1:2 a 1:256. Para análise da correspondência dos comportamentos esperados, foram analisadas as inclinações das curvas destas amostras em relação com a curva do kit padrão (1:2 a 1: 33554432 diluições). Os autores usaram os dados dos testes de paralelismo para identificar a diluição apropriada para amostras em cada ensaio, utilizando como critério de escolha da melhor diluição, aquela que produziu cerca de 50% de ligação de amostras para o pool. A precisão foi calculada como a

porcentagem da quantidade de hormônio esperada, calculada pela razão entre a quantidade observada pela quantidade esperada, multiplicado por 100. O ensaio imunoenzimático foi realizado em placas NUNC (Thermo Scientific), previamente revestidas com 50 mL de anticorpos diluídos em um tampão de revestimento (0,05 M NaHCO₃, pH 9,6) e armazenadas por 15 horas a 4°C, sendo realizada lavagem dos anticorpos não ligados com uma solução de lavagem (0,15 M NaCl, 0,05%). Então, 50 µl das diluições de cada amostra, diluições da curva padrão, e os controles alto e baixo (diluídos com tampão EIA) foram adicionados a cada poço, sendo adicionado em seguida o conjugado de HRP, correspondente para os ensaios de corticosterona ou cortisol. As placas foram incubadas durante duas e uma hora, para corticosterona e cortisol, respectivamente, a uma temperatura de 24°C. Passado o período, as placas foram lavadas com 100 mL da solução ABTS em cada poço. Por fim, as placas foram acondicionadas em um agitador até que os poços brancos chegassem a uma densidade óptica de 0,7, e a absorvância sob luz de 405 nm foi determinada com o leitor de placas (Multiskan Ascent-Thermo Scientific). A concentração de GCM foi expressa em ng por g de fezes secas.

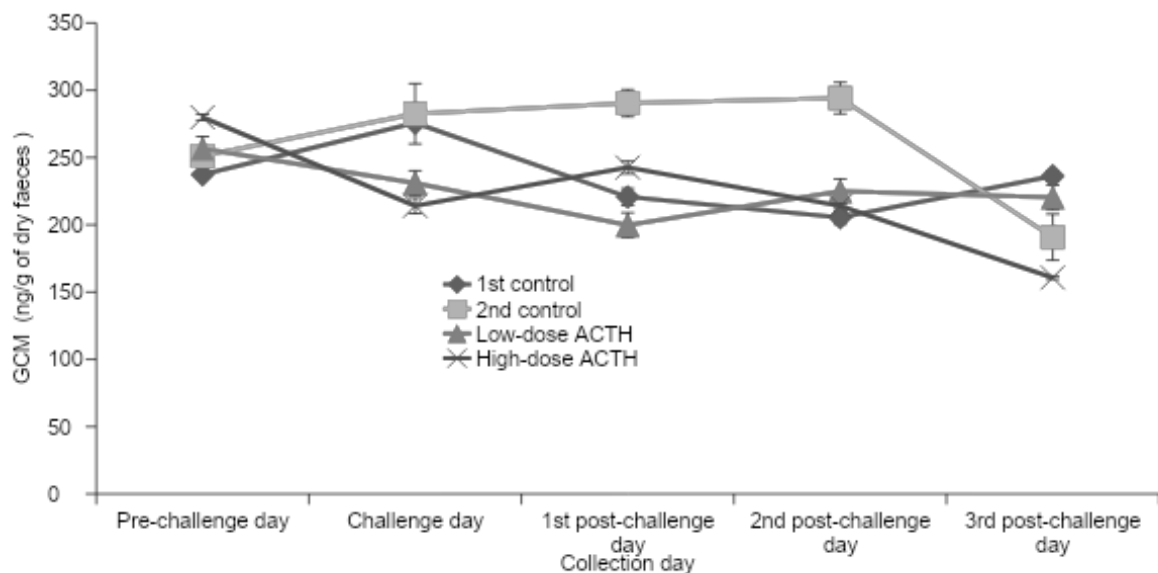


Figura 3. Média (\pm erro padrão) de concentração de metabólitos glicocorticóides (GCM) em ng por g de fezes secas de paca em ng por g de fezes secas de paca durante as horas extras para os tratamentos: 1º controle (sem manuseio); 2º controle (injeção intramuscular (IM) de solução salina); baixa dose de ACTH (injeção IM de 0,18 mL ACTH); e alta dose de ACTH (injeção IM de 0,37 mL ACTH) pelo

EIA de corticosterona.

Segundo Altino et al (2018b), a inclinação da curva do teste para corticosterona do pool de amostras (Figura 3) foi de -0,03, já para a curva padrão foi de -0,04, não havendo diferença significativa entre as curvas, segundo teste t ($P = 0,207$). A inclinação da curva de concentração por porcentagem de ligação do pool de amostras de cortisol (Figura 4) foi de -0,04, e -0,03 para a curva padrão, não havendo diferença significativa entre as curvas, segundo o teste t ($P = 0,280$). Portanto, pode-se confirmar a validação biológica da análise para ambos os anticorpos.

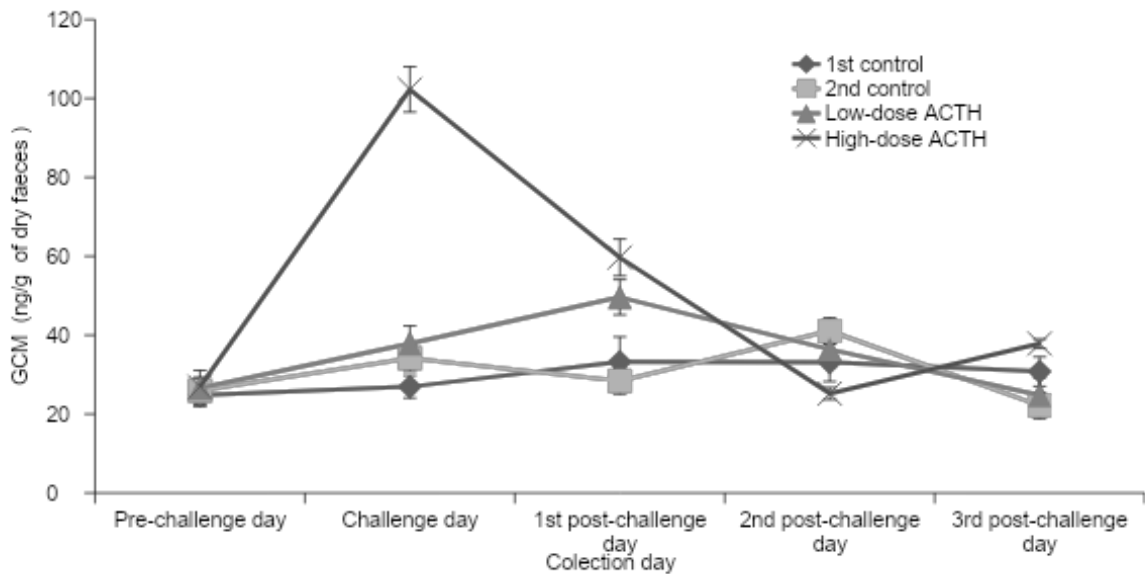


Figura 4. Média (\pm erro padrão) de concentração de metabólitos glicocorticóides (GCM) em ng por g de fezes secas de paca de planície para os tratamentos: 1º controle (sem manuseio); 2º controle (injeção intramuscular (IM) de solução salina); baixa dose de ACTH (injeção IM de 0,18 mL ACTH); e alta dose de ACTH (injeção IM de 0,37 mL ACTH) pelo EIA cortisol.

A diluição ideal das amostras de fezes de paca foi 1:8, quando esta diluição promoveu uma porcentagem de ligação próxima a 50% das curvas padrão. O coeficiente de variação intra-ensaio foi inferior a 10% para todas as amostras analisadas para ambos os anticorpos. O coeficiente de variação inter-ensaio para corticosterona foi de 4,4 (\pm 3,7) % (média \pm desvio padrão) e 15,3 (\pm 4,9) %, para baixa e alta concentração, respectivamente, e

para cortisol foi de 11,1 (\pm 8,9) % e 11,4 (\pm 4,6) %, para alto e baixo, respectivamente. Como o CV inter e intra-ensaio estava dentro do valor recomendado ($<$ 15%) para a técnica empregada (FINDLAY ET AL., 2000; SHAH ET AL., 2000), as concentrações determinadas de GCM para ambos anticorpos usados (corticosterona e cortisol) foram consideradas validadas. A precisão do ensaio foi de 87,8 (\pm 7,4) % e 91,9 (\pm 4,4) % para os ensaios de corticosterona e cortisol, respectivamente.

4.2.3. Coleta de dados e análise comportamental

Durante todos os tratamentos os animais foram filmados durante 24 horas, por 7 dias, utilizando câmeras (Citrox, CX-1620), lente infravermelha e gravador de imagem digital (DVR Stand Alone Greatek GTK-DVR08A), por gaiola, alocados na parte superior esquerda das gaiolas. Era esperado que o pico de glicocorticoides no sangue ocorresse nas primeiras horas após a aplicação dos tratamentos. Deste modo, os registros gravados foram analisados posteriormente nos períodos matutinos, entre às 08:00 h e às 09:00 h e nos períodos noturnos entre às 21:00 h e às 22:00 h nos quatro tratamentos experimentais (SM, SS, ACTHb e ACTHa), como segue: 1) controle (dia antes do desafio) - o dia imediatamente anterior ao manuseio e procedimentos de tratamentos; 2) dia do desafio - o dia do manuseio e injeção dos tratamentos; 3) dia pós-desafio - no dia seguinte após os procedimentos de tratamento; 4) 7º dia - sétimo dia após o dia do desafio, sendo avaliados ao todo 16 dias de filmagem. Os horários matutinos foram selecionados com base no horário de aplicação dos tratamentos seguindo procedimentos descritos por Barbosa et al. (2019). Como pacas em condições naturais possuem comportamento predominantemente noturno (MICHALSKI; NORRIS, 2011), optamos por analisar também nestes horários, apesar dos animais terem sido habituados à inversão de ciclo circadiano. Para cada tratamento, foram analisadas 32 horas de gravação consecutivas, totalizando 128 horas. As imagens foram analisadas por meio do programa CowLog (versão 3.0.2), no qual usando o método de registro contínuo das atividades de animal focal (ALTMANN, 1974) determinamos as percentagens de tempo em

que cada indivíduo permaneceu nos estados de inatividade, alimentando-se e dormindo.

Como *IBA*, foi considerado o estado em que a paca permanecia sentada com os olhos abertos (foram desconsiderados os dados em que os animais estavam de costas onde não foi possível determinar se estavam com os olhos abertos) e deitada com os olhos abertos; para alimentando-se foi considerado o ato de consumo de água, ração, batata doce ou frutas, enquanto dormindo foi considerado quando a paca estava deitada em decúbito lateral ou ventral e com seus olhos fechados.

Tabela 1. Descrição dos padrões de comportamento observados para as pacas.

Descrição das categorias comportamentais	
INATIVIDADE ENQUANTO ACORDADO ²	
<i>SENTADO³</i>	Animal apresenta-se sentado com as patas dianteiras estendidas e as patas traseiras curvadas, com olhos abertos.
<i>DEITADO</i>	O animal permanece com a região ventral descansando no chão, com as patas traseiras próximas ao corpo e patas dianteiras estendidas para a frente, com os olhos abertos.
ALIMENTANDO-SE ¹	
<i>INGESTÃO DE COMIDA</i>	O animal toma e mastiga o alimento
<i>INGESTÃO DE ÁGUA</i>	O animal bebe a água do bebedouro
DORMINDO¹	
<i>DEITADO EM POSIÇÃO LATERAL</i>	O animal apresenta-se com o corpo totalmente esticado com as laterais da cabeça, pescoço e costas apoiados no chão, com os olhos fechados.
<i>DEITADO EM POSIÇÃO ESTERNAL</i>	O animal apresenta-se com a região ventral apoiada no chão, membros posteriores junto ao corpo e membros anteriores paralelos e estendidos para frente; a cabeça pode ser apoiada no chão com os olhos fechados.

¹Fonte Sabatini e Paranhos da Costa (2001).

²Fonte Less et al. (2012).

³Fonte Rehn et al. (2014)

4.2.4. Análise estatística

Investigamos a percentagem de tempo em que os indivíduos permaneceram no estado de inatividade, alimentando-se e dormindo por meio do modelo linear generalizado (GLM). Um modelo para cada estado comportamental, aplicando-se o teste *post-hoc* de Tukey quando apropriado. Nesses modelos, foram considerados como fatores fixos os tratamentos (SM, SS, ACTHb e ACTHa), o dia da observação (pré-desafio: dia anterior à aplicação dos tratamentos; desafio: dia da aplicação dos tratamentos; pós-desafio: dia seguinte à aplicação dos tratamentos; 7º dia: sete dias após o desafio) e o período de observação (manhã: entre às 8:00 h e às 9:00 h ; noite: entre às 20:00 h e às 21:00 h) e suas possíveis interações (tratamento x dia da observação; tratamento x período de observação; dia x período de observação e tratamento x dia da observação x período de observação). A identidade das pacas e as fases experimentais foram consideradas como fatores aleatórios para controlar a falta de independência devido às observações repetidas dos mesmos indivíduos. Os resíduos dos modelos foram testados quanto à normalidade e homogeneidade (teste de Levene) da variância e considerados satisfatórios. Foi utilizado o pacote estatístico Minitab v. 19.1 (Minitab Inc., StateCollege, PA) para todas as análises e aplicamos a correção de Bonferroni para comparações múltiplas, com isso consideramos estatisticamente significativos apenas valores com $P < 0,005$.

4 RESULTADOS

As pacas permaneceram no comportamento de dormir (média = 48,3%, desvio padrão (DP) = 33,0 %) grande parte do tempo, seguido pelos comportamentos de inatividade (média = 14,2%, DP = 15,9 %), alimentar-se (média = 14,1%, DP = 20,6 %), e em média 23,4% (DP = 22,4 %) em outros estados comportamentais a saber, exploração (andando com o focinho próximo ao piso da gaiola; média = 3,7%, DP = 6,1 %), atos de conforto (autolimpeza, animal deitado mordisca as laterais do seu corpo; média = 2,6%, DP = 5,9 %), urinando e defecando (média = 1,4%, DP = 7,2 %), cecotrofia (observada apenas no período noturno; média = 1,1%, DP = 3,9 %) e estereotipia (mordendo as paredes da gaiola ou do abrigo; média = 0,7%, DP = 5,3 %).

Para o estado de inatividade, o modelo estatístico mostrou interação significativa entre dia e período de observação ($F_{3,96} = 4,60$, $P = 0,005$). Independente dos tratamentos ($F_{3,96} = 0,55$, $P = 0,650$), as pacas permaneceram mais tempo em inatividade na manhã da aplicação dos tratamentos (média = 38,4%, desvio padrão (DP) = 19,1 %) (Figura 5), quando comparado aos demais dias e períodos de observação (média: 10,8%, DP = 11,9 %) (Figura 5). Não houve efeito das interações entre tratamentos e período de observação ($F_{3,96} = 0,78$, $P = 0,507$), entre tratamentos e dia da observação ($F_{9,96} = 0,42$, $P = 0,920$) e entre tratamento, dia da observação e período de observação ($F_{9,96} = 0,53$, $P = 0,845$).

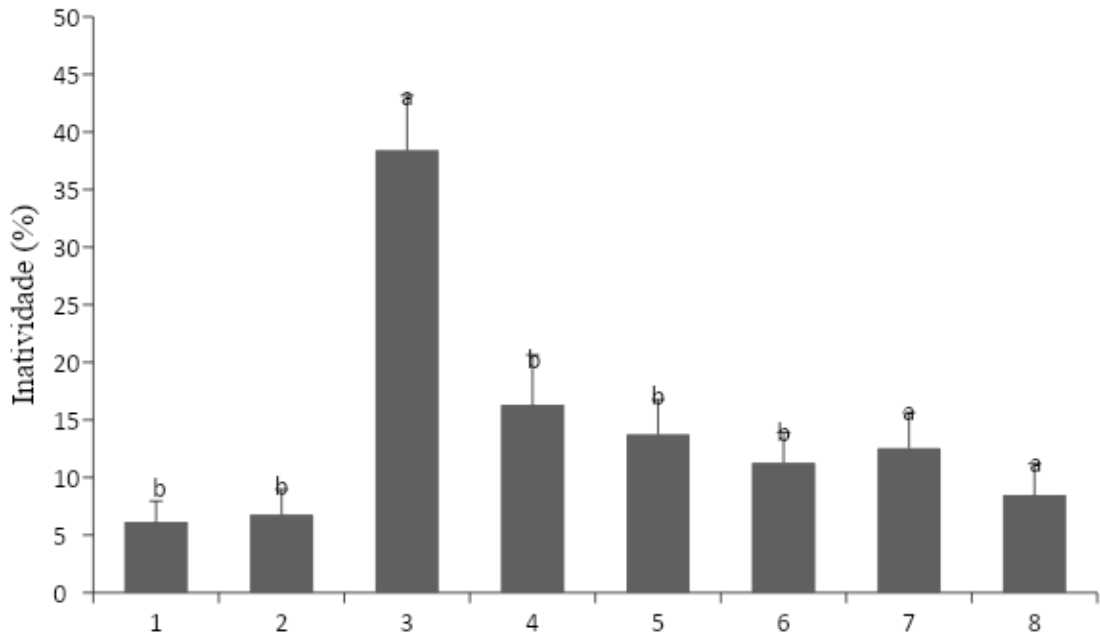


Figura 5. Médias da percentagem de tempo em que as pacas (N=4) foram observadas em inatividade de acordo com o dia e período de observação. Barras acima das colunas indicam o erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam que as médias diferem pelo teste de Turkey ($P < 0,05$).

Verificamos também que as pacas alimentaram-se mais pela manhã do que à noite (manhã: média = 26,7%, DP = 2,6; noite: média = 1,6%, DP = 10,8 %; $F_{1,96} = 90,99$, $P < 0,001$), revelando que estavam habituadas com a inversão do ciclo circadiano. Adicionalmente, o modelo estatístico revelou interação entre dia e período de observação ($F_{3,96} = 4,71$, $P = 0,004$). Houve redução significativa na percentagem de tempo em que as pacas foram observadas alimentando-se na manhã da aplicação dos tratamentos (desafio) em relação à manhã do dia anterior (pré-desafio) (Pré-desafio: média = 43,5%, DP = 8,5 %; desafio: média: 13,1%, DP = 18,0 %) (Figura 6). Nos dias seguintes, houve aumento gradual no tempo gasto em alimentação, até que no sétimo dia após o desafio voltaram a ser observadas alimentando-se na mesma percentagem de tempo do dia pré-desafio (Figura 6). Não houve, contudo, efeito dos tratamentos ($F_{3,96} = 0,46$, $P = 0,713$). Tampouco houve efeito das interações entre tratamentos e período de observação ($F_{3,96} = 0,32$, $P = 0,809$), entre tratamentos e dia da observação ($F_{9,96} = 0,88$, $P = 0,549$) e entre tratamento, dia da observação e período de observação ($F_{9,96} = 0,27$, $P = 0,981$).

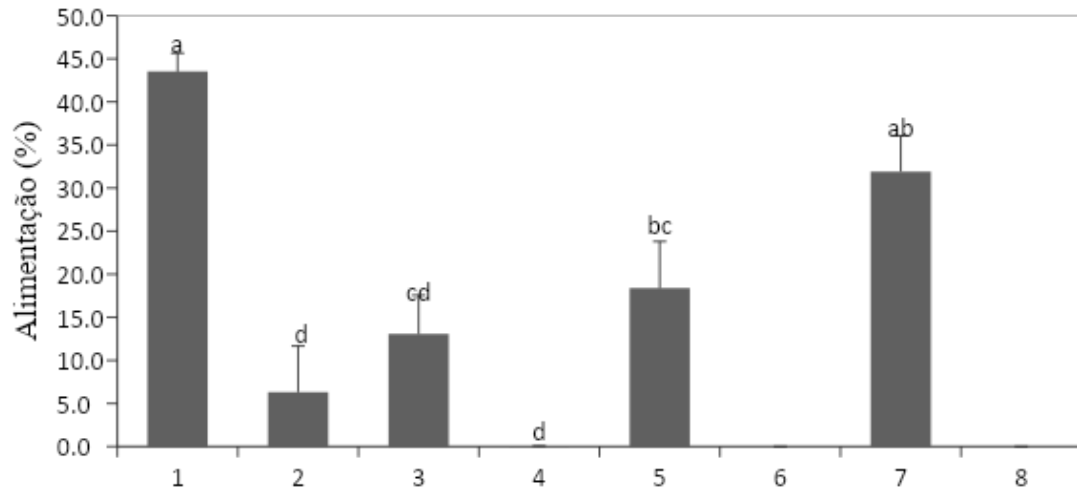


Figura 6. Médias da percentagem de tempo em que as pacas (N=4) foram observadas alimentando-se de acordo com o dia e período de observação. Barras acima das colunas indicam o erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam que as médias diferem pelo teste de Turkey ($P < 0,05$).

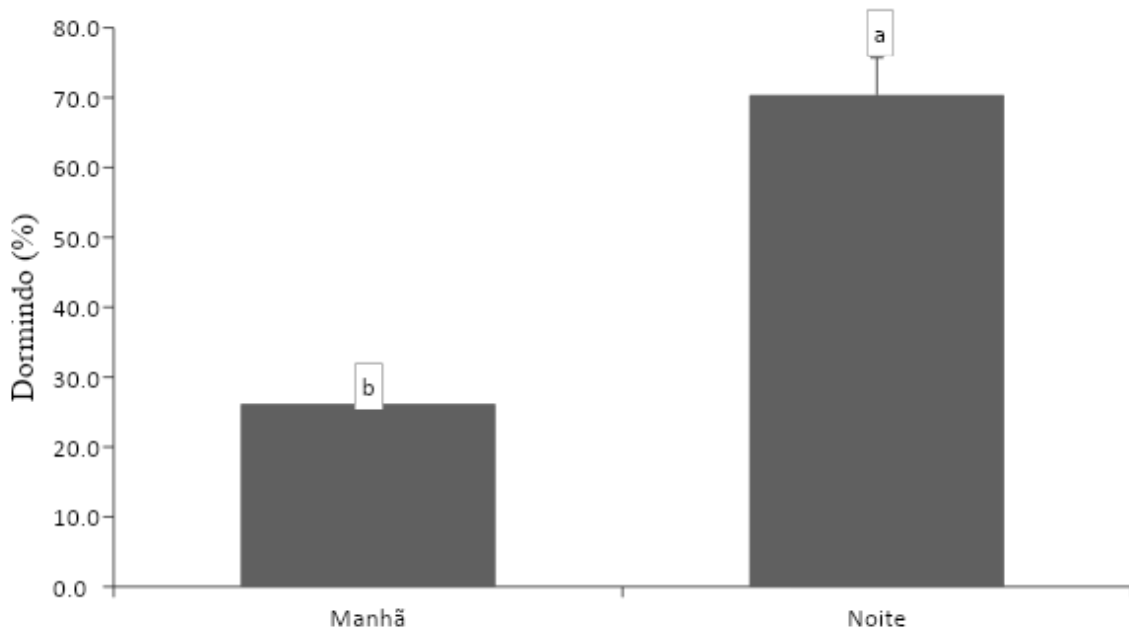


Figura 5. Médias da percentagem de tempo em que as pacas (N=64) foram observadas dormindo de acordo com período de observação. Barras acima das colunas indicam o erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam que as médias diferem pelo teste de Turkey ($P < 0,05$).

Finalmente, verificamos que as pacas dormiram mais no período da noite do que no da manhã (manhã: média = 26,2%, DP = 26,9 %; noite: média = 70,4%, DP = 21,9 %; $F_{1,96} = 95,25$, $P < 0,001$) (figura 7). Por outro lado, não foi observado efeito do dia da observação ($F_{3,96} = 0,61$, $P = 0,609$) e tratamentos ($F_{3,96} = 0,75$, $P = 0,527$). Tampouco houve efeito significativo das interações entre dia da observação e período de observação ($F_{3,96} = 1,46$, $P = 0,231$); entre tratamentos e período de observação ($F_{3,96} = 0,22$, $P = 0,880$); entre tratamentos e dia da observação ($F_{9,96} = 0,64$, $P = 0,763$) e entre tratamento, dia da observação e período de observação ($F_{9,96} = 0,51$, $P = 0,861$).

6 DISCUSSÃO

Estudos que viabilizem indicadores de bem-estar não invasivos para pacas são necessários para que os produtores possam atender as necessidades desses animais em cativeiro. Os resultados do presente estudo corroboram à expectativa de correspondência entre o tempo dos animais em *inatividade enquanto acordado* (IBA) e a curva de excreção de metabólitos de glicocorticóides fecais durante o teste de desafio do hormônio

Adrenocorticotrófico (ACTH), uma vez que os animais apresentaram um maior período de inatividade na manhã do desafio (Figura 5). Foi observado também alteração no comportamento de alimentação, com os animais diminuindo este comportamento no dia do desafio com ACTH (Figura 6). Esses resultados sugerem que o comportamento de IBA, bem como de ausência de alimentação podem ser indicadores de estresse em *Cuniculus paca*, quando submetidos a estímulos de estresse agudo.

A ocorrência do comportamento de inatividade em animais sob estresse tem sido confirmada por outros trabalhos, corroborando com os resultados encontrados neste estudo. Macacos rhesus (*Macaca mulatta*) em cativeiro submetidos à rotina de manejo e manutenção apresentam mudanças fisiológicas indicativas de estresse, como incremento da frequência cardíaca, do nível de hormônio do crescimento (GH) e da resposta leucocitária, bem como alteram seus comportamentos, tornando-se mais inativos (BROOM, 1987; BALCOMBE; BARNARD; SANDUSKY, 2004). Porcos domésticos (*Sus scrofa domesticus*) e ratos (*Rattus norvegicus*) também têm mostrado aumento da inatividade quando submetidos a um evento aversivo (BROOM; JOHNSON, 1993). Curiós passaram mais tempo em comportamento de Freezing, quando submetidos ao desafio do ACTH, no dia da aplicação das injeções (BARBOSA et al, 2019), em comparação ao dia do pré-desafio e pós-desafio. Em um estudo desenvolvido em dias de visitação de um zoológico, pesquisadores observaram que a maioria dos animais permaneciam em estado de inatividade, embora o inverso fosse verdadeiro para a onça-pintada (*Panthera onca*) e lince macho (*Lynx rufus*) (SUÁREZ, RECUERDA; ARIAS-DE-REYNA, 2017). De acordo com os autores, o efeito do visitante pode ser classificado negativamente nessas espécies, sendo os visitantes considerados uma fonte potencial de estresse (SUÁREZ, RECUERDA; ARIAS-DE-REYNA, 2017). Nos resultados deste estudo não foi possível correlacionar o aumento da atividade com o estado de estresse, no entanto, a correla o entre a inatividade e o incremento de metabólitos de glicocorticóides foi positiva, inferindo que assim como o efeito do visitante   estressante para uma variedade de animais.

A inatividade também foi descrita como uma ampla categoria, podendo ser induzida por estresse, onde os animais apresentam menor capacidade de resposta ao ambiente (FUREIX; MEAGHER, 2015). Assim como em nossos achados, o comportamento categorizado como IBA também foi identificado em estudos realizados em cães (*Canis lupus familiaris*) (HARVEY et al., 2019) e visions (MEAGHER, 2013). A IBA tem sido associada a

situações negativas em cães onde os animais mostram redução no seu repertório comportamental, tornando-se menos ativos. Harvey et al, (2019) comprovaram que cães entregues por seus donos a abrigos, apresentaram um maior tempo inativos, mas acordados, em comparação com os cães que já estavam habituados às condições de cativeiro. Já em visons, a *IBA* foi identificada nos indivíduos que foram mudados de um ambiente enriquecido para um ambiente não enriquecido, apesar de não apresentarem medo ou estresse explícitos (MEAGHER, 2013). Contudo, tanto nos estudos com cães, como nos estudos com visons o estado de inatividade dos animais pode estar associado a um estado semelhante ao tédio (HARVEY et al., 2019; MEAHER, 2013). Em nosso estudo, o mesmo pode ter ocorrido com pacas pela elevação do estresse induzido pelo desafio do ACTH, assim diante dos estudos acima mencionados, sugere-se que o aumento da inatividade em animais cativos pode estar associado a estados emocionais negativos (FUREIX; MEAGHER, 2015), fator que eleva o nível de glicocorticoides circulantes no organismo desses indivíduos.

No que tange ao comportamento de alimentação, foi clara a redução do comportamento alimentar após a administração do ACTH, voltando a apresentar os mesmos níveis do período pré-desafio apenas no sétimo dia após o estresse (Figura 6). Em condições estressantes, alguns indivíduos tendem a diminuir sua ingestão alimentar, alterando seus comportamentos alimentares usuais (DALLMAN, 2010). A diminuição do consumo alimentar devido ao aumento do nível de estresse tem sido registrada para suínos (ALVES et al., 2020), onde foi constatado que o incremento do estresse, causado por altas temperaturas, causou uma elevada redução do consumo alimentar nos indivíduos estudados. A diminuição da alimentação também foi relatada por Barbosa et al (2019), em estudo para a validação de métodos não invasivos para monitoramento do estresse em Curiós (Chestnut-bellied seed finch), onde os animais passaram menos tempo em forrageio no dia a aplicação das doses de ACTH e no dia anterior, em comparação ao dia do pré-desafio. Resultados semelhantes ao deste trabalho foram encontrados também em estudo realizado em ratos wistar (*Rattus norvegicus*), submetidos ao estresse por meio de contenção e natação forçada (CALVEZ et al., 2011). Constatou-se que nesses indivíduos ocorreu a redução do tempo gasto em alimentação 24h após o teste de contenção e 1h após o teste de natação forçada, respectivamente (CALVEZ et al., 2011). O mesmo ocorreu em ratos sírios (*Mesocricetus auratus*), induzidos ao estresse após derrota em disputa social e choque nos pés (SOLOMON et al., 2007). Papagaios quando privados dos poleiros em suas gaiolas também tendem a diminuir o tempo

gasto em alimentação em relação aos seus semelhantes na natureza (ROZEK et al., 2010). Entretanto, em um outro estudo realizado com ratos (*Mesocricetus auratus*), quando induzidos ao estresse por derrota social, os animais derrotados aumentaram a ingestão de alimentos em comparação com seus semelhantes que não foram submetidos a tal adversidade. Neste estudo, o aumento de glicocorticoides plasmático aumentou a ingestão de alimentos palatáveis (FOSTER et al., 2006), indo em via contrária aos achados em nossos resultados. O aumento da ingestão de alimentos neste caso está descrito na literatura como um mecanismo compensatório ao estresse (MANIAM; MORRIS, 2012).

A paca possui a capacidade de se desenvolver em uma ampla variedade de condições ambientais (EISENBERG, REDFORD, 1989), já que a espécie apresenta plasticidade em seu comportamento (ALDRIGUI et al., 2018b; LIMA et al. 2018; NOGUEIRA et al. 2021). Características como a rápida adequação a ambientes perturbados ou com baixos recursos ambientais, como por exemplo, a baixa disponibilidades de alimentos (SMYTHE; BROWN DE GUANTI, 1995) e a pouca seletividade nos alimentos, aliado ao comportamento de cecotrofia desses animais (ALDRIGUI et al., 2018b), além de formarem grupos gregários a partir de animais jovens (SMYTHE; BROWN DE GUANTI, 1995), contribuem para sua adaptação ao cativeiro. Pacas são descritas como animais de hábito noturno na natureza (KREISCHER, 2017; HARMSSEN et al., 2018), no entanto, devido a sua plasticidade, podem alterar seu ciclo cronobiológico no cativeiro, passando de hábito noturno para diurno (SMYTHE; BROWN DE GUANTI, 1995; NOGUEIRA; NOGUEIRA-FILHO, 2018). A adaptação da espécie ao cativeiro, foi recentemente analisada (HOSKEN et al., 2021), onde constatou-se que esses animais despendiam um maior tempo interagindo com o ambiente e realizando comportamentos de conforto, no período do dia quando comparados com o período noturno. Esses achados corroboram com este estudo, onde de fato, foi observado que o ciclo cronobiológico dos animais foi invertido quando comparado ao comportamento na natureza, apresentando maior frequência de alimentação diurna, bem como passaram mais tempo dormindo durante o período noturno do que no período da manhã (Figura 7).

No presente estudo, esperávamos encontrar uma correlação entre o comportamento de inatividade enquanto acordado, os tratamentos e os dias de observação. Entretanto, não houve efeito significativo entre os tratamentos em relação ao dia e horário. Contudo, observou-se que as pacas alteraram seus comportamentos no dia da aplicação do desafio do ACTH, tornando-se mais inativas no geral, e despendendo menos tempo alimentando-se. Isso pode ter

ocorrido devido ao efeito do contágio emocional, ocasionando estresse nos indivíduos (REIMERT et al., 2017), dado que as baias dos animais estavam próximas entre si e sem isolamento suficiente entre elas, gerando um estímulo aversivo em cadeia. Portanto, no presente estudo, os animais podem ter se sentido ameaçados devido ao manuseio para aplicação de injeções, o que justificaria o aumento do estado de IBA independente do tratamento a que foram submetidos. O contágio emocional já foi descrito como uma forma simples de empatia, onde os companheiros de um indivíduo submetido a um estímulo negativo, como a indução ao estresse, também podem ser afetados negativamente (EDGAR et al., 2012; REIMERT ET AL., 2017). Em um estudo realizado por Reimert et al. (2017), os autores submeteram porcos a situações positivas (bem-estar) e negativas (estresse), e realocaram os animais de volta a suas baias com outros animais não manejados. Porcos submetidos ao estresse apresentaram-se em estado negativo, além disso, os porcos que compartilharam a baia dos porcos tratados com efeito negativo, também se apresentaram em estado negativo, indicando que o efeito do estresse apresentou comportamento de contágio. Desta forma, como não houve a inibição da percepção de grunhidos e da emissão de feromônios pelos animais que estavam sob manejo durante a aplicação dos tratamentos neste estudo, pode ter ocorrido o comportamento contagioso da reação dos animais ao estresse induzido, para os animais não manejados com os tratamentos de aplicação das doses de ACTH e o tratamento com salina. Os achados do nosso estudo, entretanto, mostram a inatividade como um indicador de bem-estar negativo relacionando ao incremento de glicocorticóides no sangue desses animais, visto que o comportamento IBA pode indicar um estado afetivo negativo (ASHER; COLLINS, 2012; EDGAR et al., 2012).

7 CONCLUSÃO

Poucos estudos têm explorado o efeito do estresse sobre o comportamento de inatividade em animais para validar a inatividade como um indicador de bem-estar negativo. No presente estudo, foi constatado que as pacas passaram mais tempo em inatividade e menor tempo alimentando-se quando submetidas ao desafio com o ACTH (estresse agudo). Tanto a diminuição da atividade, quanto a redução no tempo de alimentação, portanto, podem ser usados como indicadores de bem-estar negativo para a espécie. Entretanto, a ausência de uma barreira de isolamento entre as baias das pacas, pode ter interferido no experimento, onde o

comportamento de um animal pode ter influenciado o comportamento do animal ao lado. Desta forma, sugere-se o uso de barreiras de isolamento entre os animais para a execução de estudos futuros.

8 REFERÊNCIAS

- ABÁIGAR, T.; DOMENÉ, M. A.; PALOMARES, F. Effects of fecal age and seasonality on steroid hormone concentration as a reproductive parameter in field studies. **European Journal of Wildlife Research**, v. 56, n. 5, p. 781-787, 2010.
- ABOU-ISMAIL, U. A.; BURMAN, O. H. P.; NICOL, C. J.; MENDL, M. Let sleeping rats lie: Does the timing of husbandry procedures affect laboratory rat behaviour, physiology and welfare? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 111, n. 3-4, p. 329-341, 2008.
- ALDRIGUI, L. G.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; MENDES, A.; ALTINO, V. S.; ORTMANN, S.; DA CUNHA NOGUEIRA, S. S.; CLAUSS, M. Effect of different feeding regimes on cecotrophy behavior and retention of solute and particle markers in the digestive tract of paca (*Cuniculus paca*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 226, p. 57-65, 2018a.
- ALDRIGUI, L. G.; NOGUEIRA-FILHO, S. L.; ALTINO, V. S.; MENDES, A.; CLAUSS, M.; NOGUEIRA, S. S. D. C. Direct and indirect caecotrophy behaviour in paca (*Cuniculus paca*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 6, p. 1774-1782, 2018b.
- ALTINO, V. S.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; DA CUNHA NOGUEIRA, S. S. Monitoramento não invasivo do estresse em animais silvestres mantidos em cativeiro. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 19, n. 2, 2018a.
- ALTINO, V. S. **Validação de métodos não invasivos para monitorar o estresse em pacas (*Cuniculus paca*) criadas em cativeiro**. 2018. Tese (Doutorado em Ciência Animal)- Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2018b.
- ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour**, v. 49, n. 3-4, p. 227-266, 1974.
- ALVES, C. P.; DA SILVA EUGÊNIO, D.; DE SOUZA, L. F.; DE SOUZA SANTOS, J. P. A.; DA SILVA, J. O. N.; SILVA, A. R.; DA SILVA, T. G. F.. Influência da temperatura e umidade relativa do ar no consumo alimentar de suínos no semiárido brasileiro. **BJAER**, v. 3, n. 4, p. 4263-4269, 2020.
- ASHER, L.; COLLINS, L. M. Assessing synchrony in groups: are you measuring what you think you are measuring? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 138, n. 3-4, p. 162-169, 2012.

AUGUSTO, G. V; RIOS, V. Guía para el manejo, cría y conservación de La “paca” o “Conejo pintado” (*Agouti paca*). **Bogotá : Convenio Andrés Bello. 2 ed.**, 2002

AZEVEDO, C. S; CALDEIRA, J. R.; FAGGIOLI, Â. B.; CIPRESTE, C. F. Effects of different environmental enrichment items on the behavior of the endangered Lear’s Macaw (*Anodorhynchus leari*, Psittacidae) at Belo Horizonte Zoo, Brazil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 24, n. 3, p. 204-210, 2016.

AZEVEDO, C. S., FERRAZ, J. B., TINOCO, H. P., YOUNG, R. J., & RODRIGUES, M. Time-activity budget of greater rheas (*Rhea americana*, Aves) on a human-disturbed area: the role of habitat, time of the day, season and group size. **Acta Ethologica**, v. 13, n. 2, p. 109-117, 2010

BALCOMBE, J. P.; BARNARD, N. D.; SANDUSKY, C. Laboratory routines cause animal stress. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 43, n. 6, p. 42-51, 2004.

BARBOSA, H. M., NOGUEIRA-FILHO, S. L. G., DE MORAIS, R. N., & DA CUNHA NOGUEIRA, S. S. Non-invasive stress monitoring and temperament of chestnut-bellied seed-finch (*Passeriformes*, Thraupidae). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 220, p. 104859, 2019.

BASHAW, M. J.; BLOOMSMITH, M. A.; MARR, M. J.; MAPLE, T. L. To hunt or not to hunt? A feeding enrichment experiment with captive large felids. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, v. 22, n. 2, p. 189-198, 2003.

BAUER, B.; PALME, R.; MACHATSCHKE, I. H.; DITTAMI, J.; HUBER, S. Non invasive measurement of adrenocortical and gonadal activity in male and female guinea pigs (*Cavia aperea* f. *porcellus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 156, n. 3, p. 482-489, 2008.

BECK-KING, H., HELVERSEN, O., BECK-KING, R. Home range, population density, and food resources of *Agouti paca* (Rodentia: Agoutidae) in Costa Rica: A Study using alternative methods 1. **Biotropica**, v. 31, n. 4, p. 675-685, 1999.

BENÍTEZ-LÓPEZ, A., ALKEMADE, R., SCHIPPER, A. M., INGRAM, D. J., VERWEIJ, P. A., EIKELBOOM, J. A. J., & HUIJBREGTS, M. A. J. The impact of hunting on tropical mammal and bird populations. **Science**, v. 356, n. 6334, p. 180-183, 2017.

BERCOVICI, J.P., FIET, J., GIBAULT, L., VOLANT, A., ABALAIN, J.H., FLOCH, H.H., SONNET, E., FOURNIER, G. Testicular adrenal rest tumours in salt wasting congenital adrenal hyperplasia (in vivo and in vitro studies). **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 93, n. 1, p. 67-72, 2005.

BOERE, V. Efeitos do estresse psicossocial crônico e do enriquecimento ambiental em sagüis (*Callithrix penicillata*): um estudo comportamental, fisiológico e farmacológico. 238 f. **Tese (Doutorado) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP**, 2002

BONILLA-MORALES, M. M.; PULIDO, J. R.; PACHECO, R. M. Biology of agouti (*Cuniculus paca*): A breeding perspective. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 8, n. 1, p. 83-96, 2013.

BROOM, D. M. A history of animal welfare science. **Acta biotheoretica**, v. 59, n. 2, p. 121-137, 2011.

BROOM, D. M. Animal welfare: an aspect of care, sustainability, and food quality required by the public. **Journal of veterinary medical education**, v. 37, n. 1, p. 83-88, 2010.

BROOM, D. M. Applications of neurobiological studies to farm animal welfare. In: **Biology of Stress in Farm Animals: an integrative approach**. Springer, Dordrecht, p. 101-110, 1987.

BROOM, D. M. Coping, stress and welfare. **Coping with challenge: Welfare in animals including humans**, p. 1-9, 2001.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F. Behaviour and welfare of domestic animals. ed. 4. **Cambridge: Centre for Animal Welfare and Anthrozoology**, p. 438, 2010.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F. Domestic animal behaviour and welfare. ed. 4. **Cambridge: Centre for Animal Welfare and Anthrozoology**, p.438, 2007.

BROOM, D. M.; JOHNSON, K. G. Stress and animal welfare. **London: Chapman & hall**, p.138, 1993.

BROOM, D.M. Indicators of poor welfare. **British veterinary journal**, v. 142, n. 6, p. 524-526, 1986.

BROOM, D.M.; ZANELLA, A.J. Brain measures which tell us about animal welfare. **Animal Welfare-potters Bar Then Wheathampstead-**, v. 13, p. S41-S46, 2004.

BROOM, M. D. Animal welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 10, p. 4167-4175, 1991.

BURRELL, A. M.; ALTMAN, J. D. The effect of the captive environment on activity of captive cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 9, n. 4, p. 269-276, 2006.

CALVEZ, J.; FROMENTIN, G., NADKARNI, N., DARCEL, N., EVEN, P., TOMÉ, D.; CHAUMONTET, C. Inhibition of food intake induced by acute stress in rats is due to satiation effects. **Physiology & Behavior**, v. 104, n. 5, p. 675-683, 2011.

CARLSTEAD, K.; BROWN, J. L.; SEIDENSTICKER, J. Behavioral and adrenocortical responses to environmental-changes in leopard cats (*Felis bengalensis*). **Zoo Biology**, v. 12, n. 4, p. 321-331, 1993.

CARRETTA JUNIOR, M. Avaliação morfofuncional do processo espermatogênico de pacas (*Cuniculus paca*, Linneus 1766) adultas. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

CEBALLOS, M. C.; SANT'ANNA, A. C.; BOIVIN, X.; DE OLIVEIRA COSTA, F.; MONIQUE, V. D. L.; DA COSTA, M. J. P. Impact of good practices of handling training on beef cattle welfare and stockpeople attitudes and behaviors. **Livestock Science**, v. 216, p. 24-31, 2018.

DALLMAN, M.F. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. **Trends in endocrinology and metabolism**, v.21, n.3, p.159–165, 2010.

DAWKINS, M. S. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 13, n. 1, p. 1-9, 1990.

DAWKINS, M. S.; EDMOND, A.; LORD, A.; SOLOMON, S.; BAIN, M. Time course of changes in egg-shell quality, faecal corticosteroids and behaviour as welfare measures in laying hens. **Animalwelfare-potters Bar Then Wheathampstead-**, v. 13, p. 321-328, 2004.

DEMONTE, M.; LEPAPE, G. Behavioural effects of cage enrichment in single-caged adult cats. **Animal Welfare**, v. 6, n. 1, p. 53-66, 1997.

DIELENBERG, R. A.; MCGREGOR, I. S. Habituation of the hiding response to cat odor in rats (*Rattus norvegicus*). **Journal of Comparative Psychology**, v. 113, n. 4, p. 376, 1999.

DUBOST, G.; HENRY, O. Comparison of diets of the acouchy, agouti and paca, the three largest terrestrial rodents of French Guianan forests. **Journal of Tropical Ecology**, v. 22, n. 6, p. 641-651, 2006.

EDGAR, J. L.; NICOL, C. J.; CLARK, C. C. A.; PAUL, E. S. Measuring empathic responses in animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 138, n. 3-4, p. 182-193, 2012.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the Neotropics: The Central Neotropics. v. 3. **The University of Chicago Press**, v. 3, p. 609, 1999.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the Neotropics, Volume 3: Ecuador, Bolivia, Brazil. **University of Chicago Press**, 1989.

EMMONS, L. *Cuniculus paca*. **The IUCN Red list of threatened species**, v. 2016, p. e.T699A22197347, 2016.

ENGEL, G. L.; SCHMALE, A. H. Conservation-withdrawal. **Physiology, Emotions and psychosomatic Illness**, p. 57-85, 1972.

FANSELOW, M. S. The postshock activity burst. **Animal Learning & Behavior**, v. 10, n. 4, p. 448-454, 1982.

FERRANTE, V.; VERGA, M.; CANALI, E.; MATTIELLO, S. Rabbits kept in cages and in floor pens: reaction in the open-field test. **Journal Applied Rabbit Resources**, v. 15, p. 700-707, 1992.

FIGUEROA-DE-LEÓN, A., A., NARANJO, E. J., PERALES, H., SANTOS-MORENO, A., & LORENZO, C. Availability and characterization of cavities used by pacas (*Cuniculus paca*) in the Lacandon Rainforest, Chiapas, Mexico. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v.87, p.1062-1068, 2016.

FINDLAY, J. W., SMITH, W. C., LEE, J. W., NORDBLOM, G. D., DAS, I., DESILVA, B. S., ... & BOWSER, R. R. Validation of immunoassays for bioanalysis: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 21, n. 6, p. 1249-1273, 2000.

FOSTER, M. T.; SOLOMON, M. B.; HUHMANN, K. L.; BARTNESS, T. J. Social defeat increases food intake, body mass, and adiposity in Syrian hamsters. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 2006.

FRASER, D.; WEARY, D. M. Quality of life for farm animals: linking science, ethics and animal welfare. **The well-being of farm animals: Challenges and solutions**, p. 39-60, 2004.

FUREIX, C.; BEAULIEU, C.; ARGAUD, S.; ROCHAS, C.; QUINTON, M.; HENRY, S.; HAUSBERGER, M.; MASON, G. Investigating anhedonia in a non-conventional species: do some ridinghorses *Equus caballus* display symptoms of depression? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 162, p. 26-36, 2015.

FUREIX, C.; JEGO, P.; HENRY, S.; LANSADE, L.; HAUSBERGER, M. Towards an Ethological Animal Model of Depression? A Study on Horses. **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e39280, 2012.

FUREIX, C.; MEAGHER, R. K. What can inactivity (in its various forms) reveal about affective states in non-human animals? A review. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 171, p. 8-24, 2015.

GALLINA, S.; PÉREZ-TORRES, J.; GUZMÁN, C. Use of the paca, *Cuniculus paca* in the Sierra de Tabasco State Park, Mexico. **Revista de Biología Tropical**, v. 60, n. 3, p. 1345-1355, 2012.

GALLUP, G. G.; NASH, R. F.; WAGNER, A. M. The tonic immobility reaction in chickens: Response characteristics and methodology. **Behavior Research Methods & Instrumentation**, v. 3, n. 5, p. 237-239, 1971.

GOMES, C.; KARAM, L. B.; MACEDO, R. E. F. Atributos de qualidade da carne de paca (Agouti paca): Perfil sensorial e força de cisalhamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 559-565, 2013.

- HARPER, M. E. Peeling, W.B., Cowley, T., Brownsey, B.G., Phillips, M.E.A., Groom, G., Fahmy, D.R., Griffiths, K. Plasma steroid and protein hormone concentrations in patients with prostatic carcinoma, before and during oestrogen therapy. **European Journal of Endocrinology**, v. 81, n. 2, p. 409-426, 1976.
- HARMSSEN, B. J.; WOOLDRIDGE, R. L.; GUTIERREZ, S. M.; DONCASTER, C. P.; FOSTER, R. J. Spatial and temporal interactions of free-ranging pacas (*Cuniculus paca*). **Mammal research**, v. 63, n. 2, p. 161-172, 2018.
- HARVEY, N. D.; MOESTA, A.; KAPPEL, S.; WONGSAENGCHAN, C.; HARRIS, H.; CRAIGON, P. J.; FUREIX, C. Could greater time spent displaying waking inactivity in the home environment be a marker for a depression-like state in the domestic dog?. **Animals**, v. 9, n. 7, p. 420, 2019.
- HEISTERMANN, M.; PALME, R.; GANSWINDT, A. Response to novel food and the role of social influences in Common Marmosets (*Callithrix jacchus*) and Goeldi's Monkeys (*Callimicogoeldii*). **American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists**, v. 69, n. 11, p. 1210-1222, 2007.
- HEMSWORTH, P. H.; COLEMAN, G. J. Human-livestock interactions: the stockperson and the productivity and welfare of intensively farmed animals. **Wallingford: CABI**, p. 208, 2011.
- HERSKIN, M. S.; JENSEN, K. H. Effects of different degrees of social isolation on the behaviour of weaned piglets kept for experimental purposes. **Animal Welfare**, v. 9, n. 3, p. 237-249, 2000.
- HOSEY, G.; MELFI, V. PANKHURST, S. Zoo animals – behaviour, management, and welfare. **Oxford, Oxford University Press**, 2013.
- HOSKEN, F. M., OLIVEIRA, M. H. V.; MALHEIROS, J. M.; MARTINS, E. H.; FERREIRA, F. N. A.; FERREIRA, W. M.; ... & LARA, L. B. Experimental ethology of intensively reared lowland pacas (*Cuniculus paca*). **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 3, p. 1-8, 2021.
- HÖTZEL, M. J; NOGUEIRA, S. S. C; MACHADO FILHO, L. Bem-estar de animais de produção: das necessidades animais às possibilidades humanas. **Revista de etologia**, v. 9, n. 2, p. 1-10, 2010.
- JANNINI, A. E. Dieta e densidade populacional de *Agouti paca* (Rodentia, Agoutidae) em floresta semidecídua do leste do Brasil. 2000. **Tese de Doutorado - Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo**. 2001.
- KNOX, D.; FITZPATRICK, C. J.; GEORGE, S. A.; ABELSON, J. L.; LIBERZON, I. 2012. Unconditioned freezing is enhanced in an appetitive context: implications for the contextual dependency of unconditioned fear. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 97, n. 4, p. 386-392, 2012.

KREISCHER, C. **Ecologia populacional e padrão de atividade de *Cuniculus paca*. 101 f, 2017.** Dissertação de Mestrado (Ciências biológicas - ecologia). Universidade Federal do Rio de Janeiro). 2017.

LANE, J. Can non-invasive glucocorticoid measures be used as reliable indicators of stress in animals? **Animal Welfare**, v. 15, n. 4, p. 331-342, 2006.

LESS, E. H., KUHAR, C. W., DENNIS, P. M., LUKAS, K. E. Assessing inactivity in zoo gorillas using keeper ratings and behavioral data. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 137, n. 1-2, p. 74-79, 2012.

LEVITIS, D. A.; LIDICKER JR, W. Z.; FREUND, G. Behavioural biologists do not agree on what constitutes behaviour. **Animal Behaviour**, v. 78, n. 1, p. 103-110, 2009.

LIMA, S. L., RATTENBORG, N. C., LESKU, J. A., & AMLANER, C. J Sleeping under the risk of predation. **Animal Behaviour**, v. 70, n. 4, p. 723-736, 2005.

LIMA, S. G.; SOUSA-LIMA, R. S.; TOKUMARU, R. S.; NOGUEIRA-FILHO, S. L.; NOGUEIRA, S. S. Vocal complexity and sociality in spotted paca (*Cuniculus paca*). **PLoS one**, v. 13, n. 1, p. e0190961, 2018.

LOBÃO, E. S. P.; NOGUEIRA-FILHO, S. Human-wildlife conflicts in the Brazilian Atlantic forest. **Suiform soundings**, v. 10, n. 2, p. 14-22, 2011.

LOUVART, N.; MACCARI, S.; DUCROCQ, F.; THOMAS, P.; DARNAUDERY, M. Long-term behavioural alterations in female rats after a single intense footshock followed by situational reminders. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 4, p. 316-324, 2005.

LUYTEN, L.; VANSTEENWEGEN, D.; VAN KUYCK, K.; NUTTIN, B. Towards chronic contextual conditioning in rats: The effects of different numbers of unpaired tone-shock presentations on freezing time and startle. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, 2011.

MALLAPUR, A.; CHELLAM, R. Environmental influences on stereotypy and the activity budget of Indian leopards (*Panthera pardus*) in four zoos in Southern India. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, v. 21, n. 6, p. 585-595, 2002.

MANIAM, J.; MORRIS, M. J. The link between stress and feeding behaviour. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 1, p. 97-110, 2012.

MARTÍNEZ-SALAS, M. D. P.; LÓPEZ ARÉVALO, H. F.; SÁNCHEZ PALOMINO, P. Cacería de subsistencia de mamíferos en el sector oriental de la Reserva de Biósfera El Tuparro, Vichada (Colombia). **Acta Biológica Colombiana**, v. 21, n. 1, p. 151-166, 2016.

MASON, G. J. Species differences in responses to captivity: stress, welfare and the comparative method. **Trends in ecology & evolution**, v. 25, n. 12, p. 713-721, 2010.

MASON, G.; CLUBB, R.; LATHAM, N.; VICKERY, S. Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 102, n. 3-4, p. 163-188, 2007.

MATTERI, R. L.; CARROLL, J. A.; DYER, C. J. Neuroendocrine responses to stress. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**, v. 43, 2000.

MCFARLAND, D. **Problems of Animal Behaviour**. Longman Scientific & Technical, Wiley: New York, 1989.

MCPHEE, M. E; CARLSTEAD, K. The importance of maintaining natural behaviors in captive mammals. **Wild mammals in captivity: Principles and techniques for zoo management**, v. 2, p. 303-313, 2010.

MEAGHER, R. K.; CAMPBELL, D. L. M.; DALLAIRE, J. A.; DIEZ-LEON, M.; PALME, R.; MASON, G. J. Sleeping tight or hiding in fright? The welfare implications of different subtypes of inactivity in mink. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 144, n. 3-4, p. 138-146, 2013.

MELLOR, D. J. J. Updating animal welfare thinking: Moving beyond the “Five Freedoms” towards “a Life Worth Living”. **Animals**, v. 6, n. 3, p. 21, 2016.

MELLOR, D. J.; BEAUSOLEIL, N. J. . Extending the ‘Five Domains’ model for animal welfare assessment to incorporate positive welfare states. **Animal Welfare**, v. 24, n. 3, p. 241, 2015.

MENDL, M.; BURMAN, O. H. P.; PAUL, E.S. An integrative and functional framework for the study of animal emotion and mood. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 277, n. 1696, p. 2895-2904, 2010.

MICHALSKI, F.; NORRIS, D. Activity pattern of *Cuniculus paca* (Rodentia: Cuniculidae) in relation to lunar illumination and other abiotic variables in the southern Brazilian Amazon. **Zoologia (Curitiba)**, v. 28, p. 701-708, 2011.

MOBERG, P.; MENCH, A. The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. **CABI**, p. 377, 2000.

MORGAN, K.N.; TROMBORG, C.T. Sources of stress in captivity. Appl. **Applied animal behaviour science**, v. 102, n. 3-4, p. 262-302, 2007.

MUHSEN, K.; GARTY-SANDALON, N.; GROSS, R.; GREEN, M. S. Psychological distress is independently associated with physical inactivity in Israeli adults. **Preventive Medicine**, v. 50, n. 3, p. 118-122, 2010.

NAGY-REIS, M. B.; RIBEIRO, M. C.; SETZ, E. Z.; CHIARELLO, A. G. The key role of protection status in safeguarding the ecological functions of some Neotropical mammals. **Biodiversity and Conservation**, v. 28, n. 10, p. 2599-2613, 2019.

NAZAR, F. N.; MARIN, R. H. Chronic stress and environmental enrichment as opposite factors affecting the immune response in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Stress**, v. 14, n. 2, p. 166-173, 2011.

NESSE, R. M. Is depression an adaptation? **Archives of general psychiatry**, v. 57, n. 1, p. 14-20, 2000.

NEVISON, C. M.; HURST, J. L.; BARNARD, C. J. Strain-specific effects of cage enrichment in male laboratory mice (*Mus musculus*). **Animal Welfare**, v. 8, n. 4, p.361-379, 1999.

NICKS, B.; VANDENHEEDE, M. Animal health and welfare: equivalent or complementary. **Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties**, v. 33, p. 97-101, 2014.

NOGUEIRA, S. D. C.; NOGUEIRA FILHO, S. L. G. Behavior, management and welfare of Neotropical mammals with zootechnical interest. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 19, n. 2, p. 129-152, 2018.

NOGUEIRA, S. S. C.; LACERDA, Z.; MAGALHÃES, P. S. M.; NETO, J. P. S.; ABREU, S. A.; PEREGRINO, H.; LIMA, S. G. C. The use of whitelipped peccary (*Tayassu pecari*) vocalizations as welfare indicator. **Suiform Soundings**, v.15, p. 77-85, 2016.

NOGUEIRA, S. S. C.; SOLEDADE, J. P.; POMPEIA, S.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G. The effect of environmental enrichment on play behaviour in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*). **Animal Welfare-The UFAW Journal**, v. 20, n. 4, p. 505, 2011.

NOGUEIRA, S. S.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. Wildlife farming: an alternative to unsustainable hunting and deforestation in Neotropical forests? **Biodiversity and Conservation**, v. 20, n. 7, p. 1385-1397, 2011.

NOGUEIRA, S. S.; NOGUEIRA-FILHO, S. L.; DUARTE, J.; MENDEL, M. Temperament, plasticity, and emotions in defensive behaviour of paca (Mammalia, Hystricognatha). **Animals**, v. 11, n. 2, p. 293, 2021.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; DA HORA BASTOS, I.; MENDES, A.; DA CUNHA NOGUEIRA, S. S. Protein requirements of finishing paca (*Cuniculus paca*). **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, n. 5, p. 1005-1011, 2016.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. Criação De Pacas (Agouti Paca). 1. **Ed ed. Piracicaba, São Paulo: FEALQ**, 1999.

O'CALLAGHAN, K. A.; CRIPPS, P. J.; DOWNHAM, D.Y.; MURRAY, R. D. Subjective and objective assessment of pain and discomfort due to lameness in dairy cattle. **Animal Welfare**, v. 12, n. 4, p. 605-610, 2003.

- OLIVEIRA, F.; CANOLA, J.; MACHADO, M.; AMARGO, M. Descrição anátomo-radiográfica do esqueleto apendicular da paca (*Agouti paca*). **Acta Scientiae Vet**, v. 35, n. 1, p. 83-87, 2007.
- PALME, R. Measuring fecal steroids: guidelines for practical application. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1046, n. 1, p. 75-80, 2005.
- PARANHOS, V. S. E.; DA COSTA, M. Etograma da paca (*Agouti paca*, Linnaeus, 1766) em cativeiro. **Rev. De Etol**, v. 3, p. 3-14, 2001.
- PEREZ-TORRES, J. Guia para el manejo y cria de la “paca” (*Agouti paca*). **Guadalupe Ltda.: Santafe de Bogotá**, p.37, 1996.
- PROCTOR, H. S.; CARDER, G. Can ear postures reliably measure the positive emotional state of cows? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 161, p. 20-27, 2014.
- RATNER, S. C. Comparative aspects of hypnosis. In: Gordon, J. E. **Handbook of clinical and experimental hypnosis**. Collier Macmillan Ltd: New York, p. 550–587, 1967.
- REHN, T.; HANDLIN, L.; UVNÄS-MOBERG, K.; KEELING, L. J. Dogs' endocrine and behavioural responses at reunion are affected by how the human initiates contact. **Physiology & Behavior**, v. 124, p. 45-53, 2014.
- REIMERT, I.; FONG, S.; RODENBURG, T. B.; BOLHUIS, J. E. Emotional states and emotional contagion in pigs after exposure to a positive and negative treatment. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 193, p. 37-42, 2017.
- RICCI, G. D.; TITTO, C. G.; DE SOUSA, R. T. Enriquecimento ambiental e bem-estar na produção animal. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 3, p. 324-331, 2017.
- RIUS M. M.; COZZI, A.; BIENBOIRE-FROSINI, C.; TERUEL, E.; CHABAUD, C.; MONNERET P, et al. Selection of putative indicators of positive emotions triggered by object and social play in mini-pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 202, p. 13-19, 2018.
- ROCHA, A. D.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; DA SILVA, L. F. S. Effects of human contact and intra-specific social learning on tonic immobility in guinea pigs, *Cavia porcellus*. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 191, p. 1-4, 2017.
- ROCHLITZ, I.; PODBERSCEK, A. L.; BROOM, D. M. Welfare of cats in a quarantine cattery. **Veterinary Record**, v. 143, n. 2, p. 35-39, 1998.
- ROSA, D.S. Avaliação do efeito em longo prazo do estresse neonatal causado pela separação ou privação materna em ratos sobre a expressão de comportamentos defensivos associados ao pânico. 2017. **Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo**, 2017.

ROWCLIFFE, J. M.; KAYS, R.; KRANSTAUBER, B.; CARBONE, C.; JANSEN, P. A. 2014. Quantifying levels of animal activity using camera trap data. **Methods in ecology and evolution**, v. 5, n. 11, p. 1170-1179, 2014.

ROZEK, J. C.; DANNER, L. M.; STUCKY, P. A.; MILLAM, J. R. Over-sized pellets naturalize foraging time of captive Orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 125, n. 1-2, p. 80-87, 2010.

RUSHEN, J.; MUNKSGAARD, L.; MARNET, P.G.; DEPASSILLE, A.M. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 73, n. 1, p. 1-14, 2001.

SABATINI, V.; PARANHOS DA COSTA, M.J. R. Straw collecting behaviour by pacas (*Agouti paca*) in captivity. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 97, n. 2-4, p. 284-292, 2006.

SAPOLSKY, R. M. Endocrinology of the stress response. Behavioral Endocrinology. **Becker JB, Breedlove SM, Crews D & McCarthy MM**, p. 409-450, 2002.

SAPOLSKY, R. M.; KREY, L. C.; MCEWEN, S. The adrenocortical stress-response in the aged male rat: impairment of recovery from stress. **Experimental gerontology**, v. 18, n. 1, p. 55-64, 1983.

SARGEANT, A. B.; EBERHARDT, L. E. Death feigning by ducks in response to predation by red foxes (*Vulpes fulva*). **American Midland Naturalist**, n. 94, p. 108-119, 1975.

SELYE, Hans. **The stress of life**. 1956.

SHAH, V.P., MIDHA, K.K., FINDLAY, J.W.A., HILL, H.M., HULSE, J.D., MCGILVERAY, I.J., MCKAY, G., MILLER, K.J., PATNAIK, R.N., POWELL, M.L., TONELLI, A., VISWANATHAN, C.T., YACOBI, A. Bioanalytical method validation—a revisit with a decade of progress. **Pharmaceutical research**, v. 17, n. 12, p. 1551-1557, 2000.

SILVA, F. Ordem rodentia: mamíferos silvestres do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: **Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul**, p. 171-209, 1984.

SMYTHE, N. The paca (*Cuniculus paca*) as a domestic source of protein for the neotropical, humid lowlands. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 17, n. 1-2, p. 155-170, 1987.

SMYTHE, N.; BROWN DE GUANTI, O. La domesticación y cría de la paca (*Agouti paca*). **Guía de Conservación**. 26 ed. **FAO: Roma**. p. 91, 1995.

SOLOMON, M. B.; FOSTER, M. T.; BARTNESS, T. J.; HUHMAN, K. L. Social defeat and footshock increase body mass and adiposity in male Syrian hamsters. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 1, p. R283-R290, 2007.

- STOTT, G. H. What is animal stress and how is it measured? **Journal of Animal Science**, v. 52, n. 1, p. 150-153, 1981.
- SUÁREZ, P.; RECUERDA, P.; ARIAS-DE-REYNA, L. Behaviour and welfare: The visitor effect in captive felids. **Animal welfare**, v. 26, n. 1, p. 25-34, 2017.
- TERBORGH, J.; WRIGHT, J. Effects of mammalian herbivores on plant recruitment in two Neotropical Forests. **Ecology**, v. 75, n. 6, p. 1829-1833, 1994.
- THOMPSON, R. K. R.; FOLTIN, R. W.; BOYLAN, R. J.; SWEET, A.; GRAVES, C. A.; LOWITZ, C. E. Tonic immobility in Japanese quail can reduce the probability of sustained attack by cats. **Animal Learning & Behavior**, v. 9, n. 1, p. 145-149, 1981.
- TROCINO, A.; XICCATO, G.; QUEAQUE, P. I.; SARTORI, A. Group housing of growing rabbits: effect of stocking density and cage floor on performance, welfare, and meat quality. **Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico**, p. 1277-1282, 2004.
- TOUMA, C.; PALME, R. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1046, n. 1, p. 54-74, 2005.
- VALSECCHI, J.; EL BIZRI, H. R.; FIGUEIRA, J. E. C. Subsistence hunting of *Cuniculus paca* in the middle of the Solimões River, Amazonas, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, p. 560-568, 2014.
- VASCONCELOS, J. L. M.; DEMETRIO, D. G. B. Manejo reprodutivo de vacas sob estresse calórico. **Revista brasileira de zootecnia**, p. 396-401, 2011.
- VEISSIER, I.; BOISSY, A.; DESIRE, L.; GREIVELDINGER, L. Animals' emotions: studies in sheep using appraisal theories. **Animal Welfare**, v. 18, n. 4, p. 347-354, 2009.
- WAIBLINGER, S.; BOIVIN, X.; PEDERSEN, V.; TOSI, M. V.; JANCZAK, A. M.; VISSER, E. K.; JONES, R. B. Assessing the human-animal relationship in farmed species: a critical review. **Applied animal behaviour science**, v. 101, n. 3-4, p. 185-242, 2006.
- WASSER, SAMUEL K. et al. A generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of nondomestic mammalian and avian species. **General and comparative endocrinology**, v. 120, n. 3, p. 260-275, 2000.
- WIELEBNOWSKI, N. Stress and distress: evaluating their impact for the well-being of zoo animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n.7, p. 973-977, 2003.
- WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Ed.). Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. **JHU press**, 2005.
- WÜRBEL, H.; STAUFFACHER, M. Standard-Haltung für Labormäuse—Probleme und Lösungsansätze. **Tierlaboratorium**, v. 17, p. 109-118, 1994.

ZUCARATTO, R.; CARRARA, R.; FRANCO, B. K. S. Dieta da paca (*Cuniculus paca*) usando métodos indiretos numa área de cultura agrícola na Floresta. **Biotemas**, v. 23, n. 1, p. 235-239, 2010.