



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
(UNIRIO)

VITOR BRITTO VILARDO

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA IMPLEMENTAÇÃO DE CERCADOS DE
CHÃO COMO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PARA COELHOS BRANCOS DA
NOVA ZELÂNDIA (*Oryctolagus cuniculus*) CRIADOS EM BIOTÉRIO**

RIO DE JANEIRO

2024



VITOR BRITTO VILARDO

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA IMPLEMENTAÇÃO DE CERCADOS DE
CHÃO COMO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PARA COELHOS BRANCOS DA
NOVA ZELÂNDIA (*Oryctolagus cuniculus*) CRIADOS EM BIOTÉRIO**

Monografia Apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro para obtenção
do Grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Ricardo T. Santori

Coorientadora: Prof^a. Ana M. P. Telles

Rio De Janeiro

2024

V697

Vilardo, Vitor Britto

Avaliação comportamental da implementação de cercados de chão como enriquecimento ambiental para coelhos Brancos da Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) criados em biotério / Vitor Britto Vilardo. -- Rio de Janeiro, 2024.

91 p.

Orientador: Ricardo T Santori.

Coorientadora: Ana M P T de Carvalho e Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Graduação em Ciências Biológicas, 2024.

1. Enriquecimento Ambiental. 2. Etologia. 3. Bem-estar Animal. I. Santori, Ricardo T, orient. II. de Carvalho e Silva, Ana M P T, coorient. III. Título.

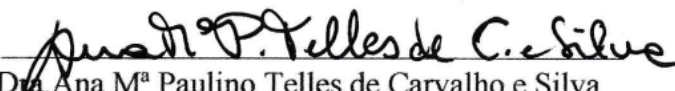
VITOR BRITTO VILARDO

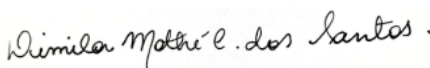
**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA IMPLEMENTAÇÃO DE CERCADOS DE
CHÃO COMO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PARA COELHOS BRANCOS DA
NOVA ZELÂNDIA (*Oryctolagus cuniculus*) CRIADOS EM BIOTÉRIO**

Monografia Apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro para obtenção
do Grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Aprovado em: 28 / 07 / 2024.

Banca examinadora:


Dra. Ana Mª Paulino Telles de Carvalho e Silva
(Presidente da Banca/UNIRIO)


Dra. Dimila Mothé Cordeiro dos Santos
(PPGBIO/UNIRIO)


MSC. Mika Ester Aihara
(ICTB/FIOCRUZ)

Dedico este trabalho ao meu avô, Roberto Britto, que guardava todos os meus boletins da escola e sempre me incentivou nos estudos. Tenho certeza de que ele estaria muito orgulhoso de tudo que construí. Obrigado, vô.

AGRADECIMENTOS

À minha família, principalmente minha mãe Mônica e meu pai José Leonardo, que sempre me apoiaram incondicionalmente, desde a escolha do curso até a defesa deste trabalho. Aos meus irmãos, Felipe e Henrique, que sempre foram meus parceiros e as minhas válvulas de escape. E às minhas avós, Nelly e Lúcia, e à minha madrinha, Sônia, que me incentivaram ao longo de todos esses anos.

Aos meus orientadores, Ricardo e Ana, que toparam me auxiliar a construir esse trabalho em uma área que tanto me encanta, mesmo não sendo suas especialidades, mas que me ajudaram em tudo que precisei ao longo dessa jornada.

Aos meus amigos mais antigos, Laura, Lucas, Igor, Clara, Natália, Márcia, Lianne e tantos outros, que sempre foram solícitos e me passaram positividade, me acalmando nessa trajetória. Vocês estiveram comigo nos meus momentos mais difíceis e sempre serei grato por todo o carinho.

Aos amigos que fiz ao longo da graduação em biologia, Bruna, Anna, Guilherme e Nicole, que me acompanharam nas intermináveis aulas e laboratórios do curso, sempre parando para um papo com cafézinho na xerox; esse trabalho só foi possível com cada suporte que vocês me deram.

A todos os amigos que fiz na UNIRIO nesses anos de formação, Lucas Cunha, Lucas Cesar, João Miranda, Ana Isabelle e tantos outros, que me guiaram quando precisei voltar aos trilhos; e que me descontraíram quando precisei escapar desses mesmos trilhos. Um agradecimento especial a todos os membros da Atlética de Biologia, da Kraken e da Saúde UNIRIO, que me trouxeram tantos momentos de felicidade e companheirismo, principalmente meus colegas de equipe.

À toda equipe do SCRL e do ICTB da Fiocruz, que me apoiaram e me permitiram realizar essa pesquisa inteiramente em prol dos animais que cuidamos.

RESUMO

A criação de animais de laboratório é imprescindível para a ciência, principalmente em pesquisas biomédicas. Desta forma, o bem-estar destes deve atender suas necessidades físicas, sociais e mentais. Para tal, avaliações etológicas são essenciais para identificar comportamentos negativos decorrentes do cativeiro e buscar maneiras de corrigi-los. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de cercados de chão, como enriquecimento ambiental (EA), sobre o padrão comportamental dos coelhos do Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos (ICTB/Fiocruz). Primeiramente, foram realizadas observações *ad libitum* durante 60 segundos por indivíduo (n=90), três vezes por semana, durante dois meses. Na etapa seguinte, foi feita a medição da frequência comportamental destes animais (adultos) individualmente dentro das gaiolas. Para evitar vieses de ciclo éstrico e lactação, foram utilizados apenas coelhos machos adultos, nesta e nas etapas subsequentes do trabalho (n=24). Cada indivíduo foi observado *ad libitum* durante 60 segundos, e este processo foi repetido três vezes por dia, três vezes por semana, durante dois meses. Na terceira etapa, o grupo teste (n=15) foi introduzido ao EA, que consistiu em cercados de chão individuais com amplo espaço e diferentes objetos para interação. Cada animal usufruiu de 40 minutos no cercado por semana durante dois meses, com observações por amostragem *ad libitum* a cada 10 minutos. O grupo controle (GC; n=9) não foi submetido ao enriquecimento. Na última etapa, a medição de frequência comportamental foi feita tal qual na segunda etapa. Todas as coletas foram feitas no período diurno, entre 09:00 e 15:00. Foram realizados testes de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade dos dados e Teste t Pareado ou Teste de Wilcoxon, para comparação de amostras dependentes. O etograma construído neste trabalho contou com 92 comportamentos, divididos em seis categorias: neutros, fisiológicos, inativos, positivos, negativos e de manutenção. Ao final dos oito meses de coleta, observou-se um aumento significativo na frequência de inatividade dos animais (28,76 pré-EA v. 55,40% pós-EA; GC=31,56%). Consequentemente, houve uma diminuição significativa na frequência de comportamentos neutros (26,18 pré v. 15,04% pós; GC=25,31%), fisiológicos (9,93 pré v. 7,11% pós; GC=8,47%), de manutenção (19,99 pré v. 16,07% pós; GC=20,97%) e negativos (13,64 pré v. 4,58% pós; GC=12,11%). Os comportamentos positivos não tiveram variação significativa pré e pós-EA (1,51 v. 1,80%; GC=1,58%). A porcentagem de tempo gasto performando comportamentos negativos pré-EA foi superior àquela encontrada em literatura semelhante (média de 5,54%), e a quantidade de tempo inativo foi consideravelmente inferior à verificada em bibliografia (média de 61,7%). O presente estudo mostra a eficácia da aplicação de cercados de chão como EA para a diminuição de comportamentos negativos, além do aumento de inatividade durante o dia, tendo em vista que os coelhos são animais de hábitos crepusculares/noturnos.

Palavras-chave: bem-estar; etograma; Lagomorpha; etologia.

ABSTRACT

Breeding laboratory animals is indispensable for science, particularly in biomedical research. Therefore, their well-being must meet their physical, social, and mental needs. Ethological assessments are essential to identify negative behaviors resulting from captivity and to find ways to correct them. This study aims to evaluate the effects of applying floor pens as environmental enrichment (EE) on the behavioral patterns of rabbits at the Rodent and Lagomorph Breeding Service (ICTB/Fiocruz). Initially, *ad libitum* observations were conducted for 60 seconds per individual (n=90), three times a week, over two months. In the next stage, the behavioral frequency of these animals was measured individually within the cages. To avoid biases from estrous cycles and lactation, only adult male rabbits were used in this and in the subsequent stages of the work (n=24). Each individual was observed *ad libitum* for 60 seconds, and this process was repeated three times a day, three times a week, for two months. In the third stage, the test group (n=15) was introduced to environmental enrichment, which consisted of individual floor pens with ample space and different objects for interaction. Each animal enjoyed 40 minutes in the pen per week for two months, with *ad libitum* sampling observations every 10 minutes. The control group (CG; n=9) was not subjected to enrichment. In the last stage, behavioral frequency measurement was performed as in the second stage. All collections were made during the daytime, between 09:00 and 15:00. Shapiro-Wilk tests were conducted to assess data normality, and Paired t-tests or Wilcoxon tests were used to compare dependent samples. The ethogram constructed in this work included 92 behaviors, divided into six categories: neutral, physiological, inactive, positive, negative, and maintenance. At the end of the eight-month collection period, a significant increase in the animals' inactivity frequency was observed (28.76% pre-EE vs. 55.43% post-EE; CG=31.56%). Consequently, there was a significant decrease in the frequency of neutral (26.18% pre vs. 15.04% post; CG=25.31%), physiological (9.93% pre vs. 7.11% post; CG=8.47%), maintenance (19.99% pre vs. 16.07% post; CG=20.97%), and negative behaviors (13.64% pre vs. 4.58% post; CG=12.11%). Positive behaviors showed no significant variation pre and post-EE (1.51% vs. 1.80%; CG=1.58%). The percentage of time spent performing negative behaviors pre-EE was higher than that found in similar literature (average of 5.54%), and the amount of inactive time was considerably lower than reported in the bibliography (average of 61.7%). This study demonstrates the effectiveness of applying floor enclosures as EE to reduce negative behaviors and increase inactivity during the day, considering that rabbits are nocturnal animals.

Keywords: welfare; ethology, Lagomorph, ethogram.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Corredor de materiais | 28 |
| Figura 2 - Sala de eutanásia | 28 |
| Figura 3 - Interior da sala de criação de coelhos | 28 |
| Figura 4 - Gaiola de coelhos | 29 |
| Figura 5 - Detalhe do piso e plataforma | 29 |
| Figura 6 - Gaioleiro de coelhos | 30 |
| Figura 7 - Comedouro de coelhos do tipo J | 31 |
| Figura 8 - Bebedouro de coelhos | 31 |
| Figura 9 - Cercado de chão | 33 |
| Figura 10 - Posições corporais dos coelhos | 37 |
| Figura 11 - Esquematização das localizações na gaiola | 38 |
| Figura 12 - Frequência comportamental pré enriquecimento | 45 |
| Figura 13 - Frequência de comportamentos negativos com maiores expressões pré enriquecimento | 47 |
| Figura 14 - Frequência de comportamentos negativos semelhantes agrupados pré enriquecimento | 47 |
| Figura 15 - Frequência comportamental durante a aplicação do enriquecimento | 49 |
| Figura 16 - Frequência de comportamentos positivos durante a aplicação do enriquecimento | 49 |
| Figura 17 - Inatividade durante o período de aplicação do enriquecimento | 50 |
| Figura 18 - Atividade durante o período de aplicação do enriquecimento | 50 |
| Figura 19 - Inatividade ao longo dos dias de aplicação do enriquecimento | 51 |
| Figura 20 - Atividade ao longo dos dias de aplicação do enriquecimento | 51 |
| Figura 21 - Frequência comportamental pós enriquecimento | 53 |
| Figura 22 - Frequência de comportamentos negativos com maiores expressões pós enriquecimento | 55 |

| | |
|--|----|
| Figura 23 - Frequência de comportamentos negativos semelhantes agrupados pré enriquecimento | 55 |
| Figura 24 - Distribuição de amostragens de comportamentos inativos e neutros para o grupo teste | 56 |
| Figura 25 - Distribuição de amostragens de comportamentos fisiológicos e de manutenção para o grupo teste | 57 |
| Figura 26 - Distribuição de amostragens de comportamentos negativos para o grupo teste | 57 |
| Figura 27 - Distribuição de amostragens dos comportamentos “Cavando” e “Estremecendo a cabeça” para o grupo teste . | 60 |
| Figura 28 - Distribuição de amostragens dos comportamentos “Lambendo chão” e “Lambendo grade” para o grupo teste . | 60 |
| Figura 29 - Distribuição de amostragens dos comportamentos “Mastigando pelo” e “Mastigação falsa” para o grupo teste . | 60 |
| Figura 30 - Distribuição de amostragens dos comportamentos “Mordendo chão” e “Mordendo grade” para o grupo teste ... | 61 |
| Figura 31 - Distribuição de amostragens de “Mastigando pelo” para o grupo controle | 61 |

LISTA DE QUADROS E TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Parâmetros internos das salas de criação | 31 |
| Quadro 1 - Posições corporais dos coelhos | 36 |
| Quadro 2 - Objetos de interação dos coelhos | 37 |
| Quadro 3 - Localizações dos coelhos na gaiola | 37 |
| Tabela 2 - Número de observações comportamentais pré enriquecimento | 44 |
| Tabela 3 - Número de observações de comportamentos negativos pré enriquecimento | 45 |
| Tabela 4 - Número de observações comportamentais durante a aplicação do enriquecimento | 49 |
| Tabela 5 - Número de observações comportamentais pós enriquecimento | 52 |
| Tabela 6 - Número de observações de comportamentos negativos pós enriquecimento | 54 |
| Tabela 7 - Comparação estatística de categorias comportamentais .. | 58 |
| Tabela 8 - Comparação estatística de comportamentos negativos (grupo teste) | 62 |
| Tabela 9 - Comparação estatística de comportamentos negativos (grupo controle) | 63 |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1 | A utilização de animais de laboratório | 14 |
| 1.1.1 | Histórico e definições | 14 |
| 1.1.2 | Ética e os 3 Rs | 15 |
| 1.2 | Bem-estar animal | 17 |
| 1.2.1 | Definição e conceitos | 17 |
| 1.2.2 | Enriquecimento ambiental | 19 |
| 1.3 | Comportamento animal | 20 |
| 1.3.1 | Etologia e etograma | 20 |
| 1.3.2 | Comportamentos indicativos de um bem-estar pobre | 21 |
| 1.4 | O coelho | 22 |
| 1.4.1 | Taxonomia e origem da espécie | 22 |
| 1.4.2 | Utilização da espécie em pesquisa | 23 |
| 1.4.3 | Raças de coelhos | 24 |
| 1.4.4 | Características da espécie | 24 |
| 2 | OBJETIVOS | 26 |
| 3 | RELEVÂNCIA | 26 |
| 4 | METODOLOGIA | 27 |
| 4.1 | Local de estudo | 27 |
| 4.2 | Criação animal | 29 |
| 4.3 | Elaboração do etograma | 31 |
| 4.4 | Análise de frequência comportamental | 32 |
| 4.5 | Enriquecimento ambiental | 33 |
| 4.6 | Análise de dados | 34 |
| 5 | RESULTADOS | 35 |
| 5.1 | Etograma | 35 |
| 5.2 | Comportamentos pré enriquecimento | 44 |
| 5.3 | Comportamentos durante o enriquecimento | 48 |
| 5.4 | Comportamentos pós enriquecimento | 52 |
| 5.5 | Comparação pré e pós enriquecimento | 56 |
| 6 | DISCUSSÃO | 64 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 6.1 | Etograma | 64 |
| 6.1.1 | Comportamentos semelhantes encontrados em literatura ... | 64 |
| 6.1.2 | Comportamentos diferentes encontrados em literatura | 66 |
| 6.1.3 | Quantidade de comportamentos encontrados X quantidade na literatura | 68 |
| 6.2 | Frequência de comportamentos pré enriquecimento | 68 |
| 6.2.1 | Frequência de inatividade | 68 |
| 6.2.2 | Frequência de comportamentos negativos | 70 |
| 6.2.3 | Frequência de outras categorias comportamentais | 73 |
| 6.3 | Comparação de frequência comportamental pré e pós enriquecimento | 74 |
| 6.3.1 | Frequência de inatividade | 74 |
| 6.3.2 | Frequência de comportamentos negativos | 75 |
| 6.3.3 | Frequência de outras categorias comportamentais | 76 |
| 6.3.4 | Grupo controle | 77 |
| 6.4 | Frequência de comportamentos durante o enriquecimento | 78 |
| 6.4.1 | Frequência de inatividade | 78 |
| 6.4.2 | Frequência de comportamentos neutros | 80 |
| 6.4.3 | Frequência de comportamentos positivos | 82 |
| 6.4.4 | Frequência de outras categorias comportamentais | 84 |
| 7 | CONCLUSÕES | 85 |
| | REFERÊNCIAS | 87 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 A utilização de animais de laboratório

1.1.1 Histórico e definições

A utilização de animais em laboratórios para fins de pesquisas biomédicas remonta à época da Grécia Antiga, onde Aristóteles e Hipócrates foram capazes de compreender o funcionamento de órgãos e sistemas humanos, além de interpretar fenômenos biológicos do nosso organismo, ao estudar as semelhanças e diferenças anatômicas e fisiológicas entre animais e o homem (Andrade *et al*, 2002). O avanço das pesquisas no âmbito da biomedicina ao longo dos séculos tornou incalculável o valor da contribuição de animais de laboratório para novas descobertas no que tange a prevenção e cura de doenças, assim como o desenvolvimento de técnicas de tratamentos e implantes cirúrgicos, a criação de produtos farmacêuticos e vacinas eficazes, e estudos pioneiros nos campos da toxicologia, bacteriologia, parasitologia, imunologia, oncologia e outros (Dominguez-Oliva *et al*, 2023). Define-se, então, um “animal de laboratório” como qualquer animal vertebrado que seja utilizado ou criado para pesquisas, testes ou ensino (US National Research Council, 2011).

É devido à necessidade da não utilização de seres humanos como “cobaias” em experimentos que a ciência em animais de laboratório, denominada de bioterismo, assume um papel de suma importância na comunidade científica (Medeiros *et al*, 2009). Entretanto, o bioterismo como conhecemos nos dias atuais só ganhou forma no início do século vinte, quando a criadora de animais Abbie Lathrop começou a fornecer camundongos e ratos que produzia em sua fazenda para diversos pesquisadores dos Estados Unidos, incluindo o próprio Governo Americano (Hubrecht e Kirkwood, 2010). A ausência de condições higiênicas padronizadas nos antigos criadouros de animais impedia a produção de organismos geneticamente definidos e com garantia sanitária, o que acarretava em resultados não confiáveis nas pesquisas (Andrade *et al*, 2002). Para mitigar isso, então, surgiu a necessidade da criação de biotérios, os quais são definidos por Medeiros *et al*

(2009) como instalações destinadas à produção e manutenção de animais que atendam às exigências genéticas, sanitárias, de saúde e bem-estar da legislação vigente, para que estes possam se desenvolver e reproduzir, além de responder satisfatoriamente aos testes neles realizados.

Dentro de um biotério, os animais podem ser classificados de acordo com seu status sanitário e de microbiota, definido pela relação destes com o ambiente no qual estão inseridos, incluindo organismos micro e macroscópicos associados a esses animais e/ou presentes dentro dos limites físicos do ambiente (Neves *et al*, 2013). A partir dessas definições, eles podem ser classificados em: Animais Gnotobióticos, *Germfree* (GF), Livres de Patógenos Específicos (SPF), Flora Definida ou Convencionais (Andrade *et al*, 2002). Os mais comumente utilizados no Brasil são: animais GF, totalmente ausentes de microbiota intestinal e com barreiras sanitárias rígidas; animais SPF, com microbiota definida e barreiras moderadas; e animais Convencionais, com microbiota indefinida devido a barreiras sanitárias pouco rígidas (Neves *et al*, 2013).

1.1.2 Ética e os 3 Rs

Ainda que atualmente a utilização de animais de laboratório para fins de pesquisa seja consolidada na comunidade científica, os debates éticos acerca das justificativas para seu uso em benefício do homem se mantêm (Dominguez-Oliva *et al*, 2023). A utilização desses animais é válida a partir do momento que o estudo se mostra capaz de gerar conhecimento significativo para o melhoramento da vida humana ou do próprio animal em questão (US National Research Council, 2011). Nessa linha, Hubrecht e Kirkwood (2010) entendem que estudos em organismos vivos só devem ser realizados na ausência de uma alternativa não-sensitiva, quando os benefícios científicos e sociais são máximos, e quando todas as estratégias de minimizar o sofrimento tiverem sido implementadas.

Muitos pesquisadores defendem que os animais utilizados para fins científicos devem ser tratados de maneira “humanitária” - apesar da antítese da expressão - , ou seja, que estejam inseridos em um ambiente que respeite seus valores e necessidades intrínsecas de acordo com padrões éticos e científicos (US

National Research Council, 2011). Segundo Mellor e Reid (1994), animais mantidos em condições que atendam suas demandas fisiológicas são menos propensos a desenvolver estados mentais prejudiciais, como estresse, medo, tédio e ansiedade. As consequências do detrimento de condições físicas e mentais de um animal, quando utilizado em pesquisa, podem diminuir a credibilidade dos dados gerados e aumentar sua variabilidade, impedindo a reprodutibilidade de resultados e demandando uma maior utilização desnecessária de vidas (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, 2019).

Dessa forma, é de concordância entre pesquisadores que, mediante a ausência ou diminuição de condições estressantes submetidas aos animais, os experimentos alcançam maior eficiência e resultados científicos máximos (Tannenbaum e Bennett, 2015). Para tal, os pesquisadores Russel e Burch (1959) publicaram o “The Principles of Humane Experimental Technique”, onde postulam que a criação de animais de laboratório deve ser feita a partir do princípio dos 3 Rs: *Replacement*, que seria o ato de, quando possível, usar no lugar de organismos vivos, materiais sem sensibilidade, como culturas de tecidos ou modelos informatizados; *Reduction*, que seria a utilização do menor número possível de animais, desde que forneça resultados estatísticos significativos; e, por fim, *Refinement*, que diz respeito ao refinamento das técnicas aplicadas para minimizar o estresse e sofrimento dos animais (Russel e Burch, 1959; Tannenbaum e Bennett, 2015). Os pesquisadores são, então, eticamente responsáveis durante toda a duração de qualquer experimento conduzido com animais, estando incumbidos de capacitar cientistas parceiros e agir de forma a minimizar condições adversas submetidas aos organismos (Mellor e Reid, 1994).

1.2 Bem-estar animal

1.2.1 Definição e conceitos

Por mais que a ciência do bem-estar animal seja uma área de estudo consolidada globalmente há mais de trinta anos, até hoje não existe uma definição geral e acordada para o termo “bem-estar” entre os estudiosos do tema, e seus entendimentos científicos e sociais encontram-se em constante evolução (Mellor, 2016; Voogt *et al*, 2023). Segundo Mellor e Reid (1994), o bem-estar seria a ausência de condições que causem sofrimento ao animal, como medo, dor e estresse, e tradicionalmente as ações que buscam alcançá-lo são voltadas para satisfazer as necessidades do animal, levando em consideração o que é fundamental para o mesmo (Yeates e Main, 2008).

Um ponto de concordância entre os estudiosos da área é que o bem-estar é uma ciência embasada, de um lado, pela anatomia e fisiologia dos animais e, do outro, pelos seus comportamentos expressados (Brambell, 1965). Segundo Mellor (2016), o bem-estar seria, então, um somatório de diversos fatores anatômicos, fisiológicos e comportamentais dos animais, como interações com o ambiente e outros indivíduos, necessidades biológicas, saúde física e mental, experiências sensoriais e estados afetivos.

Sempre existiu uma certa contradição de ideias no que tange os fundamentos do bem-estar de animais sob cuidados humanos, uma vez que a visão da sociedade no geral é diferente daquela entendida por veterinários mais tradicionais: para estes últimos, o bem-estar deve estar focado apenas nas necessidades básicas de saúde e sobrevivência dos animais, como água, comida, abrigo e ausência de sofrimento (Fraser, 2008). Para a sociedade, por outro lado, os animais mantidos em criadouros, zoológicos e laboratórios devem ter a sua naturalidade respeitada, ou seja, devem estar em ambientes que mimetizem seus habitats na natureza, e devem estar aptos a expressar seus comportamentos naturais (Dawkins, 2008). Entretanto, ambas ideias não devem ser consideradas separadamente, muito menos excluir uma à outra, tendo em vista que o bem-estar

animal somente pode ser alcançado a partir da congruência entre necessidades físicas e mentais, que devem andar lado a lado (Brambell, 1965; Fraser, 2008).

A ciência do bem-estar não deve ser estudada de forma generalizada para um grupo de animais ou para toda uma espécie (Dawkins, 2003). O bem-estar é tão singular que deve ser determinado individualmente, tendo em vista que existem variações de como cada indivíduo responde e se porta frente a diferentes estímulos e situações, mesmo sendo animais de uma mesma espécie (Millman *et al*, 2004; Goursot *et al*, 2021). Dessa maneira, podemos dizer que não existe uma forma única de se medir o bem-estar animal (Dawkins, 2006).

Atualmente, é de senso comum entre estudiosos do tema que, para alcançar o bem-estar animal ideal, é necessário mais do que apenas a ausência de estados afetivos negativos para o animal; também é imprescindível oferecer oportunidades e ambientes para que este possa vivenciar experiências afetivas positivas (Voogt *et al*, 2023). Estados físicos indicativos de um bem-estar pobre, como lesões e doenças, são facilmente reconhecíveis e até mesmo quantificáveis, o que torna a sua atenuação ou eliminação mais simples de ser feita (Dawkins, 2003). Os estados mentais dos animais, por outro lado, implicam em uma maior dificuldade de serem avaliados e, por conseguinte, de serem tomadas ações para o seu melhoramento, tendo em vista que os animais não são capazes de fala e, em sua maioria, irão esconder possíveis sinais de um estado afetivo ruim por instinto (Mellor, 2016).

Para investigar o estado mental de um animal e buscar ações para melhorar seu bem-estar nesse âmbito, é necessário aliar observações fisiológicas, como ritmo cardíaco e níveis hormonais, com observações comportamentais, como movimentos repetitivos e interações entre indivíduos (Dawkins, 2006). Segundo Mellor (2016), os animais possuem receptores sensoriais capazes de registrar desequilíbrios tanto no âmbito físico e funcional interno, como dor, fome e sede, quanto no âmbito cognitivo externo, como medo, frustração e tédio. Dessa forma, é possível avaliar componentes fisiológicos para entender melhor os estados mentais dos animais (Yeates e Main, 2008).

1.2.2 Enriquecimento ambiental

Uma das ferramentas mais utilizadas por mantenedores de fauna para alcançar o bem-estar é o enriquecimento ambiental (EA), o qual pode ter grande impacto na vida dos animais, produzindo mudanças no seu ambiente e fornecendo desafios e oportunidades para promover estados afetivos positivos e diminuir comportamentos negativos (Hoehfurtner *et al*, 2021). O enriquecimento promove o melhoramento da qualidade de vida dos animais sob cuidados humanos, indo de encontro às suas necessidades intrínsecas e implicando em um melhor funcionamento biológico das espécies (Tatemoto *et al*, 2022).

O enriquecimento deve ser ofertado de forma a estimular que os animais expressem comportamentos de acordo com um dos seguintes tópicos: físico, como a utilização de força para abrir um objeto; cognitivo, como desafios mentais que gerem recompensas; social, como a interação com tratadores ou intra/interespecífica; alimentar, ao fornecer um item novo que não faz parte de sua dieta usual; ou sensorial, estimulando um dos cinco sentidos, como olfato e tato (Mellor *et al*, 2015).

A maioria dos enriquecimentos ambientais aplicados principalmente em zoológicos, no entanto, são utilizados visando promover comportamentos que o animal usualmente expressaria na natureza, o que não necessariamente indica uma melhora no seu estado de bem-estar (Browning, 2020). Se o enriquecimento é utilizado apenas para mimetizar um ambiente natural, ou então, para gerar contentamento do público, e não há impacto efetivo no bem-estar do animal, ele não deve ser aplicado (Dawkins, 2008).

1.3 Comportamento animal

1.3.1 Etologia e etograma

Como mencionado anteriormente na seção 1.2.1, certos componentes fisiológicos dos animais podem indicar alterações em seu estado de bem-estar, tais como níveis hormonais no sangue e frequência cardíaca. De fato, eventos estressantes podem levar a dificuldades de aprendizado, doenças, danos neuronais e desorganização da função cerebral, fatores estes que são expressados em mudanças comportamentais aparentes (Broom, 2010). Dessa forma, pode-se afirmar que o entendimento da biologia comportamental animal é indispensável para a interpretação de medições fisiológicas, levando ao aprimoramento do estado de bem-estar (Olsson *et al*, 2003). É devido à grande importância do estudo de comportamentos que surge a etologia, uma ciência multidisciplinar que se dedica à observação e análise de padrões comportamentais em animais e humanos, envolvendo aspectos ecológicos, genéticos, fisiológicos e psicológicos dos objetos de estudo (Del-Claro, 2010).

A ferramenta mais utilizada por etólogos é o etograma, também chamado de repertório comportamental. Nele são listados diversos comportamentos que o animal utilizado no estudo pode expressar, podendo estar agrupados em categorias ou não, e suas frequências são observadas e listadas em uma tabela (Gutierrez-Gomez *et al*, 2021). No etograma também deve constar a data e o horário de início e término das observações, além do período de tempo no qual o animal será observado e o intervalo entre as amostragens (Altmann, 1974). O etograma é fundamental para coletar diversos dados, tais como os tipos de comportamento que o animal expressa, como ele age ao longo do dia, qual o horário de pico de suas atividades e que interações ele realiza com que objetos ou outros indivíduos (Del-Claro, 2010).

As observações comportamentais inseridas nos etogramas podem ser realizadas, de acordo com Altmann (1974) e Del-Claro (2010), de três maneiras: 1) *ad libitum*, quando o observador registra tudo que observa e que seja facilmente identificável; 2) com amostragem de sequências, quando a ordem dos eventos é o

foco da observação; ou 3) com amostragens *scan*, quando são feitas observações instantâneas em intervalos de tempo regulares para um grupo de indivíduos.

1.3.2 Comportamentos indicativos de um bem-estar pobre

Existem diversos tipos de comportamento que um animal pode expressar que indicam estresse e/ou um estado de bem-estar pobre, e estes devem ser observados com atenção e aliados a análises fisiológicas de níveis hormonais e outros parâmetros. Exemplos de comportamentos que apontam para tais condições são a evitabilidade perante objetos ou indivíduos neutros, agressividade excessiva, auto-mutilação ou prostração prolongada (Broom, 2010).

Um comportamento indicativo de estresse que é muito comum em animais mantidos sob cuidados humanos em espaços pequenos é a estereotipia. A estereotipia é a forma que o animal encontra de substituir comportamentos que ele usualmente expressaria na natureza; porém, devido às condições às quais está submetido, não é capaz de reproduzir, o que gera estresse e frustração, podendo levar à diminuição progressiva do repertório comportamental como um todo (Lidfors *et al*, 2007).

Comportamentos estereotipados geralmente são constituídos pela repetição de uma sequência de movimentos que não variam e, aparentemente, não possuem nenhuma função óbvia (Tatemoto *et al*, 2022), como andar de um lado para o outro ou balançar a cabeça ininterruptamente. A estereotipia também é descrita para seres humanos com distúrbios neurológicos, e está associada à falta de controle que o indivíduo - humano ou animal - possui sobre o ambiente circunjacente (Broom, 2010). Diversos fatores podem levar um animal a expressar comportamentos estereotipados, e a sua manutenção por longos períodos pode acarretar consequências graves para sua saúde (Tatemoto *et al*, 2022).

1.4 O coelho

1.4.1 Taxonomia e origem da espécie

O objeto de estudo do presente trabalho é um mamífero popularmente conhecido como coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*: Linnaeus, 1758). Sua taxonomia, de acordo com o *Animal Diversity Web* do Museu de Zoologia da Universidade de Michigan, EUA (Tislerics, 2000), compreende: Reino: Animalia; Filo: Chordata; Subfilo: Vertebrata; Infracilo: Gnathostomata; Superclasse: Tetrapoda; Classe: Mammalia; Subclasse: Theria; Infraclasse: Eutheria; Ordem: Lagomorpha; Família: Leporidae; Gênero: *Oryctolagus*; Espécie: *O. cuniculus*.

No passado, naturalistas acreditavam que o coelho pertencia à Ordem Rodentia, devido aos seus incisivos hipsodontes característicos para roer (Cowan, 1994). Entretanto, com o avanço filogenético e a análise nucleotídica desses animais ficou provado que, na realidade, os lagomorfos são mais próximos dos primatas do que dos roedores, e que as similaridades entre os táxons teriam aparecido ao longo da evolução como convergências independentes (Naff e Craig, 2012).

Todos os coelhos domésticos ou de laboratório dos dias atuais descendem do coelho selvagem europeu, o qual acredita-se que já era criado em terrenos fechados há cerca de dois mil anos, pelos Romanos Antigos, para a prática da caça esportiva (Lidfors e Edström, 2010). Contudo, foi apenas entre os séculos 15 e 16, dentro de monastérios franceses e italianos, que ocorreu sua verdadeira domesticação, momento este que fez com que diversas raças fossem desenvolvidas, cada qual com seu propósito (Naff e Craig, 2012).

Atualmente, o coelho selvagem europeu se distribui naturalmente por todos os países do oeste da Europa, incluindo as ilhas britânicas e irlandesas, porém foi introduzido pelo homem em diversos locais do globo ao longo das décadas, como Oceania, Estados Unidos e América do Sul (Cowan, 1994), principalmente devido à sua utilização para corte e pesquisa, o que permitiu sua manipulação genética e o desenvolvimento de novas raças (Neff e Craig, 2012).

1.4.2 Utilização da espécie em pesquisa

O coelho é considerado um dos modelos de animais de laboratório mais populares no meio científico, principalmente devido à sua natureza pouco agressiva e seu tamanho médio, o que torna seu manejo e cuidado relativamente tranquilos (Sohn e Couto, 2012). Além disso, os coelhos são animais de fácil reprodução e ciclos vitais curtos, como gestação e amadurecimento, gerando economia no que tange a relação entre quantidade de animais e o tempo de permanência no laboratório (Mapara *et al*, 2012).

O coelho ganhou um papel indispensável como ferramenta de pesquisas biomédicas durante meados do século passado, contribuindo ao longo das décadas para descobertas e avanços primordiais nas áreas imunológica, toxicológica e genética, com inúmeras pesquisas desenvolvidas na produção de vacinas e fármacos (Naff e Craig, 2012). Uma das utilizações mais antigas e difundidas de coelhos é para o estudo de aterosclerose, datada de 1908, devido à sua característica inerente de possuir frequências cardíacas altas e relativa facilidade de serem acometidos por infartos fulminantes (Yanni, 2004). Além da aterosclerose, o coelho também tem papel central em pesquisas médicas no âmbito da osteoporose, uma vez que sua maturação óssea é relativamente rápida, eles possuem tamanho ideal para testes de implantes e próteses, e a remodelação óssea é muito semelhante à vista em humanos (Permuy *et al*, 2019).

Somado à sua utilização em estudos biomédicos, o coelho de laboratório também pode ser empregado para a produção de biomateriais, como soros veterinários ou hemoderivados, os quais são utilizados em culturas microbiológicas ou para alimentação de vetores de interesse para a saúde pública (Lidfors *et al*, 2007). No início do século 21 começaram, também, a ocorrer pesquisas com modelos transgênicos de coelhos em laboratório, visando o estudo dos mecanismos patológicos de certas zoonoses (Yanni, 2004).

1.4.3 Raças de coelhos

Das mais de cinquenta raças de coelhos descendentes do coelho selvagem europeu (*Oryctolagus cuniculus*), cerca de trinta são reconhecidas atualmente pela Associação Americana de Criadores de Coelhos como sendo de utilização comercial ou de pesquisa, incluindo suas variações transgênicas (Dutta e Sengupta, 2018). As raças podem variar bastante de cor, tamanho e peso, com algumas tendo menos de 1,0 kg, como o Anão Holandês, e outras com mais de 10,0 kg, como o Alemão Cinza, enquanto o selvagem tem uma média de 2,0 kg (Lidfors e Edström, 2010). Para fins de pesquisas científicas, as mais utilizadas são: Branco da Nova Zelândia, “Alemão-de-Cinto” (*Dutch-belted*), Branco da Califórnia, Polônes e Vermelho da Nova Zelândia (Sengupta e Dutta, 2020).

Os objetos de estudo do presente trabalho são coelhos Brancos da Nova Zelândia, raça desenvolvida no início do século vinte originalmente para produção de carne, devido ao seu relativo tamanho (Lidfors e Edström, 2010). Em 1944, o pesquisador J. H. Draize utilizou pela primeira vez coelhos Brancos da Nova Zelândia em laboratório, como modelos de testes de irritabilidade e toxicidade agudas (teste de Draize), o que popularizou a raça no ramo científico norte-americano (Naff e Craig, 2012). Atualmente, é uma das raças mais utilizadas ao redor do mundo para pesquisas de doenças infecciosas e aterosclerose, além de estudos imunológicos e metabólicos (Sengupta e Dutta, 2020), e sua preferência se dá por sua natureza tranquila, baixo incidente de problemas de saúde (Mapara *et al*, 2012) e à fácil localização de vasos sanguíneos superficiais para coleta de sangue (Dutta e Sengupta, 2018).

1.4.4 Características da espécie

O tempo médio de vida de um coelho doméstico é de aproximadamente nove anos, com a maturidade sexual sendo alcançada em torno de seis meses de idade (Quinn, 2012). A gestação tem duração média de trinta dias, da qual nascem de quatro a doze filhotes desprovidos de pelos, surdos e cegos, os quais são

desmamados com quatro a seis semanas de idade (Lidfors e Edström, 2010). Os coelhos possuem a pele fina e delicada, coberta por uma grossa camada de pelagem, constituída tanto por pelos de cobertura, mais longos e espaçados, como por pelos de guarda, mais curtos e compactos (Sohn e Couto, 2012). Sua característica mais marcante no âmbito popular são as grandes orelhas acima da cabeça, as quais permitem uma ótima captação de ondas sonoras e desempenham importante papel na termorregulação corporal (Cowan, 1994).

Os coelhos são animais exclusivamente herbívoros, e classificados como fermentadores monogástricos intestinais, ou seja, realizam simbiose com microrganismos (principalmente do gênero *Bacteroides spp.*) para conseguirem digerir as fibras de celulose presentes em seus alimentos (Quinn, 2012). Esses animais se alimentam em horários crepusculares, ao nascer ou pôr do sol, e estão adaptados à rápida digestão de grandes quantidades de comida (Sohn e Couto, 2012). Além disso, os coelhos também são classificados como coprófagos, devido à necessidade de ingerir cecotrofos para completar a digestão das fibras vegetais (Lidfors *et al*, 2007).

Os coelhos são, por natureza, animais sociais, curiosos e que manipulam ativamente o ambiente ao seu redor (Quinn, 2012), o que faz com que demandem de estímulos constantes e vivam bem em grupos pequenos e estáveis, nos quais podem expressar comportamentos hierárquicos complexos naturais da espécie (Lidfors *et al*, 2007). Além disso, são animais majoritariamente de hábitos noturnos, com acurados instintos de presa e muito territorialistas, utilizando de glândulas de cheiro, fezes e urina para demarcar seu espaço (Sohn e Couto, 2012).

Por mais que o coelho seja uma espécie amplamente utilizada em pesquisa e criação para corte, seu correspondente europeu selvagem atualmente tem seu status de conservação classificado como Em Perigo pela IUCN (Villafuerte e Delibes-Mateos, 2019).

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do estudo foi avaliar os efeitos da aplicação de cercados de chão, como enriquecimento ambiental, sobre o padrão comportamental de coelhos Brancos da Nova Zelândia criados em biotério.

Foram objetivos específicos deste trabalho:

- Elaborar um etograma próprio para o Serviço de Criação de Roedores e Lagomorfos da Fiocruz;
- Compreender a maneira de interação dos coelhos com o enriquecimento ambiental aplicado;
- Diminuir a frequência de comportamentos negativos e/ou indicativos de estresse.

3 RELEVÂNCIA

O presente estudo possui relevância científica devido à escassez de estudos referentes à elaboração e aplicação de etograma e enriquecimento ambiental para animais de laboratório, em especial para coelhos, tendo em vista que a maioria das publicações é focada em camundongos ou primatas não-humanos. Além disso, a relevância também é evidente no que tange a necessidade de melhorar a qualidade de vida dos animais criados para fins científicos, diminuindo comportamentos de estresse.

4 METODOLOGIA

4.1 Local de estudo

O presente estudo foi desenvolvido no Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), entre os meses de julho de 2023 e fevereiro de 2024. Atualmente, o ICTB é considerado o maior biotério do país, ocupando uma área de quase 26 mil m² dentro do *campus* da Fiocruz em Manguinhos, no Rio de Janeiro. É responsável pelo estudo, desenvolvimento e produção na área da ciência de animais de laboratório, através da criação e fornecimento de biomodelos, que podem ser os próprios animais, ou produtos deles extraídos, como sangue e hemoderivados (Brasil, 2023). Além disso, presta serviços de controle da qualidade animal e biotecnologia, tendo como principal objetivo a contribuição com programas e projetos de pesquisa biomédica, e o investimento em práticas que levem à diminuição ou substituição da utilização animal em pesquisa, o que confere ao Instituto um papel estratégico no bioterismo nacional (Brasil, 2023).

O ICTB/Fiocruz é dividido em quatro grandes Serviços: Criação de Roedores e Lagomorfos (SCRL), Criação de Primatas Não-Humanos (SCPrim), Controle de Qualidade Animal (SCQA) e Biotecnologia e Desenvolvimento Animal (SBDA). O presente projeto foi realizado no SCRL, o qual conta atualmente com quarenta linhagens de camundongos (*Mus musculus*), cobaias da raça *shorthair* (*Cavia porcellus*) e coelhos da raça Branco da Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*). Os camundongos são criados no regime SPF, com barreiras sanitárias mais rígidas, como explicado anteriormente, enquanto as cobaias e coelhos são mantidos em regime Convencional.

A colônia Convencional do SCRL é composta por três salas de criação, um vestiário, uma sala de eutanásia e um corredor de materiais. O vestiário representa a porta de entrada obrigatória para os técnicos do setor, contando com dois ambientes separados por uma cabine com ducha. O corredor de materiais é responsável pela conexão entre as salas de criação e a de eutanásia, servindo como área de passagem e estoque para equipamentos e insumos utilizados na colônia

(Figura 1). A sala de eutanásia conta com uma mesa de procedimentos, um armário de medicamentos, analgésicos e equipamentos cirúrgicos, e um quadro de fornecimentos do setor (Figura 2). Além disso, também possui um armário para armazenamento de equipamentos de proteção individual.

As salas de criação animal são denominadas C1, dedicada aos coelhos juvenis para fornecimento; C2, onde ficam as matrizes de produção de coelhos, e C3, onde estão alocadas as cobaias. Internamente, as três salas são retangulares de dimensões semelhantes, com os animais distribuídos em gaioleiros ao longo das paredes maiores (Figura 3). Todas contêm um termo-higrômetro próprio, além de armário de fichas e uma bancada com cuba e pia. Do lado oposto à porta que se abre para o corredor de materiais, há um *airlock*, uma antecâmara de porta dupla com função de separar hermeticamente o ambiente interno do externo através da manutenção do gradiente de pressão positiva entre ambos. É através do *airlock* que ocorre a entrada e saída de materiais na colônia.

Figura 1. Corredor de materiais.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 2. Sala de eutanásia.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

Figura 3. Interior das salas de criação de coelhos. A: Saída da sala. B: Entrada da sala.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

4.2 Criação animal

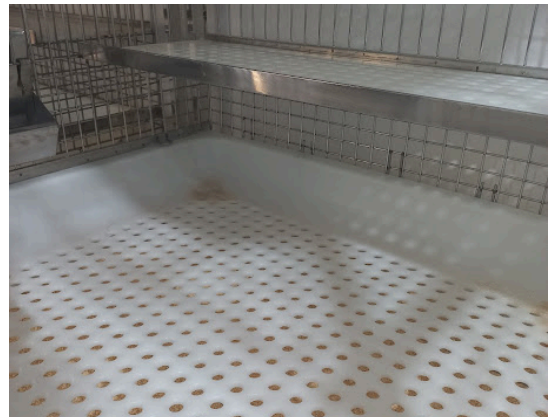
Os coelhos criados no SCRL são mantidos em gaiolas de 48 x 80 x 60 cm (altura x largura x profundidade), com grades laterais e teto de aço inoxidável e piso de plástico polipropileno, este último sendo perfurado por círculos com 1 cm de diâmetro espaçados entre si por 1,5 cm (Figuras 4 e 5). A porta das gaiolas é retangular (31 x 33 cm) e com abertura para o exterior. Abaixo do piso plástico há uma bandeja retangular (80 x 60 cm) do mesmo material, coberta por flocos de *pinus* para a absorção de fezes e urina que passarem pelos furos. Dentro da gaiola, na lateral oposta à porta, há uma plataforma plana de 26 cm de largura, a 25 cm de altura do piso e do mesmo material deste, com o intuito de permitir aos coelhos o movimento de subida e descida, ajudando a manter a saúde corporal. As gaiolas são agrupadas verticalmente de três em três, dentro de um gaioleiro de aço inoxidável de 187 x 90 x 64 cm, equipado com rodas na base para facilitar seu deslocamento (Figura 6).

Figura 4. Gaiola de coelhos.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Figura 5. Detalhe do piso e plataforma.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Figura 6. Gaioleiro de coelhos.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Na sala C1, os coelhos são mantidos em dois a três por gaiola, separados por sexo, com animais que foram desmamados na mesma ninhada ou em períodos próximos. Na sala C2, os coelhos são mantidos individualmente por gaiola, separados por sexo, e as fêmeas permanecem com os lactentes até a data de desmame. Ainda na C2, os coelhos são divididos em seis grupos, numerados de I a VI, sendo cada grupo composto por quatro machos e oito a doze fêmeas. Essa divisão em grupos se dá de acordo com o sistema de acasalamento do método Poiley (Andrade *et al*, 2002), o qual visa preservar a variabilidade genética de uma população controlada.

O fornecimento de ração e de água é *ad libitum*. A ração é da marca Nuvilab®, da empresa Quimtia, elaborada exclusivamente para coelhos de laboratório. Esta é oferecida em comedouros de aço inoxidável do tipo J (16 x 16 cm), encaixados em local próprio na frente da gaiola e com comunicação externa independente (Figura 7), permitindo a adição de alimento sem incomodar o animal. A água é oferecida em garrafas plásticas cilíndricas de 1,0 litro, com biqueira de aço inoxidável e borracha (Figura 8), sendo esta a única parte da garrafa que o animal tem contato. A troca de água e ração é realizada diariamente, incluindo feriados e finais de semana, e a limpeza das gaiolas acontece uma vez por semana, ambas pela manhã. Como forma de enriquecimento alimentar, são ofertados feno de *coast cross* e hortaliças sortidas uma vez por semana, em porções únicas. Também uma

vez por semana é ofertado aos coelhos algum tipo de EA físico inserido na gaiola, podendo ser maços de algodão, rolinhos de papelão ou pedaços de papel craft.

Os parâmetros médios e a faixa de variação de umidade e temperatura internas das salas estão descritos na Tabela 1 de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (2019). A iluminação artificial das salas segue um ciclo circadiano, com o período de claro ocorrendo entre 06:00 e 18:00, e o período de escuro entre 18:00 e 06:00. O protocolo de licença da CEUA utilizado no trabalho foi o LW55-19.

Figura 7. Comedouro de coelhos do tipo J.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Figura 8. Bebedouro de coelhos.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Tabela 1 - Parâmetros internos das salas de criação.

| Parâmetros | Valor Mínimo | Valor Médio | Valor Máximo |
|----------------------|--------------|-------------|--------------|
| Temperatura (°C) | 16,0 | 19,0 | 22,0 |
| Umidade relativa (%) | 30,0 | 50,0 | 70,0 |

Fonte: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (2019).

4.3 Elaboração do etograma

Para a elaboração do etograma, foram utilizados coelhos machos e fêmeas saudáveis e adultos de produção (sala C2), com idade variando entre um e quatro anos no início do estudo, e pesando entre 4,0 e 5,0 kg. Foram utilizados 24 coelhos machos e 65 fêmeas, totalizando 89 indivíduos, todos identificados por

numeração única. A observação comportamental foi realizada três vezes por semana, inicialmente pela manhã, entre 09:00 e 11:00h; posteriormente pela tarde, entre 13:00 e 15:00, totalizando um mês para cada uma. Cada indivíduo foi observado por 60 segundos por um observador único e presencialmente, totalizando um período de cerca de 1 h 30 min de observação. Foram identificados e listados quatro parâmetros: comportamentos *per se*, localização do animal na gaiola, posição do corpo e interação com objetos, de acordo com Gutierrez-Gomez *et al* (2021). Os comportamentos performados foram observados *ad libitum* conforme Altmann (1974) e Del-Claro (2010).

4.4 Análise de frequência comportamental

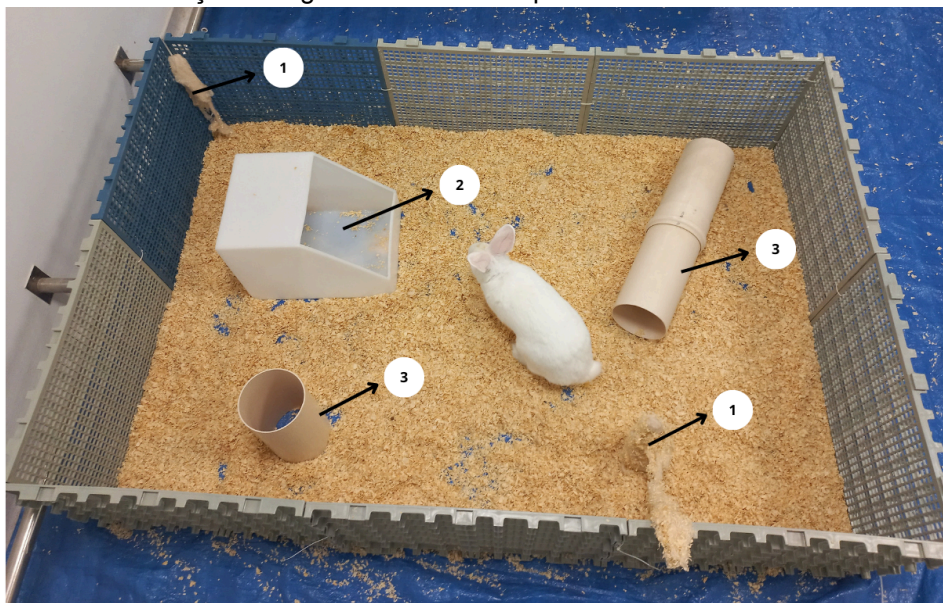
Após a elaboração do etograma, este foi utilizado para a análise de frequência comportamental, a qual foi realizada em três etapas: antes, durante e após o período de implementação dos cercados de chão como EA. O tamanho da amostra para esta análise foi de 24 coelhos, selecionando apenas indivíduos machos para evitar vieses de período éstrico e de gravidez das fêmeas. Foi estabelecido um grupo experimental (n=15), o qual foi submetido ao EA, e um grupo controle (n=9), que não foi submetido. Nas etapas antes e após a implementação do EA, cada indivíduo foi observado na gaiola durante 60 segundos, do primeiro coelho do grupo I até o último do grupo VI. Esse processo foi repetido três vezes, totalizando 72 min a cada coleta de dados. Foram realizadas duas coletas por dia (uma pela manhã e uma à tarde), três vezes por semana, durante dois meses para cada etapa. A observação foi realizada *ad libitum* por um observador único e presencialmente. A etapa do EA propriamente dito, consistiu em sua aplicação por um período total de 40 minutos por indivíduo. Foram montados três cercados de chão simultaneamente, e cada indivíduo foi observado por 60 segundos em intervalos de 10 minutos, totalizando cinco observações individuais por dia ($t_0 = 0'$; $t_1 = 10'$; $t_2 = 20'$; $t_3 = 30'$; $t_4 = 40'$). O EA foi aplicado uma vez por semana por indivíduo, durante dois meses. Os comportamentos foram observados por amostragens *ad libitum* conforme Altmann (1974) e Del-Claro (2010).

4.5 Enriquecimento ambiental

O enriquecimento ambiental aplicado foi dos tipos físico e sensorial. Este foi ofertado na forma de um cercado de chão (*floor pen*), como uma “arena de exercícios”, para permitir que os animais se locomovessem por uma área maior que a de suas gaiolas (Figura 9). Cada cercado tinha as dimensões de 120 x 180 cm, com suas paredes compostas por placas retangulares de plástico polipropileno perfurado de 40 x 60 cm e o piso formado por uma lona coberta por fina camada de maravalha autoclavada. Dentro do cercado foram disponibilizados diversos estímulos espalhados, como ninhos de plástico (30 x 30 x 40 cm), rolinhos de papelão, pedaços de papel craft ou algodão, canos de PVC, baldes ou bolinhas de plástico com guizo, promovendo a curiosidade, exploração e utilização de sentidos pelos coelhos. Como os animais da sala C2 são mantidos individualmente por gaiola, estes também foram introduzidos um por vez no cercado de chão, permitindo que visualizem outros coelhos em outros cercados, porém sem interação física para evitar comportamentos agressivos territorialistas. Os cercados também permitiam que os coelhos sentissem o cheiro de outros coelhos que já haviam se exercitado na mesma arena.

Figura 9. Cercado de chão.

1: Pedacos de algodão. 2: Ninho de plástico. 3: Canos de PVC.



Fonte: Acervo pessoal (2024).

4.6 Análise de dados

Para cada indivíduo observado, o número total de comportamentos expressados gerou um valor de frequência. Por exemplo, se dentro de 300 coletas, 60 foram correspondentes a comportamentos estereotipados, então esse valor foi convertido em porcentagem: $60/300 \times 100 = 20$. Dessa forma, temos que este indivíduo realizou comportamentos estereotipados por 20% do seu período de observação. Para cada comportamento do etograma, a porcentagem de frequências individuais foi somada e dividida pelo número total de indivíduos, obtendo assim uma porcentagem média de frequência para o grupo amostral como um todo.

Para a análise estatística, as frequências comportamentais do grupo teste na etapa após a aplicação do EA foram comparadas com as frequências do mesmo grupo antes da aplicação do EA. O mesmo foi feito para o grupo controle. Por se tratar de uma análise quantitativa de dados, primeiramente verificou-se a normalidade da distribuição destes por meio do Teste de Shapiro-Wilk (Morettin e Bussab, 2010). Quando os dados atenderam os critérios de normalidade ($p > 0,05$), foi realizado um teste t de Student para amostras pareadas, tendo em vista que as amostras foram para um mesmo grupo de indivíduos em momentos distintos. Quando os dados não atenderam os critérios de normalidade ($p < 0,05$), foi realizado um teste de Wilcoxon (Morettin e Bussab, 2010). Para ambos os testes, o valor de significância estatística adotado foi de $p < 0,05$. Todos os testes realizados neste trabalho foram performados no programa RStudio (R Core Team, 2024).

5 RESULTADOS

5.1 Etograma

No decorrer do estudo, quatro fêmeas adultas morreram por causas desconhecidas (4171, 5175, 5184 e 6174). Um gaioleiro de fêmeas novas foi reposto no grupo IV, de numerações 4188, 4189 e 4190.

Após o período estipulado de dois meses para a elaboração do etograma, foram realizadas um total de 1.513 observações, representando pouco mais de 25 horas de coleta de dados. A partir dessas observações, foram listados 93 comportamentos, 14 posições corporais, 9 localizações do animal na gaiola e 12 interações com o ambiente. As posições corporais estão descritas no Quadro 1, com alguns exemplos na Figura 10, enquanto os objetos de interação com o ambiente estão descritos no Quadro 2. As localizações na gaiola estão demonstradas no Quadro 3 e na Figura 11. Os 93 comportamentos listados, com suas respectivas definições, estão descritos após os quadros e figuras desta seção. Para melhor organização e otimização da tabela do etograma, os comportamentos foram agrupados em seis categorias baseando-se em critérios definidos em literatura¹ e no conhecimento prévio do repertório comportamental da espécie pelo autor.

¹ Morton *et al* (1993), Gunn e Morton (1995), Lidfors (1997), Hawkins *et al* (2008) e DiVincenti e Rehrig (2016).

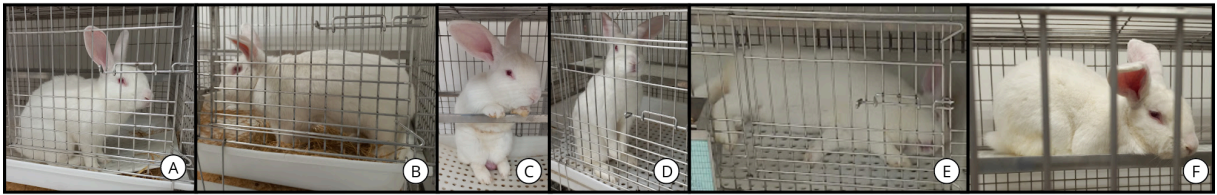
Quadro 1 - Posições corporais dos coelhos.

| Posição Corporal | Descrição |
|----------------------------------|--|
| Em quatro apoios | Todas as patas estendidas apoiadas no chão, corpo e cauda elevados do chão, geralmente em locomoção |
| Deitado (bruços) or↑ + o. ab. | Ventre apoiado no chão, orelhas levantadas e olhos abertos |
| Deitado (bruços) or↓ + o. ab. | Ventre apoiado no chão, orelhas abaixadas e olhos abertos |
| Deitado (bruços) or↑ + o. semi. | Ventre apoiado no chão, orelhas levantadas e olhos semi abertos |
| Deitado (bruços) or↓ + o. semi. | Ventre apoiado no chão, orelhas abaixadas e olhos semi abertos |
| Deitado (lateral) or↑ + o. ab. | Lateral do corpo apoiada no chão, orelhas levantadas e olhos abertos |
| Deitado (lateral) or↓ + o. ab. | Lateral do corpo apoiada no chão, orelhas abaixadas e olhos abertos |
| Deitado (lateral) or↑ + o. semi. | Lateral do corpo apoiada no chão, orelhas levantadas e olhos semi abertos |
| Deitado (lateral) or↓ + o. semi. | Lateral do corpo apoiada no chão, orelhas abaixadas e olhos semi abertos |
| Em pé (apoiado) | Apenas patas posteriores no chão, corpo ereto e patas anteriores apoiadas em algum objeto |
| Em pé (livre) | Apenas patas posteriores no chão, corpo ereto e patas anteriores livres no ar |
| Sentado (de costas) | Cauda e todas as patas apoiadas no chão, patas posteriores flexionadas e anteriores estendidas, corpo semi ereto de costas para o observador |
| Sentado (de frente) | Cauda e todas as patas apoiadas no chão, patas posteriores flexionadas e anteriores estendidas, corpo semi ereto de frente para o observador |
| Sentado (de lado) | Cauda e todas as patas apoiadas no chão, patas posteriores flexionadas e anteriores estendidas, corpo semi ereto de lado para o observador |

Fonte: Dados de pesquisa (2023).

Figura 10. Posições corporais dos coelhos.

A: Sentado (de lado); B: Em quatro apoios; C: Em pé (apoiado);
D: Em pé (livre); E: Deitado (lateral); F: Deitado (bruços).



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Quadro 2 - Objetos de interação dos coelhos.

| Objeto | Descrição |
|--------------------------|--|
| Água | Anotado quando o animal ingere água |
| Alimento | Anotado quando o animal ingere ração ou feno |
| Bebedouro | Interação com o bebedouro sem ingestão de água |
| Chão | Interação com o chão sem ser para locomoção |
| Comedouro | Interação com o comedouro sem ingestão de alimento |
| Enriquecimento Ambiental | Interação com algodão, feno, rolinho de papelão ou papel craft |
| Excretas | Interação com as próprias excretas ou de terceiros |
| Filhote | Interação com um filhote |
| Grade | Interação com as laterais da gaiola |
| Ninho | Interação com o ninho |
| Plataforma | Interação com a plataforma sem ser para locomoção |
| Teto | Interação com a parte superior da gaiola |

Fonte: Dados de pesquisa (2023).

Quadro 3 - Localizações dos coelhos na gaiola.

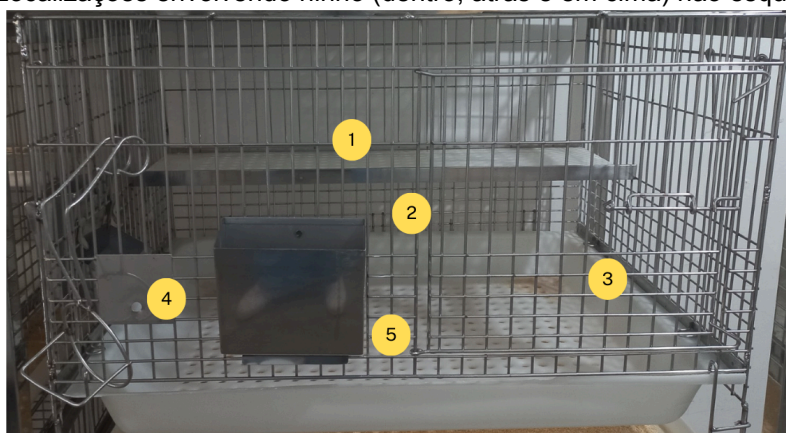
| Localização | Descrição |
|-----------------------|---|
| Atrás | Animal na parte de trás da gaiola, longe do observador, com a plataforma removida |
| Embaixo da plataforma | Animal na parte de trás da gaiola, longe do observador, embaixo da plataforma |
| Em cima da plataforma | Animal na parte de trás da gaiola, longe do observador, em cima da plataforma |
| Frente | Animal na parte da frente da gaiola, próximo ao observador e à porta |

| | |
|------------------|---|
| Lateral direita | Animal à direita do observador, próximo à lateral da gaiola |
| Lateral esquerda | Animal à esquerda do observador, próximo ao bebedouro |
| Ninho (atrás) | Animal atrás do ninho, geralmente impossibilitando sua observação |
| Ninho (dentro) | Animal dentro do ninho, dificultando sua observação |
| Ninho (em cima) | Animal em cima do ninho |

Fonte: Dados de pesquisa (2023).

Figura 11. Esquematização das localizações na gaiola.

1: Em cima da plataforma; 2: Embaixo da plataforma ou Atrás; 3: Lateral direita; 4: Lateral esquerda; 5: Frente. Localizações envolvendo ninho (dentro, atrás e em cima) não esquematizadas.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Abaixo, encontra-se a relação dos 93 comportamentos observados, divididos em categorias.

Inativos: Comportamentos sem movimentos do corpo.

Cochilando - Repousado, com os olhos semiabertos e uma ou as duas orelhas eretas, demonstrando certa atenção ao ambiente.

Dormindo - Repousado, com os olhos fechados e uma ou nenhuma orelha ereta, demonstrando pouca atenção ao ambiente.

Parado (alerta) - Repousado, com os olhos abertos e orelhas eretas, respondendo ativamente a estímulos do ambiente.

Fisiológicos: Comportamentos inerentes à espécie, que fazem parte da sua fisiologia natural.

Bebendo - Ingerindo água através do bico do bebedouro.

Bocejando - Ato de bocejar.

Cecotrofia - Ingestão de cecotrofos diretamente do ânus.

Comendo - Inclui todos os comportamentos relacionados ao ato de ingerir alimentos, como morder, mastigar, lambar, e deglutir.

Defecando - Ato de defecar.

Esfregando o rosto na grade - Gerando atrito com o rosto diretamente contra as laterais da gaiola, como forma de marcação de território através da glândula de cheiro localizada no queixo.

Esfregando o rosto no chão - Gerando atrito com o rosto diretamente contra o chão da gaiola, como forma de marcação de território através da glândula de cheiro.

Espirrando - Ato de espirrar.

Espreguiçando - Extensão das patas anteriores para frente inclinando a cabeça para trás e flexão da coluna vertebral.

Estremecendo - Sacudindo ou tremendo o corpo por inteiro.

Urinando - Ato de urinar.

Manutenção: Comportamentos naturais da espécie visando manter a saúde dos pelos e de outras áreas do corpo.

Coçando - Esfregando rapidamente a pata posterior na região da cabeça.

Lambendo filhote - Forma de manutenção dos filhotes, além de forma de criação de elo entre mãe e cria.

Lambendo genitália - Passando a língua pela região genital.

Lambendo lábio - Passando a língua repetidamente pelo próprio lábio.

Lambendo pata anterior - Forma de manutenção dos pelos das patas anteriores.

Lambendo pata posterior - Forma de manutenção dos pelos das patas posteriores.

Lambendo pelo - Forma de manutenção dos pelos da região do pescoço, costas ou barriga.

Passando a pata anterior na orelha - Forma de manutenção dos pelos da orelha, geralmente precedida pelo ato de lambar as patas anteriores.

Passando a pata anterior no rosto - Forma de manutenção dos pelos do rosto, geralmente precedida pelo ato de lambar as patas anteriores.

Neutros: Comportamentos expressados usualmente pelos indivíduos, sem benefícios ou malefícios ao mesmo.

Andando para trás - Locomovendo-se para trás com extensão alternada de patas anteriores e posteriores.

Apoiando-se na grade - Suspendendo o corpo ao apoiar as patas anteriores nas laterais da gaiola, permanecendo com as patas posteriores no chão.

Apoiando-se na plataforma - Suspendendo o corpo ao apoiar as patas anteriores na plataforma e permanecer com as patas posteriores no chão da gaiola.

Apoiando-se no comedouro - Suspendendo o corpo ao apoiar as patas anteriores no comedouro, permanecendo com as patas posteriores no chão.

Apoiando-se no ninho - Suspendendo o corpo ao apoiar as patas anteriores em cima do ninho, permanecendo com as patas posteriores no chão.

Caminhando - Locomovendo-se para frente com extensão alternada de patas anteriores e posteriores ou com movimento simultâneo das patas posteriores, como um pequeno salto.

Deitando - Depressão do corpo anteriormente sentado ou em 4 apoios para a posição deitada.

Descendo - Saindo da plataforma ou de cima do ninho em direção ao chão, primeiramente com as patas anteriores.

Entrando e saindo do ninho - Movendo o corpo inteiro de dentro para fora do ninho e vice-versa, primeiramente com as patas anteriores.

Escutando - Mexendo as orelhas ativamente em reação a estímulos sonoros do ambiente.

Farejando - Cheirando o ambiente ao redor, porém não um objeto em específico.

Farejando alimento - Cheirando o alimento e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando chão - Cheirando o fundo da gaiola e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando comedouro - Cheirando as laterais externas do comedouro e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando fezes - Cheirando as pelotas rígidas fecais deixadas na gaiola e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando grade - Cheirando as paredes da gaiola e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando ninho - Cheirando as laterais externas do ninho e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando plataforma - Cheirando a plataforma e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Farejando teto - Cheirando a parte superior da gaiola e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Levantando - Suspensão do corpo anteriormente deitado para 4 apoios ou anteriormente sentado para a posição em pé.

Olhando ao redor - Repousado, mexendo ativamente a cabeça em resposta a estímulos do ambiente ao redor.

Saltando - Suspensão do corpo no ar, retirando todas as patas do chão simultaneamente.

Sentando - Suspensão do corpo anteriormente deitado para a posição sentada, ou depressão do corpo anteriormente em pé ou em 4 apoios para a posição sentada.

Subindo - Saindo do fundo da gaiola em direção à plataforma ou acima do ninho, primeiramente com as patas anteriores.

Positivos: Comportamentos que promovem ou indicam benefícios ao estado de bem-estar dos indivíduos.

Arrumando o ninho - Organização do posicionamento do algodão ou do próprio pêlo arrancado para melhor acomodação dos filhotes no ninho.

Correndo - Locomoção rápida com os quatro membros.

Farejando EA - Cheirando qualquer objeto inserido como EA e utilizando as vibrissas como receptores táteis.

Frisky hop - Salto para frente junto com um balanço lateral da cabeça ou do corpo, comportamento indicativo de satisfação.

Jogando EA para cima - Colocando o EA na boca e, com movimento ascendente da cabeça, lançando-o para cima.

Jogando feno para cima - Colocando o feno na boca e, com movimento ascendente da cabeça, lançando-o para cima.

Lambendo EA - Passando a língua pelo EA.

Mastigando EA - Mantendo o EA na boca e realizando movimentos mandibulares mastigatórios.

Mordendo EA - Interação com o EA sob a forma de abocanhá-lo ou puxá-lo com a boca e depois soltá-lo.

Removendo comedouro - Utilizando a cabeça ou o corpo por baixo do comedouro para removê-lo do suporte.

Removendo plataforma - Utilizando a cabeça ou o corpo por baixo da plataforma para removê-la do suporte.

Negativos: Comportamentos que promovem ou indicam a depressão do estado de bem-estar dos indivíduos.

Arrancando pêlo - Puxando o próprio pêlo com os dentes até se destacar da pele (sem função de construir ninho).

Arranhando bebedouro - Arranhando repetidamente o bico do bebedouro com as garras das patas anteriores.

Arranhando grade - Arranhando repetidamente as laterais da gaiola com as garras das patas anteriores.

Arranhando plataforma - Arranhando repetidamente a plataforma com as garras das patas anteriores.

Arqueando as costas (lordose) - Extensão côncava da coluna vertebral com as patas estendidas abaixo do corpo, semelhante a um gato.

Batendo a cabeça na grade - Acertando as laterais da gaiola com a cabeça.

Batendo a pata anterior no chão - Comportamento de alarme ou descontentamento, quando o coelho produz um som baixo ao bater com a pata anterior no fundo da gaiola, indicando a iminência de algo potencialmente estressante.

Batendo a pata posterior no chão - Comportamento de alarme ou descontentamento, quando o coelho produz um som alto ao bater com a pata posterior no fundo da gaiola, indicando a iminência de algo potencialmente estressante.

Apoiando a cabeça na plataforma (sentado no chão) - Repousado, com os olhos fechados e nenhuma orelha ereta, com a cabeça apoiada na plataforma enquanto o corpo encontra-se sentado no fundo da gaiola. Comportamento indicativo de dificuldade respiratória.

Cavando - Realização de movimentos repetitivos de cavar com as patas anteriores contra o fundo da gaiola

Cavando comedouro - Arranhando o comedouro com as garras das patas anteriores, jogando ração para fora sem intenção de ingeri-la.

Coprofagia - Ingerindo as pelotas fecais rígidas deixadas no chão.

Estremecendo a cabeça - Sacudir ou tremer a cabeça repetidamente, mantendo o corpo imóvel.

Grito - Forma de vocalização alta e aguda, indicativa de estresse.

Head bobbing - Movimento estereotipado de balançar a cabeça de um lado para o outro repetidamente.

Head nodding - Movimento estereotipado de balançar a cabeça para cima e para baixo repetidamente.

Head swaying - Movimento estereotipado de balançar a cabeça para frente e para trás repetidamente.

Lambendo chão - Passando a língua repetidamente pela superfície do fundo da gaiola.

Lambendo comedouro - Passando a língua repetidamente pelas laterais externas do comedouro.

Lambendo fezes - Passando a língua repetidamente pelas pelotas fecais rígidas.

Lambendo grade - Passando a língua repetidamente pelas laterais da gaiola.

Lambendo ninho - Passando a língua repetidamente pelas laterais do ninho.

Lambendo plataforma - Passando a língua repetidamente pela plataforma.

Lambendo teto - Passando a língua repetidamente pela parte superior da gaiola.

Lambendo urina - Passando a língua pela urina deixada na gaiola.

Mastigação falsa - Realizando movimentos mandibulares de mastigação sem possuir nenhum alimento ou objeto na boca.

Mastigando pelo - Ato de manter o próprio pêlo na boca realizando movimentos mandibulares mastigatórios repetidamente.

Mordendo bebedouro - Mordendo ou roendo o bico do bebedouro com os dentes sem intenção de ingerir água.

Mordendo chão - Mordendo ou roendo o fundo da gaiola com os dentes.

Mordendo comedouro - Mordendo ou roendo as laterais do comedouro com os dentes sem intenção de ingerir comida.

Mordendo grade - Mordendo ou roendo as laterais da gaiola com os dentes.

Mordendo ninho - Mordendo ou roendo as laterais do ninho com os dentes.

Mordendo plataforma - Mordendo ou roendo a plataforma com os dentes.

Mordendo teto - Mordendo ou roendo a parte superior da gaiola com os dentes.

Pacing - Movimento estereotipado de caminhar de um lado para o outro sem nenhum motivo aparente.

Puxando bebedouro - Mordendo o bico do bebedouro e puxando o mesmo em direção ao interior da gaiola, sem intenção de ingerir água.

Rodando - Movimento estereotipado de girar em torno do próprio eixo repetidamente, sem locomoção efetiva.

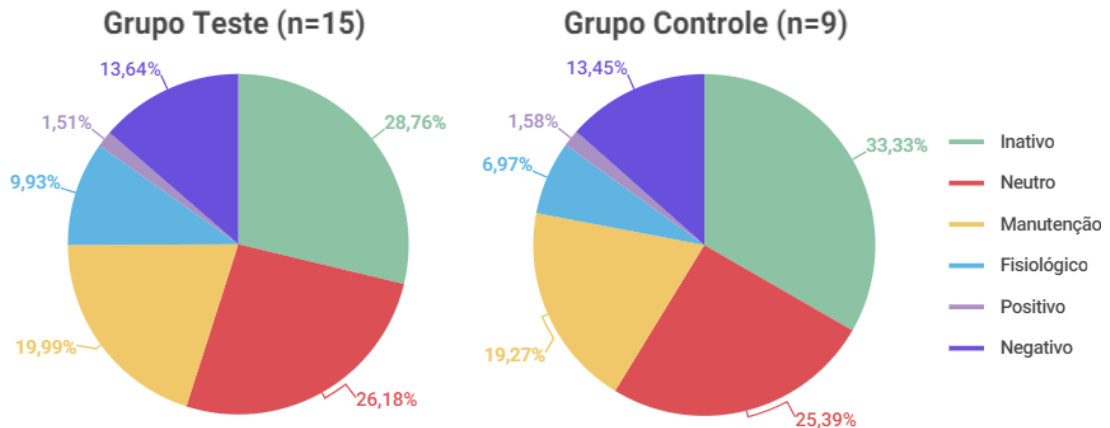
5.2 Comportamentos pré enriquecimento

A partir das amostragens realizadas nas gaiolas antes da aplicação do enriquecimento, montou-se uma tabela com as quantidades de observações de cada categoria comportamental para os grupos teste e controle (Tabela 2). Após, retirou-se um valor de frequência de cada comportamento para todo o n amostral, como descrito na seção 4.6. Esses valores estão apresentados na Figura 12. As categorias de comportamentos com maiores expressões foram: inativos, neutros e de manutenção, com valores aproximados de 30%, 25% e 20%, respectivamente. Os indivíduos passaram cerca de 13% do tempo de coleta performando comportamentos negativos. Verificou-se pouca variação de porcentagens entre grupo teste e controle (menos de 2%).

Tabela 2 - Número de observações comportamentais pré enriquecimento.

| Categorias | Grupo Teste (n=15) | Grupo Controle (n=9) |
|-------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Inativo | 892 | 550 |
| Neutro | 812 | 419 |
| Fisiológico | 308 | 115 |
| Manutenção | 620 | 318 |
| Positivo | 47 | 26 |
| Negativo | 423 | 222 |
| Total | 3102 | 1650 |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 12. Frequência comportamental pré enriquecimento.

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Como o foco deste trabalho foram os comportamentos indicativos de estresse e/ou de um bem-estar pobre, aqui categorizados como “Negativos”, cada um dos 37 comportamentos pertencentes a essa categoria também teve sua frequência calculada. Estas estão descritas na Tabela 3. Os comportamentos “Arranhando bebedouro”, “Arranhando grade”, “Batendo pata posterior”, “Grito”, “*Head nodding*”, “*Head swaying*”, “Lambendo ninho” e “Mordendo ninho” não foram observados durante a coleta. Os comportamentos negativos com maior expressão individual em porcentagem foram, como demonstrado na Figura 13: “Cavando”, “Estremecendo cabeça”, “Lambendo chão”, “Lambendo grade”, “Lambendo plataforma”, “Mastigação falsa”, “Mastigando pelo” e “Mordendo grade”. Ao agrupar comportamentos negativos semelhantes (“Lambendo”, “Mordendo” e movimentos mastigatórios), percebeu-se que estes representaram quase 70% de toda a categoria de negativos (Figura 14).

Tabela 3 - Número de observações de comportamentos negativos pré enriquecimento.

| Comportamentos | Grupo Teste (n=15) | Grupo Controle (n=9) |
|------------------------------|--------------------|----------------------|
| Arrancando pelo | 2 | 1 |
| Arranhando plataforma | 2 | 2 |
| Arqueando as costas | 2 | 0 |
| Batendo cabeça na grade | 1 | 0 |
| Batendo pata anterior | 16 | 6 |
| Cabeça apoiada na plataforma | 5 | 4 |

| | | |
|---------------------|------------|------------|
| Cavando | 32 | 23 |
| Cavando comedouro | 4 | 3 |
| Coprofagia | 8 | 7 |
| Estremecendo cabeça | 39 | 22 |
| <i>Head bobbing</i> | 2 | 0 |
| Lambendo chão | 46 | 20 |
| Lambendo comedouro | 6 | 5 |
| Lambendo fezes | 3 | 2 |
| Lambendo grade | 24 | 11 |
| Lambendo plataforma | 23 | 14 |
| Lambendo teto | 10 | 2 |
| Lambendo urina | 4 | 2 |
| Mastigação falsa | 79 | 40 |
| Mastigando pelo | 37 | 5 |
| Mordendo bebedouro | 5 | 4 |
| Mordendo chão | 12 | 8 |
| Mordendo comedouro | 5 | 2 |
| Mordendo grade | 28 | 22 |
| Mordendo plataforma | 12 | 7 |
| Mordendo teto | 2 | 2 |
| <i>Pacing</i> | 2 | 0 |
| Puxando bebedouro | 8 | 4 |
| Rodando | 4 | 1 |
| Total | 423 | 222 |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 13. Frequência de comportamentos negativos com maiores expressões pré enriquecimento.

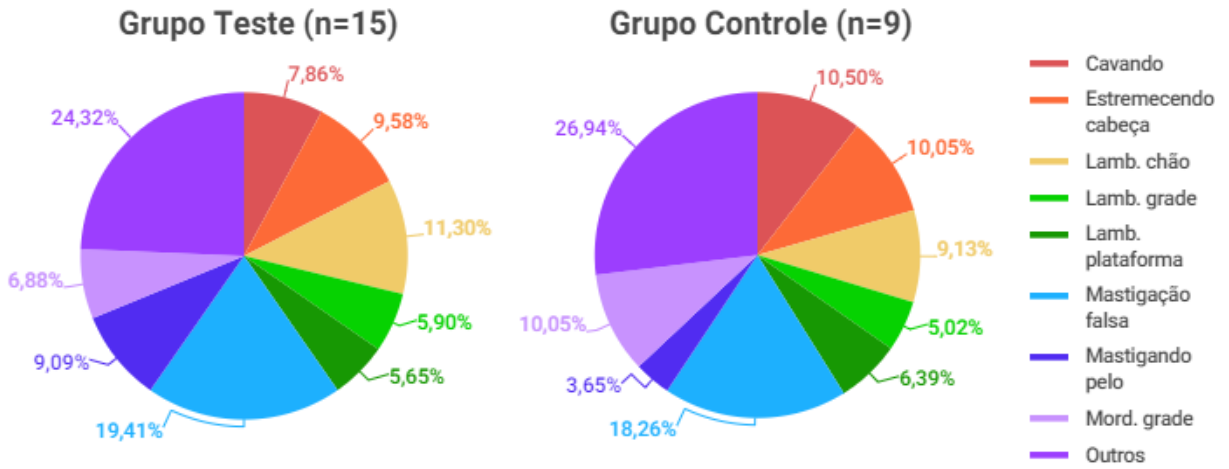
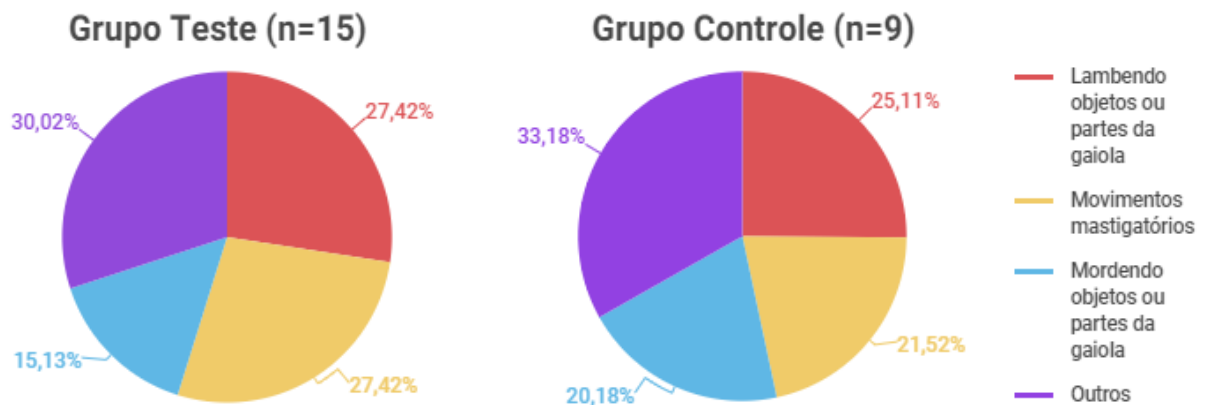


Figura 14. Frequência de comportamentos negativos semelhantes agrupados pré enriquecimento.



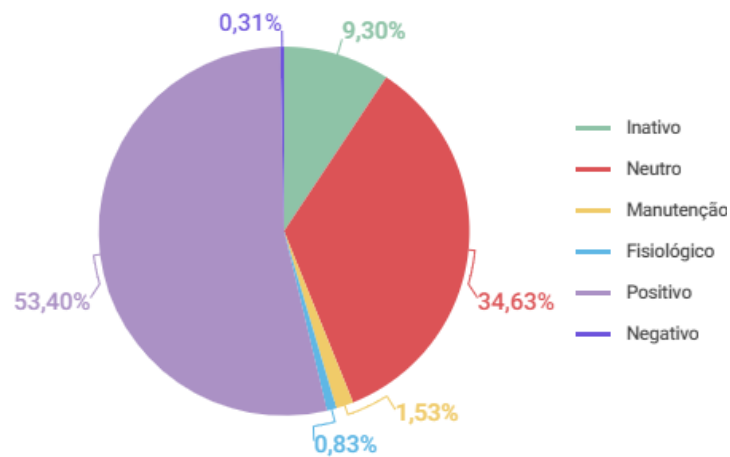
5.3 Comportamentos durante o enriquecimento

A partir da coleta de dados durante o enriquecimento, a frequência de cada categoria comportamental também foi calculada conforme a seção 4.6, gerando valores de porcentagem como demonstrados na Tabela 4 e na Figura 15. Como certos objetos presentes no cercado eram inéditos para os animais, todas as formas de interação verificadas com os mesmos foram classificadas como comportamentos positivos, salvo aquelas que indicassem uma possível ação estereotipada (por exemplo, lambe um objeto inédito repetidamente por longos períodos). Verificou-se na Figura 15 que os comportamentos neutros e positivos representaram as maiores parcelas de observações, com 34,6 e 53,4%, respectivamente. Os animais mantiveram-se inativos durante 9,3% do tempo, e as categorias restantes não chegaram a 2% de frequência. Dentre os comportamentos neutros, destacaram-se “Apoiando”, “Caminhando” e “Levantando”, que somados correspondem a quase 70% de toda a categoria. Da mesma forma, dentre os comportamentos positivos, os que tiveram maior expressão foram as interações de farejar (63,4%), morder/mastigar (13,8%) e esfregar (5,5%) nos objetos, como demonstrado na Figura 16. Destaca-se aqui a presença de dois comportamentos positivos performados durante a aplicação do EA que não tinham sido verificados nas coletas de dados dentro das gaiolas: “Correndo” e “*Frisky hop*”, com 0,98 e 2,7%, respectivamente (Figura 16).

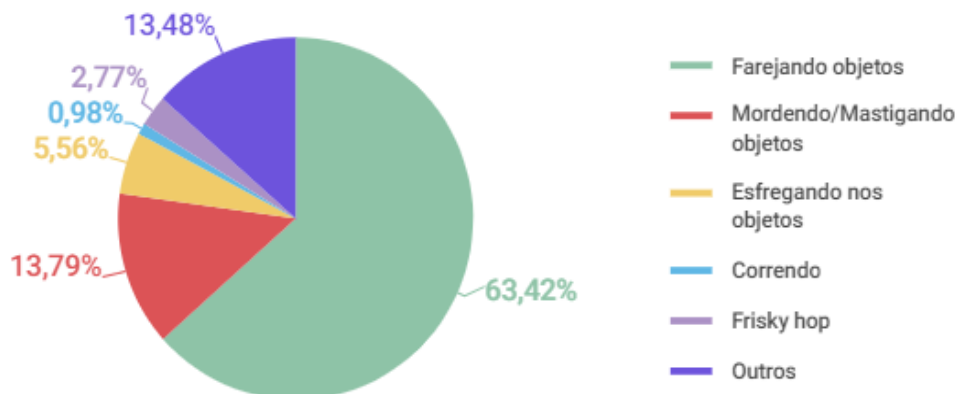
Tabela 4 - Número de observações comportamentais durante a aplicação do enriquecimento.

| Categorias | Observações |
|-------------------|--------------------|
| Inativo | 859 |
| Neutro | 3200 |
| Fisiológico | 141 |
| Manutenção | 77 |
| Positivo | 4935 |
| Negativo | 29 |
| Total | 9241 |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 15. Frequência comportamental durante a aplicação do enriquecimento.

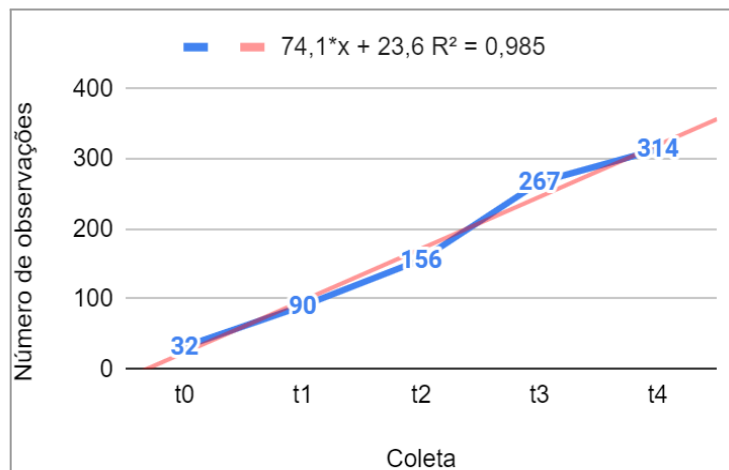
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 16. Frequência de comportamentos positivos durante a aplicação do enriquecimento.

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

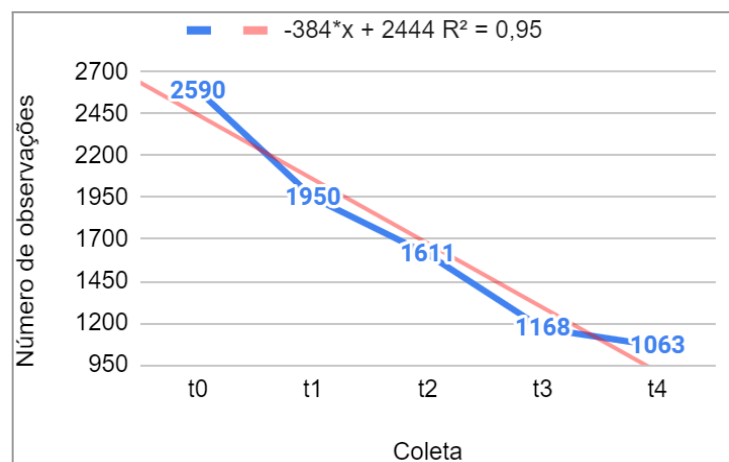
Além de calcular a frequência dos comportamentos durante a aplicação do enriquecimento, também foi analisada a variação de atividade e inatividade dos indivíduos tanto durante o período de aplicação do cercado (40 minutos), quanto ao longo dos dias da pesquisa. Em relação ao período de aplicação, os comportamentos inativos foram somados para cada coleta (t'), como ilustrado na Figura 17. As outras categorias foram agrupadas apenas como comportamentos de atividade, somando todas as observações para cada t' , como demonstrado na Figura 18. Para a análise de atividade ao longo dos dias de pesquisa, foi feito o mesmo processo, com os dias identificados de D1 a D8. Os comportamentos inativos estão ilustrados na Figura 19, enquanto que os comportamentos de atividade estão na Figura 20.

Figura 17. Inatividade durante o período de aplicação do enriquecimento.



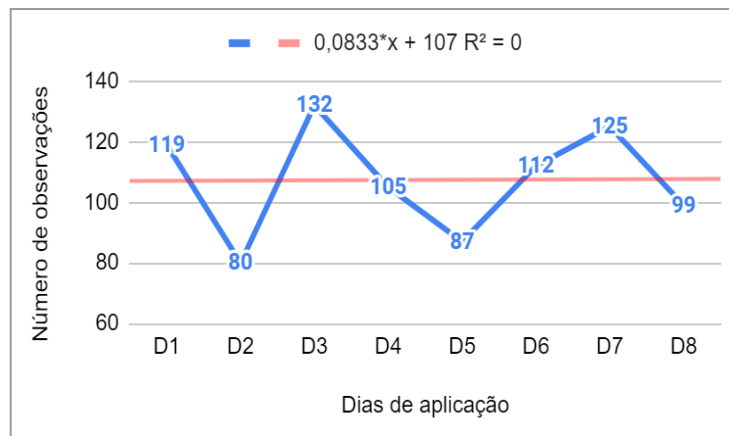
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 18. Atividade durante o período de aplicação do enriquecimento.



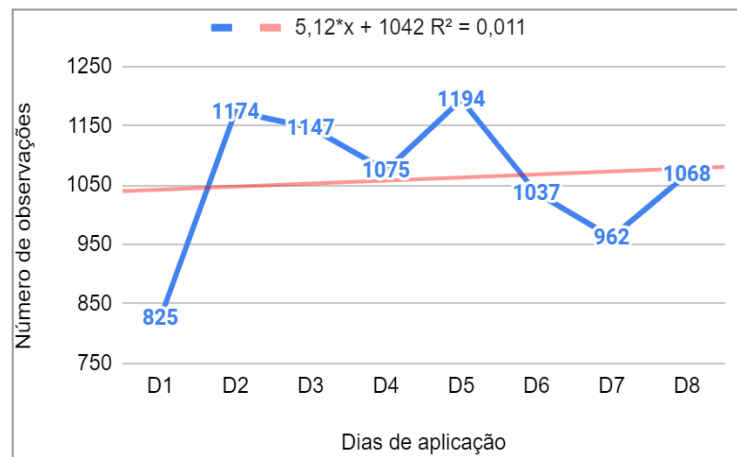
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 19. Inatividade ao longo dos dias de aplicação do enriquecimento.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 20. Atividade ao longo dos dias de aplicação do enriquecimento.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

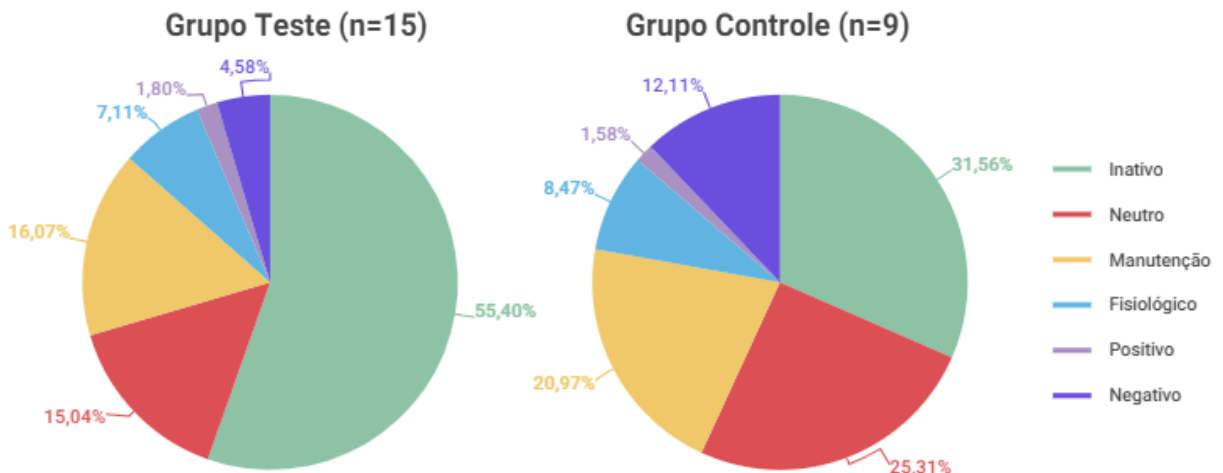
5.4 Comportamentos pós enriquecimento

Para finalizar a coleta de dados, os comportamentos dos indivíduos foram registrados novamente nas gaiolas, porém após o período estipulado de dois meses de aplicação do enriquecimento. Suas frequências foram calculadas tal qual na seção 5.2, e estão descritas na Tabela 5 e na Figura 21. Ao contrário do verificado na medição de frequências pré enriquecimento, nesta etapa constatou-se grande variação de porcentagens entre grupo teste e controle, com uma média de quase 8% de variação, com destaque para uma diferença de 23,8% entre os comportamentos inativos. As categorias de comportamentos com maiores expressões novamente foram inativos, neutros e de manutenção, com valores de 55,4%, 15,0% e 16,1% para o grupo teste; e 31,5%, 25,3% e 20,9% para o grupo controle, respectivamente. Os indivíduos do grupo teste passaram 4,5% do tempo de coleta performando comportamentos negativos, enquanto os do grupo controle performaram comportamentos negativos por 12,1% do tempo.

Tabela 5 - Número de observações comportamentais pós enriquecimento.

| Categorias | Grupo Teste (n=15) | Grupo Controle (n=9) |
|-------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Inativo | 1293 | 581 |
| Neutro | 351 | 466 |
| Fisiológico | 166 | 156 |
| Manutenção | 375 | 386 |
| Positivo | 42 | 29 |
| Negativo | 107 | 223 |
| Total | 2334 | 1841 |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 21. Frequência comportamental pós enriquecimento.

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

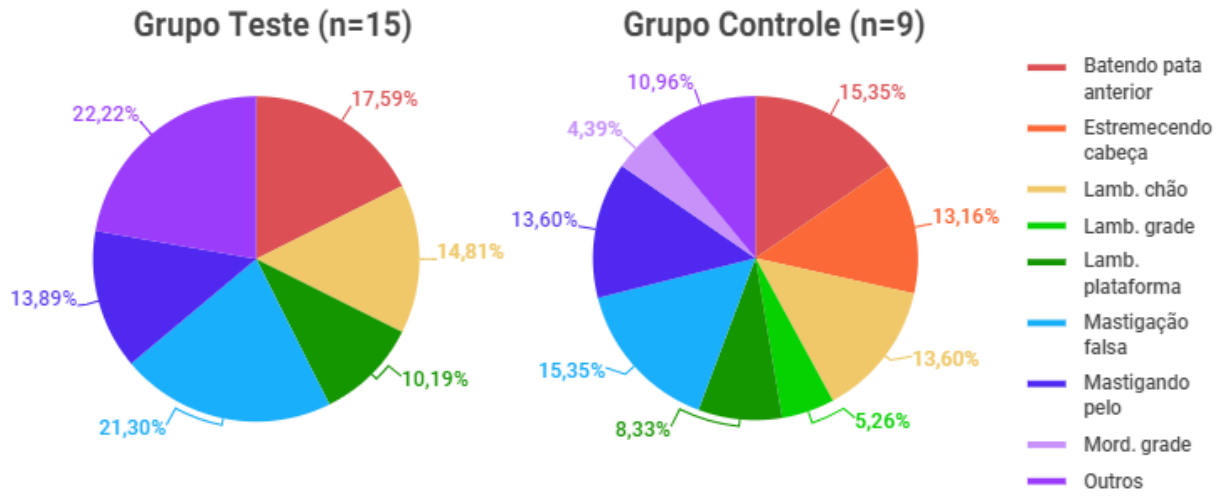
Assim como realizado para a etapa pré enriquecimento, os 37 comportamentos negativos também tiveram suas frequências calculadas, como descrito na Tabela 6. Os comportamentos “Arrancando pelo”, “Arranhando bebedouro”, “Batendo cabeça na grade”, “Cabeça apoiada na plataforma”, “Cavando comedouro”, “Grito”, “*Head bobbing*”, “*Head nodding*”, “*Head swaying*”, “Lambendo fezes”, “Lambendo ninho” e “Mordendo ninho” não foram observados durante a coleta para ambos os grupos. Assim como verificado nas categorias comportamentais, também notou-se maior diferença de frequência entre os comportamentos negativos do grupo teste e do grupo controle. Os comportamentos com maior expressão individual em porcentagem foram: “Batendo pata anterior”, “Lambendo chão”, “Lambendo plataforma”, “Mastigação falsa” e “Mastigando pelo” para o grupo teste; e “Batendo pata anterior”, “Estremecendo cabeça”, “Lambendo chão”, “Lambendo grade”, “Lambendo plataforma”, “Mastigação falsa”, “Mastigando pelo” e “Mordendo grade” para o grupo controle, como demonstrado na Figura 22. Ao agrupar comportamentos semelhantes (“Lambendo”, “Mordendo” e movimentos mastigatórios), percebeu-se que estes ainda representaram quase 70% de toda a categoria para o grupo teste, com maior expressão para os movimentos mastigatórios (35,2%); porém menos de 65% da categoria para o grupo controle. (Figura 23).

Tabela 6 - Número de observações de comportamentos negativos pós enriquecimento.

| Comportamentos | Grupo Teste (n=15) | Grupo Controle (n=9) |
|------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Arqueando as costas | 0 | 2 |
| Arranhando grade | 0 | 1 |
| Arranhando plataforma | 0 | 1 |
| Batendo pata anterior | 19 | 35 |
| Batendo pata posterior | 0 | 1 |
| Cavando | 3 | 4 |
| Coprofagia | 3 | 4 |
| Estremecendo cabeça | 8 | 30 |
| Lambendo chão | 16 | 31 |
| Lambendo comedouro | 3 | 2 |
| Lambendo grade | 4 | 12 |
| Lambendo plataforma | 11 | 19 |
| Lambendo teto | 0 | 5 |
| Lambendo urina | 1 | 2 |
| Mastigação falsa | 23 | 25 |
| Mastigando pelo | 14 | 31 |
| Mordendo bebedouro | 1 | 2 |
| Mordendo chão | 0 | 3 |
| Mordendo comedouro | 0 | 1 |
| Mordendo grade | 0 | 10 |
| Mordendo plataforma | 1 | 0 |
| Mordendo teto | 0 | 1 |
| <i>Pacing</i> | 0 | 4 |
| Puxando bebedouro | 0 | 1 |
| Rodando | 0 | 1 |
| Total | 108 | 228 |

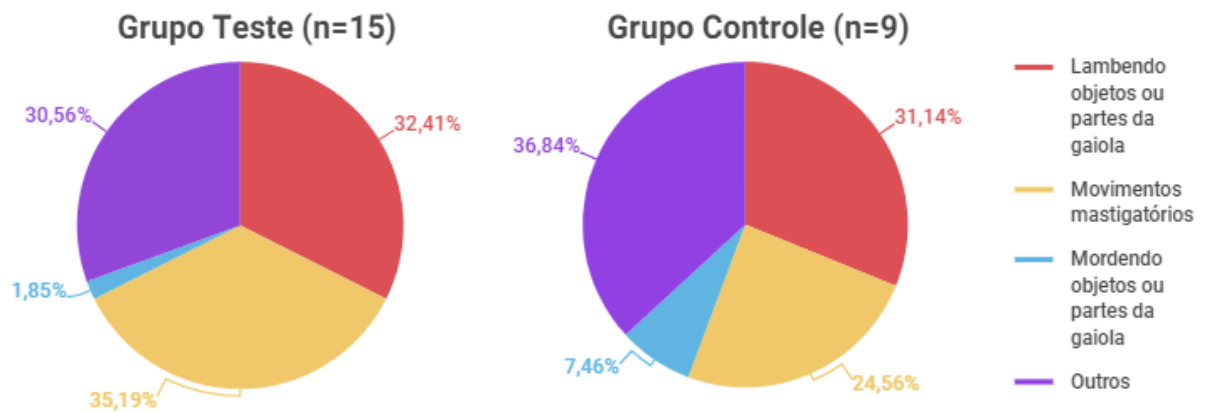
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 22. Frequência de comportamentos negativos com maiores expressões pós enriquecimento.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 23. Frequência de comportamentos negativos semelhantes agrupados pós enriquecimento.

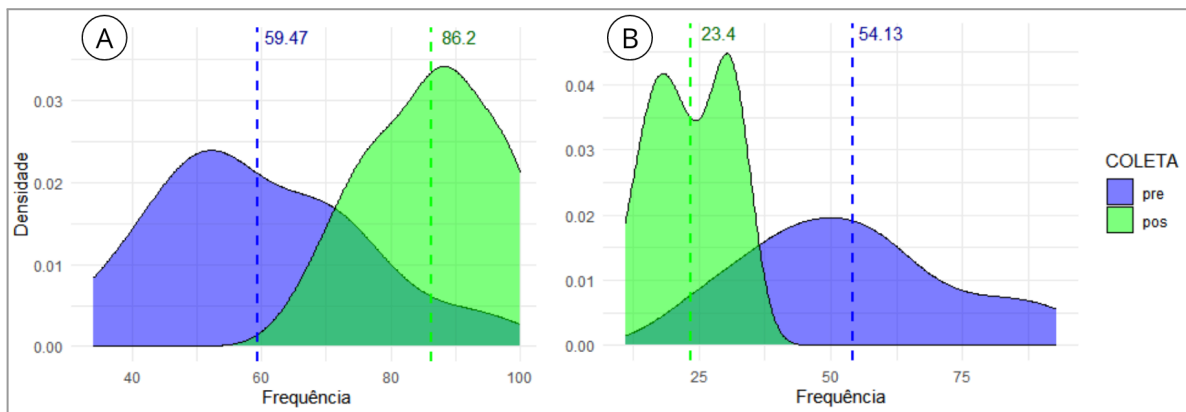


Fonte: Dados de pesquisa (2024).

5.5 Comparação pré e pós enriquecimento

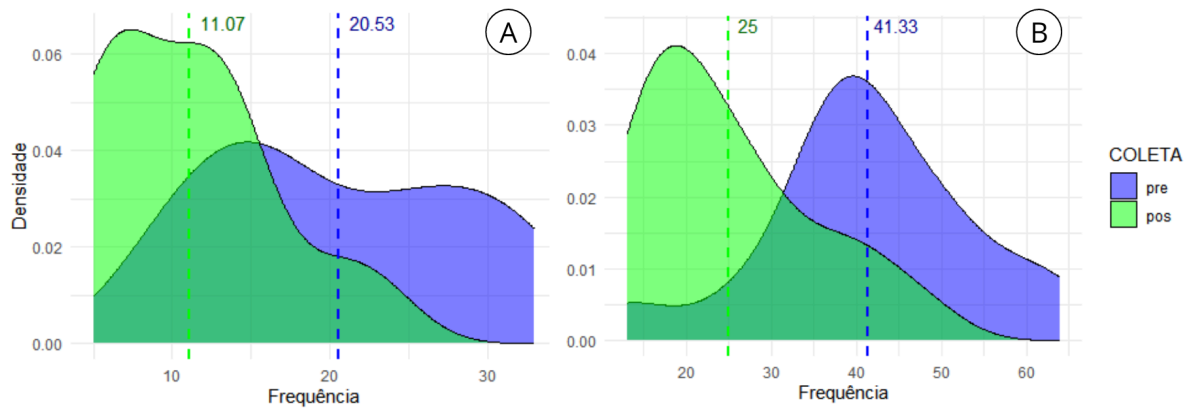
Para realizar a comparação estatística, utilizaram-se gráficos de densidade, os quais permitem a visualização de curvas suavizadas sobrepostas, as quais mostram a relação de quantas vezes os valores do eixo x foram encontrados nas amostragens (eixo y). A linha tracejada indica o valor médio para cada curva. Quando foi realizada a comparação estatística de frequências das categorias comportamentais antes e depois da aplicação do EA, percebeu-se que os indivíduos do grupo teste aumentaram significativamente a inatividade após o tratamento (Figura 24-A), ao passo que diminuíram a frequência de comportamentos neutros, fisiológicos, de manutenção e negativos (Figuras 24-B a 26). Os comportamentos positivos do grupo teste não tiveram variação significativa após o tratamento, assim como todas as categorias comportamentais para o grupo controle. As médias de observações das categorias e seus desvios-padrão (DP), tal qual os valores de significância e os valores estatísticos dos testes (t para Teste t de Student; V para teste de Wilcoxon) estão descritos na Tabela 7.

Figura 24. Distribuição de amostragens de comportamentos inativos e neutros para o grupo teste.
A: Inativos; B: Neutros.



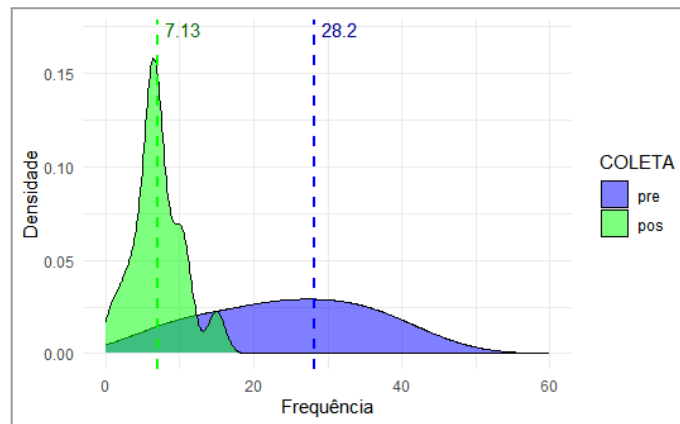
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 25. Distribuição de amostragens de comportamentos fisiológicos e de manutenção para o grupo teste. A: Fisiológicos; B: Manutenção.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 26. Distribuição de amostragens de comportamentos negativos para o grupo teste.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Tabela 7 - Comparação estatística de categorias comportamentais.

| Categorias | Parâmetros | Grupo Teste | | Grupo Controle | |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|-------|----------------|-------|
| | | Pré | Pós | Pré | Pós |
| Inativos | Frequência (%) | 28,76 | 55,40 | 33,33 | 31,56 |
| | Nº de observações (média) | 59,47 | 86,20 | 61,11 | 64,55 |
| | Desvio-padrão | 15,92 | 9,84 | 11,54 | 17,35 |
| | Valor-p | 2,135 x 10 ⁻⁷ | | 0,2855 | |
| | Valor do teste | t = -9,3494 | | t = -1,1444 | |
| Neutros | Frequência (%) | 26,18 | 15,04 | 25,39 | 25,31 |
| | Nº de observações (média) | 54,13 | 23,40 | 46,55 | 51,77 |
| | Desvio-padrão | 19,77 | 7,23 | 18,04 | 19,12 |
| | Valor-p | 7,39 x 10 ⁻⁶ | | 0,57 | |
| | Valor do teste | t = 6,8944 | | t = - 0,59227 | |
| Fisiológicos | Frequência (%) | 9,93 | 7,11 | 6,97 | 8,47 |
| | Nº de observações (média) | 20,53 | 11,06 | 12,77 | 17,33 |
| | Desvio-padrão | 8,08 | 5,46 | 6,78 | 3,28 |
| | Valor-p | 0,0006525 | | 0,1374 | |
| | Valor do teste | t = 4,3606 | | t = - 1,6509 | |
| Manutenção | Frequência (%) | 19,99 | 16,07 | 19,27 | 20,97 |
| | Nº de observações (média) | 41,30 | 25,00 | 35,33 | 42,88 |
| | Desvio-padrão | 12,59 | 10,17 | 6,42 | 13,99 |
| | Valor-p | 2,013 x 10 ⁻⁵ | | 0,1932 | |
| | Valor do teste | t = 6,2826 | | t = - 1,4208 | |
| Positivos | Frequência (%) | 1,51 | 1,80 | 1,58 | 1,58 |
| | Nº de observações (média) | 3,13 | 2,80 | 2,88 | 3,22 |
| | Desvio-padrão | 3,50 | 2,08 | 2,26 | 3,80 |
| | Valor-p | 0,8256 | | 0,7247 | |
| | Valor do teste | V = 56,5 | | V = 21 | |

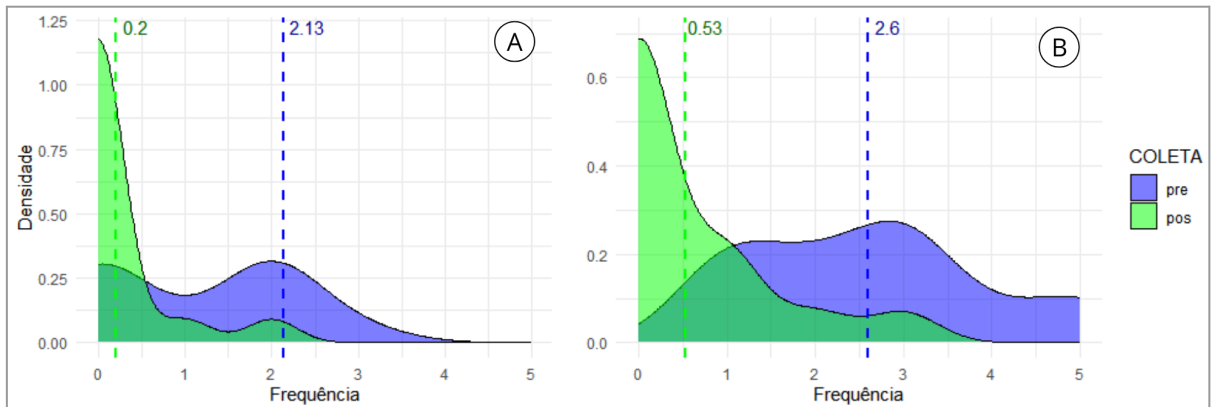
| | | | | | |
|------------------|---------------------------|-----------|------|----------|-------|
| | Frequência (%) | 13,64 | 4,58 | 13,45 | 12,11 |
| | Nº de observações (média) | 28,20 | 7,13 | 24,55 | 24,77 |
| Negativos | Desvio-padrão | 17,24 | 3,42 | 15,13 | 12,96 |
| | Valor-p | 0,0008898 | | 1 | |
| | Valor do teste | V = 119 | | V = 17,5 | |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Em relação aos comportamentos negativos, 16 tiveram suas frequências zeradas após a aplicação do enriquecimento para o grupo teste, ou seja, não foram observados depois do tratamento, sendo eles: “Arrancando pelo”, “Arranhando plataforma”, “Arqueando as costas”, “Batendo cabeça na grade”, “Cabeça apoiada na plataforma”, “Cavando comedouro”, “*Head bobbing*”, “Lambendo fezes”, “Lambendo teto”, “Mordendo chão”, “Mordendo comedouro”, “Mordendo grade”, “Mordendo teto”, “*Pacing*”, “Puxando bebedouro” e “Rodando”. Em relação ao grupo controle, apenas os comportamentos “Arrancando pelo”, “Cabeça apoiada na plataforma”, “Cavando comedouro”, “Lambendo fezes” e “Mordendo plataforma” tiveram suas observações zeradas quando comparadas as coletas pré e pós enriquecimento, mesmo sem ser submetido ao tratamento. Por outro lado, ainda no grupo controle, alguns comportamentos que não haviam sido observados na primeira etapa do experimento foram amostrados na última etapa, a exemplo de “*Pacing*”, “Arranhando grade” e “Batendo pata posterior”. Este caso não foi verificado para nenhum comportamento negativo do grupo teste, uma vez que todos tiveram redução no número total de observações ou se mantiveram iguais.

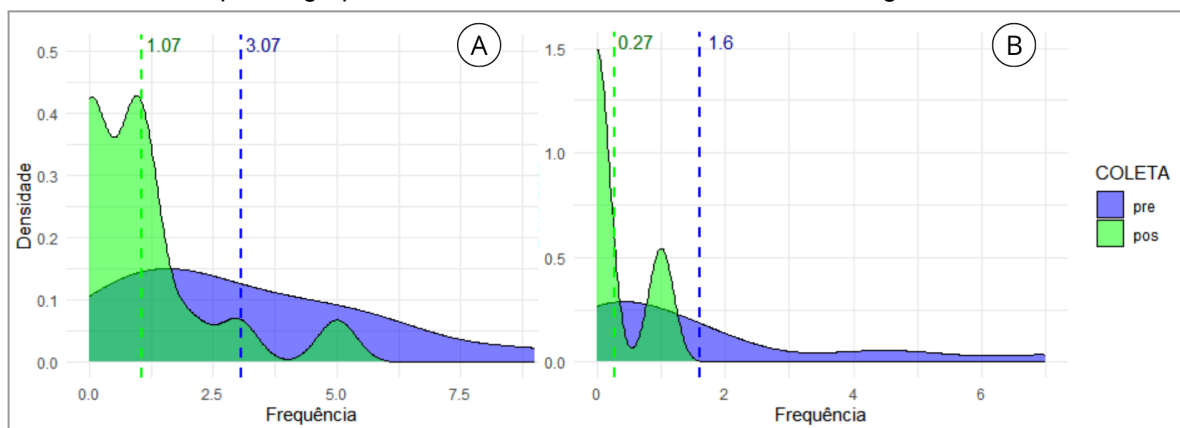
Tiveram diferenças estatisticamente significativas de coleta pré e pós enriquecimento os comportamentos: “Cavando”, “Estremecendo cabeça”, “Lambendo chão”, “Lambendo grade”, “Lambendo teto”, “Mastigando pelo”, “Mastigação falsa”, “Mordendo chão” e “Mordendo grade” para o grupo teste, e apenas “Mastigando pelo” para o grupo controle. Os gráficos de densidade de dados com linhas de média para estes comportamentos estão apresentados nas Figuras 27 a 31, enquanto o número total de observações, tal qual os valores de significância e os valores estatísticos dos testes estão descritos nas Tabelas 8 e 9.

Figura 27. Distribuição de amostragens dos comportamentos “Cavando” e “Estremecendo a cabeça” para o grupo teste. A: “Cavando”; B: “Estremecendo a cabeça”.



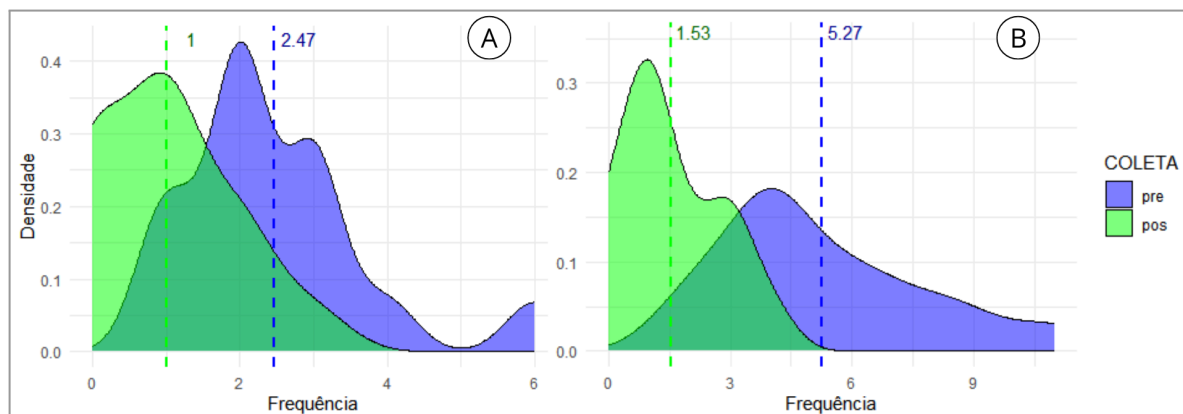
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 28. Distribuição de amostragens dos comportamentos “Lambendo chão” e “Lambendo grade” para o grupo teste. A: “Lambendo chão”; B: “Lambendo grade”.



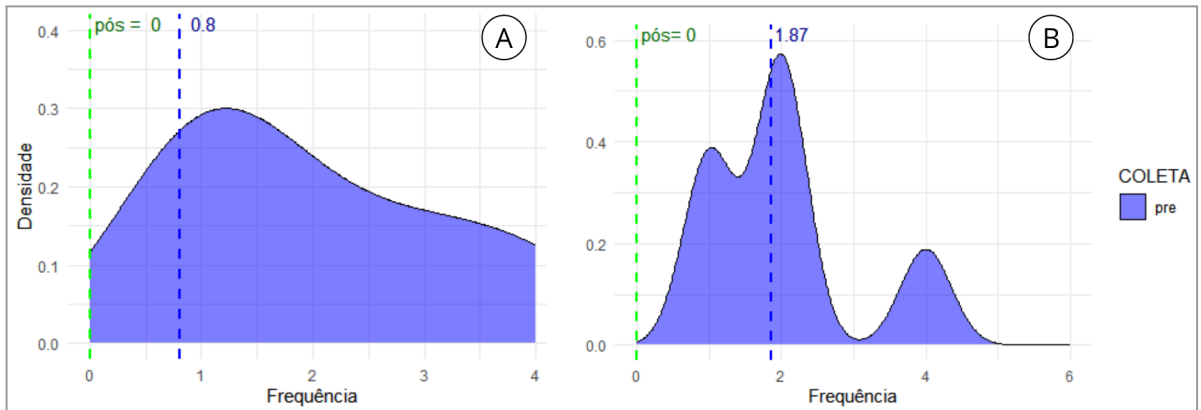
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 29. Distribuição de amostragens dos comportamentos “Mastigando pelo” e “Mastigação falsa” para o grupo teste. A: “Mastigando pelo”; B: “Mastigação falsa”.



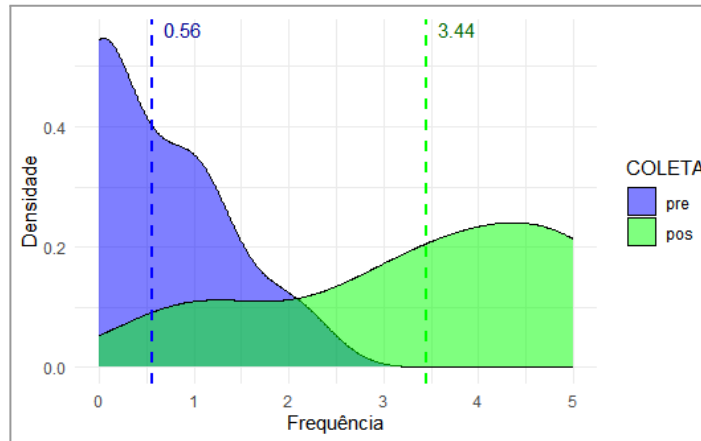
Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 30. Distribuição de amostragens dos comportamentos “Mordendo chão” e “Mordendo grade” para o grupo teste. A: “Mordendo chão”; B: “Mordendo grade”.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Figura 31. Distribuição de amostragens de “Mastigando pelo” para o grupo controle.



Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Tabela 8 - Comparação estatística de comportamentos negativos (grupo teste).

| Comportamento | Parâmetros | Pré | Pós |
|------------------------------|---------------------|------------|------------|
| Cavando | Observações (total) | 32 | 3 |
| | Frequência (%) | 6,58 | 2,78 |
| | Valor-p | 0,007764 | |
| | Valor do teste | V = 53,5 | |
| Estremecendo a cabeça | Observações (total) | 39 | 8 |
| | Frequência (%) | 9,26 | 7,41 |
| | Valor-p | 0,001423 | |
| | Valor do teste | V = 91 | |
| Lambendo chão | Observações (total) | 46 | 16 |
| | Frequência (%) | 10,96 | 14,81 |
| | Valor-p | 0,027 | |
| | Valor do teste | V = 88 | |
| Lambendo grade | Observações (total) | 24 | 4 |
| | Frequência (%) | 5,70 | 3,70 |
| | Valor-p | 0,02194 | |
| | Valor do teste | V = 42 | |
| Mastigando pelo | Observações (total) | 37 | 14 |
| | Frequência (%) | 8,79 | 12,96 |
| | Valor-p | 0,007116 | |
| | Valor do teste | V = 63,5 | |
| Mastigação falsa | Observações (total) | 79 | 23 |
| | Frequência (%) | 18,76 | 21,30 |
| | Valor-p | 0,0001644 | |
| | Valor do teste | t = 5,0909 | |
| Mordendo chão | Observações (total) | 12 | 0 |
| | Frequência (%) | 2,85 | 0 |
| | Valor-p | 0,03401 | |
| | Valor do teste | V = 21 | |

| | | | |
|-----------------------|---------------------|--------|---|
| Mordendo grade | Observações (total) | 28 | 0 |
| | Frequência (%) | 6,65 | 0 |
| | Valor-p | 0,0213 | |
| | Valor do teste | V = 28 | |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

Tabela 9 - Comparação estatística de comportamentos negativos (grupo controle).

| Comportamento | Parâmetros | Pré | Pós |
|------------------------|---------------------|------------|------------|
| Mastigando pelo | Observações (total) | 5 | 31 |
| | Frequência (%) | 2,25 | 13,59 |
| | Valor-p | 0,01298 | |
| | Valor do teste | V = 0 | |

Fonte: Dados de pesquisa (2024).

6 DISCUSSÃO

6.1 Etograma

6.1.1 Comportamentos semelhantes encontrados na literatura

Comparando os comportamentos do grupo dos Inativos com a literatura, tem-se que "Dormindo" foi descrito por Gunn e Morton (1995) e Hawkins *et al* (2008) como "*Sleep*", enquanto "Cochilando" foi descrito como "*Doze*" pelos mesmos autores. "Parado (alerta)" foi identificado como "*Alert (eyes open)*" por Lidfors (1997) e como "*Lie Alert*" por Gunn e Morton (1995). Outros autores cunharam termos mais gerais para abranger os três comportamentos simultaneamente, a exemplo de "*Resting*" (Podberscek *et al*, 1991; Trocino *et al*, 2014) ou "*Lying*" (Morton *et al*, 1993; Hansen e Berthelsen, 2000).

Em relação aos comportamentos Neutros, verifica-se que "Caminhando" é descrito como "*Moving around*" por Lidfors (1997) e Trocino *et al* (2014), enquanto o mesmo é listado como "*Hopping*" por Podberscek *et al* (1991), e Hawkins *et al* (2008), dada à concepção de que os coelhos se locomovem dando pequenos saltos (*hop*, do inglês, salto). Ainda de acordo com estes autores, a locomoção por salto se diferencia do pulo propriamente dito, descrito por eles como "*Jumping*", e identificado neste trabalho como "Saltando". O comportamento "Levantando" é listado por quase todos os autores como "*Rearing*" ou "*Rearing up on hind legs*", enquanto "Sentando" é descrito como "*Sitting*" ou "*Sit up*" (Podberscek *et al*, 1991; Morton *et al*, 1995; Hawkins *et al*, 2008; DiVincenti e Rehrig, 2016). Alguns autores generalizam a locomoção do animal como um todo, utilizando o termo "*Ambulate*" (Gunn e Morton, 1995; Hansen e Berthelsen, 2000), o qual corresponderia aos comportamentos "Caminhando", "Descendo", "Subindo" e "Andando para trás" deste trabalho.

Os comportamentos relativos ao ato de farejar o ambiente circundante são todos resumidos apenas como "*Sniffing*" (Gunn e Morton, 1995; Trocino *et al*, 2014) ou "*Olfactory investigation*" (Morton *et al*, 1993; Hawkins *et al*, 2008). Lidfors (1997) é a única autora que os divide de acordo com o objeto de interação, a exemplo de "*Sniffing floor*" e "*Sniffing bars*", correspondentes a "Farejando chão" e

“Farejando grade” neste trabalho. Optou-se, neste trabalho, por descrever os comportamentos o mais detalhadamente possível, sem agrupá-los apenas em “Farejando”, para que a análise comportamental pudesse ser mais completa.

Em relação aos comportamentos classificados como Fisiológicos, “Comendo” e “Bebendo” são descritos por diversos autores como “*Feeding*” e “*Drinking*”, respectivamente (Podberscek *et al*, 1991; Lidfors, 1997; Trocino *et al*, 2014). “Urinando” e “Defecando” foram descritos, nesta ordem, como “*Urination*” e “*Defecation*” (Hansen e Berthelsen, 2000; Hawkins *et al*, 2008). O comportamento “Esfregando o rosto no chão/grade” foi entendido como uma forma natural de demarcação de território expressada pelos coelhos, descrita como “*Rubbing object*” (Podberscek *et al*, 1991), “*Sliding nose against bars/floor*” (Lidfors, 1997), ou “*Chin-marking*” (Morton *et al*, 1993; DiVincenti e Rehrig, 2016), devido à existência de uma glândula de cheiro localizada no queixo desses animais (*chin*, do inglês, queixo).

Para os comportamentos do grupo dos Positivos, foram encontradas poucas correlações com a literatura. Lidfors (1997) é a única autora que descreve interações com enriquecimento ambiental, como “*Biting EE*”, “*Licking EE*” e “*Sniffing EE*” (*EE*, do inglês, *Environmental Enrichment*), apresentados neste trabalho como “Mordendo EA”, “Lambendo EA” e “Farejando EA”, respectivamente. Podberscek *et al* (1991) e Gunn e Morton (1995) descrevem apenas comportamentos generalizados para interações com qualquer tipo de objeto, sendo ele um enriquecimento ambiental ou não, a exemplo de “*Biting*”, “*Gnawing*” ou “*Licking*”.

Nenhum comportamento de Manutenção foi descrito em bibliografia separadamente, tal qual feito neste trabalho, caracterizando cada um pela parte do corpo que o animal está cuidando. A maioria dos autores apenas descreve esses tipos de comportamento como “*Grooming*” (Morton *et al* 1993; Hansen e Berthelsen, 2000; Hawkins *et al*, 2008) ou “*Washing*” (Gunn e Morton, 1995). Alguns ainda separam o ato de cuidar do próprio corpo do ato de cuidar do corpo de outro indivíduo, com “*Self grooming*” e “*Allogrooming*”, respectivamente (Trocino *et al*, 2014; DiVincenti e Rehrig, 2016). Neste trabalho optou-se por detalhar o máximo possível os comportamentos de manutenção, pois estes podem servir como base para entender padrões comportamentais repetitivos, os quais podem indicar condições de estresse.

Por último, em relação aos comportamentos classificados como Negativos, “Cavando” foi o mais descrito na literatura, sob a forma de “*Digging*” (Podberscek *et al*, 1991; Morton *et al*, 1993; Lidfors, 1997; Hawkins *et al*, 2008; DiVincenti e Rehrig, 2016), assim como “Batendo pata posterior/anterior no chão”, encontrado como “*Thumping*” (Morton *et al*, 1993; Hansen e Berthelsen, 2000; Hawkins *et al*, 2008). O ato de arranhar partes da gaiola, como “Arranhando plataforma/grade”, foi separado de arranhar o chão (“Cavando”), assim como também feito por Podberscek *et al* (1991), Morton *et al* (1993) e Hawkins *et al* (2008), que descrevem tais comportamentos como “*Paw scraping*” ou “*Clawing at cage walls or corners*”. “*Pacing*” e “Mastigação falsa” foram descritos apenas por Lidfors (1997). Os comportamentos de movimento de cabeça, neste trabalho separados em “*Head bobbing*”, “*swaying*” e “*nodding*”, foram descritos apenas genericamente como “*Head swinging*” (Lidfors, 1997) ou “*Head swaying*” (Morton *et al*, 1993). Hawkins *et al* (2008) foi a única autora a descrever “Grito” como “*Vocalization*” e “Arqueando as costas (lordose)” como “*Lordosis*”. “Puxando bebedouro” e “Arrancando pelo” foram descritos apenas por Morton *et al* (1993) como “*Pulling out stoppers*” e “*Fur-pulling*”, nesta ordem.

Por fim, a maioria dos comportamentos negativos descritos neste trabalho separadamente de acordo com o objeto de interação foram retratados em literatura de maneira genérica apenas como “*Gnawing*” (Hansen e Berthelsen, 2000; Hawkins *et al*, 2008), “*Biting*” (Morton *et al*, 1993), “*Chewing*” (Gunn e Morton, 1995; DiVincenti, 2016) ou “*Licking objects*” (Podberscek *et al*, 1991; Lidfors, 1997). Algumas exceções mais específicas são descritas como “*Biting cage bars or food hoppers*” (Podberscek *et al*, 1991), correspondente a “Mordendo grade” e “Mordendo comedouro”; “*Licking food hoppers*” e “*Biting water nipples*” (Morton *et al*, 1993), relativos a “Lambendo comedouro” e “Mordendo bebedouro”; e “*Bar licking*” (Lidfors, 1997), correspondente a “Lambendo grade”.

6.1.2 Comportamentos diferentes encontrados em literatura

Treze comportamentos descritos no presente trabalho não tiveram nenhuma correspondência encontrada na literatura, sendo eles: “Escutando”,

“Deitando”, “Apoiando-se na plataforma/grade/comedouro/ninho”, “Removendo plataforma/comedouro”, “Jogando EA/feno para cima”, “Batendo cabeça na grade”, “Cabeça apoiada na plataforma (sentado no chão)” e “Lambendo fezes”. Este fato pode ter ocorrido por dois motivos: ou 1) os autores aqui referenciados não observaram tais comportamentos, seja pelo momento de coleta ou pelas condições do ambiente de seus respectivos estudos que não permitiam aos animais performarem tais ações; ou 2) os autores não consideraram relevantes para seus etogramas estes comportamentos aqui verificados.

Por outro lado, diversos comportamentos descritos em bibliografia não foram observados durante o período de coleta, muito dos quais são retratados por diferentes autores simultaneamente. “*Running*”, do inglês, correndo, foi descrito por Morton *et al* (1993), Hansen e Berthelsen (2000) e Trocino *et al* (2014), porém não foi constatado neste trabalho devido à falta de espaço para performar tal comportamento pelos coelhos do SCRL, os quais vivem em gaiolas. Possivelmente pelo mesmo motivo, o comportamento “*Rolling*” (Morton *et al*, 1993; Gunn e Morton, 1995), do inglês, rolando, também não foi observado. “*Air-boxing*”, definido por Morton *et al* (1993) como o movimento rápido de membros anteriores no ar enquanto o coelho se apoia nos membros posteriores, também não foi observado durante a coleta, assim como “*Frisky Hop*” (Hawkins *et al*, 2008) e “*Play Gamboling*” (Morton *et al*, 1993), os quais são descritos como comportamentos indicativos de satisfação.

A maioria dos comportamentos encontrados na literatura que não compõem este trabalho são aqueles que descrevem a interação entre dois ou mais coelhos, o que não é possível de ser observado na sala de produção do SCRL, tendo em vista que os indivíduos adultos são alocados individualmente em gaiolas. Exemplos desses comportamentos interativos são: “*Chasing*” (perseguindo), “*Copulation*” (cópula), “*Mounting*” (montando, como forma de expressar dominância), “*Submitting*” (submissão, como forma de aceitar a dominância de outro indivíduo), e “*Fighting*” (lutando), identificados por Podberscek *et al* (1991), Morton *et al* (1993) e DiVincenti e Rehrig (2016). Hawkins *et al* (2008) descrevem, ainda, dois comportamentos específicos de movimentação de cauda, sendo: “*Tail-flag*”, quando a cauda do animal está totalmente ereta, geralmente durante uma interação agressiva ou de corte com outro animal; e “*Tail-wagging*”, quando uma fêmea balança a cauda lateralmente durante a aproximação de um macho.

6.1.3 Quantidade de comportamentos encontrados X quantidade em literatura

Ainda que diversos comportamentos encontrados em literatura não tenham correspondentes no presente trabalho, o fato de descrever separadamente as interações com os objetos ou com as partes do corpo do animal fez com que o etograma aqui construído tivesse um total de 93 comportamentos, número esse que excede todas as outras bibliografias, que contribuem com: 44 (Morton *et al*, 1993), 40 (Hawkins *et al*, 2008), 31 (Lidfors, 1997), 29 (Podberscek *et al*, 1991), 23 (Gunn e Morton, 1995), 18 (DiVincenti e Rehrig, 2016), 17 (Hansen e Berthelsen, 2000) e 14 (Trocino *et al*, 2014).

6.2 Frequência de comportamentos pré enriquecimento

6.2.1 Frequência de inatividade

Antes da aplicação do EA utilizado como tratamento neste trabalho, registrou-se que os indivíduos do grupo teste passaram 28,8% do seu tempo na gaiola inativos, sem qualquer tipo de movimento; enquanto os indivíduos do grupo controle mantiveram-se inativos por 33,3% do tempo de coleta (Figura 12). Pode-se dizer, então, que a frequência média de inatividade dos coelhos nas gaiolas antes do tratamento foi de 31,1% (DP=2,29). Quando buscam-se outras bibliografias que realizaram observações comportamentais em coelhos, Gunn e Morton (1995) afirmaram que os comportamentos mais comuns observados em coelhos criados individualmente em gaiolas foram o de cochilar e de manter-se parado e alerta, e que estes animais passaram 55,7% do período de observação inativos. Trocino *et al* (2014), por sua vez, coletou 77,7% de frequência de inatividade em seus coelhos, número próximo aos achados de Lidfors e Edström (2010), que observaram coelhos mantendo-se inativos por cerca de 70% do tempo. Krohn *et al* (1998) observou que

os coelhos passaram de 60 a 80% de seu tempo sentados ou deitados, prestando muita ou pouca atenção ao ambiente circundante. Por outro lado, outros autores coletaram frequências ligeiramente menores de inatividade, a exemplo de Chu *et al* (2004), com 53%, e Podberseck *et al* (1991), com 44,5%. Todos os trabalhos acima citados observaram coelhos Brancos da Nova Zelândia criados individualmente em gaiolas nos períodos de claro (manhã/tarde), tal qual o presente estudo. A fim de comparação, a média de inatividade dos coelhos criados nestas condições encontrada em literatura foi de 61,7% (DP=10,7), número superior ao encontrado neste trabalho.

Essa alta frequência de inatividade no período de claro para coelhos se dá pela característica biológica da própria espécie, uma vez que trata-se de um animal de hábitos essencialmente noturnos e que normalmente descansa ao longo do dia, mostrando-se mais ativo durante à noite (Brewer, 2006; Lidfors e Edström, 2010). Até mesmo o coelho selvagem passa boa parte do dia inativo, cerca de 61% do tempo, no qual encontra-se em tocas ou galerias subterrâneas (Hansen e Berthelsen, 2000). Dessa forma, certos comportamentos de atividade podem não ter sido observados neste ou nos trabalhos citados, uma vez que as observações foram realizadas apenas de dia.

Nota-se, então, que, por mais que a categoria de comportamentos inativos tenha obtido a maior parcela de frequência de coleta neste trabalho (Figura 12), esta é significativamente inferior àquela observada em literatura, que representa quase o seu dobro. Uma das hipóteses para esta discrepância é a própria rotina de manejo do biotério, a qual pode estar afetando o ciclo circadiano natural da espécie. No SCRL, todo o trabalho de manejo de animais, trocas de água ou comida e limpeza de gaiolas ou salas é realizado pela manhã e/ou pela tarde, não havendo nenhuma intervenção durante a noite. Dessa forma, os animais acabam se mantendo alertas durante todo o período de movimentação dos técnicos dentro do biotério, tendo em vista que são animais naturalmente assustados e com instinto de presa (Brewer, 2006). Lidfors e Edström (2010) afirmaram que barulho, excesso de movimentos externos e alimentação programada podem alterar drasticamente o ciclo normal de dia e noite de coelhos criados em laboratório ou biotério.

Outra hipótese para a diferença na frequência de inatividade encontrada neste trabalho para a literatura é o excesso de energia. Como não conseguem descansar ao longo do dia por causa da movimentação no biotério, acabam

invertendo o dia pela noite, o que ocasiona em um excesso de energia acumulada pela manhã e pela tarde. Na natureza, os coelhos gastam um terço de seu tempo de atividade apenas explorando o ambiente e forrageando por comida, e outro terço é gasto com locomoção intensa e comportamentos de acasalamento (Lidfors e Edström, 2010). Dentro de gaiolas, entretanto, esses animais não são capazes de realizar tais comportamentos, o que acaba levando-os à frustração e tédio, consequências que, segundo Broom (2010), são induzidas pelo detrimento do bem-estar psicológico causado pelo ambiente monótono das gaiolas. Podberseck *et al* (1991) afirma que coelhos criados em gaiolas expressam diversos comportamentos distintos em curtos períodos de tempo, e que essa troca rápida de uma ação para outra é muito mais frequente em comparação a coelhos de vida livre, o que também pode indicar um excesso de energia acumulada.

6.2.2 Frequência de comportamentos negativos

Na etapa pré EA deste trabalho, registrou-se que os indivíduos do grupo teste passaram 13,6% do seu tempo na gaiola realizando comportamentos classificados como negativos; enquanto os indivíduos do grupo controle expressaram tais comportamentos por 13,4% do tempo de coleta (Figura 12). Pode-se dizer, então, que a frequência média de comportamentos negativos dos coelhos nas gaiolas antes do tratamento foi de 13,5% (DP=0,09). Quando buscam-se outras medições de atividades anormais/negativas ou de comportamentos estereotipados de coelhos em bibliografia, encontram-se frequências relativamente variadas, a exemplo de 11% (Gunn e Morton, 1995), 6,3% (Podberseck *et al*, 1991), 3,5% (Krohn *et al*, 1998) e 1% (Chu *et al*, 2004). Essas medições fornecem uma média de 5,5% (DP=3,7) de tempo gasto por coelhos expressando comportamentos negativos quando criados individualmente em gaiolas. Mesmo não sendo muito próximos, esses valores de frequência têm como ponto comum o fato de todos serem inferiores aos encontrados neste trabalho, tanto para o grupo teste quanto para o grupo controle. Dessa forma, pode-se inferir que os coelhos do SCRL encontram-se potencialmente estressados e/ou com seus estados de bem-estar diminuídos.

Uma das hipóteses levantadas para explicar essa alta frequência de comportamentos negativos é a condição de criação dos animais dentro do biotério, a qual possivelmente está inadequada para as características da espécie. O tamanho das gaiolas pode ser um dos fatores que favorece essa inadequação, tendo em vista que os coelhos são animais muito ativos e precisam de espaço adequado para uma boa movimentação, de forma que seus músculos e ossos não enfraqueçam (Lidfors, 1997). Além disso, ao restringir diversas ações locomotoras e outros comportamentos naturais da espécie, como o de pôr-se em pé nas patas traseiras, o tamanho pequeno das gaiolas de biotério pode levar ao desenvolvimento de osteoporose femoral e deformação de coluna vertebral (Gunn e Morton, 1995). A sensação de confinamento também contribui para uma alta frequência de disfunções intestinais e alterações comportamentais induzidas por estresse, uma vez que este pode ser entendido como a junção de todos os fenômenos biológicos causados por influência externa adversa (Jenkins, 2001).

Outro fator que contribui para a inadequação das condições de criação é o alojamento individual dos coelhos adultos de produção. Na natureza, os coelhos são animais gregários, acostumados a viver em grupos territoriais pequenos e estáveis, que consistem de um a quatro machos e uma a nove fêmeas (Cowan e Bell, 1986). Ademais, os coelhos selvagens mantêm a organização social e territorial de seus grupos ao passar boa parte de seu tempo ativo engajados em ações de disputa, demonstrações de dominância e submissão, e comportamentos de corte (Lidfors e Edström, 2010). Dessa forma, fica evidente que a criação individual de coelhos em gaiolas impede o contato entre indivíduos, restringindo a expressão de comportamentos naturais sociais da espécie, como a manutenção do pelo de outro coelho (Gunn e Morton, 1995). Em um estudo realizado em biotério comparando comportamentos de coelhos criados em grupos e coelhos criados individualmente, DiVincenti e Rehrig (2016) constataram que ações de vínculo (manutenção de pelo, corte, etc) compuseram cerca de 20% do tempo gasto pelos coelhos criados em grupos, enquanto aqueles criados individualmente não foram capazes de expressar comportamentos sociais, o que aumentou a porcentagem de estereotípias. Ainda segundo os autores, a criação individual de coelhos em gaiolas restringe o repertório comportamental desses indivíduos, tanto pelas limitações de tamanho da gaiola quanto pela falta de outro indivíduo.

A segunda hipótese que explicaria a alta frequência de comportamentos negativos encontrada neste trabalho é o tédio e a monotonia aos quais estes coelhos são submetidos. O principal fator que leva um animal ao tédio é a falta de estímulos, seja por meio de uma interação social, da utilização de sentidos e até mesmo de um ambiente desafiador e bem elaborado (Buijs *et al*, 2011). A natureza pobre e simples das gaiolas de metal interfere no desenvolvimento comportamental e cerebral de animais de laboratório, impondo restrições potencialmente estressantes e oferecendo poucas oportunidades de estímulo (Olsson *et al*, 2003). Dessa forma, estudos mostram que a recorrência de comportamentos estereotipados está diretamente ligada à frustração desses animais que, em vida livre, passariam boa parte do tempo forrageando por comida ou em busca de abrigo (Lidfors, 1997), o que é impossibilitado neste tipo de criação. Essa frustração leva os animais ao tédio devido a um ambiente monótono e sem graça, fazendo com que desenvolvam vícios e comportamentos estereotipados (Gunn e Morton, 1995), como morder as laterais da gaiola, arranhar o chão e as grades, arrancar o próprio pelo e realizar movimentos repetitivos de cabeça, neste trabalho identificados como ações negativas. Dessa forma, Buijs *et al* (2011) afirmam que a criação de coelhos em gaiolas pobres é fortemente reconhecida como causa de redução no estado de bem-estar desses animais devido à falta de espaço, estímulos e interações sociais. Para Sohn e Couto (2012), coelhos criados individualmente devem ter, pelo menos, contato visual com outros indivíduos, além de enriquecimento extra em suas gaiolas.

Outro fator que pode contribuir para a manutenção do tédio e monotonia é a ineficiência e/ou insuficiência dos EA já aplicados na rotina do SCRL, sendo eles: feno *coastcross*, hortaliças e rolinhos de papel, todos uma vez por semana. Por mais que o EA do tipo alimentar seja importante para quebrar a monotonia de terem que se alimentar diariamente com ração extrusada (Lidfors, 1997), o feno e a hortaliça não são capazes de resolver as necessidades físicas dos coelhos dentro das gaiolas. Além disso, possivelmente os rolinhos de papel já são vistos como algo rotineiro para os animais, uma vez que são introduzidos sempre no mesmo dia da semana, e os mesmos não oferecem uma variedade grande de estímulos.

Sohn e Couto (2012) identificaram que os comportamentos estereotipados mais comuns para coelhos em gaiolas são: lambar, morder e arranhar partes da gaiola, arrancar e mastigar o próprio pelo, e movimentos repetitivos de cabeça. Em seus estudos, Lidfors (1997) calculou que a estereotipia

de maior frequência dentre os comportamentos negativos era de mastigação falsa (30%), seguido de morder (11%) e lamber (2%) objetos ou partes da gaiola, e cavar (1%). Gunn e Morton (1995), no entanto, encontraram que o comportamento negativo de maior frequência foi o de mastigar o próprio pelo (28%), seguido de morder (23%) e lamber (7%) objetos ou partes da gaiola, *Head swaying* (2,5%) e cavar (1%). Neste trabalho, como mostrado na Figura 14, os comportamentos negativos de maior expressão foram os de lamber objetos ou partes da gaiola (média = 26,3%; DP=1,2), seguido de movimentos mastigatórios (média = 24,5%; DP=2,9) e morder objetos ou partes da gaiola (média = 17,6%; DP=2,5), o que de certa forma é condizente com os achados em literatura. A maior discrepância está no comportamento de cavar o chão da gaiola, neste trabalho com uma média de 9,2% (DP=1,3) de frequência (Figura 13), muito superior ao 1% encontrado pelos outros autores. Segundo Gunn e Morton (1995), o ato de lamber repetidamente objetos ou partes da gaiola, assim como a realização de movimentos mastigatórios sem propósito, são causados pelo tédio, privação social e pela impossibilidade de fazer a manutenção do pelo de outros indivíduos, comportamento natural da espécie. Além disso, também segundo os autores, a alta recorrência de ações de cavar no chão da gaiola é devido ao hábito de cavar túneis e construir tocas na natureza, locais utilizados pelos coelhos para descanso.

6.2.3 Frequência de outras categorias comportamentais

Ainda antes da aplicação do EA como tratamento, os coelhos passaram uma média de 25,8% (DP=0,39) do tempo expressando comportamentos neutros (Figura 12). Em bibliografia, encontraram-se frequências bastante variáveis, como 23,2% (Podberseck *et al*, 1991), 15% (Hansen e Berthelsen, 2000), 12,2% (Lidfors, 1997) e 5,8% (Chu *et al*, 2004). Esses valores, por mais que ligeiramente discrepantes, fornecem uma média de 14,1% (DP=6,3) de comportamentos neutros. Assim como para os comportamentos negativos acima comentados, a categoria dos neutros também apresentou uma frequência bem superior àquela encontrada em bibliografia. Este fato possivelmente deve-se à baixa frequência de comportamentos

de inatividade encontrados neste trabalho, o que fez com que os animais passassem mais tempo expressando outros comportamentos, como neutros ou negativos.

Em relação aos comportamentos fisiológicos da espécie, neste trabalho foi encontrada uma média de 8,4% (DP=1,5), como demonstrado na Figura 12. Este valor é próximo ao verificado em literatura, representado por uma média de 9,9% (DP=1,2) por Krohn *et al* (1998), com 8,7%, Hansen e Berthelsen (2000), com 9,5%, e Lidfors (1997), com 11,6%.

O mesmo foi verificado para os comportamentos de manutenção, neste trabalho com uma média de 19,6% (DP=0,4), e em bibliografia com uma média de 23,3% (DP=3,8) por Chu *et al* (2004), com 28%, Hansen e Berthelsen (2000), com 20%, e Podberseck *et al* (1991), com 22%. Neste trabalho não foi possível verificar a frequência de *overgrooming*, o qual seria a manutenção do pelo realizada de forma repetitiva e por longos períodos de tempo (Hansen e Berthelsen, 2000), uma vez que as coletas foram feitas em intervalos de apenas 60 segundos. Segundo Lidfors (1997) e Podberseck *et al* (1991), o *overgrooming* representa cerca de 50% de todos os comportamentos estereotipados expressados por coelhos criados em gaiolas.

6.3 Comparação de frequência comportamental pré e pós enriquecimento

6.3.1 Frequência de inatividade

Como demonstrado na Figura 21, a frequência de inatividade dos coelhos após a aplicação do EA obteve grande variação entre os grupos, tendo o grupo teste atingido 55,4% de tempo inativo, e o grupo controle, 33,1%. Dessa forma, ao comparar os resultados da categoria dos inativos para o grupo teste antes e após o tratamento, como ilustrado na Figura 24-A, percebeu-se que os indivíduos obtiveram um aumento estatisticamente significativo de frequência ($p < 0,001$), de menos de 30% pré EA para mais de 50% pós EA (Tabela 7). A possível explicação para esse aumento é o fato de que, ao serem introduzidos a um EA sob a forma de cercados de chão amplos e com diversos objetos que estimulam a curiosidade, os indivíduos foram capazes de gastar uma parte da energia acumulada excedente causada pelo

pequeno espaço da gaiola e pela frustração e tédio de um ambiente monótono, como comentado na seção 6.2.1. Com isso, faz-se notório que a aplicação de cercados de chão como EA para coelhos criados em biotério foi eficaz para aumentar a frequência de inatividade desses indivíduos nos períodos de claro, o que é condizente com a literatura e a biologia natural da espécie, majoritariamente de hábitos noturnos. A outra hipótese levantada na seção 6.2.1 para os baixos níveis de inatividade, relacionada à rotina de manejo do biotério, não sofreu alterações, o que pode explicar, em partes, o porquê do valor encontrado pós EA (55,4%) ainda ser ligeiramente menor do que a média de literatura (61,1%).

6.3.2 Frequência de comportamentos negativos

A frequência de comportamentos negativos expressados pelos coelhos após a aplicação do EA (Figura 21) também obteve grande variação entre os grupos, com o grupo teste passando 4,6% do tempo performando estereotipias, e o grupo controle, 12,1%. Comparando os resultados da categoria dos negativos para o grupo teste antes e após o tratamento, como ilustrado na Figura 26, constatou-se que os indivíduos alcançaram uma diminuição estatisticamente significativa de frequência ($p < 0,001$), de mais de 13% pré EA para menos de 5% pós EA (Tabela 7). A principal explicação para essa decréscimo de comportamentos negativos do grupo teste é a diminuição dos níveis de tédio e frustração aos quais esses animais estavam submetidos: primeiramente, ao apresentar os coelhos a um ambiente novo, com objetos inéditos, novas texturas de forração e oportunidades de exploração, os animais têm todos os seus sentidos estimulados, principalmente olfato, visão e tato. Além disso, a implementação de um EA do tipo físico e sensorial, como os cercados de chão, satisfaz de melhor forma as necessidades dos coelhos criados em gaiolas de espaço insuficiente quando comparados com os aplicados na rotina do SCRL, uma vez que permite o exercício desses animais e o gasto de energia, diminuindo a expressão de estereotipias. Assim sendo, tais constatações demonstram que os cercados de chão, além de contribuir para o aumento de inatividade dos coelhos ao longo do dia, também são eficazes para a diminuição da frequência de comportamentos negativos indicativos de estresse, comprovando que o EA aplicado

como tratamento neste trabalho ajuda na promoção de bem-estar positivo para esses animais. A outra hipótese levantada na seção 6.2.2 para os elevados níveis de comportamentos negativos, relacionada à falta de interações sociais, não sofreu alterações, o que mostra que talvez essa frequência encontrada de 4,6% pós EA possa ser ainda menor se houver alguma intervenção neste sentido.

Em relação aos comportamentos negativos avaliados separadamente, todos para o grupo teste tiveram seu número de observações diminuído (Tabela 6), o que é condizente com o decréscimo total de frequência da categoria, de 423 coletas totais para 108. Ressalta-se também que alguns comportamentos, como “Arrancando pelo”, “Mordendo chão” e “Pacing”, não foram mais observados após o tratamento, o que demonstra uma melhora significativa no estado de bem-estar desses animais. No que se refere à frequência em porcentagem destes comportamentos, nem todos tiveram um decréscimo estatisticamente significativo. Além disso, como mostrado na Tabela 8, “Lambendo chão”, “Mastigando pelo” e “Mastigação falsa” tiveram, na verdade, um aumento em suas frequências de expressão. Ambos os fatos se devem à diminuição no número total de observações, uma vez que, para um total menor, valores não tão grandes podem representar maiores porcentagem do que para um total maior. Por exemplo, “Lambendo chão” teve 46 coletas pré EA, o que representa 10,9% de um total de 423 observações (Tabela 3). Por outro lado, o mesmo comportamento teve 30 coletas a menos pós EA, com apenas 16; porém este valor representa 14,8% de um total de 108 observações (Tabela 6).

6.3.3 Frequência de outras categorias comportamentais

Ao comparar as categorias comportamentais do grupo teste antes e após o tratamento, observou-se que os indivíduos obtiveram uma diminuição estatisticamente significativa na frequência de comportamentos neutros (26,2% pré *versus* 15,0% pós; $p < 0,001$), fisiológicos (9,9% pré *v.* 7,1% pós; $p < 0,001$) e de manutenção (19,9% pré *v.* 16,1% pós; $p < 0,001$), como descrito na Tabela 7. Essas diminuições são condizentes com o expressivo aumento da frequência de inatividade dos animais após a aplicação do EA comentado na seção 6.3.1, uma vez

que as porcentagens que sofreram decréscimo, ao serem somadas junto aos comportamentos negativos, equivalem praticamente ao mesmo valor de acréscimo que a categoria dos inativos variou (26%, aproximadamente). A frequência de comportamentos neutros encontrada pós EA é, inclusive, bem mais próxima àquela revisada em literatura de 14,1%, como mostrado na seção 6.2.3. Como não foi realizada a medição da categoria de manutenção para a verificação da existência de *overgrooming*, não é possível afirmar se a diminuição de frequência da categoria após o tratamento é benéfica ou apenas neutra para os animais.

Em relação aos comportamentos positivos dentro das gaiolas, não foi verificada alteração estatisticamente significativa de frequência para o grupo teste (1,5% pré v. 1,8% pós; $p > 0,05$), como mostrado na Tabela 7. Por mais que os coelhos tenham sido apresentados a um EA inédito e instigante, este foi feito fora das gaiolas, não havendo nenhuma alteração de estímulos submetidos aos indivíduos no seu ambiente usual de criação. Como não houve aumento ou diminuição da oferta de EA dentro das gaiolas, nem mesmo uma mudança na forma de oferta destes, não foi possível que acontecesse uma alteração na frequência dos comportamentos positivos. Não foram encontrados em literatura valores de frequência de tempo gasto por coelhos de biotério expressando comportamentos positivos, uma vez que a maior parte dos estudos trabalha com testes de preferência entre diferentes tipos de EA, ou com avaliação apenas de outras categorias (comportamentos anormais, exploratórios, *grooming*, etc.).

6.3.4 Grupo controle

Como demonstrado na Tabela 7, os indivíduos do grupo controle, que não foram submetidos ao tratamento com EA, não tiveram variação estatisticamente significativa de frequência para nenhuma categoria comportamental ($p > 0,05$). Tal fato corrobora para demonstrar a eficácia dos cercados de chão como EA para o aumento de inatividade e a diminuição de estereotípias, tendo em vista que os níveis de frequência se mantiveram muito próximos para o grupo controle pré e pós o tratamento. Dessa forma, pode-se ter certeza de que não houve nenhum

componente externo que possivelmente explicaria as mudanças verificadas no grupo teste.

6.4 Frequências de comportamentos durante o enriquecimento

6.4.1 Frequência de inatividade

Quando observa-se a frequência de inatividade de apenas 9,3% dos indivíduos dentro dos cercados de chão (Figura 15), é perceptível que esta é bem inferior quando comparada tanto com a coleta feita antes do tratamento (28,8%) quanto a realizada depois (55,4%). Segundo Podberseck *et al* (1991), é natural que coelhos criados em gaiolas permanecem deitados ou sentados por mais tempo do que coelhos criados em cercados de chão, uma vez que este último é um ambiente que proporciona mais estímulos e permite que os animais gastem mais tempo explorando-o. Ainda segundo o autor, quando criados em cercados de chão, coelhos em biotérios permanecem inativos por apenas 25% do tempo. Decerto que este valor é bem superior ao encontrado neste trabalho, mas vale ressaltar que os cercados de chão aqui aplicados foram utilizados apenas como EA, e não como alojamento permanente dos indivíduos. Com isso, como eram apenas 40 minutos de aplicação e uma vez por semana, os coelhos possivelmente preferiam gastar o tempo de aplicação explorando o novo ambiente.

Para verificar justamente o nível de interesse e curiosidade dos animais ao serem introduzidos nos cercados, foi feita a comparação de inatividade e atividade tanto ao longo do período de aplicação quanto ao longo dos dias, como explicado na seção 5.3. De acordo com a Figura 17, nota-se que o número de observações de comportamentos inativos aumentou ao longo dos t' , iniciando com apenas 32 (representando 1,2% do total de observações em t_0), e chegando a 314 (22,8% do total de observações em t_4). Também obteve-se que a equação da linha de tendência para o gráfico é $f(x) = 74,1x + 23,6$, com um $R^2 = 0,985$. Com um alfa = 74,1, infere-se que a reta possui uma forte inclinação e ela é positiva, ou seja, x varia de maneira diretamente proporcional a y . Além disso, o $R^2 = 0,985$ demonstra

que a relação entre x e y é fortemente explicada pelo modelo linear, uma vez que este valor varia de 0 a 1. Dessa forma, pode-se concluir que existe uma forte tendência de aumento de inatividade dos coelhos dentro do cercado ao longo do período de aplicação.

Conforme demonstrado na Figura 18, percebe-se que a soma das observações dos comportamentos neutros, positivos, fisiológicos, de manutenção e negativos, aqui denominados “comportamentos de atividade”, diminuiu ao longo dos t , iniciando com 2590 (98,8% do total em t_0), e terminando com 1063 (77,2% do total em t_4). Ao analisar o gráfico, tem-se que a equação da linha de tendência para é $f(x) = -384x + 2444$, com um $R^2 = 0,95$. Assim como para a equação da Figura 17, o alfa também infere que a reta possui uma forte inclinação; porém, como o valor é de -384 , essa inclinação é negativa, ou seja, x varia de maneira inversamente proporcional a y . O $R^2 = 0,95$ também demonstra que a relação entre x e y é fortemente explicada pelo modelo linear. Portanto, entende-se que existe uma forte tendência de decréscimo de atividade dos coelhos dentro do cercado ao longo da aplicação.

Para explicar esse aumento de inatividade e o decréscimo de atividade, levantou-se a hipótese de que os coelhos, no início da aplicação, estão muito mais curiosos em relação ao novo ambiente, o que estimula diversos comportamentos exploratórios e locomotores. Ao gastar mais energia nos primeiros momentos de coleta, os indivíduos vão diminuindo a intensidade de exploração e o próprio interesse no EA, por mais que a maioria ainda permaneça alerta, assim como constatado por DiVincenti e Rehrig (2016). Comportamentos de dormir ou cochilar, ainda que pouco observados, podem, inclusive, indicar um bem-estar positivo, tendo em vista que animais que são presas na natureza só diminuem o estado de alerta ao ambiente circundante quando se sentem confortáveis e seguros (Trocino *et al*, 2014).

Passando para a comparação de inatividade e atividade ao longo dos dias de aplicação, tem-se que, no primeiro dia, o número de observações de comportamentos inativos foi de 119 (12,6% do total para D1), enquanto esse número, para o último dia, foi de 99 (8,5% do total para D8), conforme a Figura 19. O gráfico dá que a equação da linha de tendência é $f(x) = 0,0833x + 107$, com um $R^2 = 0$. O alfa próximo a zero indica que a inclinação da reta é praticamente nula, e o $R^2 = 0$ mostra que a variabilidade de y não é explicada pelo modelo linear, ou seja, não

há associação de relação entre x e y neste modelo. Dessa forma, infere-se que não existe uma tendência de aumento ou decréscimo de inatividade ao longo dos dias de aplicação.

De acordo com a Figura 20, nota-se que os comportamentos de atividade tem suas observações aumentadas ao longo dos dias de aplicação, iniciando com 825 (87,4% do total para D1) e terminando com 1068 (91,5% do total para D8). A equação para a linha de tendência do gráfico da é $f(x) = 5,12x + 1042$, com um R^2 de 0,011. O alfa = 5,12 diz que a inclinação da reta é positiva e ligeiramente mais acentuada que a da reta da Figura 19, porém não muito. Além disso, o $R^2 = 0,011$ indica que a relação entre x e y é positiva e fracamente explicada pelo modelo linear. Assim sendo, conclui-se que há uma leve tendência de aumento de atividade dos coelhos ao longo dos dias de aplicação.

Como as tendências de alteração de inatividade e atividade ao longo dos dias são muito baixas ou até mesmo nulas, não se pode concluir que os animais interagiram mais ou menos com o EA de acordo com os dias. O leve aumento de atividade pode ser explicado devido a uma certa timidez e desconfiança dos animais quando introduzidos ao cercado nas primeiras semanas (Trocino *et al*, 2014), a qual diminui conforme estes se acostumam com o EA e passam a se interessar mais em explorar o ambiente.

6.4.2 Frequência de comportamentos neutros

Como demonstrado na Figura 15, os indivíduos passaram cerca de 35% do tempo dentro dos cercados de chão expressando comportamentos neutros, uma frequência relativamente maior do que a encontrada para a mesma categoria tanto pré (26,2%; Figura 12) quanto pós (15,0%; Figura 21) tratamento. Considerando que os comportamentos neutros englobam diversos movimentos locomotores, como “Caminhando” e “Saltando”, e ações exploratórias, como “Farejando” e “Olhando ao redor”, esse aumento de frequência para a categoria é uma resposta dos coelhos aos novos estímulos e ao amplo espaço proporcionado pelos cercados de chão. Com isso, é notório que, quando introduzidos a este tipo de ambiente, seja como EA ou como local de criação, os coelhos exploram ativamente o espaço circundante,

reduzindo excessos de energia acumulada e recorrência de tédio (DiVincenti e Rehrig, 2016). A frequência de aproximadamente 35% de comportamentos neutros é, inclusive, condizente com literatura, uma vez que, de acordo com Hawkins *et al* (2008), coelhos Brancos da Nova Zelândia criados em condições semi-naturais de cercados de chão passam um terço de seu tempo ativo explorando o ambiente e se locomovendo de forma intensa. Dessa forma, pode-se afirmar que coelhos criados em gaiolas permanecem inativos por mais tempo que aqueles criados em cercados de chão, o que é um indício de depressão do estado de bem-estar por tédio e monotonia (Podberseck *et al*, 1991).

Como mencionado na seção 5.4., “Caminhando” foi um dos comportamentos neutros de maior expressão, representando cerca de 38% da categoria, o que corrobora para o fato de que os animais permaneceram boa parte do tempo se movimentando dentro do cercado. Outros comportamentos que também tiveram grande parcela da categoria foram “Levantando” e “Apoiando”, os quais, somados, representaram 30% de todas as observações para os comportamentos neutros. De acordo com Buijs *et al* (2011) e Podberseck *et al* (1991), é natural que os coelhos passem mais tempo caminhando, correndo e permanecendo em pé nas patas traseiras quando criados em cercados de chão, o que indicia uma melhoria no estado de bem-estar desses animais. Dentro das gaiolas, o comportamento “Levantando” não obteve nenhuma coleta, tanto pré quanto pós EA, e os relativos a se apoiar com as patas anteriores em objetos foram observados apenas de forma limitada. Isso se dá devido à altura insuficiente das gaiolas nas quais esses animais são alojados, a qual impede que expressem um comportamento natural da espécie, obrigando-os a abaixar as orelhas ou curvar o tronco para conseguirem se pôr de pé. Dessa forma, fica claro que os cercados de chão também promovem bem-estar positivo para os coelhos ao permitir que fiquem de pé nas patas traseiras com tronco ereto e sem encostar as orelhas em nenhum tipo de teto (Hawkins *et al*, 2008).

6.4.3 Frequência de comportamentos positivos

Como demonstrado na Figura 15, os indivíduos passaram cerca de 53% do tempo dentro dos cercados de chão expressando comportamentos positivos, uma frequência substancialmente maior do que a encontrada para a mesma categoria tanto pré (1,5%; Figura 12) quanto pós (1,8%; Figura 21) tratamento. Segundo a seção 5.1, os comportamentos positivos são aqueles que promovem ou indicam benefícios no estado de bem-estar dos indivíduos e, dessa forma, conclui-se que os cercados de chão são eficazes para a promoção de um bem-estar positivo, pois os animais passaram mais da metade do seu tempo expressando ações desta categoria. De fato, segundo Lidfors (1997), a criação de coelhos de biotério em cercados de chão traz diversos benefícios aos animais, tanto no que diz respeito à área total disponível, quanto à ausência de restrição de altura; além de trazer também diferentes objetos que estimulam a curiosidade, uma melhor oportunidade de locomoção e um campo visual amplo e diferenciado. Entende-se que as baixas frequências de comportamentos positivos expressadas pelos coelhos dentro das gaiolas é explicada pelo baixo nível ou até mesmo ausência de estímulos, como a utilização de sentidos e ambientação adequada, além da ineficácia e/ou insuficiência dos EA aplicados na rotina do SCRL, o que faz com que esses animais praticamente não tenham chances de performar comportamentos que indiquem um bem-estar positivo.

Ao analisar a Figura 16, percebe-se que o comportamento positivo de maior expressão foi o de farejar objetos, com 63,4% do total de observações para a categoria. Isso mostra que os animais exploraram ativamente os cercados de chão, tendo em vista que é característica natural da espécie a utilização do olfato acima de qualquer outro sentido, uma vez que este é bastante aguçado e pode servir para localização de comida, comunicação com outros indivíduos, atração de parceiros, demarcação de território e até pressentimento de ameaças (Xi *et al*, 2016). Ainda segundo os autores, outra forma de abordar novos objetos é através da boca, com pequenas mordidas ou lambidas, o que também é verificado na Figura 16, pois o comportamento com segunda maior expressão é o de morder ou mastigar objetos, com 13,8%.

A terceira maior porcentagem verificada na Figura 16 é a do comportamento de esfregar em objetos (5,6%), o que, como explicado na seção 5.1, é uma forma de demarcação de território natural para a espécie, principalmente ao esfregar o queixo, onde está localizada uma glândula de cheiro importante para os coelhos (Sohn e Couto, 2012). Tal comportamento foi pouco visto dentro das gaiolas, o que indica uma disputa saudável por controle de território dentro dos cercados, uma vez que estes querem que seu cheiro prevaleça nos objetos por cima do cheiro de outros machos que passaram por ali anteriormente. Isso também indica uma promoção de bem-estar positivo para os coelhos através de uma certa interação social à qual estes não estão acostumados, e é condizente com os achados de Lidfors e Edström (2010), que afirmam que, em cercados de chão, os coelhos costumam demarcar o território ao esfregar o queixo nos objetos com maior frequência do que dentro de gaiolas.

Como mencionado na seção 5.3, destacou-se dois comportamentos positivos registrados durante a aplicação dos cercados de chão que não tiveram nenhuma coleta dentro das gaiolas: “Correndo” e “*Frisky hop*”. Estes comportamentos, inclusive, não foram observados nem na etapa de construção do etograma, sendo incorporados apenas através de literatura (Morton *et al*, 1993; Hansen e Berthelsen, 2000; Hawkins *et al*, 2008; Trocino *et al*, 2014). Por mais que representem uma pequena parcela da categoria como um todo (“*Frisky hop*” com menos de 3% e “Correndo” com menos de 1%; Figura 16), tais comportamentos são grandes indicadores de bem-estar positivo para animais criados em biotério (Lidfors, 1997). O ato de correr por si só é um comportamento natural para os coelhos (Brewer, 2006), impedido pelo pequeno espaço das gaiolas nas quais são criados; enquanto o “*Frisky hop*” é um comportamento verificado em diversas espécies como uma demonstração de contentamento e satisfação (Morton *et al*, 1993); não verificado dentro das gaiolas devido à falta de estímulos e/ou situações que promovem contentamento a esses animais.

6.4.4 Frequência de outras categorias comportamentais

Por fim, em relação às categorias de fisiológicos, manutenção e negativos, percebe-se que, de acordo com a Figura 15, nenhuma alcançou nem 2% de frequência dentro dos cercados. Possivelmente isto se deu devido à grande quantidade de estímulos novos aos quais os animais estavam sendo submetidos no EA, fazendo com que passassem a maior parte do tempo explorando o ambiente e interagindo com os objetos. Podberseck *et al* (1991) encontrou cerca de 2,5% de frequência de estereotípias em coelhos criados em cercados de chão, número esse maior do que o encontrado neste trabalho de 0,3% (Figura 15). Krohn *et al* (1998) e Buijs *et al* (2011) afirmaram que coelhos criados nestas mesmas condições são mais favoráveis a apresentarem baixos níveis de comportamentos negativos ou até mesmo não apresentarem em momento algum quando comparados com indivíduos criados em gaiolas.

7 CONCLUSÕES

A construção de um etograma detalhado foi de suma importância para a análise comportamental dos coelhos do SCRL deste trabalho. A análise de frequência de comportamentos dentro das gaiolas, antes da aplicação do tratamento, mostrou que os animais do SCRL apresentavam baixos níveis de inatividade durante o dia, o que era inconsistente com a biologia natural da espécie e com os achados em literatura. Possivelmente este aumento de atividade pela manhã e pela tarde estava associado com a rotina de manejo do biotério, aliada ao acúmulo de energia ocasionado por frustração e tédio. Além disso, os indivíduos também performaram comportamentos negativos por mais tempo do que o encontrado em bibliografia, o que indicava um potencial estado de estresse e depressão do bem-estar desses animais. O aumento de frequência de estereotípias dos coelhos do SCRL estava possivelmente associado às condições de criação inadequadas para a espécie, tanto pelo tamanho das gaiolas quanto pela falta de interação social em uma espécie naturalmente gregária; além de estarem submetidos ao tédio e à monotonia ocasionados pela falta de estímulos dentro das gaiolas e pela ineficiência dos EA aplicados na rotina.

Ao comparar as frequências do grupo teste antes e após a aplicação dos cercados de chão como tratamento neste estudo, notou-se um aumento significativo de inatividade dos animais, impulsionado pela amplo espaço do EA e pela possibilidade de gastar parte da energia excedente acumulada. Além disso, também registrou-se um decréscimo na frequência de comportamentos negativos, promovido pela diminuição dos níveis de tédio e frustração ocasionada pela apresentação de diferentes estímulos e uma melhor satisfação das necessidades espaciais dos coelhos.

A avaliação comportamental dos animais dentro dos cercados de chão mostrou que estes passaram boa parcela do tempo explorando o ambiente ao seu redor, tanto através de interações com os objetos, quanto com movimentos locomotores, representando quase 90% do tempo gasto. Além disso, também foi possível observar, dentro dos cercados, a expressão de comportamentos naturais para a espécie que não foram coletados dentro das gaiolas, como o de correr, ficar de pé nas patas traseiras com o corpo e as orelhas eretas, e o *frisky hop*.

Concluindo, os achados deste trabalho mostraram que a aplicação de cercados de chão como EA para coelhos criados em biotério são eficazes não somente para a diminuição da frequência de comportamentos indicativos de estresse, como também para auxiliar os animais a expressarem hábitos e comportamentos naturais para a espécie.

REFERÊNCIAS

- ALTMANN, J (1974). **Observational Study of Behavior: Sampling Methods.** Behavior, v. 49, n. 3-4, p. 227-267.
- ANDRADE, A; PINTO, S; OLIVEIRA, R (2002). **Animais de Laboratório: Criação e Experimentação.** Editora FIOCRUZ: Rio de Janeiro, Brasil. 388 pp.
- BRAMBELL, FWR (1965). **Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals Kept Under Intensive Livestock Husbandry Systems.** Papel de Comando 2836; Her Majesty's Stationery Office: Londres, Reino Unido.
- BRASIL (2022). **ICTB/Fiocruz: Página Inicial.** Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Disponível em: <<https://www.ictb.fiocruz.br/>>. Acesso em: 25 maio 2023.
- BREWER, NR (2006). **Biology of the Rabbit.** Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, v. 45, p. 8-24.
- BROOM, D (2010). **Welfare of Animals: Behavior as a Basis for Decisions.** In: *Encyclopedia of Animal Behavior*, Breed, M.; Moore, J. v. 3, p. 570-584. Academic Press: Oxford, EUA.
- BROWNING, H (2020). **The Natural Behavior Debate: Two Conceptions of Animal Welfare.** Journal of Applied Animal Welfare Science, v. 23, n. 3, p. 325-337.
- BUIJS, S; KEELING, LJ; TUYTTENS, FAM (2011). **Behavior and Use of Space in Fattening Rabbits as Influenced by Cage Size and Enrichment.** Applied Animal Behaviour Science, v. 134, p. 229-238.
- CHU, L; GARNER, JP; MENCH, JA (2004). **A Behavioral Comparison of New Zealand White Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) Housed Individually or in Pairs in Conventional Laboratory Cages.** Applied Animal Behaviour Science, v. 85, p. 121-139.
- COWAN, DP (1994). **The European Rabbit: The History and Biology of a Successful Colonizer.** Oxford University Press: Oxford, Reino Unido. 245 pp.
- COWAN, DP; BELL, DJ (1986). **Leporid Social Behavior and Social Organization.** Mammal Review, v. 16, p. 169 – 179.
- CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Brasil, Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (2019). **Guia Brasileiro De Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica: Fascículo 2: Roedores e Lagomorfos Mantidos em Instalações de Instituições de Ensino ou Pesquisa Científica.** 1ª ed. Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasil. 131 pp.

DAWKINS, M (2003). **Behavior as a Tool in the Assessment of Animal Welfare.** *Zoology*, v. 106, n. 4, p. 383–387.

DAWKINS, M (2006). **A User's Guide to Animal Welfare Science.** *TRENDS in Ecology and Evolution*, v. 21 n. 2, p 77-82.

DAWKINS, M (2008). **The Science of Animal Suffering.** *Ethology*, v. 114, p. 937-945.

DEL-CLARO, K (2010). **Introdução à Ecologia Comportamental: Um Manual Para O Estudo do Comportamento Animal.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Technical Books, 128 p.

DIVINCENTI, L; REHRIG, A (2016). **Social Behavior of Adult Male New Zealand White Rabbits Housed in Groups or Pairs in the Laboratory.** *Journal of Applied Animal Welfare Science*, v. 20, n. 1, p. 86-94.

DOMINGUEZ-OLIVA, A; HERNÁNDEZ-ÁVALOS, I; MARTÍNEZ-BURNES, J; OLMOS-HERNÁNDEZ, A; VERDUZCO-MENDOZA, A; MOTA-ROJAS, D (2023). **The Importance of Animal Models in Biomedical Research: Current Insights and Applications.** *Animals*, v. 13, n. 7, p. 1223-1247.

DUTTA, S; SENGUPTA, P (2018). **Rabbits And Men: Relating Their Ages.** *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, v. 29, n. 5, p. 427-435.

FRASER, D (2008). **Understanding Animal Welfare.** *Animal Welfare*, v. 12, p. 433–443.

GOURSOT C; DÜPJAN, S; PUPPE, B; LELIVELD, L (2021). **Affective Styles and Emotional Lateralization: A Promising Framework For Animal Welfare Research.** *Applied Animal Behavior Science*, v. 237, p. 1-10.

GUNN, D; MORTON, D (1995). **Inventory of the Behaviour of New Zealand White Rabbits in Laboratory Cages.** *Applied Animal Behavior Science*, v. 45, p. 277-292.

GUTIERREZ-GOMES, G; PAEZ-ARDILA, H; SILVA, A; GOUVEIA, A (2021). **Observar e Quantificar: Como Construir um Etograma.** *Biota Amazônica*, v. 11, n. 1, p. 96-101.

HANSEN, L; BERTHELSEN, H (2000). **The Effect of Environmental Enrichment on the Behavior of Caged Rabbits.** *Applied Animal Behavior Science*, v. 68, p. 163-178.

HAWKINS, P; R HUBRECHT, R; BUCKWELL, A; CUBITT, S; HOWARD, B; JACKSON, A; POIRIER, G (2008). **Refining Rabbit Care: A Resource for Those Working with Rabbits for Research.** *Wheathampstead: Universities Federation for Animal Welfare*, 26 p.

HOEHFURTNER, T; WILKINSON, A; NAGABASKARAN, G; BURMAN, O (2021). **Does the Provision of Environmental Enrichment Affect the Behavior and Welfare of Captive Snakes?** *Applied Animal Behavior Science*, v. 239, p. 1-8.

HUBRECHT, R; KIRKWOOD, J (2010). **The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals**. 8^a ed. Universities Federation for Animal Welfare. Blackwell Publishing Ltd: Reino Unido.

JENKINS, JR (2001). **Rabbit Behavior**. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, v. 4, p. 669-679.

KROHN TC; RITSKES-HOITINGA, J; SVENDSEN, P (1998). **The Effects of Feeding and Housing on the Behavior of the Laboratory Rabbit**. Laboratory Animals, v. 33, p. 101-107.

LIDFORS, L (1997). **Behavioral Effects of Environmental Enrichment for Individually Caged Rabbits**. Applied Animal Behavior Science, v. 52, p. 157-169.

LIDFORS, L; EDSTRÖM, T; LINDBERG, L (2007). **The Welfare Of Laboratory Rabbits**. In: *The Welfare of Laboratory Animals*; Kaliste, E. ed. 1, p. 211–243. Springer: Dordrecht, Holanda.

LIDFORS, L; EDSTRÖM, T (2010). **The Laboratory Rabbit**. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*; Hubrecht, R; Kirkwood, J. Wiley-Blackwell: Londres, Reino Unido.

MAPARA, M; THOMAS, B; BHAT, K (2012). **Rabbit as an Animal Model for Experimental Research**. Dental Research Journal, v. 9, n. 1, p. 111-118.

MEDEIROS, S; TELMO, P; AGUIAR, P; ALMEIDA, G; DA SILVA, P; SCAINI, C (2009). **A Importância dos Biotérios na Pesquisa Experimental**. VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde. v. 20, n. 1, p. 25-30.

MELLOR, DJ; REID, CS (1994). **Concepts of Animal Well-Being and Predicting The Impact of Procedures on Experimental Animals**. In: *Improving the Well-Being of Animals in the Research Environment*; Baker, R.; Jenkin, G.; Mellor, D.J. p. 3–18. Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching: Glen Osmond, Australia.

MELLOR, DJ; HUNT, S; GUSSET, M (2015). **Caring for Wildlife: The World Zoo and Aquarium Animal Welfare Strategy**. Gland: WAZA Executive Office, 87 pp.

MELLOR, DJ (2016). **Updating Animal Welfare Thinking: Moving beyond the “Five Freedoms” towards “A Life Worth Living”**. Animals, v. 6, n. 3, p. 45-65.

MILLMAN, ST; DUNCAN, IJH; STAUFFACHER, M; STOOKEY, JM (2004). **The Impact of Applied Ethologists and the International Society for Applied Ethology in Improving Animal Welfare**. Applied Animal Behaviour Science, v. 86, n. 3-4, p. 299–311.

MORETTIN, PA; BUSSAB, WO (2010). **Estatística Básica**. 6 ed. Editora Saraiva: São Paulo, Brasil. 540 pp.

MORTON, D; BIRKE, L; BELL, D; HOWARD, B (1993). **Refinements in Rabbit Husbandry**: Second Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*, v. 27, p. 309-329.

NAFF, K; CRAIG, S (2012). **Chapter 6 - The Domestic Rabbit, *Oryctolagus cuniculus***: Origins and History. In: *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents*; Suckow, M.; Stevens, K.; Wilson, R. p. 157-163. American College of Laboratory Animal Medicine, Academic Press: Oxford, EUA.

NEVES, S; FILHO, J; MENEZES, E (2013). **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas: São Paulo, Brasil.

OLSSON, I; NEVISON, C; PATTERSON-KANE, E; SHERWIND, C; VAN DE WEERDE, H; WÜRBEL, H (2003). **Understanding Behavior**: The Relevance Of Ethological Approaches. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 81, p. 245–264.

PERMUY, M; LÓPEZ-PEÑA, M; MUÑOZ, F; GONZÁLEZ-CANTALAPIEDRA, A (2019). **Rabbit As Model For Osteoporosis Research**. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, v. 37, p. 573–583.

PODBERSCEK, A; BLACKSHAW, J; BEATTIE, A (1991). **The Behaviour of Group Penned and Individually Caged Laboratory Rabbits**. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 28, p. 353-363.

QUINN, R (2012). **Chapter 9 - Rabbit Colony Management and Related Health Concerns**. In: *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents*; Suckow, M.; Stevens, K.; Wilson, R. p. 217-241. American College of Laboratory Animal Medicine, Academic Press: Oxford, EUA.

R Core Team (2024). **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.

RUSSELL W; BURCH, R (1959). **The Principles of Humane Experimental Technique**. Universities Federation for Animal Welfare: Wheathampstead, Reino Unido. 500 pp.

SENGUPTA, P; DUTTA, S (2020). **Mapping the Age of Laboratory Rabbit Strains to Human**. *International Journal of Preventive Medicine*, v. 11, n. 194, p. 44-51.

SOHN, J; COUTO, M (2012). **Chapter 8 - Anatomy, Physiology and Behavior**. In: *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents*; Suckow, M.; Stevens, K.; Wilson, R. American College of Laboratory Animal Medicine, Academic Press, p. 195-215.

TANNENBAUM, J; BENNETT, B (2015). **Russell and Burch's 3Rs Then and Now: The Need for Clarity in Definition and Purpose**. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, v. 54, n. 2, p. 120–132.

TATEMOTO, P; BROOM, D; ZANELA, A (2022). **Changes in Stereotypies: Effects over Time and over Generations.** *Animals*, v. 12, p. 2504-2517.

TISLERICS, A (2000). "***Oryctolagus cuniculus***" (*On-line*). Animal Diversity Web. Disponível em: <https://animaldiversity.org/accounts/Oryctolagus_cuniculus/>. Acesso em: 17 jul. 2023.

TROCINO, A; FILIOU, E; TAZZOLI, M; BERTOTTO, D; NEGRATO, E; XICCATO, G (2014). **Behavior and Welfare of Growing Rabbits Housed in Cages and Pens.** *Livestock Science*, v. 167, p. 305-314.

US NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2011). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.** Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8^a ed. National Academies Press: Washington DC, EUA.

VILLAFUERTE, R; DELIBES-MATEOS, M (2019). ***Oryctolagus cuniculus*.** *The IUCN Red List of Threatened Species 2019.* Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org/species/41291/170619657#taxonomy>>. Acesso em: 01 jul. 2023.

VOOGT, AM; URSINUS WW; SIJM, DT; BONGERS, JH (2023). **From the Five Freedoms to a More Holistic Perspective on Animal Welfare in the Dutch Animals Act.** *Frontiers in Animal Science*, v. 4. p. 1-18.

XI, J; SI, XA; KIM, J; ZHANG, Y; JACOB, RE; KABILAN, S; CORLEY, RA (2016). **Anatomical Details of the Rabbit Nasal Passages and Their Implications in Breathing, Air Conditioning, and Olfaction.** *The Anatomical Record*, v. 299, p. 853-868.

YANNI, A (2004). **The Laboratory Rabbit: An Animal Model Of Atherosclerosis Research.** *Laboratory Animals*, v. 38, n. 3, p. 246–256.

YATES, J; MAIN, D (2008). **Assessment of Positive Welfare: A Review.** *The Veterinary Journal*, v. 175, n. 3, p. 293–300.