

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE CORTISOL E O COMPORTAMENTO EM VACAS DE RAÇA
BRAVA DE LIDE

SOFIA THENAISIE LUCAS

ORIENTADORA:

Doutora Maria Luísa Mendes Jorge

COORIENTADOR:

Dr. Vasco Miguel Botelho de Brito Paes

2019

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE CORTISOL E O COMPORTAMENTO EM VACAS DE RAÇA
BRAVA DE LIDE

SOFIA THENAISIE LUCAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Graça Maria Leitão Ferreira Dias

VOGAIS:

Doutor George Thomas Stilwell

Doutora Maria Luísa Mendes Jorge

ORIENTADORA:

Doutora Maria Luísa Mendes Jorge

COORIENTADOR:

Dr. Vasco Miguel Botelho de Brito Paes

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Sofia Thenaisie Lucas

Título da Tese ou
Dissertação: Relação entre os níveis de cortisol e o comportamento em vacas de raça Brava de Lide

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2019

Designação do curso de
Mestrado ou de
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações:

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, ____ de _____ de 20 ____

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

À Professora Luísa Mendes Jorge, pelo apoio prestado desde o início do meu envolvimento nos projetos relacionados com a raça Brava de Lide, pela amizade, confiança e por me incentivar sempre a ambicionar mais e conquistar novos objetivos.

Ao Dr. Vasco Brito Paes, pela disponibilidade com que sempre me recebeu, pela oportunidade de acompanhar a sua atividade clínica de perto e permitir sempre a minha participação nesta, pela ajuda na realização do trabalho de campo e por ter aceitado o desafio de participar no estudo.

Ao Dr. Vasco Lucas, pela disponibilização de informação e pela forma entusiasmante com que transmite os seus conhecimentos sobre a raça Brava.

Aos ganadeiros que aceitaram participar no estudo, por terem disponibilizado os seus animais e por me terem aberto sempre as portas para conhecer as suas ganadarias, bem como para partilharem os seus conhecimentos.

À Professora Luísa Mateus e à Doutora Cristina Mateus, por terem disponibilizado os laboratórios de Endocrinologia e Bioquímica e ao Dr. Jorge Moreira da Silva, pela colaboração no trabalho.

À Andreia Valença, pela amizade e apoio ao longo desta fase da dissertação.

À Carolina Ferraz, pelo apoio prestado no trabalho de campo e constante interesse demonstrado em ajudar na dissertação.

À minha família, especialmente à minha avó, aos meus pais e ao Paulo, que me apoiaram incondicionalmente desde o início do meu percurso e por acreditarem na superação das diferentes etapas do curso.

Aos amigos que fiz ao longo do curso e que pretendo levar comigo, à Mafalda, Ana Sousa, Catarina, Ana G. Silva, Maria João, Sebastião, Xavier, e aos que já me acompanhavam antes e partilharam este curso comigo, à Maria Beatriz e à Carolina. Um agradecimento especial à Ana Lopes pela ajuda e presença constante.

Aos Professores, corpo clínico, internos, estagiários e alunos da UniMax, por me acolherem de forma tão familiar no Brasil, pela transmissão de conhecimentos e pelo interesse demonstrado em conhecer a raça Brava. À Eva, que me acompanhou nesta jornada e se disponibilizou sempre a ajudar nos trabalhos.

Aos Médicos Veterinários da Clínica Veterinária Militar de Equinos, por me terem recebido de forma tão agradável e pedagógica, e aos meus colegas de estágio que se tornaram amigos.

RESUMO

RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE CORTISOL E O COMPORTAMENTO EM VACAS DE RAÇA BRAVA DE LIDE

Os bovinos da raça autóctone Brava de Lide descendem de diferentes castas fundacionais, subcastas e encastes, apresentando características comportamentais muito próprias em cada ganadaria. A seleção das fêmeas reprodutoras realiza-se através de uma prova funcional de comportamento/bravura (tenta) na qual são aplicados dois tipos de estímulos, fixo e móvel, e onde os animais são seriados em função da nota atribuída em cada um deles. O objetivo deste trabalho consistiu em determinar a relação entre os níveis de cortisol plasmático e a nota atribuída na prova de seleção. Foram avaliadas 57 fêmeas de raça Brava de Lide com dois anos e meio de idade. Foram colhidas amostras de sangue em repouso (n=36) e depois (n=57) da tenta. O sangue foi colhido para tubos secos, centrifugado a 2500 G, durante 10 minutos, e o soro conservado a -20°C. A concentração de cortisol foi determinada por quimioluminescência (Immulite 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Lda.), utilizando um kit comercial (Immulite 1000 cortisol Kit, Siemens). Apesar dos métodos de contenção utilizados poderem influenciar os níveis de cortisol obtidos, os resultados mostraram uma correlação negativa entre os níveis de cortisol e a classificação atribuída à prova de tenta, sugerindo que os animais com melhor desempenho de bravura apresentam valores inferiores de cortisol.

Palavras-chave: Raça Brava de Lide, Cortisol, *Stress*, Tenta, Bravura.

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN CORTISOL LEVELS AND BEHAVIOUR OF COWS OF *BRAVA DE LIDE* BREED

The bovine of the *Brava de Lide* autochthonous breed descends from different foundational groups and *encastes*, presenting behavioural characteristics in each farm. The selection of the reproductive females is performed by a functional test of behaviour/bravery (named *tenta*), in which two types of stimulus are applied, the static and the mobile, by which the animals are ranked depending on the classification attributed to each one of them. The aim of this work was to investigate the relationship between the levels of serum cortisol and the classification obtained in the functional test. In this study, 57 females of *Brava de Lide* breed aged two and a half years were evaluated. Blood samples were collected before (n=36) and after (n=57) the *tenta*. The blood was centrifuged at 2500 G, for 10 minutes and the serum was stored at -20 °C. The concentration of cortisol was determined by chemiluminescence (Immulite 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Ltd.), using a commercial kit (Immulite 1000 cortisol Kit, Siemens). Although restraint methods may have influenced the cortisol levels obtained, the results revealed a strong negative correlation between the cortisol levels and the classification attributed in the *tenta*, which suggests that animals with better performance present lower cortisol concentrations.

Keywords: *Brava de Lide* breed, Cortisol, Stress, *Tenta*, Bravery.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	x
PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS.....	xi
I. INTRODUÇÃO	1
1. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR.....	1
2. RAÇA BRAVA DE LIDE.....	2
2.1 História.....	2
2.2 Encastes.....	3
2.3 Solar da raça em Portugal.....	4
2.4 Particularidades de manejo geral, alimentar e reprodutivo	7
3. BEM ESTAR ANIMAL	22
3.1 Bem-estar nas ganadarias de raça Brava de Lide	22
3.2 Dor.....	23
3.3 Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal	26
3.4 Opioides endógenos.....	27
II. OBJETIVOS	29
III. MATERIAL E MÉTODOS	30
Animais.....	30
Contenção física	31
Contenção farmacológica.....	31
.....	35
Determinação de cortisol plasmático.....	36
Análise estatística.....	36
IV. RESULTADOS.....	37
1. CARACTERIZAÇÃO DAS GANADARIAS.....	37
2. CLASSIFICAÇÕES OBTIDAS NA TENTA.....	41
3. DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CORTISOL PLASMÁTICO.....	44
3.1 Relação entre bravura e cortisol plasmático.....	44
3.2 Níveis de cortisol nos diferentes encastes.....	45
3.3 Contenção física.....	49

3.4 Contenção farmacológica	51
V. DISCUSSÃO	53
VI. CONCLUSÕES	58
VII. BIBLIOGRAFIA	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema representativo das castas fundacionais e subcastas (adaptado de Lucas, 2013).....	3
Figura 2- Esquema representativo da origem dos encastes atuais (adaptado de Lucas 2013).	4
Figura 3- Distribuição das 84 ganadarias ativas em Portugal continental e Açores (Ilha Terceira) no ano de 2017 (adaptado de Farto 2018).	5
Figura 4- Cerca com lote de touros. Fotografia original.	7
Figura 5- Disposição dos comedouros no campo. Fotografia original.....	8
Figura 6- Outro tipo de comedouros dispersos no terreno e devidamente distanciados entre si. Fotografia original.	9
Figura 7- Detalhe da administração de forragem <i>ad libitum</i> . Fotografia original.....	9
Figura 8- Comedouro para administração de concentrado em detalhe. Fotografia original. .	10
Figura 9- Lote de fêmeas reprodutoras no campo. Fotografia original.....	11
Figura 10- Lote de anojos (1 ano) no campo. Fotografia original.....	11
Figura 11- Lote de garraios (2 anos) no campo. Fotografia original.....	12
Figura 12- Lote de novilhos (3 anos) no campo. Fotografia original.....	12
Figura 13- Lote de touros (4 anos) no campo. Fotografia original.....	13
Figura 14- Introdução de garraios num lote de touros. Fotografia cedida por Filipa Pucariço.	13
Figura 15- Condução dos cabrestos entre diversos lotes de bovinos Bravos, realizada pelo maioral. Fotografia original.	14
Figura 16- Manga de contenção com grupo de animais Bravos. Fotografia original.	15
Figura 17- Perspetiva lateral de uma jaula de contenção especialmente desenhada para a raça Brava (<i>mueco</i> ou jaulão). Fotografia original.	15
Figura 18- Perspetiva frontal do <i>mueco</i> ou jaulão. Fotografia original.	16
Figura 19- Aspeto de um tentadeiro. Fotografia original.	16
Figura 20- Pormenor dos curros pertencentes ao tentadeiro. Fotografia original.....	17
Figura 21- Animal após a ferra. Fotografia original.	18
Figura 22- Touro após a colocação de fundas. Fotografia original.	18
Figura 23- Estímulo fixo representado pela vara. Fotografia original.	20
Figura 24- Estímulo móvel representado pela muleta. Fotografia original.	20
Figura 25- Introdução do semental no lote de fêmeas reprodutoras. Pormenor da resposta de <i>flehmen</i> . Fotografia original.	21
Figura 26- Encastes participantes no estudo e respetivo número de animais.....	30
Figura 27- Recolha de sangue com o animal solto na manga. Fotografia original.	31

Figura 28- Grupo de animais soltos na manga. Fotografia original.....	32
Figura 29- Animal preso pelos cornos na manga. Fotografia cedida por Carolina Ferraz.	32
Figura 30- Contenção no <i>mueco</i> . Fotografia cedida por Carolina Ferraz.....	33
Figura 31- Recolha de amostra de sangue num animal contido no <i>mueco</i> . Fotografia original.	33
Figura 32- Administração de anestesia por via intramuscular através da seringa de garrocha. Fotografia original.....	34
Figura 33- Recolha de amostra de sangue com o animal anestesiado nos curros. Fotografia original.	34
Figura 34- Preparação de anestesia com zarabatana. Fotografia original.	35
Figura 35- Recolha de amostra de sangue com o animal anestesiado a campo. Fotografia original.	35
Figura 36- Representação hierárquica das castas, subcastas e encastes presentes nas ganadarias estudadas.	37

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Dimensão das ganadarias portuguesas (retirado de Farto 2018).....	5
Gráfico 2- Efetivo de animais da raça Brava por número de ganadarias (retirado de Farto 2018).....	6
Gráfico 3- Efetivo de fêmeas reprodutoras por número de ganadarias (retirado de Farto 2018).....	6
Gráfico 4- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas nas ganadarias estudadas.....	42
Gráfico 5- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas na prova do cavalo por ganadaria.....	42
Gráfico 6- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas na prova da muleta por ganadaria.....	42
Gráfico 7- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas na avaliação global por ganadaria.....	43
Gráfico 8 - Níveis de cortisol plasmático obtidos em repouso e depois da tenta, em vacas avaliadas na prova do cavalo.....	44
Gráfico 9- Níveis de cortisol plasmático obtidos em repouso e depois da tenta, em vacas avaliadas na prova da muleta.....	45
Gráfico 10- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes aprovadas na prova do cavalo.....	46
Gráfico 11- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes reprovadas na prova do cavalo.....	47
Gráfico 12- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes aprovadas na prova do cavalo.....	48
Gráfico 13- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes reprovadas na prova do cavalo.....	48
Gráfico 14- Comparação dos níveis de cortisol em fêmeas aprovadas na tenta, de acordo com os diferentes métodos de contenção utilizados.....	50
Gráfico 15- Comparação dos níveis de cortisol em fêmeas reprovadas na tenta, de acordo com os diferentes métodos de contenção utilizados.....	50
Gráfico 16- Comparação dos níveis de cortisol em fêmeas aprovadas e reprovadas, de acordo com o método de contenção farmacológica.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormona adrenocorticotrófica
APCTL	Associação Portuguesa de Criadores de Toiros de Lide
AVP	Arginina vasopressina
CRH	Hormona libertadora de corticotrofina
FAO	Food and Agriculture Organization
HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
IAESTE	International Association for the Exchange of Students for Technical Experience
LGA	Livro Genealógico de Adultos
OIE	Office International des Epizooties
POMC	Pro-opiomelanocortina
SNC	Sistema nervoso central
β- END	β-Endorfinas

PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

Na presente dissertação incluem-se resultados originais que foram objeto de divulgação científica, tendo sido publicados ou submetidos para divulgação.

Comunicações em Paineis:

Brito Paes V, Ferreira S, Mendes MG, Ferraz C, Lucas S, Mateus L, Stilwell G, Lucas AV, Valença A, Mendes-Jorge L, editors. 2018. Sorte de varas: reposta à dor na raça Brava de Lide. Proceedings of the 10th Jornadas Hospital Veterinário Muralha de Évora; Mar 2-3; Évora, Portugal: Hospital Veterinário Muralha de Évora. p. 12.

Lucas ST, Valença A, Moreira da Silva J, Brito Paes V, Mendes-Jorge L, editors. 2019. Niveles de cortisol en diferentes tipos de inmovilización en vacas de raza de lidia. Proceedings of the 14th Symposium del Toro de Lidia; Oct 25-26; Zafra, Spain: STL.

Mendes-Jorge M, Lucas S, Valença A, Mendes MG, Ferraz C, Mateus L, Stilwell G, Brito-Paes V, editors. 2018. Response to local pain in *Brava de Lide* cows. Proceedings of the CIISA Congress; Nov 16-17; Lisbon, Portugal: University of Lisbon. p. 9.

I. INTRODUÇÃO

1. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular iniciou-se em dezembro de 2017 e terminou em agosto de 2018, com o acompanhamento da atividade clínica da empresa Vetlide, sob orientação do Dr. Vasco Brito Paes. Durante o período de estágio, foi possível a participação no dia-a-dia da clínica de animais de produção, onde se incluíram bovinos, caprinos e ovinos, desde controlos sanitários, maneio reprodutivo, procedimentos cirúrgicos, entre outros.

A par da atividade clínica, surgiu a oportunidade de acompanhar a consultoria de ganadarias de bovinos de raça Brava de Lide. Durante este período, foi possível o contacto com a realidade de uma ganadaria, desde o maneio geral inerente a diferentes procedimentos realizados com os animais, condução do gado a cavalo com cabrestos, contenção dos animais em currais, mangas ou jaulas de contenção (*mueco*). Esta atividade exige trabalhadores qualificados que acompanham o gado bravo diariamente, o que requer experiência e sensibilidade para interagir com as particularidades desta raça, que se revela totalmente diferente de outras raças de bovinos com aptidão para a produção de leite ou de carne.

Foram acompanhadas diversas intervenções, onde se destacam a separação de animais em lotes, realização de procedimentos cirúrgicos a campo, colocação de fundas, tratamento de feridas e desparasitação de bezerros.

O maneio reprodutivo é um dos pilares do funcionamento de uma ganadaria, tal como qualquer exploração de bovinos de outras raças. A possibilidade de assistir a provas de seleção de fêmeas reprodutoras da raça Brava de Lide, motivou a realização da presente dissertação de mestrado.

Entre setembro e novembro de 2018, foi realizado o programa de intercâmbio de estágios remunerados no exterior da International Association for the Exchange of Students for Technical Experience (IAESTE), no Hospital Escola Veterinário do Instituto Universitário Max Planck, localizado na cidade Indaiatuba, pertencente ao Estado de São Paulo, Brasil. O estágio abrangeu as áreas de clínica e cirurgia de grandes animais, numa primeira fase, e pequenos animais, numa segunda fase.

No período de janeiro a março de 2019, foi realizado um estágio em medicina interna e cirurgia de equinos na Clínica Veterinária Militar de Equinos do Exército Português, localizada na Escola das Armas, em Mafra.

2. RAÇA BRAVA DE LIDE

2.1 História

A raça Brava de Lide é uma raça bovina autóctone, cujos exemplares se encontram inscritos no Livro Genealógico dos Bovinos de Raça Brava de Lide. A produção da raça Brava caracteriza-se pelo aproveitamento de recursos pouco abundantes, apesar de ter ciclos produtivos mais longos ao que se verifica noutras raças, bem como maior rusticidade e maior longevidade das fêmeas (Ministério da Agricultura- Direção Geral de Pecuária 1992; Inspeção Geral das Atividades Culturais [IGAC] 2014). A sua aptidão produtiva, ao contrário de outras raças bovinas, não se destina à obtenção de leite, nem de carne para consumo humano, sendo o objetivo final a obtenção de animais que demonstrem um marcado comportamento de bravura. A bravura pode definir-se como uma resposta motora perante um estímulo, que se determina “em investida reta, fixa e *humilhada*¹ até ao objeto excitante (...) E quantas vezes se repete a estimulação, tantas vezes ele dará a resposta” (Lucas 2013, p. 28). Assim, a produção destes animais exige um profundo conhecimento do seu comportamento característico de forma a poder tirar o maior partido possível da sua aptidão para a lide (Llorente 2012).

Historicamente, descrevem-se duas teorias quanto à origem da raça Brava de Lide. Está documentado que os bovinos de raça Brava descendem de um bovino selvagem ancestral, conhecido como auroque, da espécie *Bos taurus primigenius*. Outra corrente defende que a sua origem advém do *Brachyceros africanus*, que é o resultado de uma mutação pré-histórica do *Bos taurus primigenius* (Madariaga 1966).

Encontram-se representados desenhos do auroque, que datam da pré-história, sob a forma de pinturas rupestres. Estes animais habitavam no continente europeu, asiático e africano. Relatos de Obermaier et al. (1957) indicam que o auroque indígena europeu era um animal de grande estatura e cornamenta, contrariamente aos exemplares da atualidade, que são bovinos de porte médio. Segundo este relato, o auroque indígena europeu terá sido domesticado na região Mediterrânica, o que indica que os animais de raça Brava atuais evoluíram a partir deste ramo.

¹ Investida *humilhada*: significa que a cabeça do animal deve colocar-se junto do chão.

2.2 Encastes

O touro bravo da atualidade resulta de um conjunto heterogéneo de características, visível nas marcadas diferenças morfo-funcionais entre ganadarias (Lucas 2013). Por ganadaria entende-se a exploração onde são produzidos os bovinos de raça Brava de Lide. O touro atual descende das castas fundacionais Portuguesa, Francesa, Navarra, Castelhana e Andaluza, que representam os agrupamentos de bovinos ancestrais com morfologia e carácter de agressividade próprio, de acordo com a região onde habitavam (Figura 1). Os cruzamentos destes animais conduziram ao aproveitamento da bravura inata e das particularidades morfológicas, transformando o touro bravo no touro de lide da atualidade (Lucas 2013).

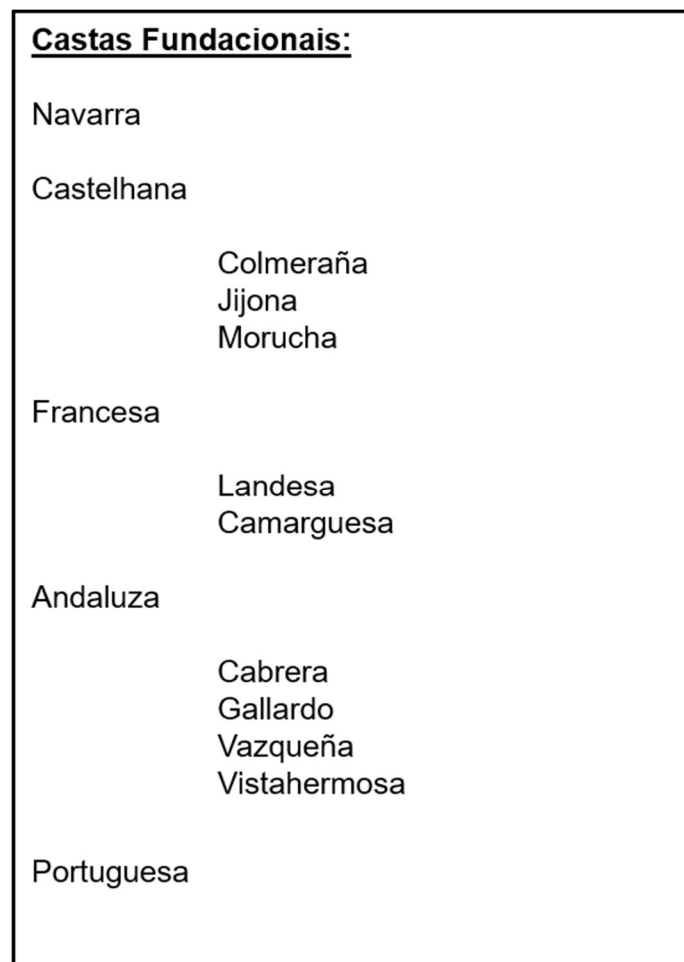


Figura 1- Esquema representativo das castas fundacionais e subcastas (adaptado de Lucas, 2013).

Em consequência de uma seleção rigorosa, definiram-se os encastes, que são grupos de animais com origem genética conhecida e que se mantiveram separados reprodutivamente de outros, durante um período mínimo de 30 anos, apresentando características morfológicas e funcionais fixadas e distintas de outros grupos (Cabrera 2012; Lucas 2013; Rozas 2014). Das castas fundacionais, podemos considerar praticamente extintas a Navarra e a Castelhana, subsistindo a Francesa e a Portuguesa num reduzido número de ganadarias. A casta Andaluza é a que tem vindo a prevalecer ao longo dos anos e a que deu origem à maioria dos encastes que estão na base das ganadarias atuais. Designadamente, a subcasta Vistahermosa foi aquela que, por substituição direta ou por cruzamentos sucessivos, veio a absorver a quase totalidade da ganadaria brava (Figura 2) (Montesinos 2002; Lucas 2013).

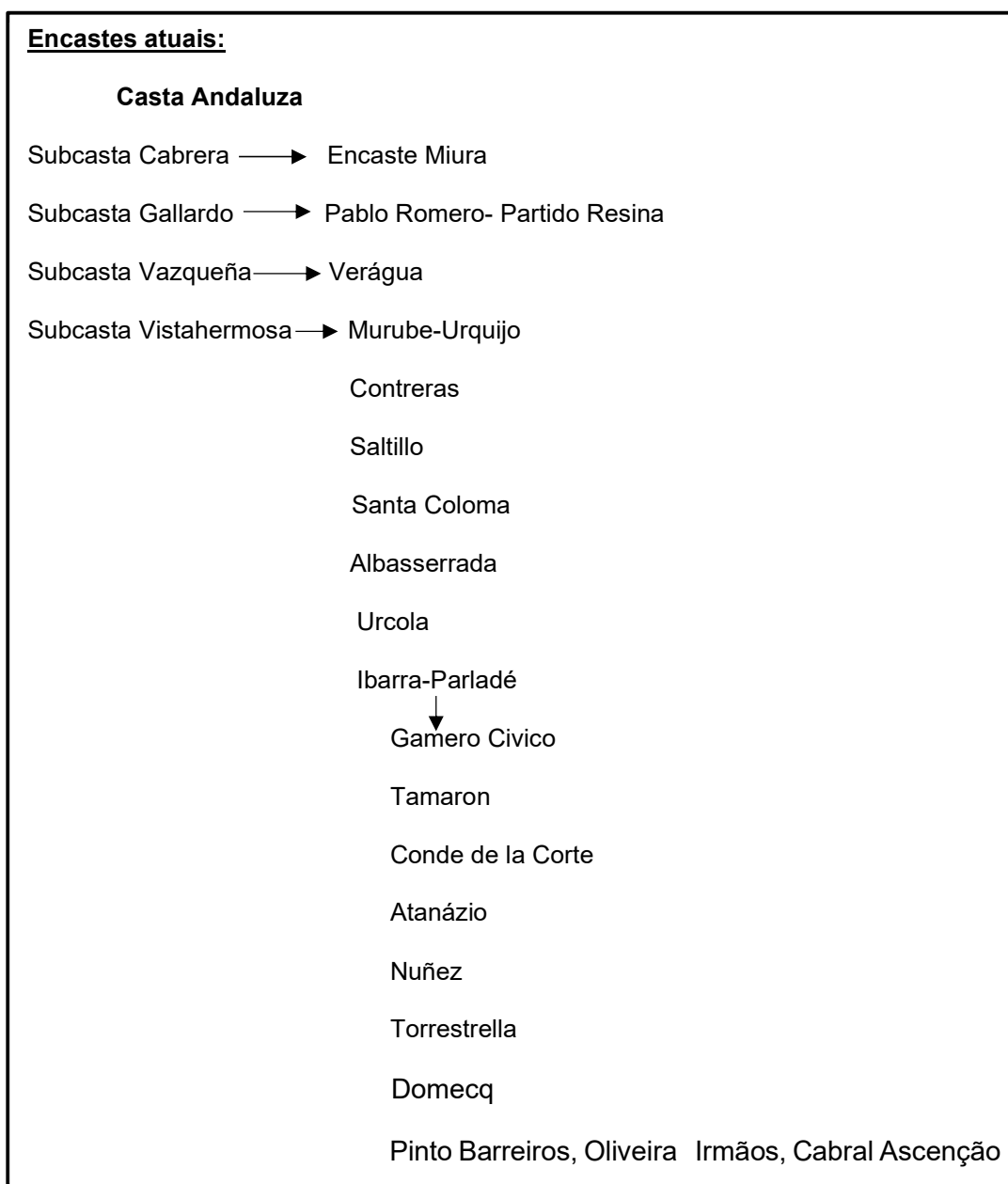


Figura 2- Esquema representativo da origem dos encastes atuais (adaptado de Lucas 2013).

2.3 Solar da raça em Portugal

Os dados mais atuais contabilizam 92 ganadarias ativas no território nacional, inscritas na Associação Portuguesa de Criadores de Toiros de Lide (Lucas 2019). A distribuição das ganadarias por concelho encontra-se ilustrada na Figura 3.

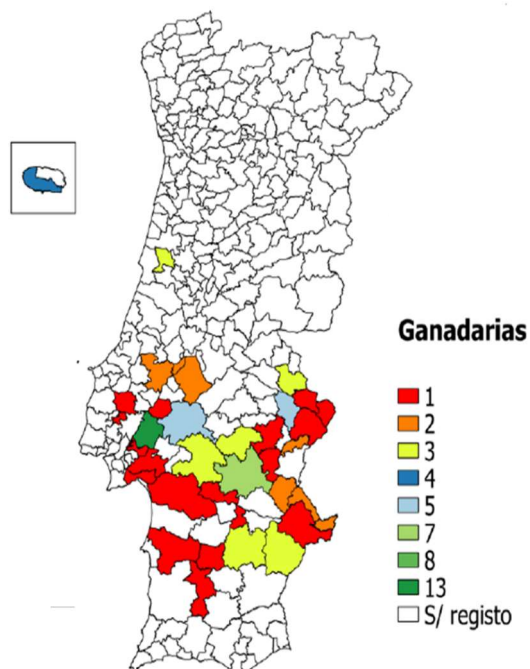
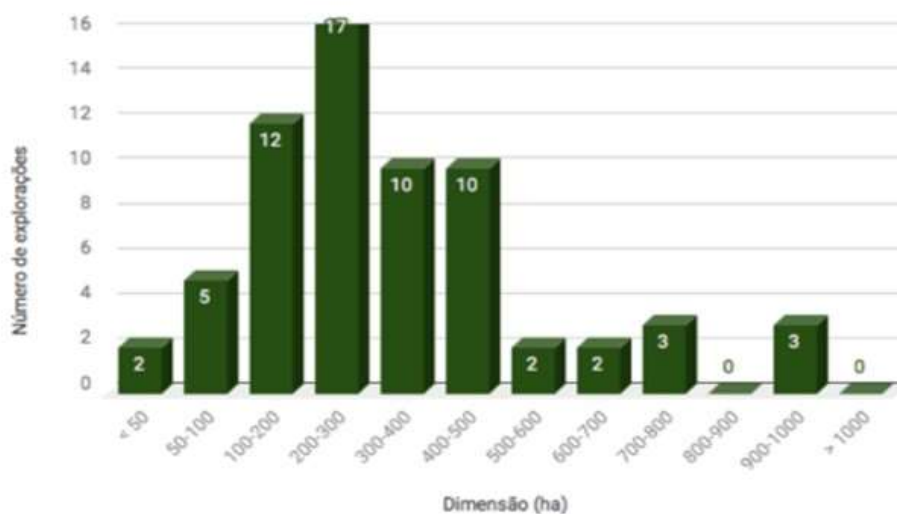


Figura 3- Distribuição das 84 ganadarias ativas em Portugal continental e Açores (Ilha Terceira) no ano de 2017 (adaptado de Farto 2018).

A área média das ganadarias portuguesas é de 300 ha, o que justifica a concentração da maioria das ganadarias no Ribatejo e Alentejo, onde a área ocupada em média pelas explorações pecuárias é superior à que se verifica noutras regiões (Gráfico 1) (Farto 2018).

Gráfico 17- Dimensão das ganadarias portuguesas (retirado de Farto 2018).



Com um efetivo total de 23811 animais, encontram-se inscritas no Livro Genealógico de Adultos (LGA) 6274 fêmeas de raça Brava de Lide (Lucas 2019). O número de animais por ganadaria varia entre < 50 e 600 animais (Farto 2018), como representado no Gráfico 2. A maior parte das ganadarias possui um efetivo de fêmeas reprodutoras constituído por 40 a 100 animais. Apenas três ganadarias possuem um efetivo de fêmeas reprodutoras superior a 200 animais (Gráfico 3). A média de idades das fêmeas do efetivo reprodutor situa-se nos 9.21 ± 4.3 anos e 40% das fêmeas tem idade compreendida entre 4 e 8 anos (Mendes 2018).

Gráfico 18- Efetivo de animais da raça Brava por número de ganadarias (retirado de Farto 2018).

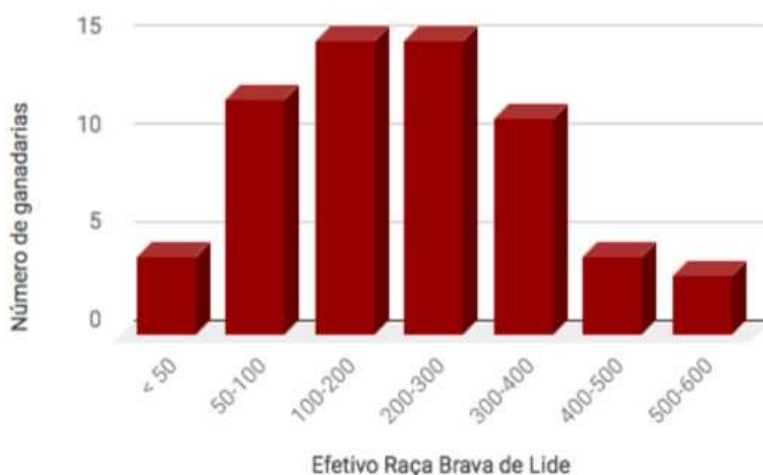
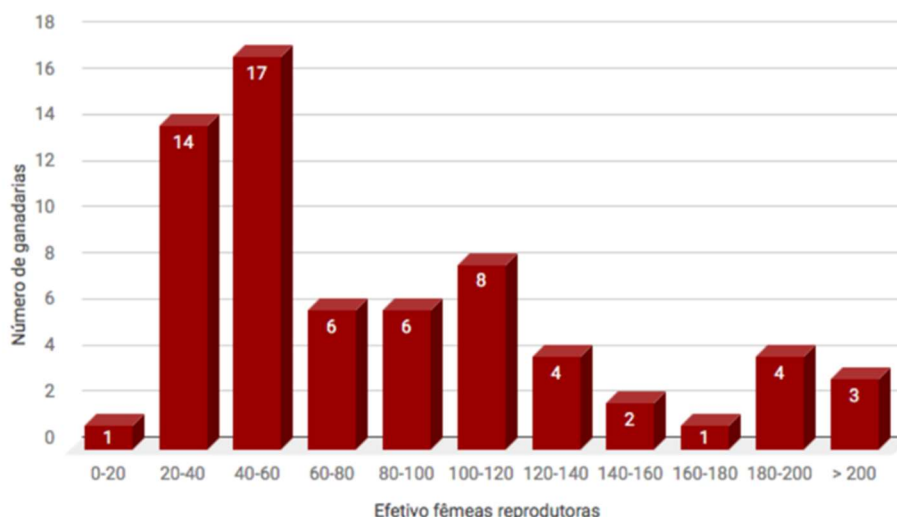


Gráfico 19- Efetivo de fêmeas reprodutoras por número de ganadarias (retirado de Farto 2018).



O efetivo de fêmeas reprodutoras tem-se mantido relativamente constante ao longo da última década, rondando os 6000 animais, como referido por Mendes (2018). O sucesso de uma ganadaria reflete-se na bravura dos animais, pelo que a escolha dos sementais e do efetivo de fêmeas reprodutoras assume um papel fundamental atendendo ao desempenho durante a lide em praça.

2.4 Particularidades de manejo geral, alimentar e reprodutivo

A produção da raça Brava realiza-se em regime extensivo (Figura 4). Como referido, a rusticidade revela-se uma das suas principais características, na medida em que estes animais mostram grande capacidade de aproveitamento dos recursos naturais à sua disposição (Real Decreto 60/2001).

A maioria das ganadarias localiza-se em regiões de montado, um ecossistema de carácter silvo-pastoril típico da região mediterrânica, encontrado na forma de floresta ou pastagem intercalada por árvores (pastagem sob coberto), cuja espécie prevalente é o sobreiro. Estes campos permitem o aproveitamento agrícola para a produção de pastagens, sendo adequado para a produção de animais em regime extensivo (Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas 2013; Associação Portuguesa da Cortiça 2018). Contudo, em períodos de escassez, é importante que se recorra à suplementação alimentar através da administração de forragens secas e/ou concentrado aos animais (García 2015).



Figura 4- Cerca com lote de touros. Fotografia original.

O tipo de alimentação administrada varia de acordo com a idade e sexo dos animais. Os bezerros iniciam a alimentação com leite materno, devendo ser suplementados com concentrado de iniciação a partir da sexta semana (García 2015). Efetivamente, em média, uma vaca de raça Brava produz 4 kg/dia de leite, o que se torna insuficiente para suprir as necessidades dos animais a partir desta idade (Purroy Unanua 1987). Posteriormente, os bezerros alimentam-se também da pastagem disponível, recorrendo-se à suplementação com forragem seca ou concentrado sempre que necessário (García 2015). A alimentação das fêmeas reprodutoras é constituída por pastagem, pelo que dependendo do seu estado fisiológico, pode ser suplementada com forragem seca e/ou concentrado (García 2015).

Os machos são o principal enfoque da ganadaria, refletindo-se especialmente na suplementação com forragem de alta qualidade, concentrados de cereais e suplementos vitamínicos, principalmente nos últimos 8 a 12 meses antes da lide, denominado período de remate, ou em épocas de menor disponibilidade de pastagem (García 2015).

Os animais de raça Brava caracterizam-se por demonstrar um comportamento marcadamente territorial, o que se reflete nas relações que se estabelecem entre aqueles que ocupam o mesmo espaço. Verifica-se uma hierarquia de dominância, que se manifesta frequentemente por lutas entre animais (Cabrera 2012).

Uma das estratégias adotadas para atenuar as lutas aquando da distribuição dos alimentos é a separação de comedouros no campo. Estes devem ser em número superior ao número de animais existentes no lote e estar colocados devidamente distanciados, a cerca de um metro uns dos outros (Figuras 5 a 8).



Figura 5- Disposição dos comedouros no campo. Fotografia original.



Figura 6- Outro tipo de comedouros dispersos no terreno e devidamente distanciados entre si. Fotografia original.



Figura 7- Detalhe da administração de forragem *ad libitum*. Fotografia original.



Figura 8- Comedouro para administração de concentrado em detalhe. Fotografia original.

Os animais são separados em lotes (Figuras 9 a 13), de acordo com a idade e sexo. A divisão é realizada em lotes de reprodução, geralmente constituídos por 1 semental e 25 a 30 fêmeas reprodutoras, com mais de 2,5 anos de idade que foram aprovados na tentativa; lotes de anojos ou anojas, constituído por machos ou fêmeas com 1 ano de idade; lotes de garraios ou garraias com 2 anos de idade; lotes de novilhos, compostos por machos com 3 anos; lotes de touros, para machos com 4 a 5 anos de idade (Barradas 2015).

Alguns ganadeiros introduzem anojos ou garraios nos lotes dos novilhos ou dos touros como forma de minimizar as lutas entre eles, uma vez que a presença de animais hierarquicamente inferiores atenua a disputa pela liderança (Figura 14).

O contacto humano com os animais de raça Brava é restringido ao mínimo possível, de forma a evitar que estes “ganhem sentido”² ou que sejam expostos a situações de *stress*. Na verdade, estes bovinos possuem um carácter agressivo, principalmente quando o seu território é invadido, se encontram confinados, ou quando estão na presença de humanos (Cabrera 2012).

² “Ganhar sentido”: Capacidade de prever o comportamento dos humanos, o que leva à possibilidade de ataques por investidas.



Figura 9- Lote de fêmeas reprodutoras no campo. Fotografia original.



Figura 10- Lote de anojos (1 ano) no campo. Fotografia original.



Figura 11- Lote de garraios (2 anos) no campo. Fotografia original.



Figura 12- Lote de novilhos (3 anos) no campo. Fotografia original.



Figura 13- Lote de touros (4 anos) no campo. Fotografia original.

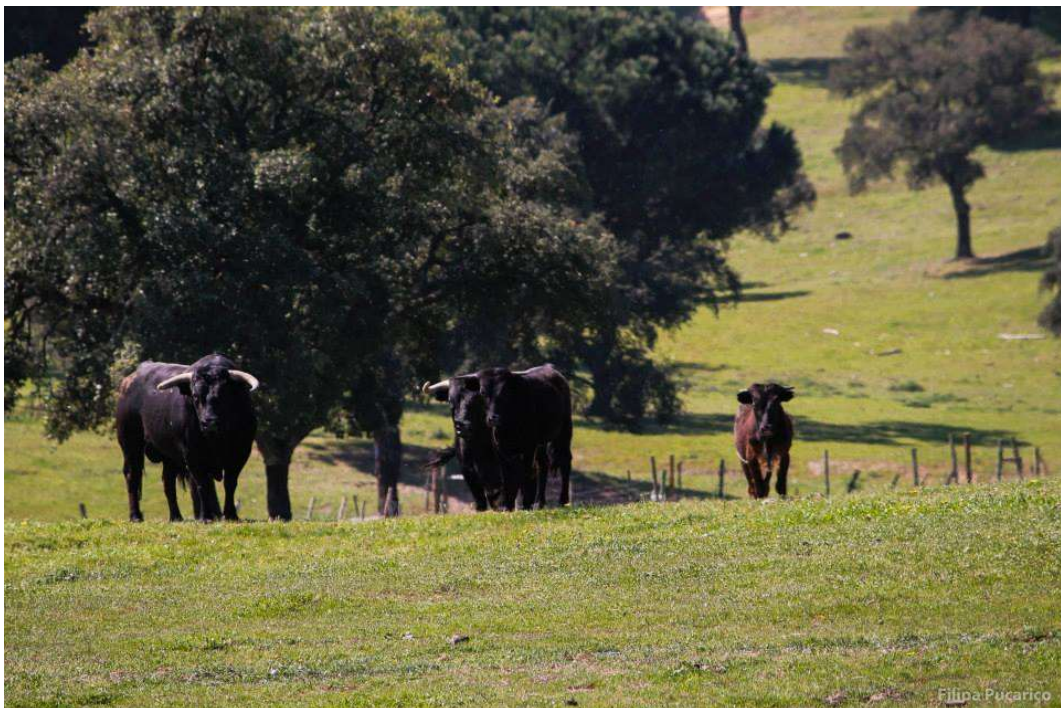


Figura 14- Introdução de garraios num lote de touros. Fotografia cedida por Filipa Pucariço.

O manejo do gado Bravo é realizado por pessoas com formação muito específica, que acompanham diariamente os animais. É necessário um conhecimento aprofundado do comportamento e reações desta raça, para que não ocorram acidentes (García 2015). Para que a condução destes animais seja realizada de forma tranquila, recorre-se geralmente ao uso de cavalos e cabrestos (Figura 15), bovinos maioritariamente de raça Mertolenga treinados na condução de bovinos de raça Brava (Mendes 2018). Com exceção da alimentação, todos os outros procedimentos (manejo reprodutivo, sanitário e outras intervenções) devem ser realizados apenas quando estritamente necessário (Cabrera, 2012).

Para a realização dos procedimentos de manejo é necessário a existência de estruturas específicas para a raça, como mangas (Figura 16), *muecos* ou jaulões de contenção (Figuras 17 e 18) e tentadeiros ou praças de tenta com currais (Figuras 19 e 20).

O tentadeiro é utilizado principalmente para a realização de tentas, provas funcionais de seleção de fêmeas reprodutoras, embora também se possam utilizar para a seleção de machos (García 2015; Mendes 2018).



Figura 15- Condução dos cabrestos entre diversos lotes de bovinos Bravos, realizada pelo maioral. Fotografia original.



Figura 16- Manga de contenção com grupo de animais Bravos. Fotografia original.



Figura 17- Perspetiva lateral de uma jaula de contenção especialmente desenhada para a raça Brava (*mueco* ou *jaulão*). Fotografia original.



Figura 18- Perspetiva frontal do *mueco* ou jaulão. Fotografia original.



Figura 19- Aspeto de um tentadeiro. Fotografia original.



Figura 20- Pormenor dos curros pertencentes ao tentadeiro. Fotografia original.

Após o desmame é realizada a ferra, com o intuito de identificar os animais de acordo com a exploração a que pertencem, respeitando a correspondência com o número da marca auricular oficial, na presença do responsável do Livro Genealógico de Nascimento. É mais comum a aposição a fogo, embora também se possa efetuar através de azoto líquido. São colocadas 4 marcas (Figura 21): a letra P na tábua do pescoço, correspondente ao Livro Genealógico da raça; o algarismo do ano de nascimento na espádua; o número de ordem da ganadaria no costado; o ferro da ganadaria na anca ou coxa (APCTL 2006).

Como forma de proteger a integridade dos cornos e para minimizar as mortes por cornadas com perfuração, algumas ganadarias optam por colocar *fundas* nos touros (Figura 22). Após a imobilização do animal, é aplicado um material constituído por fibra de vidro que se molda em torno dos cornos.



Figura 21- Animal após a ferra. Fotografia original.



Figura 22- Touro após a colocação de fundas. Fotografia original.

Como referido, a seleção de reprodutores é realizada através da tenta, uma prova funcional de bravura que permite ao ganadeiro avaliar o comportamento do animal perante dois estímulos diferentes, um fixo e outro móvel. O estímulo fixo também é denominado por prova do cavalo (Figura 23). O estímulo móvel é realizado com a muleta (Figura 24).

Durante a prova, o ganadeiro anota a pontuação relativa à prestação dos animais e atribui uma determinada classificação, atendendo à forma como o animal responde perante os estímulos que lhe são apresentados (Lomillos et al. 2013; Rozas 2014).

Em Portugal, a tenta realiza-se apenas nas fêmeas entre os 2 e os 3 anos de idade, nos meses de outono e primavera. As fêmeas aprovadas correspondem aos animais que têm as características pretendidas pelo ganadeiro. As fêmeas que receberem aprovação são mantidas na ganadaria, a fim de integrar o lote de reprodutoras e transmitirem as suas características à descendência (García 2015).

Cada ganadeiro tem um método de registo do comportamento dos animais durante a tenta e respetiva classificação. Geralmente é utilizada uma pontuação numa escala de 0 a 10. São utilizadas como reprodutoras apenas as fêmeas que obtêm classificações iguais ou superiores a 7 pontos.

Na avaliação durante a tenta considera-se em primeiro lugar o comportamento no início da tenta, seguindo-se a resposta ao estímulo fixo, a resposta ao estímulo móvel e por último o comportamento global durante toda a tenta. Durante a primeira fase, é avaliada a forma como o animal entra no tentadeiro: a velocidade de entrada, se para na porta e se percorre toda a distância do tentadeiro. Perante os estímulos fixo e móvel, e de acordo com a especificidade de cada um, contabiliza-se o número de estímulos realizados, se recusa o estímulo, se falha a investida, se foge do estímulo, a que distância investe, durante quanto tempo, qual a posição da cabeça e dos membros posteriores na investida, qual a reação ao estímulo, se se fixa perante o estímulo e se repete sem paragens, qual a reação a este, etc. A última fase diz respeito ao comportamento global durante a prova, no qual se avalia se o animal tem preferência por algum local específico do tentadeiro (querença) e se se desloca mais vezes para esse local, se vocaliza, se efetua o movimento de escavar com os membros anteriores, se trote, se galopa, se defeca ou urina durante a tenta, etc. (Mocho 2012; García 2015).

Cada vez mais é prática comum submeter os machos e as fêmeas de tenta a exercício regular como forma de desenvolver a massa muscular e aumentar a resistência ao exercício. Este procedimento denomina-se ginástica funcional e pode ser feito por diversos métodos, tanto a trote como a galope, durante diferentes intervalos de tempo (Cabrera 2012; Rozas 2014; García 2015).



Figura 23- Estímulo fixo representado pela vara. Fotografia original.



Figura 24- Estímulo móvel representado pela muleta. Fotografia original.

A reprodução da raça Brava faz-se maioritariamente por monta natural. Os sementais são selecionados entre os 4 e os 5 anos após a lide, caso demonstrem as características morfológicas e comportamentais que o ganadeiro considere ideais para transmitir à descendência durante a lide em praça. As fêmeas que tenham atingido 65 a 70% do peso vivo adulto, cerca de 300 kg, podem iniciar a sua vida produtiva (García 2011). Contudo, nesta raça, apenas são introduzidas nos lotes de reprodução após serem aprovadas na tenta.

Procura-se concentrar os partos de forma a que estes se realizem nos meses de maior produção de pastagem, a fim de colmatar as necessidades nutritivas dos animais, bem como criar lotes homogéneos e otimizar o manejo alimentar e sanitário. O semental é introduzido no lote reprodutor entre os meses de outubro e novembro e retirado durante os meses de março e abril (Mendes 2018) (Figura 25).

Apesar da baixa taxa de fertilidade média, as ganadarias atuais estão cada vez mais sensibilizadas para a importância do manejo reprodutivo, para técnicas reprodutivas como a sincronização de estros ou o diagnóstico de gestação (Mendes 2018).



Figura 25- Introdução do semental no lote de fêmeas reprodutoras. Pormenor da resposta de *flehmen*. Fotografia original.

3. BEM ESTAR ANIMAL

3.1 Bem-estar nas ganadarias de raça Brava de Lide

O bem-estar define-se como “o estado de um indivíduo em relação às tentativas realizadas para lidar com o seu meio ambiente” (Fraser and Broom 1997, p. 256, tradução livre).

Segundo a Organização Mundial da Saúde Animal (Office International des Epizooties [OIE]),

(...) O bem-estar animal é um assunto complexo e multifacetado com dimensões científicas, éticas, económicas, culturais, sociais e políticas. (...) É uma das prioridades da OIE. Esta instituição, através dos países membros, é a organização internacional responsável por estabelecer as normas relativas a este tema (OIE 2004, p. 1³, tradução livre).

Este conceito é interpretado de diferentes formas, conforme cada região e cultura, bem como a contribuição que os animais têm para a sociedade em que se inserem. Tendo em conta estes princípios, a OIE desenvolveu padrões internacionais que se atualizam continuamente, de acordo com bases científicas, com o objetivo de ter uma perspetiva global de todos os sistemas em que os animais se enquadram, para que tenham efetivamente impacto no bem-estar animal. O trabalho mais recente sobre indicadores de bem-estar, realizado pela OIE, teve como enfoque os sistemas de produção de bovinos de leite e carne. De acordo com as referidas normas, os critérios enumerados para avaliar o bem-estar de bovinos de carne, cujo sistema de produção é o mais próximo do utilizado para a raça Brava de Lide, definem os seguintes indicadores: comportamento; taxa de morbilidade; taxa de mortalidade; alterações da condição corporal; eficiência reprodutiva; estado físico; resposta ao manejo; complicações resultantes de procedimentos de rotina (OIE 2013).

Gil (2005) afirma que o bem-estar é o fator mais importante para a saúde animal, sendo imprescindível para a obtenção de um benefício económico máximo. Assim, a sustentabilidade e produtividade de uma exploração, bem como a qualidade dos produtos, a segurança alimentar e consequentemente a saúde pública, estão diretamente relacionados com o bem-estar animal (Food and Agriculture Organization [FAO] 2008).

Montes (2018) estudou o bem-estar animal em 21 ganadarias de raça Brava de Lide. Relativamente aos indicadores gerais da exploração, concluiu que a maioria das ganadarias estava na categoria máxima de bem-estar, na qual se destacavam positivamente a carga ganadeira, a supervisão de animais, as instalações, a idade de refugo, a idade ao desmame

³ Adaptado de Padrões Internacionais de Bem-estar Animal, OIE, disponível em: <http://www.oie.int/en/animal-welfare/an-international-network-of-expertise/>

e o manejo sanitário. Os indicadores relacionados com a alimentação na última fase de produção também obtiveram resultados favoráveis, principalmente devido à condição corporal, tipo de administração de forragem e a sua qualidade e disponibilidade de água de bebida. Os indicadores relacionados com o alojamento dos animais na última fase de produção da maioria das ganadarias atingiram a classificação máxima de bem-estar, tal como se verificou para os indicadores anteriormente mencionados. A superfície disponível, a superfície ocupada por árvores e o tipo de solo dos lotes foram os pontos principais que levaram à obtenção de tal classificação. O comportamento dos animais na última fase de produção da maioria das ganadarias também obteve a melhor pontuação possível de bem-estar, nomeadamente devido à procedência e idade dos animais. Cerca de metade das ganadarias estudadas atingiram a melhor classificação de bem-estar para o indicador de sanidade dos animais na última fase de produção, principalmente pelos parâmetros relacionados com parasitas externos, claudicações, acidose e diarreia.

Acresce ainda o impacto ambiental das ganadarias, uma vez que esta raça tem um papel positivo para os ecossistemas e proteção do meio ambiente devido a um alto potencial de sequestro de carbono e uso controlado de fertilizantes azotados, o que leva a perdas reduzidas de azoto. No caso de ocorrer a substituição das ganadarias pelas culturas agrícolas mais comuns da região, o sequestro de carbono diminuiria 50% e a utilização de adubos azotados aumentaria três vezes (Farto 2018).

3.2 Dor

A dor é definida como

(...) uma experiência sensitiva e emocional aversiva, que representa para o animal a consciência de dano ou de potencial destruição da integridade dos tecidos. Tanto a fisiologia, como o comportamento, são alterados de forma a reduzir ou evitar a ocorrência de lesões, diminuir a probabilidade de recorrência e promover a recuperação (Molony and Kent 1997, p. 266, tradução livre).

Outros autores referem que a dor aguda é interpretada como um mecanismo de defesa, uma vez que tem como função proteger o organismo de estímulos potencialmente lesivos (Viñuela-Fernández et al. 2007).

“A dor aguda é um aviso essencial que nos alerta para a presença de um estímulo prejudicial no ambiente. Uma picada de agulha origina este tipo de dor como resposta” (Woolf and Salter 2000, p. 1765, tradução livre). Lesões somáticas ou viscerais são passíveis de provocar dor aguda nos animais, o que leva ao desenvolvimento de um processo de reparação e cicatrização. Na ausência de complicações associadas a este processo, a dor aguda extingue-se quando cessa o estímulo que desencadeou a lesão inicial. Dor somática é a que

se origina na pele, músculos, articulações, ligamentos ou ossos. Já a dor visceral resulta da lesão de órgãos internos. O impacto psicológico associado a lesões que causem dor aguda é bastante reduzido, e limitando-se a uma ansiedade leve (Rozas 2014).

Para que o animal perceba um estímulo como doloroso, este tem de ser conduzido desde os recetores periféricos, nociceptores, até ao sistema nervoso central (SNC), de modo a poder ser interpretado e daí resultar uma ação de resposta.

“(…) Os nociceptores são terminações nervosas livres de fibras A δ , constituídas por uma camada fina de mielina, ou de fibras C, não mielinizadas. Estas fibras respondem a estímulos nocivos, tais como mecânicos, térmicos e químicos, gerando potenciais de ação que se deslocam através dos axónios aferentes para o corno dorsal da medula espinhal” (Viñuela-Fernández et al. 2007, p. 228, tradução livre).

Quando atinge a medula espinhal, o estímulo sensitivo é transmitido ao tálamo, onde é interpretado como estímulo doloroso. Este estímulo permite a ativação de reflexos que levam a um aumento da resposta autonómica e à libertação de neurotransmissores como o glutamato e a substância P. As capacidades de deteção e memorização de perigos, que foram desenvolvidas pelos seres vivos, são o resultado de um processo evolutivo que atribui uma característica de plasticidade ao sistema nervoso. A plasticidade manifesta-se como um aumento progressivo na resposta do sistema nervoso a estímulos nociceptivos repetitivos (Woolf and Salter, 2000).

Fraser e Broom (1997) afirmam que “um estímulo percebido como doloroso só terá valor se o indivíduo necessitar de tomar alguma atitude e essa atitude dependerá das circunstâncias” (Fraser and Broom, 1997, p. 269, tradução livre).

Uma vez que um estímulo doloroso é transmitido, o seu processamento é realizado através de duas componentes, a sensação, que corresponde à nociceção e se refere a um nível reduzido de componentes neurológicos e bioquímicos das vias de processamento da dor, e a percepção, que representa a interpretação do estímulo e por isso está associada a níveis superiores de processamento cognitivo (Millman 2013).

O reconhecimento da dor nos animais, em particular nos ruminantes, é um desafio, na medida em que a demonstração desta condição poderá torná-los mais vulneráveis a predadores, o que se traduz numa desvantagem para estes animais (Fraser and Broom 1997). Esta característica confere uma resistência superior à dor nos ruminantes, o que pode dificultar a sua identificação através do comportamento (Stilwell et al. 2007). Os trabalhos que têm sido realizados no sentido de identificar e quantificar a dor, avaliam frequentemente como indicadores as alterações do comportamento, alterações de parâmetros fisiológicos, alterações de valores hematológicos e bioquímicos (Fazio and Ferlazzo 2003).

A dor é uma sensação individual, o que implica que só possa ser verdadeiramente reconhecida pelo indivíduo que tem essa experiência (Millman 2013). Consequentemente, os métodos utilizados para medir esta sensação são indiretos. A avaliação do comportamento bovino associado à dor pode ser realizada de forma subjetiva ou objetiva. Na prática clínica é mais utilizada a avaliação subjetiva, que recorre a escalas globais de dor, nas quais os clínicos ou os tratadores dos animais classificam os comportamentos observados. As medidas mais utilizadas para a classificação da dor são o comportamento adotado, atitude e letargia, que proporcionam uma informação pouco específica (Egger et al. 2013; Millman 2013).

Gleerup et al. (2015) desenvolveram uma escala para identificação de comportamentos relacionados com dor em bovinos de leite. Os parâmetros selecionados foram: a atenção dos animais em relação ao que os rodeia; a posição da cabeça; a posição das orelhas; a expressão facial; a resposta à aproximação e a postura da coluna vertebral. Cada parâmetro foi descrito de acordo com três níveis.

Existem sistemas que permitem fotografar ou filmar os animais, para que posteriormente se avalie o seu comportamento num intervalo de tempo superior a uma observação pontual. Estas técnicas são frequentemente utilizadas para avaliar o sistema locomotor, nomeadamente detetar claudicações em vacas de aptidão leiteira (O'Callaghan et al. 2003; Millman 2013; Gleerup et al. 2015). A avaliação objetiva é utilizada principalmente em contexto experimental, o que permite a observação de reações à dor em tempo real ou através de gravações de vídeo. Os comportamentos observados podem ser posteriormente quantificados em frequência e duração (Millman 2013).

Foram desenvolvidos inúmeros trabalhos de investigação que visam induzir o comportamento de dor nas diversas espécies animais, para que este possa ser quantificado relativamente ao tempo que decorre entre a perceção do estímulo e a resposta ao mesmo, bem como estabelecer um limiar a partir do qual um dado estímulo produz uma resposta no animal (Millman 2013).

A principal desvantagem da utilização de dados comportamentais é a subjetividade intrínseca a este método, uma vez que cada avaliador pode valorizar de forma diferente determinado comportamento. Perante um estímulo nociceptivo igual, dois animais diferentes terão uma perceção e resposta distintas, uma vez que se verifica uma variabilidade individual neste processo de interpretação da dor (Rozas 2014).

Por outro lado, a avaliação de parâmetros fisiológicos permite a quantificação de substâncias libertadas aquando da alteração do estado de homeostasia de um indivíduo (Stilwell 2012). Se a alteração estiver fora de um limite tolerável pelo animal, então considera-se que este está em *stress*. Como resposta, surge uma ação regulatória por parte do organismo. Numa situação de perigo, a resposta é rápida e de curta duração. O sistema nervoso simpático e a medula da glândula adrenal, através da libertação de adrenalina e

noradrenalina, levam à mobilização de reservas de forma a que exista uma maior quantidade de energia pronta a ser utilizada. Se for necessária uma resposta mais prolongada, a regulação será exercida pelo hipotálamo, pela adeno-hipófise, pelo córtex da adrenal e através da secreção de glucocorticoides (Fraser and Broom 1997).

3.3 Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

Perante um estímulo aversivo, os neurónios do núcleo paraventricular, localizado no hipotálamo anterior, produzem duas hormonas, a hormona libertadora de corticotrofina (CRH) e a arginina vasopressina (AVP). A CRH atinge o lobo anterior da hipófise através do sistema-porta hipofisário, estimulando-a a libertar a hormona adrenocorticotrófica (ACTH) na corrente sanguínea. A AVP atua como um segundo fator libertador de ACTH. Ao atingir o córtex da adrenal, a ACTH estimula os seus recetores a libertar glucocorticoides, nomeadamente o cortisol. Estes são os principais constituintes do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Os valores fisiológicos de cortisol plasmático vão exercer um mecanismo de *feedback* negativo na libertação de CRH e ACTH (Papadimitriou and Priftis 2009; Stilwell 2009; Ferlazzo et al. 2018).

Na maioria dos estudos que têm sido realizados sobre o stress e a dor, é utilizado o cortisol como indicador quantitativo destes. Embora seja mais comum medir-se a concentração desta hormona no plasma sanguíneo, a sua concentração também pode ser avaliada na saliva, urina, fezes e pêlo (Heimbürg et al. 2018).

Aproximadamente 70% do cortisol plasmático liga-se à proteína transcortina, o que constitui uma das suas principais reservas no organismo, 20% à albumina e os restantes 10% estão livres (Stilwell 2009). A percentagem de cortisol livre corresponde à quantidade que pode ser quantificada na saliva, uma vez que o cortisol que não está ligado a proteínas se difunde rapidamente do sangue para a saliva (Nagel et al. 2016).

A ativação do eixo HHA dá-se, entre outras, em situações de dor aguda, culminando na libertação de cortisol. Através da medição dos níveis desta hormona, excluindo outras situações de *stress*, é possível estimar-se a amplitude da resposta à dor, ou seja, concentrações mais elevadas de cortisol estão relacionadas com estímulos mais dolorosos, enquanto que concentrações mais baixas correspondem a estímulos menos dolorosos (Molony et al. 1993; Fisher et al. 1996; Ley et al. 1996; Stilwell 2012; Bustamante et al. 2015).

A produção de cortisol no organismo apresenta um “efeito de teto”, o que se traduz num valor máximo a partir do qual não há alteração nos níveis de cortisol, mesmo que o estímulo doloroso aumente de intensidade (Molony and Kent 1997). O temperamento pode ter influência na quantidade de cortisol libertada pelos animais, como é exemplo a diferença de comportamentos adotados perante um perigo (Broom 1988; Harbuz and Lightman 1992;

Stilwell et al. 2007). Dentro da mesma espécie, existem raças ou animais que optam pela resposta de luta, enquanto outros preferem fugir perante um estímulo de ameaça. A libertação de cortisol é menor no primeiro caso e maior no segundo, respetivamente (Stilwell 2012).

3.4 Opioides endógenos

Devido à sua semelhança com os opioides endógenos, os opiáceos participam na modulação da dor através da sua ligação a recetores opioides μ , δ e κ , distribuídos amplamente ao longo do SNC, o que lhes confere a capacidade de proporcionar um efeito analgésico. A sua produção dá-se no hipotálamo e na hipófise, a partir de três proteínas precursoras, a pro-opiomelanocortina (POMC), pro-enkefalina e prodinorfina. Da classe dos opioides endógenos, as β -endorfinas são as que têm representado maior atividade. Numa situação de *stress*, a secreção de CRH provoca um aumento na produção do precursor POMC na hipófise anterior, sendo o resultado a libertação de β -endorfinas, bem como de ACTH, uma vez que esta hormona também se origina a partir da POMC. Por outro lado, através de uma reação de *feedback* negativo, a secreção de CRH é inibida pelas β -endorfinas, o que permite controlar o estímulo primário, bem como prevenir uma reação exagerada do eixo HHA (Fraser and Broom 1997; Ferlazzo et al. 2018). No trabalho realizado por Ferlazzo (2018) em cavalos de desporto, foi sugerido que o *stress* provocado pelo exercício pode levar ao aumento da libertação de β -endorfinas, que depende da magnitude e intensidade do exercício praticado. Nestas condições, as β -endorfinas podem atuar no sistema nervoso central (SNC), induzindo o controlo de vários sistemas funcionais como o eixo HHA, a atividade motora e a perceção da dor.

Num estudo realizado por Chen et al. (2014) em ratos, verificou-se que animais com alterações no sistema de opioides endógenos apresentavam valores mais baixos de analgesia, devido à perda de inibição induzida pelos recetores μ na medula espinhal. Estes recetores localizam-se nas fibras aferentes primárias, bem como no corno dorsal da medula espinhal, sendo a sua principal função a de inibição da libertação de neurotransmissores excitatórios, nomeadamente a substância P. Estas conclusões indicam que o aumento da libertação de β -endorfinas pode estar associado a mecanismos de resposta desenvolvidos com o intuito de controlar a secreção da substância P.

Estudos recentes afirmam que os opioides endógenos podem ser importantes para clarificar como se realiza a transição entre a dor aguda e a dor crónica, embora o papel específico das β -endorfinas no sistema nociceptivo permaneça por esclarecer (Bustamante et al. 2015).

A substância P encontra-se concentrada em determinados neurónios, tais como os dos gânglios das raízes dorsais, dos gânglios basais, do hipotálamo e do córtex cerebral, o

que lhe confere um papel preponderante na neurotransmissão da dor, embora também possa ser encontrada na membrana de outros tipos de células. A sua função é a de transmitir impulsos nervosos através das fibras sensitivas que participam na mediação da dor, tendo também funções na modulação do movimento (Fraser and Broom 1997).

II. OBJETIVOS

O cortisol é a hormona mais comumente utilizada para identificar e quantificar a magnitude da resposta de *stress* e dor, uma vez que, concentrações mais elevadas de cortisol podem estar relacionadas com maiores níveis de *stress* e dor, enquanto que concentrações mais baixas podem correspondem a menores níveis de *stress* e dor (Molony et al. 1993; Fisher et al. 1996; Ley et al. 1996), não invalidando, contudo, que animais que apresentem níveis reduzidos de cortisol não possam estar sob situações de *stress* (Stilwell 2012). Num mesmo grupo, perante um estímulo de ameaça, podem encontrar-se animais que optam pela resposta de luta, enquanto outros preferem fugir. A libertação de cortisol será menor no primeiro caso e maior no segundo, respetivamente (Stilwell 2012).

Os bovinos da raça Brava de Lide apresentam características comportamentais muito próprias, sendo a produção de bravura a finalidade da criação destes animais. A seleção das fêmeas reprodutoras realiza-se através de uma prova funcional de comportamento/bravura (tenta), onde os animais são seriados em função do desempenho na prova e na nota que lhes é atribuída.

O objetivo geral deste trabalho consistiu em investigar a relação entre os níveis de cortisol plasmático e a nota atribuída na tenta, de forma a determinar se os animais com melhor desempenho de bravura apresentam valores inferiores de cortisol plasmático.

Dentro da raça Brava de Lide existem múltiplos encastes que exibem características morfológicas e comportamentais muito distintas (Lucas 2013). Foi ainda objetivo deste trabalho, avaliar a relação entre os encastes estudados e os níveis de cortisol plasmático obtidos.

O temperamento, o medo, a ansiedade, o estabelecimento de hierarquias, o maneo, a presença de humanos, a contenção, bem como outros fatores ambientais podem ter influência na quantidade de cortisol libertada (Broom 1988; Harbuz and Lightman 1992; Grandin 1997; Stilwell et al. 2007). Foi também objetivo da presente dissertação determinar qual a influência dos diferentes métodos de contenção mais utilizados nos níveis de cortisol plasmático dos animais em estudo.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Neste trabalho foram avaliadas 57 fêmeas de bovinos da raça Brava de Lide, com dois anos e meio de idade, provenientes de nove ganadarias diferentes. Na Figura 26, está representado o número de animais utilizados no estudo por ganadaria.

Encaste	Número de animais	Contenção física	Contenção farmacológica
Ganadaria 1	6	Soltas na manga	Garrocha (3 animais)
Ganadaria 2	7	<i>Mueco</i>	-
Ganadaria 3	2	Presas na manga	-
Ganadaria 4	6	Soltas na manga	Zarabatana (4 animais)
Ganadaria 5	6	<i>Mueco</i>	-
Ganadaria 6	7	Soltas na manga	-
Ganadaria 7	14	Presas na manga	-
Ganadaria 8	3	Cabrestos na manga	-
Ganadaria 9	6	Soltas na manga	Garrocha (3 animais)
Total	57	-	-

Figura 26- Encastes participantes no estudo, respetivo número de animais e métodos de contenção física e farmacológica utilizados.

As tentas foram realizadas nos meses de abril, maio e junho de 2018. A duração da tenta foi de 10 a 15 minutos por animal, sendo que a avaliação desta prova foi realizada na respetiva ganadaria pelo ganadeiro responsável. A avaliação efetuou-se numa escala de 0 a 10 valores, de acordo com três parâmetros: prova do cavalo, prova da muleta, prova global. Neste estudo, não houve eliminação de qualquer animal que tenha sido sujeito à prova de seleção.

Foram colhidas para tubos secos duas amostras de 3 a 4 ml de sangue, através de punção na veia da cauda. A primeira amostra foi obtida com os animais em repouso (n=36), enquanto que a segunda foi obtida após a realização da tenta (n=57). Devido a particularidades de maneo de algumas ganadarias, não foi possível obter-se amostras de sangue de todos os animais em repouso, o que implica que o número de amostras colhidas nos animais em repouso difere do número de amostras colhidas nos animais depois da tenta.

A colheita das amostras em repouso foi realizada no período da manhã. A segunda colheita foi realizada em grupos de três animais lidados sequencialmente, imediatamente, 15 minutos e 30 minutos após o final da tenta, respetivamente, aproveitando o intervalo da prova.

Contenção física

Atendendo ao comportamento típico da raça, a colheita de sangue obrigou sempre à realização de contenção física dos animais. O sangue foi colhido em animais soltos na manga (n= 16) (Figuras 26 e 27), presos na manga (n= 8) (Figura 28), soltos na manga com cabrestos (n= 4), ou em jaula de contenção, também designado por *mueco* ou jaulão (n= 8) (Figuras 29 e 30).

Contenção farmacológica

A administração da associação de fármacos anestésicos foi realizada apenas nos animais que estavam em repouso, por via intramuscular de acordo com os dois métodos mais utilizados na prática clínica: com seringa de garrocha nos currais (n= 6) (Figuras 31 e 32), ou com zarabatana com o animal solto na cerca (n=4) (Figuras 33 e 34). A primeira foi realizada em animais contidos nos curros do tentadeiro, enquanto a segunda foi realizada a campo, através da aproximação ao animal por meio de um veículo.

A associação de fármacos anestésicos utilizada era composta por detomidina (0,2 mg/kg), quetamina (2,5 mg/kg) e zolazepam-tiletamina (2 mg/kg). A colheita de sangue realizou-se 10 a 15 minutos após a inoculação da associação dos fármacos anestésicos.



Figura 27- Recolha de sangue com o animal solto na manga. Fotografia original.



Figura 28- Grupo de animais soltos na manga. Fotografia original.

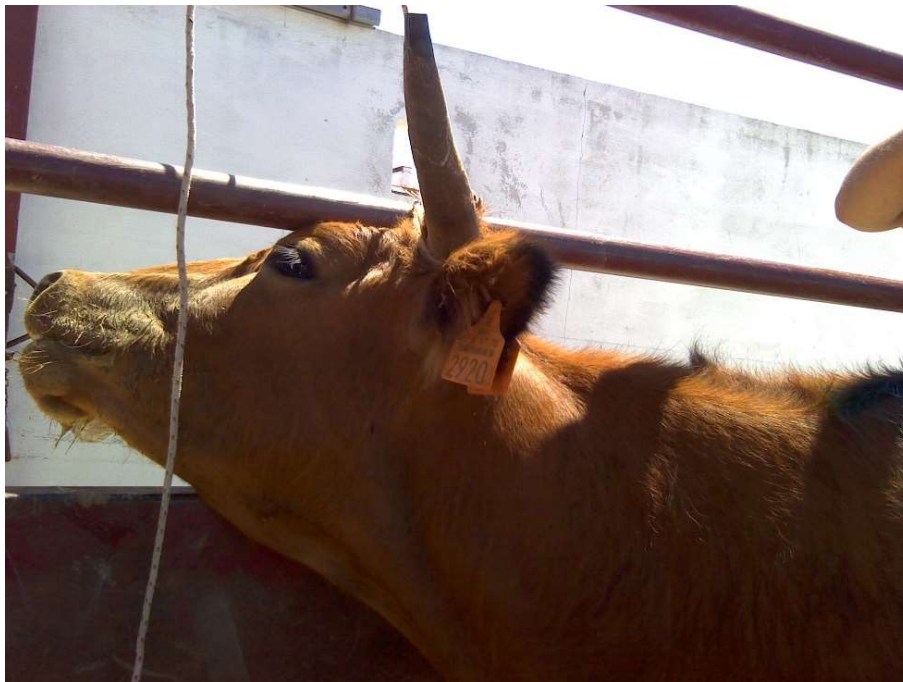


Figura 29- Animal preso pelos cornos na manga. Fotografia cedida por Carolina Ferraz.



Figura 30- Contenção no *mueco*. Fotografia cedida por Carolina Ferraz.



Figura 31- Recolha de amostra de sangue num animal contido no *mueco*. Fotografia original.



Figura 32- Administração de anestesia por via intramuscular através da seringa de garrocha. Fotografia original.

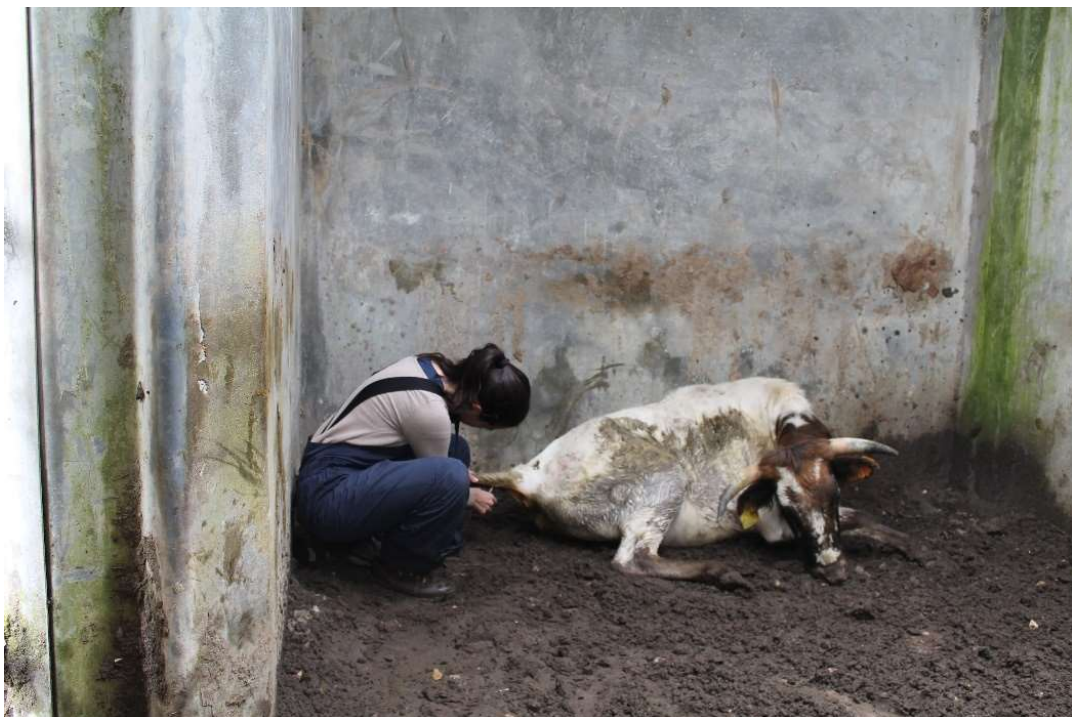


Figura 33- Recolha de amostra de sangue com o animal anestesiado nos curros. Fotografia original.



Figura 34- Preparação de anestesia com zarabatana. Fotografia original.



Figura 35- Recolha de amostra de sangue com o animal anestesiado a campo. Fotografia original.

Determinação de cortisol plasmático

1. O sangue foi recolhido para tubos secos, sendo mantido à temperatura ambiente durante uma hora, em posição vertical. De seguida, as amostras foram mantidas a 4°C durante seis horas.
2. Após a desfragmentação mecânica do coágulo, as amostras de sangue foram centrifugadas a 2500 G durante 10 minutos numa centrífuga Hettich Zentrifugen modelo Universal 32R. O soro foi conservado à temperatura de -20°C, em alíquotas de 250 µl, respetivamente identificadas com o número correspondente a cada animal, bem como a data de recolha da amostra.
3. A determinação dos níveis de cortisol foi realizada no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. As amostras foram mantidas à temperatura ambiente para se proceder ao seu descongelamento. Após esta fase, foram pipetados 150 µl de soro de cada amostra para uma cuvete de análise. O doseamento de cortisol foi efetuado, sem extração da amostra por quimioluminescência (Immulite 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Lda., Amadora, Portugal), utilizando um *kit* comercial (Immulite 1000 cortisol kit, Siemens). As amostras foram analisadas em duplicado, após realização de medições controlo.

Análise estatística

Os dados recolhidos foram analisados estatisticamente com recurso ao programa *GraphPad Prism 7.0* (GraphPad Software, San Diego, California, U.S.A.). As correlações entre os níveis de cortisol (µg/dl) e as notas de tenta foram avaliadas através da determinação do coeficiente de correlação de *Pearson*. Os níveis de cortisol (µg/dl) obtidos em repouso e depois da tenta foram analisados através do teste *T-student* para amostras independentes, bem como os níveis de cortisol nos diferentes métodos de contenção farmacológica. Os testes *One-way ANOVA* e o teste de comparações múltiplas de *Tukey* foram utilizados para determinar se existiam diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos níveis de cortisol dos diferentes encastes e as médias dos níveis de cortisol dos diferentes métodos de contenção física.

Os modelos estatísticos em estudo assumiram um intervalo de confiança de 95%, com um valor de p considerado significativo se inferior a 0,05. Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão.

IV. RESULTADOS

1. CARACTERIZAÇÃO DAS GANADARIAS

Os 57 animais que participaram neste estudo são originários de 9 ganadarias com diferentes encastes, o que se reflete na heterogeneidade da morfologia e comportamento característicos de cada um deles.

Conforme ilustrado na Figura 35, estas ganadarias provêm da casta Andaluza, que deu origem, entre outras, às subcastas Vistahermosa, base das ganadarias 2 a 9, e Vazqueña, representada pela ganadaria 1. A subcasta Vistahermosa originou, entre outros, os encastes Santa Coloma (ganadaria 2) e Ibarra-Parladé (ganadarias 3 a 9).

As ganadarias 3 e 4 são Ibarra-Parladé puro.

O encaste Ibarra-Parladé deu origem a alguns dos encastes estudados:

- Encaste Cabral Ascensão na ganadaria 5
- Encaste Domecq na ganadaria 6
- Encaste Nuñez na ganadaria 7
- Encaste Oliveira Irmãos na ganadaria 8
- Encaste Torrestrella na ganadaria 9.

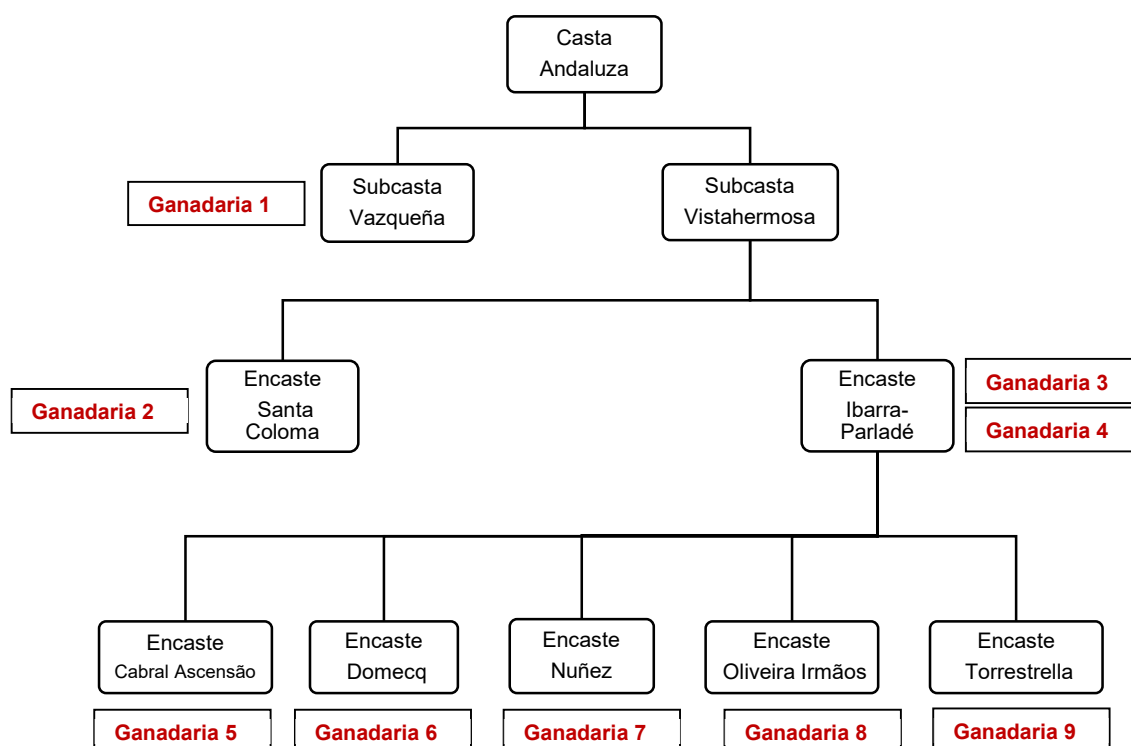


Figura 36- Representação hierárquica das castas, subcastas e encastes presentes nas ganadarias estudadas.

Ganadaria 1: subcasta Vazqueña

Os animais provenientes da subcasta Vazqueña são caracterizados por uma grande diversidade de pelagens, tamanho médio e boa conformação. O seu comportamento no campo é marcado por uma agressividade inata e manejo difícil. A partir dos três anos de idade, são frequentes as lutas entre machos do mesmo lote, uma vez que são uma subcasta com desenvolvimento precoce. Desde cedo desenvolvem comportamentos sociais que culminam em lutas de enorme violência. É frequente a adoção de comportamentos espontâneos e imprevisíveis, o que os leva a investir quando invadem o seu território. Quando submetidos a exercício físico, demonstram uma resistência de curta duração. Hoje em dia existem poucos núcleos que mantenham a subcasta Vazqueña.

Subcasta Vistahermosa

A subcasta Vistahermosa é constituída por exemplares harmónicos, com uma qualidade de bravura superior e uma notória capacidade de resistência ao longo de toda a lide, relativamente a animais de outras origens, o que corrobora o facto da constituição da maioria das ganadarias atuais derivar desta subcasta. Os animais têm porte médio, constituição robusta, cabeça de pequenas dimensões e extremidades finas. A pelagem predominante é a preta, apesar de também existirem animais salgados, vermelhos, castanhos, entre outros. A capacidade de evolução e adaptação desta subcasta levou a que o seu património genético tenha sido mais difundido ao longo das gerações taurinas.

Ganadaria 2: encaste Santa Coloma

O encaste Santa Coloma detém características bem fixadas, que contribuem para definir um protótipo que difere dos restantes bovinos bravos. Caracteriza-se morfológicamente por animais equilibrados, de linhas proporcionalmente finas, harmoniosos, brevilineos, de reduzido peso e volume. O perfil fronto-nasal é subcôncavo, com olhos grandes e expressivos, o que os torna intimidantes e com uma imagem agressiva. A cabeça é comumente denominada “focinho de rato”, devido às suas linhas finas e nariz menos proeminente, o que os diferencia dos animais do encaste Ibarra-Parladé. Ao contrário do resto do corpo, o pescoço é largo, com musculatura desenvolvida e longitude média, compensado por uma barbela de reduzidas dimensões. O tronco é bastante curto e largo, de forma cilíndrica e com grande desenvolvimento muscular e aspeto compacto. A linha dorso-lombar é tipicamente reta, embora por vezes possa ter uma ligeira concavidade. O ventre está em continuidade com o peito, sem sobressair desta linha. A garupa é ampla e de perfil arredondado, devido à

abundância de massa muscular desta região. A cauda tem longitude normal, mas apresenta uma forma mais fina. As extremidades são finas e proporcionais ao resto do corpo, ao contrário do que se verifica por vezes no encaste Domecq e Nuñez, com extremidades excessivamente curtas. As pelagens mais característica do encaste Santa Coloma é a salgada e preta.

O comportamento deste encaste é bastante apreciado pelas características com que responde aos estímulos durante a lide, bem como no campo pelas relações que estabelece com os outros bovinos. Por outro lado, os adultos chegam a ser excessivamente agressivos, o que leva a consideráveis perdas de animais da mesma camada. A sua virtude advém do temperamento marcado, que se traduz na repetição de investidas quando submetidos aos estímulos da tenta e lide. Em contrapartida, o facto de estarem pouco fixados no estímulo, leva a que a investida se dê a média altura e tenha pouca suavidade.

Ganadarias 3 e 4: encaste Ibarra Parladé

Os representantes do encaste Ibarra-Parladé apresentam uma morfologia de linhas finas e harmoniosas. O pescoço destes animais é mais comprido, o que lhes permite adquirir uma postura humilhada, que se caracteriza por uma investida a um nível inferior relativamente à cabeça dos animais, com tendência a ser um movimento descendente, direccionado para o chão.

Ganadaria 5: encaste Cabral Ascensão

O encaste Cabral Ascensão tem a sua origem através de cruzamentos de Soler, Pinto Barreiros e Oliveira Irmãos (Lucas 2013). O seu tamanho é pequeno, têm cornos pouco espessos e compridos, pescoço destacado e com cachão bem desenvolvido, barbela bastante evidente, peito aprofundado e extremidades de curta dimensão. O facto de possuírem um centro de gravidade de baixo nível permite-lhes executar investidas humilhadas e repetidas.

Ganadaria 6: encaste Domecq

Derivado do encaste Ibarra-Parladé, o encaste Domecq é constituído por animais bem conformados e considerados por Lucas (2013), “os mais bonitos e finos da linha Parladé”. Juan Pedro Domecq y Diez implementou uma seleção que pretendia obter animais com maior capacidade de investida, de forma a melhorar o seu rendimento na lide. O ganadeiro concluiu que uma menor altura ao garrote associada a um pescoço mais largo levava a que os animais

investissem com maior qualidade e frequência. A morfologia deste encaste é caracterizada por animais brevilineos, com perfil reto ou ligeiramente acarneirado, cabeça em forma de trapézio invertido, cornos de tamanho inferior aos restantes descendentes do mesmo ramo, embora de tamanho médio e largura fina. O pescoço é bem desenvolvido, mas apresenta uma barbela curta. A linha dorso-lombar é reta ou ligeiramente selada, o peito é proporcionalmente largo e a garupa está pouco desenvolvida, o que resulta em animais mais leves que a média. As extremidades são curtas, especialmente os membros anteriores. A cauda é longa e fina, com cerdas proeminentes. A pelagem mais frequente é a preta, mas também é frequente encontrar a cor castanha. São conhecidos por ter um comportamento regular durante a lide, o que os torna procurados por quem integra o espetáculo. Nem sempre demonstram força suficiente até ao final da lide, mas a sua investida é reta e adotam uma posição humilhada, características que são bastante apreciadas.

Ganadaria 7: encaste Nuñez

O encaste Nuñez possui animais bem conformados, de esqueleto pouco volumoso, brevilineos, de perfil reto ou subcôncavo, e de baixa estatura. A cabeça tem uma forma de trapézio invertida, mas não é excessivamente larga. Os cornos são longos e têm pitons destacados. O pescoço é bastante longo com musculatura proeminente e a barbela neste encaste é desenvolvida. A linha dorso-lombar tem um aspeto selado, o peito é largo e profundo e a garupa é arredondada com a base da cauda saliente. Tal como o encaste Domecq, estes exemplares também possuem membros curtos. A pelagem predominante é a preta, podendo ocorrer a castanha e salgada.

São animais que se destacam na muleta, com tendência a repetir as investidas.

Ganadaria 8: encaste Oliveira Irmãos

O encaste Oliveira Irmãos deriva de cruzamentos originários da linha Ibarra-Parladé, estando na base o encaste Pinto Barreiros cruzado com Tamaron e Gamero Cívico. O encaste Soler também se encontra presente nesta linha, embora em menor quantidade que os restantes.

A morfologia deste encaste caracteriza-se por animais de tamanho médio, olhos grandes e narinas largas, altura ao garrote baixa e membros curtos. A pelagem de cor preta é a mais típica. O seu comportamento caracteriza-se pela bravura e poder de investida, bem como repetibilidade e capacidade de humilhar.

Ganadaria 9: encaste Torrestrella

O encaste Torrestrella soma as características dos encastes Domecq e Nuñez nos seus representantes, apesar de apresentar animais de tamanho superior, maior comprimento, maior largura, barbela desenvolvida, terço anterior imponente e garupa bem desenvolvida. Os perfis cefálicos podem apresentar diversas formas, sendo os mais típicos os retos e os subcôncavos. A cabeça é larga e apresenta frequentemente pêlos encaracolados. Os cornos têm espessura média e comprimento longo. O pescoço é largo e possui musculatura de formato arredondado na região do garrote. O tronco é muito desenvolvido, continuando por uma linha ventral proeminente. A linha dorso-lombar é reta ou ligeiramente selada, terminando com uma cauda de grossura média. Tal como a maior parte dos bovinos de raça Brava, a cor mais comum é a preta, embora seja característico deste encaste a variedade de pelagens, tais como a retinta, castanha e torrada. A pelagem salgada é menos encontrada.

2. CLASSIFICAÇÕES OBTIDAS NA TENTA

Neste trabalho, reuniram-se as apreciações que constavam nas fichas de tenta de cada ganadeiro, relativas à prestação de cada animal.

Contabilizou-se o número de fêmeas que receberam aprovação ou reprovação no cavalo, muleta e na avaliação global de tenta.

No cavalo, o número de fêmeas aprovadas foi de 21 e de reprovadas de 36, correspondendo respetivamente a 37% e 63% do total de animais tentados. A nota da muleta foi igual ou superior a 7 para 20 animais e inferior a 7 para 37 animais, correspondendo respetivamente a 35% e a 65% do total de animais tentados. De acordo com a nota global atribuída, foram aprovadas na tenta 20 vacas e reprovadas 37, correspondendo respetivamente a 35% e 65% dos animais avaliados (Gráfico 4).

Ao analisar os resultados individuais de cada ganadaria (Gráficos 5 a 7) percebe-se que se obtiveram valores diferentes por apenas se considerarem resultados de uma única tenta que não refletem necessariamente o número total de fêmeas aprovadas no conjunto de tentas da ganadaria desse ano.

Gráfico 20- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas nas ganadarias estudadas.

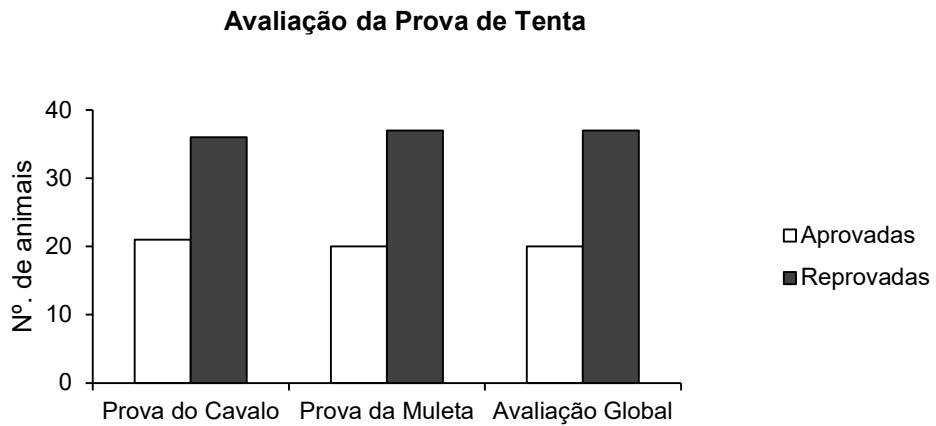


Gráfico 21- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas na prova do cavalo por ganadaria.

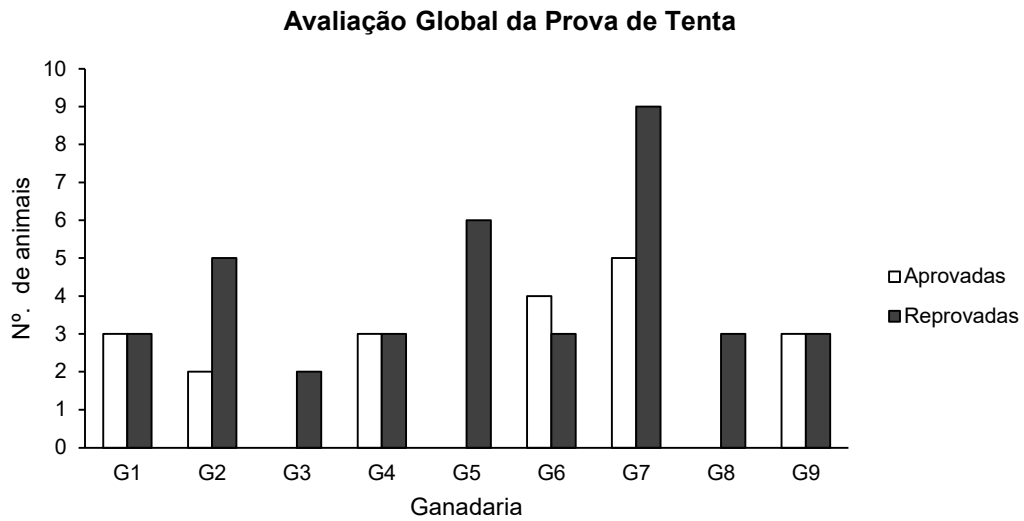


Gráfico 22- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas na prova da muleta por ganadaria.

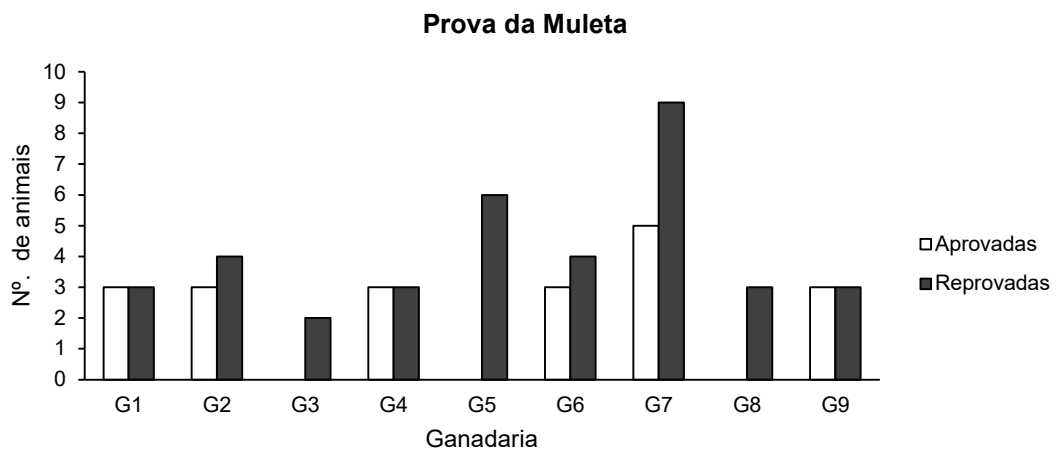
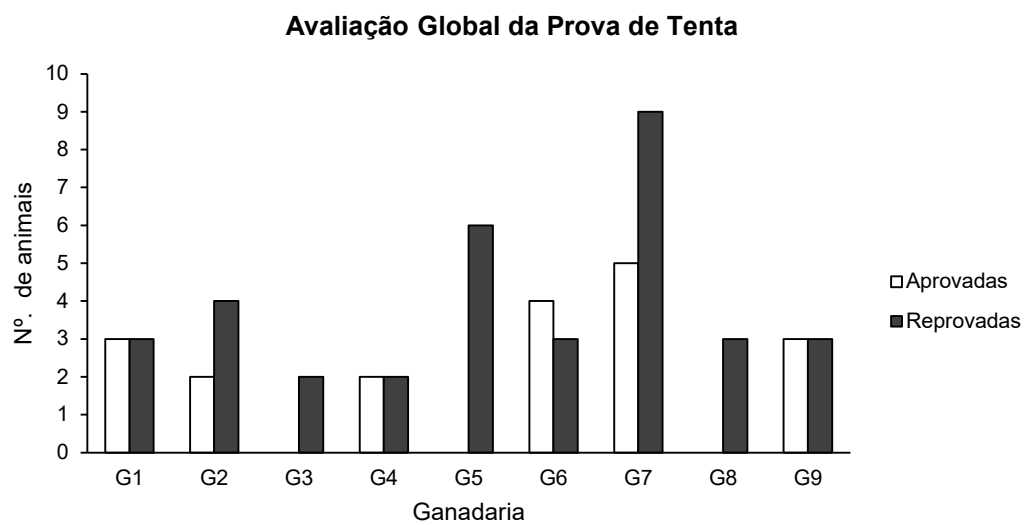


Gráfico 23- Frequência de fêmeas aprovadas e reprovadas na avaliação global por ganadaria.



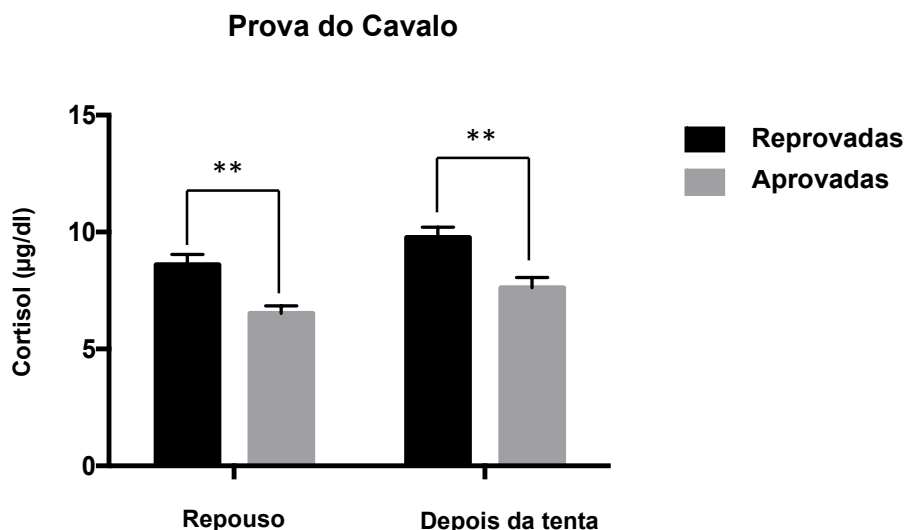
3. DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CORTISOL PLASMÁTICO

3.1 Relação entre bravura e cortisol plasmático

Os resultados confirmaram uma relação entre os níveis de cortisol plasmático e a nota atribuída na prova do cavalo (Gráfico 8). A análise de correlação de Pearson revelou que os níveis de cortisol se correlacionam negativamente com a nota obtida, o que significa que os animais com níveis de cortisol plasmático mais baixo mostraram melhor classificação e, portanto, maior bravura. Esta relação observou-se tanto para as concentrações de cortisol obtidas em repouso ($r=-0,5716$; $p=0,0015$) como para as obtidas depois da tenta ($r=-0,4098$; $p=0,0023$).

Nas fêmeas aprovadas na prova do cavalo, os níveis de cortisol plasmático medidos em repouso ($6,517 \pm 0,3279 \mu\text{g/dl}$) e depois da tenta ($7,616 \pm 0,4432 \mu\text{g/dl}$) foram significativamente inferiores aos dos animais reprovados em repouso ($8,600 \pm 0,4431 \mu\text{g/dl}$) e depois da tenta ($9,774 \pm 0,4366 \mu\text{g/dl}$) ($p=0,0015$ e $p=0,0023$, respetivamente) (Gráfico 8).

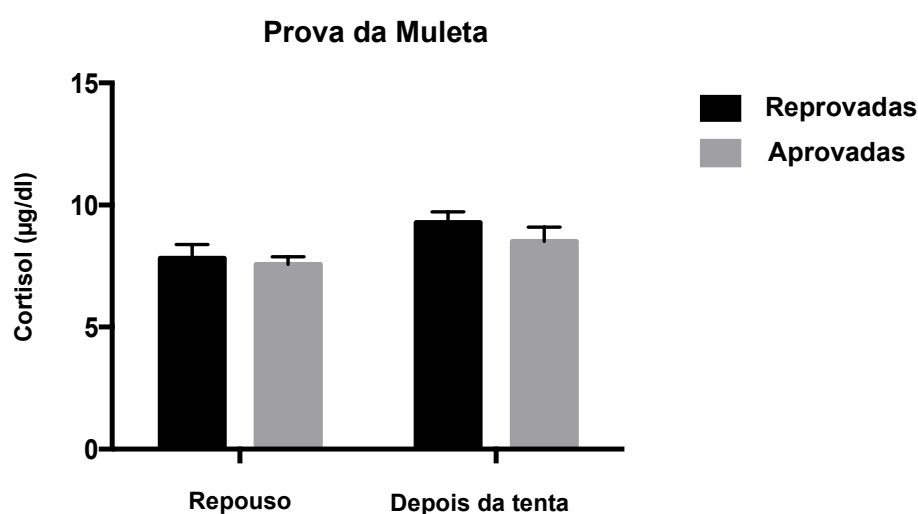
Gráfico 24 - Níveis de cortisol plasmático obtidos em repouso e depois da tenta, em vacas avaliadas na prova do cavalo. Em repouso, a média dos níveis de cortisol das fêmeas reprovadas foi de $8,600 \pm 0,4431 \mu\text{g/dl}$, e das fêmeas aprovadas foi de $6,517 \pm 0,3279 \mu\text{g/dl}$. Após a tenta, a média dos níveis de cortisol das fêmeas reprovadas foi de $9,774 \pm 0,4366 \mu\text{g/dl}$, e dos animais aprovados foi de $7,616 \pm 0,4432 \mu\text{g/dl}$.



O teste de correlação de Pearson revelou que os níveis de cortisol plasmático não se correlacionam com a nota na prova da mula, considerando quer os valores obtidos em repouso ($r= -0,6745$; $p= 0,7331$), quer os obtidos depois da tenta ($r= -0,1480$; $p= 0,2901$).

Nas fêmeas aprovadas na prova da muleta, os níveis de cortisol plasmático medidos em repouso ($7,567 \pm 0,3144 \mu\text{g/dl}$) e depois da tenta ($8,500 \pm 0,5882 \mu\text{g/dl}$) são inferiores aos das fêmeas reprovadas em repouso ($7,813 \pm 0,5687 \mu\text{g/dl}$) e depois da tenta ($9,279 \pm 0,4348 \mu\text{g/dl}$), embora esta diferença não seja significativa ($p= 0,7331$ e $p=0,2901$, respetivamente) (Gráfico 9).

Gráfico 25- Níveis de cortisol plasmático obtidos em repouso e depois da tenta, em vacas avaliadas na prova da muleta. A média dos níveis de cortisol das fêmeas aprovadas em repouso foi de $7,567 \pm 0,3144 \mu\text{g/dl}$, enquanto a média dos níveis de cortisol das fêmeas reprovadas foi de $7,813 \pm 0,5687 \mu\text{g/dl}$. Depois da tenta, a média dos níveis de cortisol das fêmeas aprovadas foi de $8,500 \pm 0,5882 \mu\text{g/dl}$ e a das fêmeas reprovadas foi de $9,279 \pm 0,4348 \mu\text{g/dl}$.



3.2 Níveis de cortisol nos diferentes encastes

Uma vez confirmada a correlação entre os níveis de cortisol plasmático e a classificação na prova do cavalo, quer nas amostras obtidas em repouso, quer após a tenta, procurou encontrar-se, de seguida, a relação entre os níveis de cortisol e o encaste das fêmeas avaliadas nesta prova.

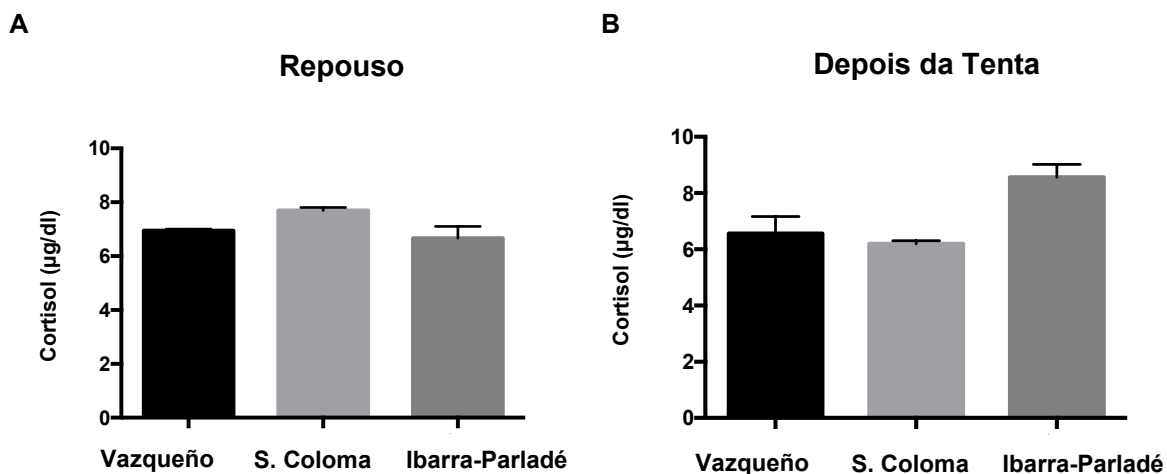
Os resultados mostraram que não existiam diferenças significativas dos níveis médios de cortisol plasmático nas fêmeas aprovadas, considerando os três encastes Vazqueño, Santa Coloma e Ibarra-Parladé (em repouso $6,950 \pm 0,05 \mu\text{g/dl}$, $7,700 \mu\text{g/dl} \pm 0,1414$ e $6,663 \pm 0,4403 \mu\text{g/dl}$; depois da tenta $6,567 \pm 0,5925 \mu\text{g/dl}$, $6,200 \mu\text{g/dl} \pm 0,1414$ e $8,567 \pm 0,4547 \mu\text{g/d}$; $p=0,5138$ e $p=0,1189$, respetivamente) (Gráfico 10).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas fêmeas reprovadas na prova do cavalo, relativamente aos valores de cortisol obtidos em repouso, nos três encastes considerados (Vazqueño: $7,500 \pm 0,1414 \mu\text{g/dl}$; Santa Coloma: $6,575 \pm 0,6460$

µg/dl; Ibarra-Parladé: $8,925 \pm 0,5665$ µg/dl; $p=0,0912$). Contudo, observou-se uma diferença significativa nos valores dos níveis de cortisol plasmático, após a tenta, entre os animais do encaste Santa Coloma e Ibarra-Parladé ($6,600 \pm 0,4722$ µg/dl e $10,15 \pm 0,5279$ µg/dl, $p=0,0231$) (Gráfico 11).

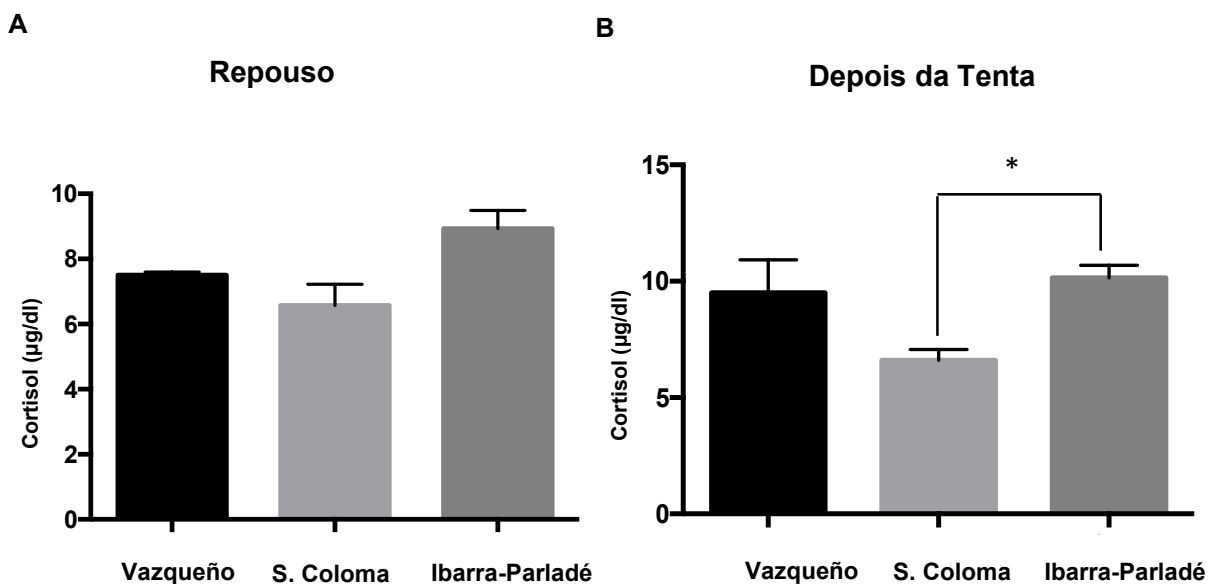
Gráfico 26- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes aprovadas na prova do cavalo.

a) Níveis de cortisol em repouso em fêmeas aprovadas (Vazqueño: $6,950 \pm 0,05$ µg/dl, Santa Coloma: $7,700 \pm 0,1414$ µg/dl e Ibarra-Parladé: $6,663 \pm 0,4403$ µg/dl). **b)** níveis de cortisol depois da tenta em fêmeas aprovadas (Vazqueño: $6,567 \pm 0,5925$ µg/dl, Santa Coloma: $6,200 \pm 0,1414$ µg/dl e Ibarra-Parladé: $8,567 \pm 0,4547$ µg/dl)



O encaste Ibarra-Parladé está presente em linha pura nas ganadarias 3 e 4 e está na origem das ganadarias 5, 6, 7, 8 e 9, onde se encontram animais dos encastes Cabral Ascensão, Domecq, Nuñez, Oliveira Irmãos e Torrestrella, respetivamente. Tendo em consideração que se verificou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os níveis de cortisol dos encastes Santa Coloma e Ibarra-Parladé, de seguida foram comparadas as médias dos níveis de cortisol de cada um dos oito encastes estudados.

Gráfico 27- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes reprovadas na prova do cavalo. a) Níveis de cortisol em repouso em fêmeas reprovadas (Vazqueño: $7,500 \pm 0,1414 \mu\text{g/dl}$, Santa Coloma: $6,575 \pm 0,6460 \mu\text{g/dl}$, Ibarra-Parladé: $8,925 \pm 0,5665 \mu\text{g/dl}$). b) Médias dos níveis de cortisol depois da tenta em fêmeas reprovadas (Vazqueño: $9,500 \pm 1,415 \mu\text{g/dl}$, Santa Coloma: $6,600 \pm 0,4722 \mu\text{g/dl}$, Ibarra-Parladé: $10,15 \pm 0,5279 \mu\text{g/dl}$).



Os resultados mostraram que não existiam diferenças significativas dos níveis de cortisol plasmático nas fêmeas aprovadas dos oito encastes (Gráfico 12 A). Uma vez que não foram colhidas amostras de sangue em repouso dos animais dos encastes Cabral Ascensão e Oliveira Irmãos, estes não figuram no gráfico 12 B. O encaste Oliveira Irmãos não teve qualquer fêmea aprovada na prova do cavalo, o que implica que não esteja presente no gráfico 12.

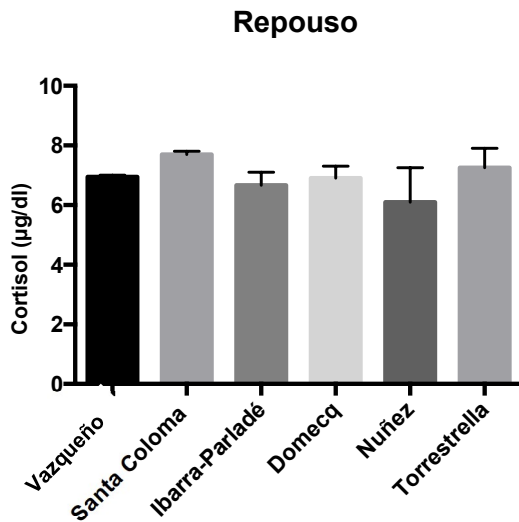
Nas fêmeas reprovadas, não se encontraram diferenças estatisticamente significativas nos níveis de cortisol obtidos em repouso. Contudo, observou-se uma diferença significativa nos valores dos níveis de cortisol plasmático, após a tenta, entre os animais do encaste Santa Coloma e Nuñez ($6,600 \pm 0,4722 \mu\text{g/dl}$ e $11,57 \pm 0,9110 \mu\text{g/dl}$ respetivamente, $p= 0,0214$) (Gráfico 13).

Os níveis inferiores de cortisol encontrados nos animais do encaste Santa Coloma, sugerem que esta poderá ser uma característica diferenciadora do encaste, provavelmente devido a uma maior resistência ao exercício físico. Contudo, dada a dimensão da amostra, mais estudos serão necessários para poder estabelecer esta relação cortisol/encaste, para além de se deverem avaliar outros indicadores.

Gráfico 28- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes aprovadas na prova do cavalo.

a) Níveis de cortisol em repouso de fêmeas aprovadas (Vazqueño: $6,950 \pm 0,05 \mu\text{g/dl}$, S. Coloma: $7,700 \pm 0,1414 \mu\text{g/dl}$, Ibarra-Parladé: $6,663 \pm 0,4403 \mu\text{g/dl}$, Domecq: $6,900 \pm 0,4000 \mu\text{g/dl}$, Nuñez: $6,100 \pm 1,150 \mu\text{g/dl}$, Torrestrella: $7,250 \pm 0,6500 \mu\text{g/dl}$). **b)** Níveis de cortisol depois da tenta de fêmeas aprovadas (Vazqueño: $6,567 \pm 0,5925 \mu\text{g/dl}$, Santa Coloma: $6,200 \mu\text{g/dl} \pm 0,1414$ e Ibarra-Parldaé: $8,567 \pm 0,4547 \mu\text{g/dl}$, C. Ascensão: $8,950 \pm 0,4500 \mu\text{g/dl}$, Domecq: $7,600 \pm 2,700 \mu\text{g/dl}$, Nuñez: $9,014 \pm 0,4522 \mu\text{g/dl}$, Torrestrella: $9,767 \pm 0,9838 \mu\text{g/dl}$).

A



B

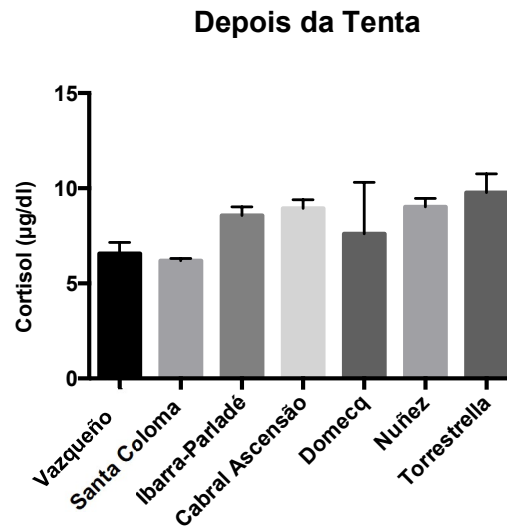
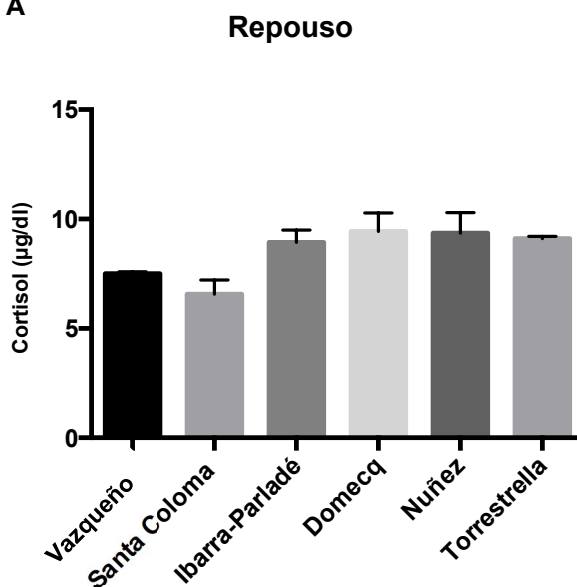


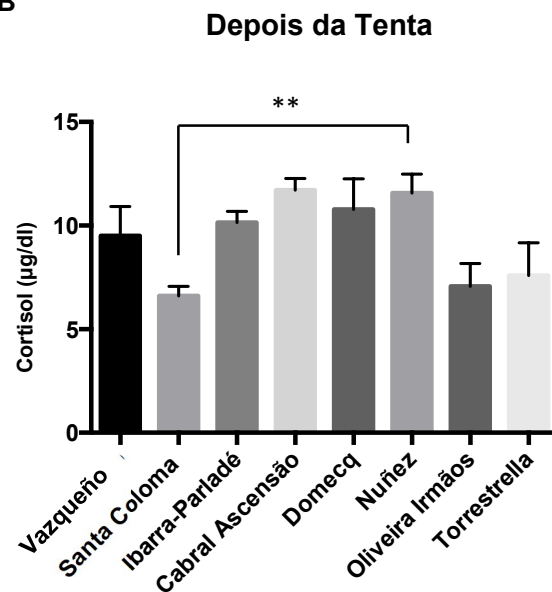
Gráfico 29- Níveis de cortisol nas fêmeas de diferentes encastes reprovadas na prova do cavalo.

a) Níveis de cortisol em repouso de fêmeas reprovadas (Vazqueño: $7,500 \pm 0,1000 \mu\text{g/dl}$, S. Coloma: $6,575 \pm 0,6460 \mu\text{g/dl}$, Ibarra-P.: $8,925 \pm 0,5665 \mu\text{g/dl}$, Domecq: $9,425 \pm 0,8528 \mu\text{g/dl}$, Nuñez: $9,360 \pm 0,9325 \mu\text{g/dl}$, Torrestrella: $9,100 \pm 0,1000 \mu\text{g/dl}$). **b)** Níveis de cortisol após a tenta de fêmeas reprovadas (Vazqueño: $9,500 \pm 1,415 \mu\text{g/dl}$, S. Coloma: $6,600 \pm 0,4722 \mu\text{g/dl}$, Ibarra-P.: $10,15 \pm 0,5279 \mu\text{g/dl}$, C. Ascensão: $11,70 \pm 0,7515 \mu\text{g/dl}$, Domecq: $10,78 \pm 1,477 \mu\text{g/dl}$, Nuñez: $11,57 \pm 0,9110 \mu\text{g/dl}$, O. Irmãos: $7,067 \pm 1,099 \mu\text{g/dl}$, Torrestrella: $7,600 \pm 1,570 \mu\text{g/dl}$).

A



B



3.3 Contenção física

Como referido, os animais de raça Brava de Lide são criados em regime extensivo, com um contacto mínimo com os humanos. O temperamento, o medo, a ansiedade, o maneiio, a presença de humanos, bem como outros fatores ambientais podem ter influência na quantidade de cortisol libertada (Broom 1988; Harbuz and Lightman 1992; Broom and Johnson 2000). A contenção necessária para a realização de algumas operações de maneiio acarreta necessariamente algum grau de *stress*.

Uma vez que a concentração de cortisol plasmático é usualmente utilizada como indicador de *stress*, considerando-se que baixos níveis de cortisol correspondem a baixos níveis de *stress* e vice-versa (Molony et al. 1993; Fisher et al. 1996; Ley et al. 1996), avaliou-se a influência dos diferentes métodos de contenção, utilizados neste trabalho, nos níveis de cortisol plasmático, por forma a determinar qual o meio de contenção que induz menos *stress*.

Neste trabalho, foram avaliados os métodos de contenção física mais comumente usados no maneiio desta raça: i) vacas soltas na manga (n=16); ii) vacas soltas na manga com cabrestos (n=4); iii) vacas presas pelos cornos na manga (n=8); iv) vacas contidas no *mueco* (n=8).

Os resultados do teste *One-way ANOVA* mostraram que existe uma diferença significativa entre as médias dos níveis de cortisol em repouso de fêmeas aprovadas na tenta ($p= 0,0024$) e o método de contenção física utilizado. O mesmo se verificou com as médias dos níveis de cortisol em repouso de fêmeas reprovadas na tenta ($p= 0,0128$).

O teste de comparações múltiplas de *Tukey* revelou que as médias dos níveis de cortisol de fêmeas aprovadas na tenta, soltas na manga, foram significativamente inferiores aos das fêmeas presas pelos cornos na manga ($6,500 \pm 0,2946 \mu\text{g/dl}$ e $8,275 \pm 1,187 \mu\text{g/dl}$, respetivamente; $p < 0,05$). As fêmeas que foram contidas no *mueco* tiveram níveis de cortisol significativamente inferiores aos das fêmeas presas na manga pelos cornos ($4,700 \pm 0,002 \mu\text{g/dl}$ e $8,275 \pm 1,187 \mu\text{g/dl}$, respetivamente; $p < 0,01$). Por outro lado, não se encontrou qualquer relação estatisticamente significativa entre as médias dos níveis de cortisol de fêmeas soltas na manga e contidas no *mueco* ($6,500 \pm 0,2946 \mu\text{g/dl}$ e $4,700 \pm 0,002 \mu\text{g/dl}$, respetivamente; $p > 0,05$).

Das fêmeas que reprovaram na tenta, apenas as que foram contidas na manga com cabrestos obtiveram níveis de cortisol significativamente inferiores aos das fêmeas presas na manga ($6,250 \pm 1,127 \mu\text{g/dl}$ e $10,95 \pm 0,2217 \mu\text{g/dl}$, respetivamente; $p < 0,001$). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos níveis de cortisol das fêmeas reprovadas soltas na manga, presas na manga pelos cornos e contidas no *mueco* ($9,175 \pm 0,3788 \mu\text{g/dl}$, $10,95 \pm 0,2217 \mu\text{g/dl}$ e $9,143 \pm 0,9489 \mu\text{g/dl}$, respetivamente; $p > 0,005$). (Gráficos 14 e 15).

No conjunto, estes resultados parecem sugerir que a contenção no *mueco* ou na manga com cabrestos são os métodos de contenção física que induzem a libertação de menores níveis de cortisol.

Gráfico 30- Comparação dos níveis de cortisol em fêmeas aprovadas na tenta, de acordo com os diferentes métodos de contenção utilizados. (Soltas na manga: $6,500 \pm 0,2946 \mu\text{g/dl}$, Presas na manga: $8,275 \pm 1,187 \mu\text{g/dl}$, *Mueco*: $4,700 \pm 0,002 \mu\text{g/dl}$).

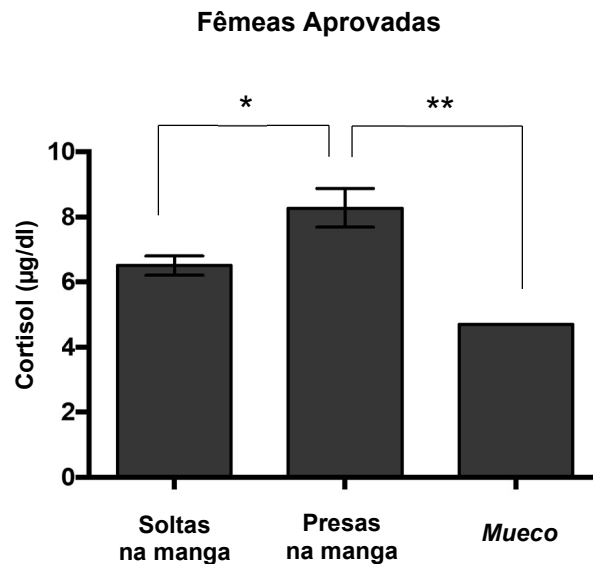
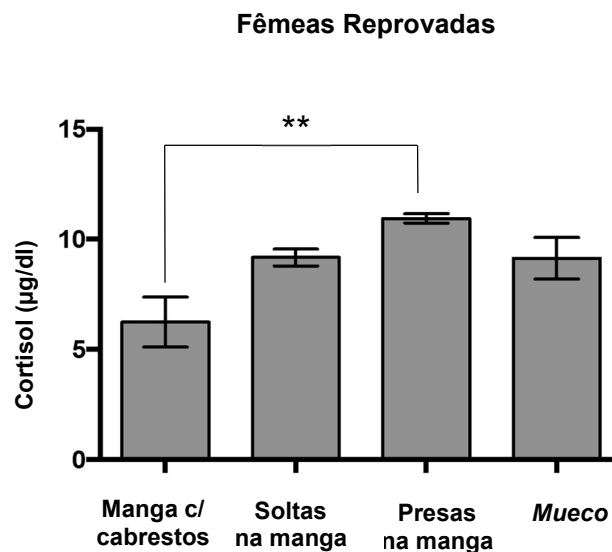


Gráfico 31- Comparação dos níveis de cortisol em fêmeas reprovadas na tenta, de acordo com os diferentes métodos de contenção utilizados. (Manga c/ cabrestos: $6,250 \pm 1,127 \mu\text{g/dl}$, Soltas na manga: $9,175 \pm 0,3788 \mu\text{g/dl}$, Presas na manga: $10,95 \pm 0,2217 \mu\text{g/dl}$, *Mueco*: $9,143 \pm 0,9489 \mu\text{g/dl}$).



3.4 Contenção farmacológica

Existem determinados procedimentos de manejo numa ganadaria que requerem a imobilização total dos animais. Para isso, recorre-se a diferentes métodos de contenção física ou ao uso de fármacos anestésicos que, proporcionando um estado de inconsciência com supressão da percepção sensorial, possibilitam a manipulação segura tanto para os animais, como para os Médicos Veterinários. Contudo, o aumento dos níveis de cortisol e, por conseguinte, elevados níveis de *stress*, podem contribuir para o aumento de complicações cirúrgicas e pós cirúrgicas (Brearly et al. 1992; Broom and Johnson 2000; Borsook et al. 2010; Paola et al. 2015; Chinnadurai et al. 2016).

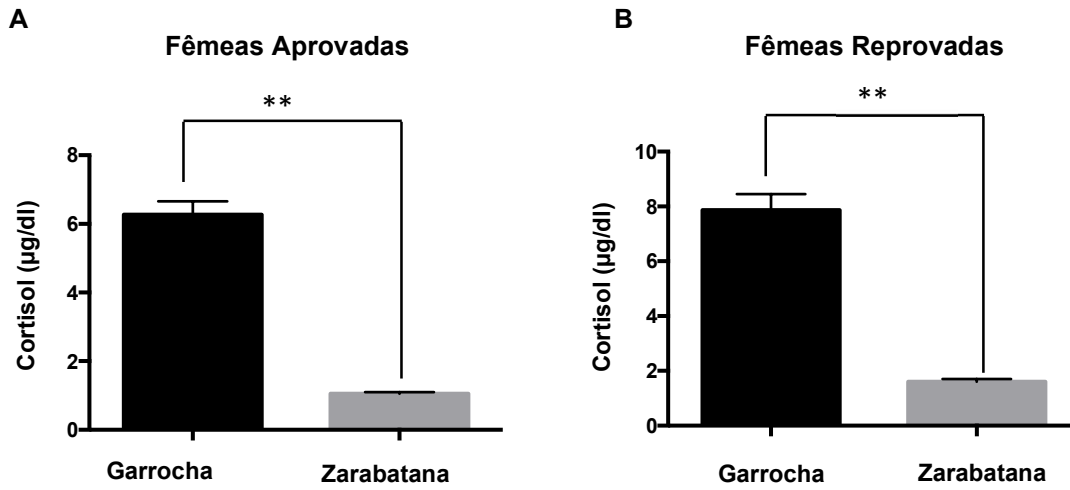
Com o objetivo de determinar qual o método de contenção farmacológica que induz menos *stress*, mediram-se os níveis de cortisol em vacas anestesiadas por dois dos métodos usados com maior frequência na prática clínica nas ganadarias.

Esta foi administrada por via intramuscular com seringa de garrocha (n=6) ou com zarabatana (n=4). A primeira foi realizada em animais contidos nos curros do tentadeiro, enquanto a segunda foi realizada a campo, através da aproximação ao animal por meio de um veículo.

O teste *T-Student* para amostras independentes permitiu a comparação das médias dos níveis de cortisol nos dois métodos de anestesia utilizados. Os níveis de cortisol de fêmeas anestesiadas a campo com zarabatana são significativamente inferiores aos das anestesiadas com seringa de garrocha nos curros, tanto em fêmeas aprovadas ($1,050 \pm 0,005 \mu\text{g/dl}$ e $6,267 \pm 0,3939 \mu\text{g/dl}$, respetivamente, $p= 0,0020$), como em reprovadas ($1,600 \pm 0,100 \mu\text{g/dl}$ e $7,867 \pm 0,5897 \mu\text{g/dl}$, respetivamente, $p= 0,0038$) (Gráfico 16).

Apesar do reduzido tamanho da amostra estudada, os resultados parecem sugerir que sempre que seja possível realizar a anestesia a campo, com o animal no seu ambiente natural e no meio do grupo a que pertence, a anestesia com zarabatana parece ser o método de opção por induzir menores níveis de cortisol plasmático e, portanto, menores níveis de *stress*.

Gráfico 32- Comparação dos níveis de cortisol em fêmeas aprovadas e reprovadas, de acordo com o método de contenção farmacológica. a) Níveis de cortisol de fêmeas aprovadas (Garrocha: $6,267 \pm 0,3939 \mu\text{g/dl}$, Zarabatana: $1,050 \pm 0,005 \mu\text{g/dl}$. **b)** Níveis de cortisol de fêmeas reprovadas (Garrocha: $7,867 \pm 0,5897 \mu\text{g/dl}$, Zarabatana: $1,600 \pm 0,100 \mu\text{g/dl}$).



V. DISCUSSÃO

A raça Brava de Lide é uma raça autóctone portuguesa, com uma origem perfeitamente traçada e extremamente documentada, com cerca de três séculos de história, durante os quais os ganadeiros selecionaram caracteres de comportamento com o intuito de produzir bravura. As ganadarias sofreram um considerável isolamento reprodutivo, de acordo com o interesse de cada ganadeiro, determinando um património genético próprio, que se mantém durante várias gerações em cada uma delas, dando origem aos diferentes encastes (Martín-Burriel et al., 2007).

Sendo a identidade de cada ganadaria mantida pelo cruzamento de animais provenientes de diferentes castas e encastes, estes agrupamentos dão origem a animais com características comportamentais e morfológicas específicas, o que permite distingui-los entre ganadarias diferentes. A seleção funcional é a base do que se procura atingir na descendência, embora não se menospreze a seleção morfológica, uma vez que a bravura não depende apenas do comportamento dos animais (García 2015).

A prova funcional de seleção de bravura, a tenta, procura efetivamente eleger os animais mais aptos, capazes de transmitir as suas características à descendência (Lomillos-Pérez et al. 2019).

Os resultados deste trabalho revelaram que foram aprovadas para reprodutoras 35% das fêmeas avaliadas. Este valor não corresponde aos valores médios para a raça (Huertas 1991), que refere que são aprovadas por ano, em média, 15 a 20% das vacas tentadas. Esta diferença pode dever-se ao facto de apenas se ter contabilizado uma tenta por ganadaria, não sendo, por conseguinte, representativa dos resultados finais de aprovação para esse ano, por não representar a totalidade de fêmeas tentadas.

Atendendo a que no ano de 2018 foram tentadas cerca de 600 vacas (Lucas 2019), o número de vacas avaliadas neste trabalho (n=57) pareceu suficiente para caracterizar alguns dos aspetos que se estudaram. Contudo, quando se pretendeu analisar individualmente cada ganadaria, este número mostrou-se insuficiente, razão pela qual teria sido importante poder ter contado com um número superior de animais e mais estudos serão necessários para se poderem tirar conclusões sobre alguns dos aspetos estudados.

A introdução de um estímulo novo no ambiente pode ser interpretada pelo animal como um forte fator de *stress*, levando a uma reação comportamental de luta ou fuga (Fanselow 1994; Grandin 1997). Esta resposta desencadeia a ativação do eixo HHA, com a consequente libertação de cortisol (Dantzer and Mormède 1983; Papadimitriou and Prifitis 2009). Sabe-se também que os animais que optam pela fuga apresentam maiores concentrações de cortisol, enquanto que os que optam pela luta demonstram menores concentrações desta hormona (Stilwell 2012).

Os resultados deste trabalho mostraram uma correlação negativa forte entre os níveis de cortisol plasmático e o comportamento em vacas de tenta, sendo que aquelas que apresentaram concentrações de cortisol plasmático mais baixas foram as consideradas mais bravas na tenta, correspondendo a um comportamento preferencial pela luta. As vacas que apresentaram um comportamento proativo na prova do cavalo, repetindo mais vezes as investidas, respondendo de distâncias mais longas, empurrando o cavalo com mais força, entre outros, obtiveram níveis médios de cortisol plasmático significativamente mais baixos. Nestas, as amostras que foram colhidas em repouso revelaram valores de cortisol de $6,517 \pm 0,3279$ µg/dl, e as amostras colhidas após a tenta revelaram valores de cortisol de $7,616 \pm 0,4432$ µg/dl. Por outro lado, as vacas reprovadas na tenta apresentaram valores de cortisol plasmático significativamente mais elevados, o que também está de acordo com o observado nos animais que optam pela fuga. Nestas, as amostras colhidas em repouso revelaram valores de cortisol de $8,600 \pm 0,4431$ µg/dl e de $9,774 \pm 0,4366$ µg/dl nas amostras colhidas após a tenta.

Num estudo realizado em bezerros da Coreia, a concentração de cortisol plasmático em repouso foi de $6,74$ µg/dl (Park et al 2018), valor próximo do obtido nas vacas aprovadas em repouso. Contudo, em vacas Holstein Frísias de 3 anos, os valores médios de cortisol em repouso são inferiores, entre $2,86 \pm 1,08$ µg/dl e $3,73 \pm 1,11$ µg/dl (Bustamante et al. 2015). Em touros de raça Brava de Lide entre os 4 e os 5 anos, Rozas (2014) também encontrou uma concentração plasmática de cortisol em repouso com valores de $1,33 \pm 0,47$ µg/dl. Efetivamente, os valores desta hormona são inferiores em touros adultos quando comparados com os de bezerros ou de fêmeas, vacas ou novilhas (Tennessen et al. 1984).

O aumento dos níveis de cortisol após a tenta deveu-se, provavelmente, entre outros fatores, à resposta de *stress* e dor e também à intensidade do exercício realizado. Como se sabe, a prática de exercício moderado a intenso leva ao aumento dos níveis de cortisol plasmático (Hill et al. 2008).

A concentração de cortisol é comumente utilizada como indicador de *stress* e de dor, considerando-se que, de uma forma geral, baixos níveis de cortisol correspondem a baixos níveis de *stress* e dor e vice-versa. (Molony et al. 1993; Fisher et al. 1996; Ley et al. 1996; Stilwell 2012). Em situações de dor aguda o eixo HHA é também ativado, o que se traduz por um aumento na libertação de cortisol pela glândula suprarrenal. Procedimentos como a descorna e a castração são práticas comuns em explorações de bovinos. Em bezerros de 6 meses de idade, 30 minutos após a castração, os níveis de cortisol foram de $10,1$ µg/dl (Park et al. 2018), e em vacas Holstein-Frísias com partos distócicos, os valores de cortisol plasmático foram de $9,5$ µg/dl (Osawa et al. 1998), valores superiores aos encontrados nas vacas aprovadas na prova do cavalo, sugerindo que provavelmente estas apresentaram uma

resposta a estímulos nociceptivos diferente, pelo que mais estudos se deverão realizar de forma a melhor caracterizar este comportamento na raça Brava de Lide.

Não sendo o cortisol o único, nem o mais específico dos indicadores de dor, uma vez que se costumam determinar adicionalmente níveis de β -endorfinas (Osawa et al. 1998; Bruhel et al. 2012; Bustamante et al. 2015), substância P (Park et al. 2018), GABA (Enna and McCarson 2006), entre outros, a determinação destes será necessária para melhor compreender a resposta à dor e caracterizar o comportamento nos animais mais proativos na prova do cavalo, com melhor classificação, e portanto mais bravos. Contudo, a determinação dos níveis de cortisol em repouso poderá tornar-se uma ferramenta útil para os ganadeiros, na medida em que poderá permitir prever o comportamento dos animais na tenta, mais precisamente na prova do cavalo.

Na prova da muleta, apesar de se observarem menores concentrações de cortisol nos animais mais bravos, não se encontrou qualquer correlação entre a nota atribuída e os níveis desta hormona, tanto em repouso, como após a tenta. Nesta prova são avaliados parâmetros subjetivos, dificilmente mensuráveis de forma padronizada, como “rasgos de arte”, “capacidade de transmissão de bravura ao público”, “trapio ou beleza”, o que provavelmente limita a possibilidade de existir uma correlação entre estes e os níveis de cortisol.

Relativamente aos encastes das ganadarias estudadas, verificou-se que não existiam diferenças significativas entre eles, à exceção de algumas vacas do encaste Santa Coloma relativamente a vacas do encaste Nuñez. Os animais do encaste Santa Coloma diferenciam-se de outros encastes pelo seu temperamento marcado, pela sua investida rápida, pronta, com recorrido curto, por repetir numerosas vezes as investidas, com grande resistência ao exercício, enquanto o encaste Nuñez se caracteriza por um comportamento mais suave e regular (Montesinos 2002). A diferença encontrada poderá constituir uma particularidade diferenciadora do encaste Santa Coloma, contudo seria necessário estudar um número superior de animais por forma a poder estabelecer esta característica.

A raça Brava é produzida em regime extensivo, caracterizada por um contacto mínimo entre os animais e os humanos. O comportamento específico desta raça obriga à existência de instalações específicas que permitem a realização de procedimentos de manejo em segurança para os trabalhadores e que estimulam o menos possível os animais. Os currais ou curros devem ter características adaptadas à raça, como por exemplo, paredes altas, portas largas e permitir o encaminhamento dos animais sempre para a frente, impedindo que os animais recuem; as mangas devem ser também adaptadas, sendo as mais adequadas aquelas que impedem a estimulação dos animais; a existência de *muecos* pode ser considerada uma obrigatoriedade nas ganadarias, uma vez possibilitam a fácil imobilização do animal, com a máxima segurança para os trabalhadores. Para além das instalações, é

também necessário o recurso a cabrestos que permitem uma condução tranquila dos animais de raça Brava. Os cabrestos são essenciais na apartação e na condução para os curros.

Os resultados mostraram que, de entre os métodos de contenção física avaliados, aquele que induziu uma menor libertação de cortisol e, por conseguinte, a menores níveis de *stress* nas fêmeas aprovadas, foi o *mueco*. Provavelmente, o desenho da estrutura contribuiu para a redução do estímulo de *stress* causado pela aproximação de pessoas, uma vez que no *mueco* os animais não conseguem ver o que os rodeia.

Nos animais reprovados, foi avaliada ainda a contenção na manga na presença de cabrestos. A média inferior dos níveis de cortisol observada nestes animais pode estar associada ao facto de os bovinos de raça Brava estarem acostumados ao contacto com os cabrestos da ganadaria, tornando-se mais calmos na presença destes. Apesar da amostra ser reduzida e de só ter sido possível avaliar animais reprovados, os resultados sugerem que a contenção na manga com cabrestos será recomendada em operações de manejo que não requeiram imobilização total da cabeça.

Os níveis de cortisol observados durante a contenção no *mueco* ($4,700 \pm 0,002 \mu\text{g/dl}$), apesar de superiores aos de vacas Holstein presas num tronco de contenção com imobilização da cabeça ($1,3 \mu\text{g/dl}$) (Lay et al. 1992), estão no intervalo de valores observados em vacas de carne cruzadas de diferentes raças ($2,4$ a $6,3 \mu\text{g/dl}$) contidas da mesma forma (Ray et al. 1972; Crookshank et al, 1979; Mitchell et al. 1988; Lay et al 1992; Zavy et al, 1992). Le Neindre et al. (1995) e Grandin (1997) referem que existem diferenças nos níveis de cortisol durante a contenção, consoante a raça dos bovinos. Animais de raças produzidas em regime intensivo estão habituados à presença de seres humanos, o que se traduz em menores níveis de cortisol. Por outro lado, animais de raças produzidas em regime extensivo e, por isso, menos adaptados a procedimentos de manejo, libertam concentrações mais elevadas de cortisol durante a contenção. A contenção no *mueco* parece adequada às características comportamentais da raça Brava de Lide.

Para alguns procedimentos de manejo, por vezes, é necessário realizar uma contenção com recurso a fármacos anestésicos. Dos dois métodos mais comumente utilizados, a anestesia com zarabatana foi a que levou a uma menor libertação de cortisol. Os valores médios de cortisol plasmático de vacas anestesiadas no campo com zarabatana aproximam-se dos valores de referência para bovinos (Radostis 2000).

Os níveis de cortisol de vacas que foram anestesiadas nos curros com seringa de garrocha foram significativamente mais elevados ($6,267 \pm 0,3939 \mu\text{g/dl}$ nas aprovadas na tenta e $7,867 \pm 0,5897 \mu\text{g/dl}$ nas reprovadas), o que sugere que a apartação e a permanência nos curros constituem estímulos que induzem *stress*. Apesar da reduzida dimensão da amostra, os resultados sugerem que sempre que seja possível de realizar, o método

anestésico de eleição é o da administração da anestesia com zarabatana por parecer induzir uma menor libertação de cortisol.

VI. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho sugerem que existe eventualmente uma correlação entre os níveis de cortisol e o comportamento de bravura. Os animais que mostraram um comportamento proativo na prova do cavalo e que receberam classificações mais altas apresentaram níveis de cortisol mais baixos. A determinação dos níveis de cortisol em repouso poderá tornar-se uma ferramenta útil para os ganadeiros, na medida em que poderá permitir prever o comportamento dos animais na tenta.

Como referido e excluindo outros fatores de *stress*, a concentração de cortisol plasmático é frequentemente utilizada como indicador de *stress* e dor, considerando-se que, de uma forma geral, baixos níveis de cortisol correspondem a baixos níveis de *stress* e dor e vice-versa. Os resultados sugerem também uma resposta diferente a estímulos nociceptivos nesta raça. Atendendo à complexidade desta resposta, estudos futuros serão necessários de modo a melhor compreender os mecanismos envolvidos no comportamento destes animais.

A contenção necessária para a realização de procedimentos de manejo constitui um estímulo de *stress* para os animais. De uma forma geral, na raça Brava de Lide a imobilização é feita na manga, com os animais soltos ou presos pelos cornos, com ou sem cabrestos, e no *mueco*. Os resultados mostraram que os dois métodos de contenção física que induzem menor libertação de cortisol são a contenção com cabrestos na manga e a contenção no *mueco*, sempre que seja necessário a imobilização da cabeça do animal.

Existem determinados procedimentos de manejo ou cirúrgicos que obrigam ao recurso a fármacos anestésicos. Contudo, elevados níveis de *stress* podem contribuir para o aumento de complicações cirúrgicas e pós cirúrgicas. Os valores médios de cortisol plasmático de vacas anestesiadas no campo com zarabatana aproximaram-se dos valores de referência para bovinos, sugerindo que este constitui o método de anestesia de eleição, sempre que possa ser realizado, por induzir menores níveis de *stress* nos animais.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Aceto P, Lai C, Dello Russo C, Perilli V, Navarra P, Sollazzi L. 2015. Stress response to surgery, anesthetic role and impact on cognition. *Journal of Anesthesia and Clinical Research*. 6(7): 539.
- [APC] Associação Portuguesa de Cortiça: Montados e sobreiras [Internet].2018. Lisboa: APCOR; [acedido em 2019 Jun. 17]. <http://www.apcor.pt/montado/floresta/>
- [APCTL] Associação Portuguesa de Criadores de Touros de Lide. 2006. *Ganadarias portuguesas*. Porto Alto: APCTL.
- Barradas MIG. 2015. *Estudo das características físico-químicas e nutricionais da carne de raça brava de lide [dissertação de mestrado]*. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa.
- Borksook D, George E, Kussman B, Becerra L. 2010. Anesthesia and perioperative stress: consequences on neural networks and postoperative behaviours. *Progress on Neurobiology*. 92: 601-612.
- Broom DM. 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*. 20: 5-19.
- Broom DM, Johnson KG. 2000. *Assessing welfare: short term responses*. In: *Stress and animal welfare*. Second edition. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p. 87-110.
- Bruhel S, Burns JW, Chung OY, Chont M. 2012. What do beta-endorphin levels reveal about endogenous opioid analgesic function? *European Journal of Pain*. 16(3): 370-380.
- Bustamante HA, Rodríguez AR, Herzberg DE, Werner MP. 2015. Stress and pain response after oligofructose induced-lameness in dairy heifers. *Journal of Veterinary Science*. 16(4): 405-411.
- Cabrera FG. 2012. *Variables neuroendocrinas y su relación con el comportamiento durante la lidia del toro bravo, (Bos taurus, L.) [tesis doctoral]*. Madrid: Facultad de Veterinaria-Universidad Complutense de Madrid.
- Chen W, McRoberts JA, Marvizón JCG. 2014. μ -Opioid receptor inhibition of substance P release from primary afferents disappears in neuropathic pain but not inflammatory pain. *Neuroscience*. 267: 67-82.
- Chinnadurai SK, Strahl-Heldreth D, Fiorello CV, Harms CA. 2016. Best-practice guidelines for field-based surgery and anesthesia of free-ranging wildlife. I. Anesthesia and analgesia. *Journal of wildlife diseases*. 52(2): S14-S27.
- Crookshank HR, Elissalde MH, White RG, Clanton DC, Smalley HE. 1979. Effect of transportation and handling of calves upon blood serum composition. *Journal of Animal Sciences*. 48: 430-435.
- Dantzer R, Mormède P.1983. Stress in farm animals: a need for reevaluation. *Journal of Animal Science*. 57(1): 5-18.
- Egger CM, Love L, Doherty T. 2013. *Pain management in veterinary practice*. Oxford (UK): Wiley Blackwell.

- Enna SJ, McCarson KE. 2006. The role of GABA in mediation and perception of pain. *Advances in Pharmacology*. 4: 1-27.
- [FAO] Food and Agriculture Organization, editor. 2008. Capacitação para implementar boas práticas de bem-estar animal. In: Relatório do Encontro de Especialistas da FAO. [Internet]. Roma: FAO; [accessed 2019 set 6]. <http://www.fao.org/3/i0483pt/i0483pt00.pdf>
- Fanselow MS. 1994. Neuronal organization of the defensive behaviour system responsible for fear. *Psychonomic Bulletin and Review*. 1(4): 429-438.
- Farto ADT. 2018. Caracterização das ganadarias bravas portuguesas [dissertação de mestrado]. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa.
- Fazio E, Ferlazzo A. 2003. Evaluation of stress during transport. *Veterinary Research Communications*. 27 (1): 519-524.
- Ferlazzo A, Fazio E, Cravana C, Medica P. 2018. The role of circulating β -endorphin in different stress models in equines: A Review. *Journal of Veterinary Equine Science*. 71: 98-104.
- Fisher AD, Crowe MA, Alonso de la Varga ME, Enright WJ. 1996. et al. Effect of castration method and the provision of local anesthesia on plasma cortisol, scrotal circumference, growth, and feed intake of bull calves. *Journal of Animal Science*. 74: 2336-2343.
- Fraser AF, Broom DM. 1997. *Farm animal behaviour and welfare*. 3rd edition. Wallingford: Cab International.
- Garcia IR, Pizarro M, Mazzuchelli F, Parrilla G. 2011. Bases de alimentacion del ganado bravo en situaciones de escasez o fincas poco productivas. *Cria y Salud*. 35: 54-61.
- Garcia, JJG. 2015. Influencia de diferentes protocolos de manejo sobre el rendimiento productivo del ganado vacuno de lidia. [tesis doctoral]. León: Facultad de Veterinaria, Universidad de León.
- Gil F, Marini H, Delgado ML, País PM. 2005. Bienestar animal y su impacto económico. *Rev. Hereford Bs. As.* 71(637): 66-79.
- Gleerup KB, Anderson PH, Munksgaard L, Forkman B. 2015. Pain evaluation in dairy cattle. *Applied Animal Behaviour Science*. 171: 25-32.
- Grandin T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Sciences*. 75: 249-257.
- Harbuz MS, Lightman SL. 1992. Stress and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: acute, chronic and immunological activation. *Journal of Endocrinology*. 134: 327-339.
- Heimbürg S, Kanitz E, Otten W. 2018. The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology*. 270: 10-17.
- Hill EE, Zack E, Battaglini C, Viru M, Viru A, Hackney AC. 2008. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. *Journal of Endocrinological Investigation*. 31: 587-591.

- Huertas VM.1991. La selección en la raza de lidia. Entre Campos y Ruedos. Ed. Consejo General de Colegios Veterinarios de España. Madrid. Pp. 345-363.
- [IGAT] Inspeção Geral das Atividades Tauromáquicas. 2014. Realização de espetáculos tauromáquicos (alterações legislativas). Lisboa: IGAC.
- [ICNF] Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas: Espécies arbóreas indígenas em Portugal continental. [Internet]. 2013. Lisboa: Ministério da Agricultura, Mar e Ordenamento do Território; [acedido a 2019 jun 17]. <http://www2.icnf.pt/portal/florestas/gf/prdflo/resource/doc/arvor-indigen-pt-contin>
- Lay DC, Friend TH, Bowers CL, Grissom KK, Jenkins OC. 1992. A comparative physiological and behavioural study of freeze and hot-iron branding using dairy cows. *Journal of Animal Science*. 70: 1121-1125.
- Lefcourt AM, Bitman J, Kahl S, Wood DL. 1993. Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Sciences*. 76: 2607-2612.
- Le Neindre PG, Trillet G, Sapa J, Ménissier F, Bonnet JN, Chupin JM. 1995. Individual differences in docility of Limousin cattle. *Journal of Animal Sciences*. 73: 2249-2256.
- Ley SJ, Waterman AE, Livingston A. 1996. Measurement of mechanical thresholds, plasma cortisol and catecholamines in control and lame cattle: a preliminary study. *Research in Veterinary Science*. 61: 172-173.
- Lomillos JM, Alonso ME, Gaudioso V. 2013. Análisis de la evolución del manejo en las explotaciones de toro de lidia. *Desafíos del sector. Información Técnica Económica Agrária*. 109 (1): 49-68.
- Lomillos-Pérez J, Gaudioso-Lacasa V, Vargas MA. 2019. Análisis del comportamiento del ganado de lidia. Influencia del manejo y la selección. *Abanico Veterinario*, 9(1).
- Lucas AV. 2010. O toiro de lide em Portugal: sua origem, dispersão e evolução; identificação, registos e contrastes. Samora Correia: APCTL. pp. 4-14; 21-24.
- Lucas AV. 2013. Castas fundadoras do toiro de lide e encastes atuais. Aula da disciplina opcional Características Morfofuncionais do Toiro Bravo de Lide. Ano letivo 2015-2016: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Lucas AV. 2019. Caracterização do efetivo da raça Brava de Lide. Aula da disciplina opcional Características Morfofuncionais do Toiro Bravo de Lide. Ano letivo 2018-2019: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa
- Madariaga B. 1996. El toro de lidia. Madrid: Alimara.
- Martin Burriel I, Rodellar C, Lenstra JA, Sanz A, Zaragoza P. 2007. Genetic diversity and relationship of endangered spanish cattle breeds. *Journal of Heredity*. 98(7): 687-691.
- Mendes MMVCG. 2018. Avaliação de índices reprodutivos nas ganadarias portuguesas de raça brava de lide. [dissertação de mestrado]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.

- Millman ST. 2013. Behavioral responses of cattle to pain and implications for diagnosis, management, and animal welfare. *Veterinary Clinical of Food Animal*. 29: 47-58.
- Ministério da Agricultura de Portugal – Direção Geral da Pecuária. 1992. Raças autóctones. Lisboa: MAP.
- Mitchell G, Hattingh J, Ganhao M. Stress in cattle assessed after handling, after transport, and after slaughter. *The Veterinary Record*. 123(8): 201-205.
- Mocho SB. 2012. Variabilidade genética para características de lide na raça brava. [dissertação de mestrado]. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa.
- Molony V, Kent JE, Robertson IS. 1993. Behavioral responses of lambs of three ages in the first three hours after three methods of castration and tail docking. *Research in Veterinary Science*. 55: 236-245.
- Molony V, Kent JE. 1997. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *Journal of Animal Science*. 75: 266-272.
- Montesinos AR. 2002. Prototipos raciales del vacuno de lidia. Madrid: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- Montes AD. 2018. Valoración del bienestar animal en explotaciones de ganado de lidia. [tesis doctoral]. Madrid: Facultad de Veterinaria- Universidad Complutense de Madrid.
- Nagel C, Trenk L, Aurich C, Ille N, Pichler M, Drillich M, Pohl W, Aurich J. 2016. Sympathoadrenal balance and physiological stress response in cattle at spontaneous and PGF_{2α}- induced calving. *Theriogenology*. 85: 979-985.
- Obermaier H, Bellido AG, Pericot L. 1957. El hombre prehistórico y los orz'genes de la humanidad. *Revista de Occidente*. 181-182.
- O'Callaghan KA, Cripps PJ, Downham DY, Murray RD. 2003. Subjective and objective assessment of pain and discomfort due to lameness in dairy cattle. *Animal Welfare*. 12: 605-610.
- [OIE] Office International des Epizooties. 2019. Terrestrial animal health code [Internet]. Paris: OIE. [accessed 2019 jul. 3]. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/current/chapitre_aw_be ef_catthe.pdf
- [OIE] Office International des Epizooties. 2019. OIE animal welfare standards [Internet]. Paris:OIE. [accessed 2019 em jul. 3]. <http://www.oie.int/en/animal-welfare/an-international-network-of-expertise/>
- Osawa T, Nakao T, Moriyoshi M, Nakada K. 1998. Plasma β -endorphin around parturition and its relationship to cortisol level and resumption of pituitary and ovarian functions in dairy cows. *Animal Reproduction Science*: 52, 27-38.
- Papadimitriou A, Priftis KN. 2009. Regulation of the hypothalamic-pituitary adrenal axis. *Neuroimmunomodulation*. 16: 265-271.
- Park SJ, Piao M, Kang H, Seo J, Lee S, Baik M. 2018. Effects of castration and lidocaine-plus-flunixin treatment on growth and indicators of pain, inflammation, and liver function in korean cattle bull calves. *Livestock Science*. 216: 61-66.

- Purroy Unana A. 1987. La cria del toro bravo. 12-1987. Madrid: Mundiprensa.
- Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. 2000. Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. Ninth Edition: London: W.B. Saunders. p. 1820.
- Ray DE, Hansen WJ, Theurer B, Stott GH. 1972. Physical stress and corticoid levels in steers. Proceedings Western Sector American Society of Animal Science. 23: 255-259.
- Real Decreto 60/2001 de 26 de enero. Prototipo racial de la raza bovina de lidia. Ministerio del Interior. Madrid.
- Rozas LAC. 2014. Concentraciones de hormonas opiáceas y su relación con la respuesta al dolor en el toro de lidia. [tesis doctoral]. Madrid: Facultad de Veterinaria- Universidad Complutense de Madrid.
- Stilwell G., Lima MS, Broom D. 2007. Comparing the effect of three different disbudding methods on behaviour and plasma cortisol of calves. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 102: 281-288.
- Stilwell, G. T. 2009. *Pain evaluation and control after routine interventions in cattle*. Tese de Doutoramento em Ciências Veterinárias. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa.
- Stilwell G. 2012. Dor em Ruminantes, Parte I- Como a Identificar e Medir? Revista da Associação dos Estudantes da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa. 66: 10-16.
- Tennessen T, Price MA, Berg RT. 1984. Comparative responses of bulls and steers to transportation. Canadian Journal of Animal Sciences. 64: 333-338.
- Viñuela-Fernández I, Jones E, Welsh EM, Fleetwood-Walker SM. 2007. Pain mechanisms and their implication for the management of pain in farm and companion animals. The Veterinary Journal. 174: 227–239.
- Woolf CJ, Salter MW. 2000. Neuronal Plasticity: Increasing the Gain in Pain. Science, 288 (5472): 1765-1768.
- Zavy MT, Juniewicz PE, Phillips WA, Von Tungeln DL. 1992. Effects of initial restraint, weaning and transport stress on baseline and ACTH stimulated cortisol responses in beef calves of different genotypes. American Journal of Veterinary Research. 53: 551-557.