



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



**INTERAÇÃO ENTRE COMPLEXIDADE AMBIENTAL E ADITIVOS
MELHORADORES DE DESEMPENHO NA MODULAÇÃO DO
MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE**

MARIA ELIZA RIBEIRO DA SILVA
Zootecnista

Dourados – MS
2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



INTERAÇÃO ENTRE COMPLEXIDADE AMBIENTAL E ADITIVOS MELHORADORES DE DESEMPENHO NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

MARIA ELIZA RIBEIRO DA SILVA

Orientador(a): Prof.^a Dra. Claudia Marie Komiyama

Coorientadores: Prof.^o Dr. Rodrigo Garófalo Garcia

Prof. Dr. Marconi Italo Lourenço da Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal.

Dourados – MS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586i Silva, Maria Eliza Ribeiro Da

Interação entre complexidade ambiental e aditivos melhoradores de desempenho na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte [recurso eletrônico] / Maria Eliza Ribeiro Da Silva. – 2026.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Claudia Marie Komiyama.

Coorientadores: Rodrigo Garófallo Garcia, Marconi Italo Lourenço da Silva.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2026.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. antibiótico. 2. bem-estar animal. 3. estados afetivos. 4. probiótico. 5. senciência. I. Komiyama, Claudia Marie. II. Garcia, Rodrigo Garófallo. III. Silva, Marconi Italo Lourenço Da. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

INTERAÇÃO ENTRE COMPLEXIDADE AMBIENTAL E ADITIVOS MELHORADORES DE DESEMPENHO NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

por

MARIA ELIZA RIBEIRO DA SILVA

O presente trabalho em nível de MESTRADO foi avaliado e aprovado em 26 de fevereiro de 2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Nilsa Duarte da Silva Lima
Universidade Federal de Roraima

Profa. Dra. Janaína Paolucci Sales de Lima
Universidade Federal do Amazonas

Profa. Dra. Claudia Marie Komiyama
Orientadora - UFGD

BIOGRAFIA DA AUTORA

Maria Eliza Ribeiro da Silva, nascida em 12 de setembro de 1995, na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil, é filha de Edmundo Alencar da Silva e Maria Sileyde Andrade Ribeiro. Ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em maio de 2016. Durante sua formação, atuou como vice-presidente do Centro Acadêmico de Zootecnia, participou como voluntária em projetos de pesquisa e extensão e foi bolsista em diferentes projetos de pesquisa. Dentre eles, os projetos intitulados “Estudo do potencial de energia solar fotovoltaica no edifício solar da FCA e sua replicação através do centro de capacitação em energia solar fotovoltaica (ESF) no Campus Sul da UFAM” e “Estudo de variáveis meteorológicas na região metropolitana de Manaus a partir da estação meteorológica da UFAM” vinculados à Unidade de Pesquisa em Energia, Clima e Desenvolvimento Sustentável (UPEC), no período de 2019 a 2021. Entre 2021 e 2022 foi bolsista de iniciação científica no Setor de Avicultura da universidade, conduzindo o projeto “Influência do período de armazenamento do farelo de soja e uso do óleo de soja em rações para frangos de corte”. Realizou seu estágio obrigatório no Laboratório de Animais Silvestres (LAS/UFAM), atuando nas atividades de manejo de catetos na fazenda experimental da UFAM e nas atividades conservação e manejo comunitário de quelônios amazônicos do Programa Pé-de-Pincha. Formou-se em dezembro de 2022, obtendo o título de bacharel em Zootecnia. Em maio de 2023, iniciou como residente do Programa Agro Residência, por meio do convênio entre o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), a Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPI) e o Instituto Acariquara, finalizando as atividades em janeiro de 2024. Em março de 2024 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) como aluna regular no curso de Mestrado em Zootecnia, desenvolvendo projeto na linha de pesquisa de comportamento e bem-estar animal, com foco na avicultura, do qual deu-se origem a sua dissertação “Interação entre complexidade ambiental e aditivos melhoradores de desempenho na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte”.

“Seja sempre você mesma, estude muito e tenha um objetivo em sua mente. Torne seu objetivo uma realidade!”

Edmundo Alencar, meu amado pai.

“A grandeza de uma nação e seu progresso moral podem ser julgados pela forma como seus animais são tratados”

Mahatma Gandhi

À memória daqueles que me trouxeram até aqui, meus pais (*in memoriam*)
Edmundo Alencar da Silva e Maria Sileyde Andrade Ribeiro, que sempre me
incentivaram nos estudos e tinham o sonho de ver sua filha formada. Cada linha
deste trabalho carrega não apenas a minha pesquisa, mas também a memória
do esforço, da dedicação e do amor dos meus amados pais, que foram e sempre
serão minha principal inspiração e a força que me move.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, aos meus guias e orixás. Ao meu pai Ogum, que abre meus caminhos, me fortalece e me guia nesta caminhada.

Aos meus pais (*in memoriam*), Edmundo e Sileyde, minha mais profunda e eterna gratidão, por nunca medirem esforços para que eu pudesse estudar e por me permitirem escolher meu próprio caminho.

Ao meu irmão, Alfredo Neto, pela compreensão e apoio que me permitiram permanecer no mestrado, longe de casa, nos momentos de maior dificuldade.

À minha irmã de coração, Marlene Rodrigues, por todo carinho e acolhimento desde a minha infância e, principalmente, pela dedicação e cuidado com a minha mãe enquanto eu estava longe.

Ao meu namorado, Matheus Fregulhia, agradeço pelo apoio emocional e pelo cuidado. Nos momentos mais difíceis da minha vida pessoal e acadêmica, foi você quem me acolheu, acalmou meu coração e me deu forças para continuar. Obrigada pela paciência nos dias de estresse e cansaço – que sei que foram muitos rs – e, por mesmo assim, me incentivar e demonstrar o quanto acredita e se orgulha de mim. Seu amor me ajudou a chegar até aqui, obrigada por tudo!

Ao meu amigo de graduação e irmão de vida, Ruben Rodrigues, sou grata pela parceria que supera a distância, pelo apoio, incentivo e pelas muitas palavras de acolhimento, que não me deixam desistir nunca.

À minha amiga e madrinha, Alice Parente, agradeço o companheirismo, o acolhimento e a amizade sem cobranças. Agradeço por ter sido uma grande incentivadora na minha busca pelo “meu caminho”, desde o exato momento em que vi a aprovação no mestrado.

À minha amiga, Beatriz Pires, agradeço a amizade, o apoio e por sempre acreditar e me lembrar do meu valor. Obrigada por enxergar em mim tanto potencial, mesmo quando eu duvido, e me fazer lembrar do que sou capaz! Entre tantas definições, nossa amizade é cumplicidade!

Ao meu amigo, Eduardo Cavalcante, agradeço a hospitalidade quando cheguei a Dourados, que tornou meus dias mais leves entre os tantos almoços e jantares partilhados, caronas e conversas, sua amizade foi e é importantíssima na minha vida!

À minha orientadora, Prof^a Dra. Claudia Komiyama, agradeço por ser uma orientadora presente, paciente e atenciosa. De forma especial, agradeço pela sensibilidade e compreensão nos meus dias difíceis, pelo acolhimento, pelo cuidado e por sempre me instigar a seguir em frente. Minha admiração e respeito são imensos.

Ao meu amigo, Gabriel Nascimento, agradeço a parceria desde o início da pós-graduação e na condução do nosso experimento. Agradeço pelas conversas, debates (rs) sobre a vida na pós e, principalmente, pela sua disponibilidade para assistir às minhas apresentações antecipadamente, que me ajudou tantas vezes a controlar o nervosismo e melhorar meu desempenho. Desejo que nossa amizade permaneça por longos anos e que possamos colher os frutos de todo o nosso esforço.

À Letícia Cuer agradeço pela parceria na condução do nosso experimento, pela companhia e pelas conversas que distraíam a mente na correria do dia a dia.

À Prof^a. Dra. Vivian Castilho-Heiss, por todo conhecimento compartilhado, pelo exemplo de dedicação e pela paciência na elaboração da revisão sistemática.

Ao Prof. Dr. Caio Ouros, pela total dedicação na condução do nosso experimento e por todas as orientações.

Ao Prof. Dr. Marconi Italo, pela paciência nos treinamentos, pelo apoio na execução dos testes e pelo incentivo aos estudos na área, contribuindo para o meu crescimento profissional.

A Ana Carla, agradeço o auxílio na realização dos testes. E aos alunos de iniciação científica: Flavia, Luana, Ana Ribeiro, Pamela, Vidal, Maria Satake, Carol Subtil, Eduardo, Pietra e Carol Calado, que deram apoio nos manejos diários, testes e plantões.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Garófalo, Prof^a Dra. Fabiana Caldara, Prof^a Dra. Maria Fernanda Burbareli e a todos os membros do Núcleo de Estudos em Suinocultura, Avicultura e Aquicultura (NESAQ), meu sincero agradecimento pelo apoio durante a execução do projeto.

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelo suporte institucional e acadêmico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa de estudos.

E, humildemente, reconheço a minha própria dedicação e resiliência. O período do mestrado representou um desafio constante, e reconheço a perseverança e a determinação que me permitiram chegar ao final deste ciclo.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte desse processo, meu mais sincero:

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	21
CAPÍTULO I – O AMBIENTE IMPORTA? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE OS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO MEDO E NA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE.....	33
RESUMO	34
INTRODUÇÃO	36
METODOLOGIA	38
<i>Fonte de informação e estratégia de busca</i>	38
<i>Crítérios de elegibilidade</i>	40
<i>Seleção dos estudos</i>	41
<i>Síntese dos resultados</i>	Erro! Indicador não definido.
<i>Avaliação do Risco de Viés</i>	43
RESULTADOS	44
<i>Local de desenvolvimento dos estudos</i>	47
<i>Enriquecimentos ambientais utilizados</i>	48
<i>Metodologias para avaliação do medo</i>	50
<i>Metodologias para avaliação da ansiedade</i>	53
DISCUSSÃO	53
<i>Lacunas e perspectivas futuras</i>	61
CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	62
CAPÍTULO II - ALÉM DA PRODUTIVIDADE: ANTIBIÓTICO, PROBIÓTICO E COMPLEXIDADE AMBIENTAL NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE.....	69
RESUMO	69
ABSTRACT	70
INTRODUÇÃO	71
MATERIAIS E MÉTODOS	74
<i>Instalações experimentais e manejo</i>	74
<i>Delineamento experimental e tratamentos</i>	75
Aditivos e complexidade ambiental	76
Avaliações	79
Serotonina sérica (5-HT)	79
Teste de Imobilidade Tônica (medo)	79
Teste de viés de atenção (ansiedade)	80
Análise Estatística	82

RESULTADOS	83
<i>Serotonina sérica (5-HT).....</i>	<i>83</i>
<i>Teste de Imobilidade Tônica (TI)</i>	<i>84</i>
<i>Teste de Viés de Atenção (ABT).....</i>	<i>84</i>
Comportamentos de vigilância	85
DISCUSSÃO	87
CONCLUSÕES	96
CONSIDERAÇÕES FINAIS	101

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – O AMBIENTE IMPORTA? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE OS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO MEDO E NA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

Figura 1. Representação esquemática da estratégia de busca utilizada na revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de acordo com a estratégia PICO.40

Figura 2. Fluxograma de tomada de decisão para a triagem de títulos e resumos, aplicando os critérios de elegibilidades estabelecidos para seleção dos estudos na revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte.43

Figura 3. Fluxograma PRISMA do processo de identificação, triagem por títulos e resumos para seleção dos artigos incluídos na revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 4. Análise do risco de viés dos artigos incluídos na revisão sistemática sobre os efeitos do enriquecimento ambiental no medo e na ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, de acordo com a ferramenta RoB 2.0 para ensaios randomizados em cluster. . Os domínios avaliados foram: D1 – processo de randomização, D1b – ajuste do efeito do agrupamento dos clusters, D2 – desvios das intervenções, D3 – dados ausentes, D4 – mensuração dos desfechos e D5 – viés de relato. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 5. Distribuição temporal e geográfica dos estudos inclusos na revisão sistemática sobre o uso de enriquecimento ambiental e seus efeitos no medo e ansiedade de frangos de corte de crescimento rápido.48

Figura 6. Classificação e frequência dos diferentes itens de enriquecimento ambiental identificados nos estudos inclusos na revisão sistemática sobre os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo e ansiedade em frangos de corte.48

Figura 7. Frequência e diversidade dos métodos de avaliação do medo em estudos sobre os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo de frangos de corte identificados na revisão sistemática (1992–2025).51

CAPÍTULO 2 – ALÉM DA PRODUTIVIDADE: ANTIBIÓTICO, PROBIÓTICO E COMPLEXIDADE AMBIENTAL NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

Figura 1. Boxe de alta complexidade (esquerda) e baixa complexidade (direita).77

Figura 2. Plataforma com rampa de piso vazado (enriquecimento permanente).77

Figura 3 Rede de forrageamento e bolas coloridas (enriquecimentos temporários).78

Figura 4. Correntes e bola de metal com feno (enriquecimentos temporários).78

Figura 5. Feixes de fitas metálicas e espelhos (enriquecimentos temporários).78

Figura 6. Teste de Imobilidade Tônica: A. Indução da imobilidade, B. Ave em imobilidade tônica.80

Figura 7. Ilustração da arena experimental utilizada durante o Teste de Viés de Atenção com frangos de corte.	81
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – O AMBIENTE IMPORTA? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE OS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO MEDO E NA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

Tabela 1. Definição dos componentes da estratégia PICO para a busca e seleção de estudos sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido.	38
Tabela 2. Critérios de inclusão e exclusão aplicados à revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido.	41

CAPÍTULO 2 – ALÉM DA PRODUTIVIDADE: ANTIBIÓTICO, PROBIÓTICO E COMPLEXIDADE AMBIENTAL NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

Tabela 1. Composição das dietas experimentais (100kg) formuladas para frangos de corte de crescimento rápido com a inclusão de antibiótico e probiótico como aditivos melhoradores de desempenho.....	75
Tabela 2. Itens de enriquecimento ambiental temporários utilizados na composição do ambiente de alta complexidade para frangos de corte.	76
Tabela 3 Variáveis comportamentais e critérios de avaliação utilizados no Teste de Viés de Atenção para mensurar a ansiedade em frangos de corte.	81
Tabela 4. Concentração de serotonina sérica (5-HT) em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental, considerando efeitos fixos e a interação entre os fatores.	83
Tabela 5. Latência para se levantar e número de tentativas para induzir a imobilidade tônica em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental, considerando efeitos fixos e a interação entre os fatores.	84
Tabela 6. Latência para primeiro passo, primeira vocalização, início e retorno da alimentação no Teste de Viés de Atenção em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental.....	85
Tabela 7. Ocorrência (%) de comportamento de vigilância e congelamento durante os primeiros 30 segundos do Teste de Viés de Atenção em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental, considerando efeitos fixos e a interação entre os fatores.	86

LISTA DE ABREVIações

5-HT – 5-hidroxitriptamina – serotonina sérica

ABT – *Attention Bias Test* (Teste de viés de atenção)

ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CRH – Hormônio liberador de corticotrofina

D1 – Domínio 1 da ferramenta RoB 2.0

D1b – Subdomínio do RoB 2.0

D2 – Domínio 2 da ferramenta RoB 2.0

D3 – Domínio 3 da ferramenta RoB 2.0

D4 – Domínio 4 da ferramenta RoB 2.0

D5 – Domínio 5 da ferramenta RoB 2.0

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

GLIMMIX – *Generalized Linear Mixed Models*

HPA – Eixo hipotálamo–hipófise–adrenal

PICO – População, Intervenção, Comparação e Outcomes.

PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*,

PVC – Policloreto de vinila

QCRI – *Qatar Computing Research Institute*

RoB – *Revised Cochrane Risk of Bias Tool*

SAS – *Statistical Analysis System*

TI – *Tonic Immobility*

UFGD – Universidade Federal da Grande Dourados.

UVA – Radiação ultravioleta do tipo A

INTERAÇÃO ENTRE COMPLEXIDADE AMBIENTAL E ADITIVOS MELHORADORES DE DESEMPENHO NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO - O bem-estar na avicultura, antes centrado na ausência de doenças e estresse físico, passou a reconhecer a senciência das aves e a importância dos estados mentais afetivos. Diante dos desafios do sistema intensivo, estratégias para mitigar emoções e estados mentais negativos, como o medo e ansiedade, tornam-se essenciais. Nesse contexto, o enriquecimento ambiental e o uso de aditivos, como os probióticos, destacam-se como estratégias para promover o bem-estar. Esta dissertação avaliou o uso dessas estratégias na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte, estando estruturada em dois capítulos: **Capítulo I** – uma revisão sistemática com o objetivo de avaliar os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo e a ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, seguindo as diretrizes do PRISMA 2020. Foram incluídos 22 estudos experimentais que investigaram diferentes formas de enriquecimento ambiental, como estruturas físicas, estímulos sensoriais, recursos ocupacionais e alimentares. A maioria dos estudos concentraram-se na avaliação do medo, principalmente por meio do teste de imobilidade tônica, enquanto a ansiedade foi investigada em um número reduzido de trabalhos, concentrados nos anos recentes, utilizando o teste de viés de atenção. De forma geral, os enriquecimentos que proporcionaram refúgio funcional, estímulos biologicamente relevantes e maior controle ambiental apresentaram o maior potencial para reduzir os estados emocionais negativos das aves. Em contraste, intervenções isoladas ou de baixa relevância para as aves, mostraram efeitos limitados ou temporários. Os resultados indicaram que o enriquecimento ambiental, quando planejado de forma funcional e alinhado às necessidades comportamentais da linhagem, podem atuar na modulação do medo e da ansiedade, melhorando o bem-estar emocional dos frangos de corte. **Capítulo II** – um estudo experimental que teve por objetivo avaliar os efeitos da interação entre aditivos melhoradores de desempenho e complexidade ambiental sobre a modulação do estado mental (medo e ansiedade) em frangos de corte. Foram utilizados 1.440 pintinhos de um dia (linhagem Ross 308, $39,26 \pm 0,51$ g), distribuídos em um delineamento de blocos casualizado, em um arranjo fatorial 3×2 , considerando os aditivos (probiótico x antibiótico x controle negativo) e a complexidade ambiental (alta x baixa), totalizando seis tratamentos com oito repetições cada. A concentração de serotonina sérica foi avaliada como marcador indireto da regulação emocional. O medo agudo foi avaliado pelo teste de imobilidade tônica e a ansiedade pelo teste de viés de atenção. Os resultados demonstraram que a serotonina sérica foi influenciada pelo tipo de aditivo, com maiores concentrações nas aves que receberam antibiótico e efeito intermediário para as que receberam probiótico como melhorador de desempenho. O teste de imobilidade tônica não apresentou efeitos significativos, indicando baixa sensibilidade para detectar alterações emocionais nas condições avaliadas. Em contraste, o teste de viés de atenção mostrou-se mais sensível, revelando efeitos dos aditivos, da complexidade ambiental e de sua interação. A associação entre antibiótico e alta complexidade ambiental promoveu menor nível de ansiedade, enquanto o probiótico manteve efeito intermediário. Assim, medo e ansiedade são modulados de maneira distinta, e sua avaliação requer a combinação de indicadores fisiológicos, comportamentais e cognitivos, reforçando a importância do bem-estar emocional em estratégias de manejo e substituição de antibióticos.

Palavras-chave: antibiótico, bem-estar animal, estados afetivos, probiótico, senciência

INTERACTION BETWEEN ENVIRONMENTAL COMPLEXITY AND PERFORMANCE-ENHANCING ADDITIVES IN THE MODULATION OF FEAR AND ANXIETY IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT – Welfare in poultry production, previously centered on the absence of disease and physical stress, has come to recognize avian sentience and the importance of affective mental states. In the face of the challenges of intensive systems, strategies to mitigate negative emotions and mental states, such as fear and anxiety, become essential. In this context, environmental enrichment and the use of additives, such as probiotics, stand out as strategies to promote welfare. This dissertation evaluated the use of these strategies in the modulation of fear and anxiety in broiler chickens and is structured into two chapters: **Chapter I** – a systematic review aimed at evaluating the effects of environmental enrichment on fear and anxiety in fast-growing broiler chickens, following the PRISMA 2020 guidelines. Twenty-two experimental studies were included that investigated different forms of environmental enrichment, such as physical structures, sensory stimuli, occupational and feeding resources. Most studies focused on the assessment of fear, mainly through the tonic immobility test, while anxiety was investigated in a limited number of studies, concentrated in recent years, using the attention bias test. In general, enrichments that provided functional refuge, biologically relevant stimuli, and greater environmental control showed the greatest potential to reduce negative emotional states in birds. In contrast, isolated interventions or those of low relevance to the birds showed limited or temporary effects. The results indicated that environmental enrichment, when functionally designed and aligned with the behavioral needs of the strain, can act in the modulation of fear and anxiety, improving the emotional welfare of broiler chickens. **Chapter II** – an experimental study aimed at evaluating the effects of the interaction between performance-enhancing additives and environmental complexity on the modulation of mental state (fear and anxiety) in broiler chickens. A total of 1,440 one-day-old chicks (Ross 308 strain, 39.26 ± 0.51 g) were used, distributed in a randomized block design, in a 3×2 factorial arrangement, considering additives (probiotic × antibiotic × negative control) and environmental complexity (high × low), totaling six treatments with eight replicates each. Serum serotonin concentration was evaluated as an indirect marker of emotional regulation. Acute fear was assessed using the tonic immobility test and anxiety using the attention bias test. The results showed that serum serotonin was influenced by the type of additive, with higher concentrations in birds receiving antibiotics and an intermediate effect for those receiving probiotics as performance enhancers. The tonic immobility test showed no significant effects, indicating low sensitivity to detect emotional changes under the evaluated conditions. In contrast, the attention bias test proved to be more sensitive, revealing effects of additives, environmental complexity, and their interaction. The association between antibiotic and high environmental complexity promoted lower levels of anxiety, while the probiotic maintained an intermediate effect. Thus, fear and anxiety are modulated in distinct ways, and their assessment requires the combination of physiological, behavioral, and cognitive indicators, reinforcing the importance of emotional welfare in management strategies and antibiotic replacement.

Keywords: antibiotic, animal welfare, affective states, probiotic, sentience

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A produção animal atual integra eficiência, sustentabilidade e ética como dimensões inseparáveis. Nesse contexto, os conceitos de saúde única e bem-estar único fundamentam o impacto dos sistemas produtivos na saúde humana, animal e ambiental. A saúde única estabelece que a sanidade animal reflete diretamente na segurança alimentar, na resistência antimicrobiana e no equilíbrio ecossistêmico, demandando estratégias para enfrentar desafios (Pitt e Gunn, 2024). No Brasil, esse conceito tem sido incorporado em áreas de estudo animal, reforçando o papel do profissional na promoção da saúde coletiva e na construção de sistemas produtivos mais responsáveis (Ferreira et al., 2020).

O conceito de Bem-Estar Único amplia essa visão ao posicionar o bem-estar animal como pilar da sustentabilidade e da aceitação social dos sistemas de produção. Essa abordagem demonstra que avanços no bem-estar animal impactam positivamente a saúde humana, a qualidade do produto, o meio ambiente e a viabilidade econômica (Bichel e Zanin, 2021). Além disso, o bem-estar é integrante de programas de produção sustentável e de garantia de qualidade, pois se relaciona de forma interdependente com saúde, manejo, economia, aceitação do consumidor e impacto ambiental (Boyle et al., 2022). Assim, estratégias como o manejo ambiental e o uso de aditivos inserem-se no debate sobre uma produção ética e alinhada às demandas sociais.

A avicultura de corte é um sistema altamente intensificado e tecnificado, definido pelo controle ambiental rigoroso, alta densidade de alojamento e rápido crescimento das aves (Nielsen et al., 2023; Hartcher e Lum, 2020). Embora os avanços genéticos e nutricionais tenham otimizado o desempenho, resultaram em ambientes padronizados, com baixa diversidade estrutural e poucas oportunidades para a expressão comportamental natural (Hartcher e Lum, 2020; Sakamoto et al., 2020). Apesar de atenderem às exigências sanitárias e produtivas, esses sistemas homogêneos podem comprometer o bem-estar subjetivo, favorecendo estados afetivos negativos (Nielsen et al., 2023; Bailie et al., 2018). Além disso, limitações funcionais associadas ao crescimento acelerado e às condições de alojamento podem reduzir a exploração e a interação com o meio (Riber et al., 2024). Assim, o debate atual sobre bem-estar avícola transcende a "ausência de doenças", focando na experiência subjetiva e nos

estados emocionais das aves, aspecto cada vez mais relevante também para a aceitação social dos sistemas produtivos (Phillips, 2024).

Nesse contexto, o avanço do conceito de bem-estar animal vem do reconhecimento da senciência, isto é, a capacidade de perceber o ambiente e vivenciar emoções de valência positiva ou negativa, conforme a avaliação individual das condições de exposição (Boissy e Erhard, 2014; Browning e Veit, 2023). Essa mudança conceitual reforça que o bem-estar vai além de parâmetros físicos ou produtivos, sendo diretamente relacionado ao estado mental resultante da integração entre saúde física, ambiente e experiências subjetivas (Mellor, 2017). Assim, o bem-estar emerge do processamento neural dessas vivências, dependendo tanto da mitigação de estados afetivos negativos quanto da promoção de experiências mentais positivas (Mellor et al., 2020).

Evidências de competências cognitivas e comportamentais em aves, como aprendizagem, memória e tomada de decisão, sustentam sua senciência e capacidade de resposta emocional a ameaças ou recompensas (D'Silva et al., 2024). Essas capacidades estão associadas a sistemas neurobiológicos conservados, responsáveis pela regulação do comportamento adaptativo e das emoções (Coria-Avila et al., 2022). Em frangos de corte, a senciência se expressa na reação ao manejo, ao ambiente e à presença humana, além da busca ativa por recompensas, como forrageio, exploração, interação com objetos (Boissy e Erhard, 2014). Portanto, se o objetivo do bem-estar animal é descrever e melhorar a qualidade de vida do animal, torna-se essencial compreender os estados afetivos que compõem sua experiência subjetiva, uma vez que o bem-estar é reconhecido como dependente não apenas da saúde física, mas também da qualidade das experiências mentais vivenciadas pelo animal (Mellor, 2017).

Os estados afetivos podem ser definidos como condições emocionais internas resultantes da integração entre percepção ambiental, avaliação cognitiva e respostas fisiológicas, orientando o comportamento para evitar ameaças e buscar recompensas (Mendl e Paul, 2020). Em termos funcionais, estados afetivos negativos não são naturalmente prejudiciais, são adaptativos quando agudos e transitórios, como o medo diante de uma ameaça real. Contudo, tornam-se problemáticos quando excessivos, frequentes ou prolongados, caracterizando sofrimento e de desajuste fisiológico e comportamental (Jirkof et al., 2019).

Na avicultura, o medo e a ansiedade destacam-se por serem prevalentes em sistemas intensivos e por influenciarem a adaptabilidade, a saúde imunológica e a produtividade das aves (Scanes, 2016; Dupjan e Dawkins, 2022). Embora relacionados, medo e ansiedade são estados distintos, diferindo quanto ao estímulo desencadeador, à dinâmica temporal e aos circuitos neurofisiológicos predominantes na resposta emocional. O medo é uma resposta emocional desencadeada por uma ameaça imediata e identificável, resultando em reações defensivas rápidas, como congelamento, fuga, esquiva, vocalizações e imobilidade tônica, cuja função biológica é aumentar a sobrevivência diante de um risco (Mendl e Paul, 2020).

A ansiedade, por outro lado, associa-se à antecipação de ameaças, especialmente quando o estímulo é ambíguo ou imprevisível, não exigindo a presença imediata de um evento aversivo (Mendl e Paul, 2020; Campbell et al., 2019). Este estado tende a ser persistente, caracterizado por hipervigilância, monitoramento ambiental acentuado e priorização da atenção para estímulos potencialmente ameaçadores (Campbell et al., 2019; Ulans et al., 2024). Fisiologicamente, ambos envolvem a ativação do sistema nervoso autônomo e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), com a liberação de corticosterona. Entretanto, diferem quanto à intensidade e duração da resposta. A ansiedade associa-se a uma ativação mais prolongada desses sistemas, refletindo um estado maior de alerta frente a um ambiente percebido como imprevisível (Scanes, 2016).

A ativação do medo é um processo neurobiológico integrado que se inicia com a detecção de estímulos ameaçadores pelos sistemas sensoriais, seguida pela atribuição de relevância biológica para determinar se representam uma ameaça real. Quando um estímulo é interpretado como ameaçador, ocorre a ativação coordenada do sistema nervoso autônomo simpático, para respostas imediatas, e do eixo HPA, que media a resposta hormonal (Scanes, 2016; Dupjan e Dawkins, 2022). Essa ativação resulta na liberação de corticosterona, glicocorticoide que promove a mobilização de energia e ajustes metabólicos para preparar o organismo ao desafio (Dupjan e Dawkins, 2022). Embora adaptativa, quando aguda e transitória, a ativação repetida ou prolongada pode causar sobrecarga fisiológica, impactando a homeostase, a imunocompetência e o desempenho. Evidências indicam que o estresse crônico, ao manter a ativação

sustentada do eixo HPA, contribui para processos inflamatórios sistêmicos e intestinais, comprometendo a barreira intestinal e retroalimentando a resposta ao estresse (Téllez-Isaías et al., 2023). Assim, a ativação do medo representa um mecanismo essencial de sobrevivência que, se excessivo ou mal regulado, pode tornar um risco ao bem-estar e à saúde de frangos de corte.

A ansiedade, embora também envolva a ativação do sistema nervoso autônomo e do eixo HPA, caracteriza-se por uma maior participação de processos cognitivos e por uma ativação mais prolongada, especialmente quando o ambiente é percebido como imprevisível ou com baixa possibilidade de controle. Em frangos de corte, esse estado se manifesta por meio de hipervigilância, monitoramento ambiental e priorização atencional de estímulos potencialmente ameaçadores, mesmo na ausência de uma ameaça imediata (Campbell et al., 2019; Anderson et al., 2021a). Ambientes simples e homogêneos favorecem respostas ansiosas, enquanto o aumento da complexidade ambiental pode atenuar a ansiedade ao tornar o meio mais informativo, previsível e passível de controle, o que favorece estratégias de *coping* (Anderson et al., 2021b; Ulans et al., 2024). Assim, a manutenção da ansiedade depende menos de um estímulo aversivo isolado e mais do contexto ambiental, particularmente da previsibilidade, da capacidade de antecipação e da interação ativa com o ambiente (Veissier et al., 2024).

Dessa forma, a ativação do medo e ansiedade em aves está associado à percepção de ameaça real ou potencial, à exposição a estímulos novos, à imprevisibilidade, à ausência de controle ambiental e à repetição de experiências aversivas sem habituação adequada. Ambientes pobres em informação e oportunidades de escolha tendem a elevar a incerteza e a relevância de estímulos potencialmente ameaçadores, favorecendo respostas defensivas e estados afetivos negativos (Boissy e Erhard, 2014; Pritchett-Corning, 2019). Em contraste, a redução do medo e da ansiedade requer intervenções como o aumento da previsibilidade, a oferta de oportunidades de exploração e *coping*, a promoção de experiências recompensadoras e a mitigação de estressores crônicos. A provisão de ambientes mais informativos e complexos favorece a habituação gradual, amplia a sensação de controle e contribui para a modulação de estados afetivos positivos, reduzindo a reatividade ao estresse (Jacobs et al., 2023; Veissier et al., 2024; Taylor et al., 2023).

O enriquecimento ambiental pode ser definido pela introdução de estímulos que aumentam a informação do meio e ampliam as oportunidades de expressão de comportamentos naturais, promovendo maior interação entre o animal e o ambiente (Ricci et al., 2017). Em sistemas produtivos, essa estratégia é eficaz para melhorar o bem-estar ao favorecer a atividade, a exploração e a escolha, reduzindo indicadores de estresse crônico e restrição comportamental (Riber et al., 2018; Xu et al., 2022). A expressão de comportamentos naturais está diretamente ligada à vivência de estados afetivos positivos e à redução da frustração (Jacobs et al., 2023). Do ponto de vista afetivo, ambientes enriquecidos reduzem o medo ao facilitarem a habituação e diminuírem a reatividade à novidade. Além disso, atenuam a ansiedade ao tornarem o meio mais informativo e previsível, o que permite maior exploração e reduz a hipervigilância (Taylor et al., 2023).

Na avicultura de corte, o enriquecimento ambiental abrange estímulos físicos, estruturais e alimentares que incentivam o forrageio, a exploração e a atividade locomotora. Já a complexidade ambiental refere-se à integração de múltiplos enriquecimentos, resultando em ambientes dinâmicos e informativos do ponto de vista comportamental e cognitiva. Ambientes complexos favorecem a adaptação das aves, promovem a previsibilidade funcional do espaço e ampliam a sensação de controle, fatores associados à redução do medo e da ansiedade (Anderson et al., 2021a; Tahamtani et al., 2018). Além disso, a diversidade de estímulos expande as oportunidades de escolha e exploração, contribuindo para uma menor reatividade a desafios e respostas emocionais equilibradas (Pichova et al., 2016; Jacobs et al., 2023).

Do ponto de vista neurocomportamental, ambientes enriquecidos e complexos mitigam estados afetivos negativos por diferentes mecanismos. O primeiro envolve o aumento da previsibilidade e do controle, ao oferecer alternativas de escolha, reduz-se a incerteza e o desamparo, diminuindo a predisposição à ansiedade sustentada (Boissy e Erhard, 2014; Veissier et al., 2024). Outra via refere-se à ativação de sistemas de recompensa, nos quais estímulos de alto valor engajam circuitos dopaminérgicos vinculados à motivação e ao comportamento dirigido a objetivos, favorecendo afetos positivos e reduzindo a saliência de ameaças (Wise, 2004; Moe et al., 2014; Schultz, 2024). Por fim, a exposição a ambientes variados promove a habituação e a resiliência, permitindo

que as aves lidem eficientemente com desafios e apresentem menor reatividade ao medo frente à novidade (Boissy e Erhard, 2014; Anderson et al., 2021a).

Paralelamente às intervenções ambientais, o uso de aditivos constitui uma prática consolidada na avicultura, associada à saúde intestinal e à eficiência produtiva. Os antibióticos promotores de crescimento atuam na modulação da microbiota, reduzindo microrganismos oportunistas e a inflamação subclínica (Gao et al., 2017; Paul et al., 2022). Contudo, seu uso prolongado está vinculado à menor diversidade microbiana, ao atraso na maturação funcional da microbiota e à seleção de resistência antimicrobiana. Esses fatores impulsionam mudanças regulatórias e pressões sociais pela restrição desses aditivos, em conformidade com os princípios da Saúde Única (Pitt e Gunn, 2024).

Nesse contexto, os probióticos surgem como alternativa ou complemento aos antibióticos, atuando por mecanismos distintos na modulação da microbiota e da resposta imune. Esses efeitos promovem a estabilidade do ecossistema intestinal e mitigam processos inflamatórios crônicos, favorecendo um ambiente fisiológico equilibrado (Plaza-Díaz et al., 2019; El-Hack et al., 2020). Considerando o bem-estar, a manutenção de um trato intestinal menos inflamatório tende a reduzir a ativação dos sistemas fisiológicos de estresse. Isso amplia a capacidade de enfrentamento dos frangos frente a desafios ambientais e produtivos, embora seus efeitos sobre os estados afetivos dependam da interação com outros fatores de manejo (Dupjan e Dawkins, 2022; Yosi e Metzler-Zebeli, 2023).

A conexão entre aditivos nutricionais, microbiota e estados afetivos é compreendida no eixo intestino–cérebro. Este sistema de comunicação bidirecional integra vias neurais, endócrinas, imunes e metabólicas, envolvendo o sistema nervoso entérico, o nervo vago, hormônios do estresse, citocinas e metabólitos microbianos (O'Mahony et al., 2015; Huang & Wu, 2021). Alterações na composição e funcionalidade da microbiota podem modificar a liberação de mediadores inflamatórios, comprometer a integridade da barreira intestinal e intensificar a inflamação sistêmica (Dicks, 2022; Téllez-Isaías et al., 2023). Esse estado inflamatório periférico está associado à maior ativação e sensibilidade do eixo HPA, resultando em respostas de estresse mais intensas e prolongadas (Téllez-Isaías et al., 2023). Em contraste, um ambiente intestinal estável e menos inflamatório modula o eixo intestino–cérebro, reduzindo a carga fisiológica de

estresse e promovendo um perfil neuroendócrino equilibrado (Fu et al., 2023; Yang et al., 2023).

Nesse contexto, biomarcadores periféricos associados à função intestinal, como a serotonina sérica, tornam-se particularmente relevantes. Embora não reflita a neurotransmissão central, sua concentração está relacionada à atividade intestinal, à integridade da barreira epitelial e à sinalização imune, fornecendo indicadores sobre o eixo intestino–cérebro (O'Mahony et al., 2015; Koopman et al., 2021; Kanova & Kohout, 2021). A maior parte da serotonina corporal é produzida no trato gastrointestinal, principalmente por células enteroendócrinas, sendo sua liberação e metabolismo modulados pela microbiota. Alterações nesse sistema, como disbiose e inflamação intestinal, podem modificar a sinalização serotoninérgica periférica e influenciar vias neuroendócrinas do estresse, incluindo o eixo HPA (O'Mahony et al., 2015; Layunta et al., 2021). Em aves, o estresse fisiológico altera os níveis de serotonina, consolidando esse biomarcador na avaliação de respostas sistêmicas (Ahmed-Farid et al., 2021). Assim como a complexidade ambiental modula o medo e a ansiedade via controle e recompensa, intervenções nutricionais que estabilizam a microbiota e reduzem a inflamação intestinal podem atenuar os determinantes fisiológicos do estresse, promovendo um perfil neuroendócrino mais equilibrado.

Além disso, a pressão social por práticas que promovam o bem-estar e restrinjam o uso de antibióticos é impulsionada por preocupações éticas, sanitárias e ambientais. Consumidores valorizam sistemas alinhados ao bem-estar animal, demandando transparência e responsabilidade, o que impacta diretamente a aceitação dos produtos (Alonso et al., 2020). Nesse cenário, estratégias que conciliam desempenho, saúde e bem-estar são fundamentais, pois intervenções na qualidade de vida dos animais geram benefícios socioeconômicos sem comprometer a viabilidade produtiva (Stokes et al., 2020). Assim, abordagens integradas entre manejo ambiental e intervenções nutricionais surgem como alternativas para atender às expectativas do mercado e superar os desafios da produção moderna.

Apesar dos avanços, os estudos disponíveis tendem a avaliar isoladamente os efeitos do enriquecimento ambiental ou dos aditivos melhoradores de desempenho sobre o bem-estar e os estados afetivos, o que limita a compreensão dos mecanismos integrados. Considerando que o bem-estar emerge da interação

entre múltiplos determinantes ambientais e fisiológicos (Veissier et al., 2024), torna-se fundamental investigar os efeitos combinados dessas estratégias.

Nesse contexto, abordagens que integrem manejo ambiental e nutrição permitem superar a avaliação de efeitos isolados, ampliando a compreensão sobre a modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte. A hipótese é que a associação entre complexidade ambiental e aditivos (probióticos ou antibióticos) promova uma modulação mais eficaz desses estados afetivos. Essa modulação deve resultar em alterações comportamentais e cognitivas, avaliadas pelo teste imobilidade tônica e teste de viés de atenção, e fisiológicas, como a concentração de serotonina sérica. Espera-se que ambientes complexos reduzam a reatividade defensiva e a hipervigilância ao favorecerem controle, exploração e experiências positivas. Ao mesmo tempo, os aditivos devem reduzir a inflamação intestinal e estabilizar a microbiota, diminuindo a predisposição ao estresse prolongado. Ao integrar medidas comportamentais, cognitivas e fisiológicas, este estudo buscou compreender como essas intervenções combinadas podem agir na modulação do medo e da ansiedade de frangos de corte.

Diante desse contexto, esta dissertação foi estruturada em dois capítulos complementares, com o objetivo de aprofundar a compreensão sobre a modulação dos estados afetivos negativos em frangos de corte. No Capítulo I, é apresentada uma revisão sistemática da literatura, conduzida de acordo com as diretrizes PRISMA, que sintetiza os estudos disponíveis sobre os efeitos do enriquecimento ambiental, isolado ou em ambientes de maior complexidade, na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido. No Capítulo II, é descrito um estudo experimental que investiga os efeitos da interação entre complexidade ambiental e aditivos melhoradores de desempenho sobre a modulação dos estados de medo e ansiedade em frangos de corte.

REFERÊNCIAS

AHMED-FARID, O. A. *et al.* Effects of Chronic Thermal Stress on Performance, Energy Metabolism, Antioxidant Activity, Brain Serotonin, and Blood Biochemical Indices of Broiler Chickens. *Animals*, v. 11, n. 9, p. 2554, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11092554>.

- ALONSO, M. E.; GONZÁLEZ-MONTAÑA, J. R.; LOMILLOS, J. M. Consumers' Concerns and Perceptions of Farm Animal Welfare. *Animals*, v. 10, n. 3, p. 385, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10030385>.
- ANDERSON, M. G. *et al.* Effect of Environmental Complexity and Stocking Density on Fear and Anxiety in Broiler Chickens. *Animals*, v. 11, n. 8, p. 2383, 2021a. <https://doi.org/10.3390/ani11082383>.
- ANDERSON, M. G. *et al.* Environmental complexity positively impacts affective states of broiler chickens. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 16966, 2021b. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95280-4>.
- BAILIE, C. L.; IJICHI, C.; O'CONNELL, N. E. Effects of stocking density and string provision on welfare-related measures in commercial broiler chickens in windowed houses. *Poultry Science*, v. 97, n. 5, p. 1503-1510, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pey014>.
- BICHEL, A.; ZANIN, E. Perspectiva de 'Bem-Estar Único' em Sistemas Agroflorestais - uma Análise Bibliométrica. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 25, n. 1, p. 26-32, 2021. <https://doi.org/10.17921/1415-5141.2020v25n1p26-32>.
- BOISSY, A.; ERHARD, H. W. How Studying Interactions Between Animal Emotions, Cognition, and Personality Can Contribute to Improve Farm Animal Welfare. *In: Biology of Domestic Animals*. [S.l.]: CRC Press, 2014. p. 43-74.
- BOYLE, L. *et al.* Animal welfare research – progress to date and future prospects. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, v. 61, n. 1, p. 87-108, 2022. <https://doi.org/10.15212/ijafr-2020-0151>.
- BROWNING, H.; VEIT, W. Studying animal feelings: Integrating sentience research and welfare science. *Animal Welfare*, v. 32, e18, 2023. <https://doi.org/10.1017/awf.2023.16>.
- CAMPBELL, D. L. M.; DICKSON, E. J.; LEE, C. Application of open field, tonic immobility, and attention bias tests to hens with different ranging patterns. *PeerJ*, v. 7, e8122, 2019. <https://doi.org/10.7717/peerj.8122>.
- CORIA-AVILA, G. A. *et al.* The Neurobiology of Behavior and Its Applicability for Animal Welfare: A Review. *Animals*, v. 12, n. 7, p. 928, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12070928>.
- DICKS, L. M. T. Gut Bacteria and Neurotransmitters. *Microorganisms*, v. 10, n. 9, p. 1838, 2022. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091838>.
- D'SILVA, J. *et al.* Animal sentience: The science and its implications, with particular reference to farmed animals. *Animal Research and One Health*, v. 1, n. 1, p. 65-71, 2024. <https://doi.org/10.1002/aro2.65>.
- DUPJAN, S.; DAWKINS, M. S. Animal Welfare and Resistance to Disease: Interaction of Affective States and the Immune System. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 9, p. 929805, 2022. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.929805>.
- EL-HACK, M. E. A. *et al.* Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 104, n. 6, p. 1835-1850, 2020. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>.
- FERREIRA, A. L. M. *et al.* Medicina veterinária e a saúde única: ação socioeducativa aplicada a idosos no contexto da COVID-19. *Revista Brasileira de Extensão Universitária*, v. 11, n. 3, p. 429-438, 2020.
- FU, Y. *et al.* Cecal microbiota transplantation: unique influence of cecal microbiota from divergently selected inbred donor lines on cecal microbial profile, serotonergic activity, and

aggressive behavior of recipient chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, v. 14, n. 1, p. 66, 2023. <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00866-9>.

GAO, P. *et al.* Feed-additive probiotics accelerate yet antibiotics delay intestinal microbiota maturation in broiler chicken. *Microbiome*, v. 5, n. 1, p. 91, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0315-1>.

HARTCHER, K. M.; LUM, H. K. Genetic selection of broilers and welfare consequences: a review. *World's Poultry Science Journal*, v. 76, n. 1, p. 154-167, 2020. <https://doi.org/10.1080/00439339.2019.1680025>.

HUANG, F.; WU, X. Brain Neurotransmitter Modulation by Gut Microbiota in Anxiety and Depression. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 9, p. 649103, 2021. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.649103>.

JACOBS, L. *et al.* Enhancing their quality of life: environmental enrichment for poultry. *Poultry Science*, v. 102, n. 1, p. 102230, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102230>.

JIRKOF, P.; RUDECK, J.; LEWEJOHANN, L. Assessing Affective State in Laboratory Rodents to Promote Animal Welfare—What Is the Progress in Applied Refinement Research? *Animals*, v. 9, n. 11, p. 1026, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9111026>.

KANOVA, M.; KOHOUT, P. Serotonin—Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 9, p. 4837, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22094837>.

KOOPMAN, N. *et al.* The Multifaceted Role of Serotonin in Intestinal Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 17, p. 9487, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22179487>.

LAYUNTA, E. *et al.* Crosstalk Between Intestinal Serotonergic System and Pattern Recognition Receptors on the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Frontiers in Endocrinology*, v. 12, p. 748254, 2021. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.748254>.

MELLOR, D. J. Operational Details of the Five Domains Model and Its Key Applications to the Assessment and Management of Animal Welfare. *Animals*, v. 7, n. 8, p. 60, 2017. <https://doi.org/10.3390/ani7080060>.

MELLOR, D. J. *et al.* The 2020 Five Domains Model: Including Human-Animal Interactions in Assessments of Animal Welfare. *Animals*, v. 10, n. 10, p. 1870, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10101870>.

MENDL, M.; PAUL, E. S. Animal affect and decision-making. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 112, p. 144-163, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.025>.

MOE, R. O. *et al.* Anticipatory and foraging behaviors in response to palatable food reward in chickens: Effects of dopamine D2 receptor blockade and domestication. *Physiology & Behavior*, v. 133, p. 170-177, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.016>.

NIELSEN, S. S. *et al.* Welfare of broilers on farm. *EFSA Journal*, v. 21, n. 2, e07788, 2023. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7788>.

O'MAHONY, S. M. *et al.* Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, v. 277, p. 32-48, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.027>.

PAUL, S. S. *et al.* Effects of Dietary Antimicrobial Growth Promoters on Performance Parameters and Abundance and Diversity of Broiler Chicken Gut Microbiome and Selection

of Antibiotic Resistance Genes. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 905050, 2022. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.905050>.

PHILLIPS, C. J. C. Farm Animal Welfare—From the Farmers' Perspective. *Animals*, v. 14, n. 5, p. 671, 2024. <https://doi.org/10.3390/ani14050671>.

PICHOVA, K. *et al.* The effects of food-related environmental complexity on litter directed behaviour, fear and exploration of novel stimuli in young broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 174, p. 83-89, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.11.007>.

PITT, S. J.; GUNN, A. The One Health Concept. *British Journal of Biomedical Science*, v. 81, p. 12366, 2024. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2024.12366>.

PLAZA-DIAZ, J. *et al.* Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances in Nutrition*, v. 10, n. 1, p. S49-S66, 2019. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>.

PRITCHETT-CORNING, K. R. Environmental Complexity and Research Outcomes. *ILAR Journal*, v. 60, n. 2, p. 239-251, 2019. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilaa007>.

RIBER, A. B. *et al.* Review of environmental enrichment for broiler chickens. *Poultry Science*, v. 97, n. 2, p. 378-396, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pex344>.

RIBER, A. B.; WURTZ, K. E.; THODBERG, K. On-farm study of walking ability in Danish government-certified 'Better Animal Welfare' and conventional broilers. *Veterinary Record*, p. e5323, 2024. <https://doi.org/10.1002/vetr.5323>.

RICCI, G. D.; TITTO, C. G.; SOUSA, R. T. Enriquecimento ambiental e bem-estar na produção animal. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 16, n. 3, p. 324-332, 2017. <https://doi.org/10.5965/223811711632017324>.

SAKAMOTO, K. S. *et al.* The challenges of animal welfare in modern Brazilian poultry farming. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, v. 8, n. 2, p. 131-135, 2020. <https://doi.org/10.31893/jabb.20017>.

SCANES, C. G. Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poultry Science*, v. 95, n. 9, p. 2208-2215, 2016. <https://doi.org/10.3382/ps/pew137>.

SCHULTZ, W. A dopamine mechanism for reward maximization. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, v. 121, n. 17, e2318182121, 2024. <https://doi.org/10.1073/pnas.2318182121>.

STOKES, J. E. *et al.* Economic and Welfare Impacts of Providing Good Life Opportunities to Farm Animals. *Animals*, v. 10, n. 4, p. 610, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10040610>.

TAHAMTANI, F. M. *et al.* Effects of environmental complexity on fearfulness and learning ability in fast growing broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 207, p. 49-56, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.07.001>.

TAYLOR, P. S. *et al.* An effective environmental enrichment framework for the continual improvement of production animal welfare. *Animal Welfare*, v. 32, e14, p. 1-11, 2023. <https://doi.org/10.1017/awf.2023.5>.

TÉLLEZ-ISAÍAS, G. *et al.* Effects of chronic stress and intestinal inflammation on commercial poultry health and performance: A review. *German Journal of Veterinary Research*, v. 3, n. 2, p. 30-45, 2023. <https://doi.org/10.51585/gjvr.2023.2.0055>.

ULANS, A.; BROOKS, G. C.; JACOBS, L. Environmental complexity impacts anxiety in broiler chickens depending on genetic strain and body weight. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 17535, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67965-z>.

VEISSIER, I. *et al.* Review: Rethinking environmental enrichment as providing opportunities to acquire information. *Animal*, v. 18, n. 8, p. 101251, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2024.101251>.

WISE, R. A. Dopamine, learning and motivation. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 5, n. 6, p. 483-494, 2004. <https://doi.org/10.1038/nrn1406>.

XU, D. *et al.* Farm Environmental Enrichments Improve the Welfare of Layer Chicks and Pullets: A Comprehensive Review. *Animals*, v. 12, n. 19, p. 2610, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12192610>.

YANG, J. *et al.* *Ligilactobacillus Salivarius* improve body growth and anti-oxidation capacity of broiler chickens via regulation of the microbiota-gut-brain axis. *BMC Microbiology*, v. 23, n. 1, p. 395, 2023. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03135-x>.

YOSI, F.; METZLER-ZEBELI, B. U. Dietary Probiotics Modulate Gut Barrier and Immune-Related Gene Expression and Histomorphology in Broiler Chickens under Non- and Pathogen-Challenged Conditions: A Meta-Analysis. *Animals*, v. 13, n. 12, p. 1970, 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13121970>.

CAPÍTULO I

**O AMBIENTE IMPORTA? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE
OS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA REDUÇÃO
DO MEDO E ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE**

O AMBIENTE IMPORTA? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE OS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO MEDO E NA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO – O enriquecimento ambiental tem sido amplamente proposto como estratégia para promover o bem-estar de frangos de corte, influenciando diretamente seus estados afetivos. Assim, esta revisão teve como objetivo avaliar de forma sistemática os achados sobre os efeitos do uso de enriquecimento ambiental na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido. A pergunta da pesquisa foi estruturada segundo a metodologia PICO, considerando como população frangos de corte de crescimento rápido, como intervenção as diferentes formas de enriquecimento ambiental, como comparador os ambientes sem enriquecimento ou com manejo convencional, e como desfechos as respostas ao medo e/ou ansiedade. Foram incluídos estudos randomizados que testaram os efeitos do uso de enriquecimento ambiental ou da complexidade ambiental sobre as respostas de medo e/ou ansiedade, exclusivamente em frangos de corte de crescimento rápido. Foram realizadas buscas nas bases de dados Scopus, PubMed e Sciencedirect, seguindo as diretrizes do PRISMA 2020, sem marco temporal, de setembro de 2025 a janeiro de 2026. O risco de viés foi avaliado utilizando o RoB 2.0, considerando aspectos metodológicos como a randomização, intervenção, cegamento dos avaliadores, dados de desfecho e transparência dos resultados. Foram incluídos 22 estudos no total. Desses, 19 avaliaram exclusivamente o medo, dois avaliaram simultaneamente medo e ansiedade, e apenas um estudo investigou exclusivamente a ansiedade. A maioria dos estudos concentrou-se na avaliação do medo, principalmente por meio do teste de imobilidade tônica, enquanto a ansiedade foi investigada em apenas três estudos, utilizando o teste de viés de atenção. Os enriquecimentos empregados incluíram itens físicos, ocupacionais, sensoriais e nutritivos, frequentemente combinados em ambientes de alta complexidade ambiental. As intervenções que ofereceram refúgio, estímulos relevantes e maior controle ambiental apresentaram maior potencial para reduzir o medo e a ansiedade. O enriquecimento ambiental é capaz de modular positivamente o medo e a ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, especialmente quando biologicamente fundamentado com as necessidades da linhagem e organizado em ambientes de maior complexidade ambiental funcional. Estratégias que promovem segurança, controle ambiental e engajamento comportamental sustentado apresentam maior eficácia do que intervenções pontuais. No entanto, são necessárias pesquisas futuras que padronizem metodologias de avaliação emocional e ampliem o estudo da ansiedade ao longo do crescimento das aves, para consolidar práticas mais eficazes para o bem-estar animal.

Palavras-chave: ABT, bem-estar animal, complexidade ambiental, cognição, imobilidade tônica, senciência.

DOES THE ENVIRONMENT MATTER? A SYSTEMATIC REVIEW ON THE EFFECTS OF ENVIRONMENTAL ENRICHMENT ON FEAR AND ANXIETY IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT: Environmental enrichment has been widely proposed as a strategy to promote the welfare of broiler chickens, directly influencing their affective states. Thus, this review aimed to systematically evaluate the findings on the effects of using environmental enrichment in modulating fear and anxiety in fast-growing broiler chickens. The research question was structured according to the PICO methodology, considering fast-growing broiler chickens as the population, the different forms of environmental enrichment as the intervention, environments without enrichment or with conventional management as the comparator, and fear and/or anxiety responses as the outcomes. Randomized studies that tested the effects of using environmental enrichment or environmental complexity on fear and/or anxiety responses, exclusively in fast-growing broiler chickens, were included. Searches were performed in the Scopus, PubMed, and ScienceDirect databases, following the PRISMA 2020 guidelines, with no time limit, from September 2025 to January 2026. The risk of bias was assessed using RoB 2.0, considering methodological aspects such as randomization, intervention, blinding of assessors, outcome data, and transparency of results. A total of 22 studies were included. Of these, 19 evaluated fear exclusively, two simultaneously evaluated fear and anxiety, and only one study investigated anxiety exclusively. Most studies focused on the assessment of fear, mainly through the tonic immobility test, while anxiety was investigated in only three studies, using the attention bias test. The enrichments employed included physical, occupational, sensory, and nutritional items, frequently combined in high environmental complexity environments. Interventions that provided refuge, relevant stimuli, and greater environmental control showed greater potential to reduce fear and anxiety. Environmental enrichment is capable of positively modulating fear and anxiety in fast-growing broiler chickens, especially when biologically grounded in the strain's needs and organized in environments of higher functional environmental complexity. Strategies that promote safety, environmental control, and sustained behavioral engagement show greater efficacy than isolated interventions. However, future research is needed to standardize emotional assessment methodologies and expand the study of anxiety throughout the birds' growth to consolidate more effective practices for animal welfare.

Keywords: ABT, animal welfare, environmental complexity, cognition, tonic immobility, sentience

INTRODUÇÃO

O conceito de bem-estar animal esteve durante muito tempo associado à saúde física e ausência de estresse. No entanto, os avanços da pesquisa científica ampliaram essa definição ao incluir a senciência, reconhecendo que os animais são capazes de perceber o ambiente onde vivem e experimentar estados subjetivos positivos, como a felicidade, prazer, confiança, interesse, e negativos, como a dor, medo, frustração, estresse (Browning e Veit, 2023; D'Silva et al., 2024; Soulet et al., 2024; Whitham e Miller, 2024). Nesse contexto, o bem-estar passou a ser compreendido não apenas como ausência de doenças, mas também como a capacidade de experimentar e regular emoções ao longo do tempo (Mellor, 2017), influenciando diretamente na forma como os sistemas de produção são gerenciados (Boissy e Erhard, 2014; Buller et al., 2020)

Os estados afetivos abrangem emoções de curta duração, resultantes de eventos específicos, e estados de humor mais prolongado, que refletem experiências acumuladas e modulam o comportamento ao longo do tempo (Panksepp, 2005; Jirkof et al., 2019; Mendl e Paul, 2020). A afetividade influencia a forma como os animais percebem o ambiente, tomam decisões e respondem a estímulos, moldando a exploração, interação social e a adaptação às condições de criação (Gotto et al., 2016). Em animais de produção, estados afetivos negativos podem comprometer não somente a expressão de comportamentos naturais, mas também os processos fisiológicos.

Entre os estados afetivos negativos mais preocupantes na avicultura destacam-se o medo e a ansiedade. O medo consiste em uma resposta emocional aguda frente a estímulos ameaçadores imediatos, desencadeando reações defensivas rápidas, enquanto a ansiedade está associada a um estado antecipatório de alerta, mais prolongado, diante de ameaças potenciais ou imprevisíveis (Anderson et al., 2021; Edgar et al., 2023). Ambientes monótonos, altas densidades de alojamento, manejo frequente e ausência de estímulos ambientais adequados, características comuns dos sistemas intensivos de produção, favorecem a ocorrência e a persistência desses estados negativos (Baxter et al., 2019; Campbell et al., 2019; Lourenço-Silva et al., 2024).

Embora o medo e a ansiedade sejam estados distintos, ambos atuam para a ativação de sistemas de resposta ao estresse, especialmente o eixo hipotálamo-

hipófise-adrenal (HPA), o que permite a avaliação por meio de marcadores fisiológicos de estresse em aves. A ativação do eixo HPA ocorre quando a percepção da ameaça ou imprevisibilidade ambiental estimula o hipotálamo a liberar o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), estimulando a secreção de ACTH pela hipófise e, em seguida, a liberação da corticosterona pelas adrenais. Embora essa resposta seja adaptativa, ao mobilizar rapidamente reservas energéticas, a ativação do eixo HPA resulta em desequilíbrios metabólicos, imunossupressão e alterações comportamentais, caracterizando um estado fisiológico de estresse prolongado (Sulimova et al., 2020; Bilal et al., 2021; Mohammed et al., 2021). Além disso, o estresse crônico associado ao medo e ansiedade estão relacionados à disrupção do sistema serotoninérgico, com redução da disponibilidade de serotonina central e periférica, em parte por conta de alterações no metabolismo do triptofano, comprometendo a regulação emocional e favorecendo estados de hipervigilância e ansiedade (Sulimova et al., 2020; Ahmed-Farid et al., 2021; Bilal et al., 2021; Mohammed et al., 2021).

Esse redirecionamento fisiológico para um estado de alerta constante resulta em uma maior demanda energética, desviando recursos de processos como o crescimento, imunocompetência e manutenção da saúde, para mecanismos de sobrevivência. Como consequência, há uma redução no consumo de ração, no ganho de peso, e na eficiência alimentar, além de maior susceptibilidade a doenças (Sulimova et al., 2020; Bilal et al., 2021; Mohammed et al., 2021). A priorização da sobrevivência pode inibir comportamentos exploratórios e sociais, uma vez que a ave reduz a interação com o ambiente para minimizar riscos, resultados em respostas comportamentais mais passivas e defensivas. Diante disso, estratégias que reduzam esses estados tornam-se fundamentais para o bem-estar.

O enriquecimento ambiental surge como uma estratégia para mitigar a ocorrência e persistência do estado de medo e ansiedade. Ao modificar o ambiente de criação, o enriquecimento ambiental aumenta a complexidade ambiental, estimulando comportamentos naturais e a capacidade das aves regularem sua interação com o ambiente, por meio de oportunidades de escolha e controle sobre os estímulos disponíveis (Ricci et al., 2017; Stokes et al., 2020; Taylor et al., 2023). Diferentes formas de enriquecimento, incluindo estruturas

físicas, estímulos sensoriais, objetos ocupacionais e recursos alimentares, têm sido associadas à redução da reatividade emocional e ao aumento de experiências positivas, o que contribui para a redução de estados afetivos negativos e para melhoria do bem-estar das aves (Jacobs et al., 2023; Herrera-Alcaíno et al., 2024; Kim et al., 2025).

Nesse contexto, a efetividade do enriquecimento ambiental na modulação do medo e da ansiedade depende da capacidade das aves de perceber, processar e responder os estímulos ambientais. Embora fossem historicamente consideradas cognitivamente simples, as aves apresentam capacidades cognitivas, emocionais e sociais bem desenvolvidas, com um cérebro funcionalmente semelhante aos dos mamíferos, sendo capazes de integrar experiências ambientais a emoções e estados afetivos complexos, como ansiedade, medo, frustração, tédio e felicidade (Marino, 2017). Essa capacidade de processar emoções reforça que ambientes enriquecidos não atuam apenas modificando o espaço físico, mas como estímulos capazes de influenciar a percepção e o controle ambiental. Ao aumentar oportunidades de escolha e controle sobre o ambiente, o enriquecimento ambiental reduz a percepção de ameaça e imprevisibilidade, favorecendo respostas comportamentais menos defensivas e uma recuperação emocional mais eficiente após estímulos estressantes (Jacobs et al., 2022; Kim et al., 2025), o que está associado a menor ativação prolongada de sistemas de estresse.

Apesar disso, embora o enriquecimento ambiental venha sendo amplamente utilizado na avicultura para promover o bem-estar, ainda há uma ampla variação metodológica e nas respostas à avaliação emocional, o que dificulta a compreensão dos efeitos sobre o medo e ansiedade de frangos de corte. Assim, objetivou-se sintetizar os estudos disponíveis sobre os efeitos do uso de enriquecimento ambiental, isolado ou em ambientes de maior complexidade, na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido

METODOLOGIA

Fonte de informação e estratégia de busca

Esta revisão sistemática foi elaborada seguindo as recomendações do “*Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses Protocols*”

– PRISMA 2020 (Page et al., 2021), assegurando a transparência, reprodutibilidade e rigor metodológico em todas as etapas. A pergunta norteadora da pesquisa foi: “O enriquecimento ambiental é capaz de modular os estados emocionais negativos, como o medo e a ansiedade, em frangos de corte?”. Para responder à questão de forma estruturada, os termos de busca foram organizados de acordo com a estratégia PICO (Tabela 1), definindo a população, intervenção, comparação e os desfechos de interesse.

Tabela 1. Definição dos componentes da estratégia PICO para a busca e seleção de estudos sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido.

Acrônimo	Definição	Descrição
P	População	Frangos de corte de crescimento rápido
I	Intervenção	Enriquecimento ambiental
C	Comparação	Ambientes convencionais ou sem uso de enriquecimento ambiental
O	Outcomes	Efeitos sobre o medo e a ansiedade (testes comportamentais/cognitivos)

As buscas foram realizadas nas bases de dados *Scopus*, *PubMed* e *ScienceDirect*. As estratégias de busca foram estruturadas de forma a abranger simultaneamente a população-alvo, os diferentes tipos de enriquecimento ambiental e os principais desfechos relacionados aos estados afetivos negativos, com ênfase em medo e ansiedade, conforme ilustrado na Figura 1. Para refinamento dos resultados, os termos de busca foram combinados com operadores booleanos “AND” e “OR”, e o truncamento (“*”) foi aplicado para abranger variações terminológicas e plurais, aumentando a sensibilidade da busca.

A estratégia final aplicada às bases *Scopus* e *PubMed* foi: “(“*poultry*” OR “*broiler chicken*” OR “*broiler*”) AND (“*environmental enrichment*” OR “*enriched environmental*” OR “*environmental complexity*”) AND (“*fear*” OR “*anxiety*” OR “*emotional state*” OR “*tonic immobility*” OR “*attention bias test*” OR “*affective state*”)”.

Devido às limitações da base *ScienceDirect*, que limita o uso de operadores booleanos a oito conectivos por busca e impossibilita a aplicação do caractere de truncamento, a estratégia original foi adaptada para garantir a inclusão de estudos relevantes oriundos dessa fonte, mantendo a coerência com os termos usados nas demais bases. O termo de busca adaptado foi: “(“*broiler chicken*”) AND

("environmental enrichment" OR "environmental complexity") AND ("fear" OR "anxiety" OR "emotional state" OR "tonic immobility" OR "attention bias test").

Não foi estabelecido um marco temporal para a busca dos estudos, para evitar a exclusão de estudos potencialmente relevantes. Todo processo de busca ocorreu entre o período de setembro de 2025 a janeiro de 2026.

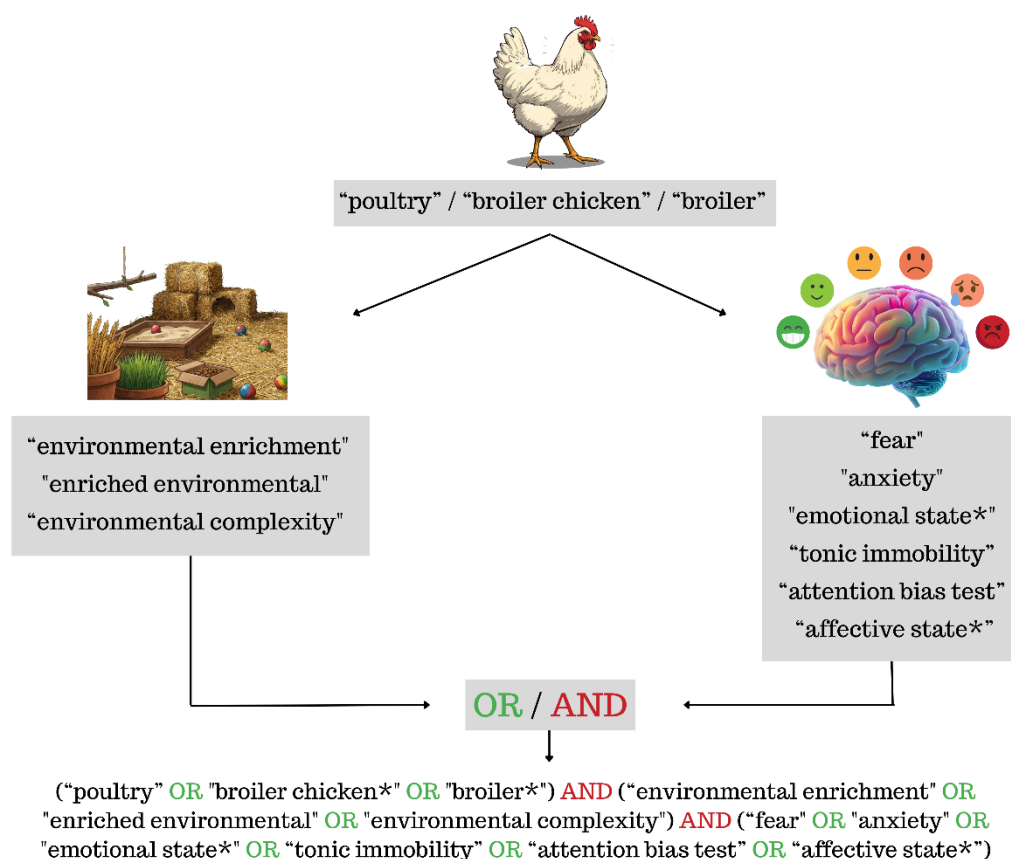


Figura 1. Representação esquemática da estratégia de busca utilizada na revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de acordo com a estratégia PICO.

Critérios de elegibilidade

Os critérios de inclusão e exclusão foram definidos previamente (Tabela 2), para garantir a consistência metodológica e a relevância dos estudos incluídos na revisão. A população foi restrita a frangos de corte de crescimento rápido, devido às particularidades genéticas, fisiológicas e comportamentais dessas linhagens, que apresentam metabolismo acelerado e o rápido desenvolvimento corporal e tornam essas aves susceptíveis a desafios de bem-estar (Hartcher e Lum, 2019).

Os estudos elegíveis para inclusão deveriam obrigatoriamente avaliar o impacto de enriquecimento ambiental sobre o medo e/ou a ansiedade, utilizando

testes cognitivos e/ou comportamentais, considerados apenas estudos originais controlados e publicados em inglês. Em contrapartida, foram excluídos estudos publicados em outros idiomas, estudos secundários, revisões, capítulos de livros e pesquisas que, embora abordassem enriquecimento ambiental, não avaliassem o medo ou a ansiedade.

Tabela 2. Critérios de inclusão e exclusão aplicados à revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido.

Critério	INCLUSÃO	EXCLUSÃO
Idioma	Apenas estudos publicados em inglês.	Estudos publicados em outros idiomas.
Tipo de estudo	Artigos originais de pesquisa experimental controlada e randomizada.	Revisões, meta-análises, resumos de congressos, capítulos de livros, editoriais.
População	Frangos de corte (<i>broiler chickens</i>) de crescimento rápido, independente da linhagem.	Outras espécies (mamíferos, peixes, etc.); outras espécies avícolas (perus, codornas); aves de postura ou frangos de linhagens de crescimento lento/caipiras.
Intervenção	Enriquecimento ambiental (sensorial, físico, ocupacional ou nutritivo).	Estudos sem uso de enriquecimento ambiental.
Comparação	Ambientes convencionais (sem enriquecimento) ou que permitam a avaliação do efeito direto da intervenção.	Falta de grupo controle ou comparações entre outros fatores sem foco no enriquecimento.
Desfechos (<i>Outcomes</i>)	Respostas sobre a modulação do medo e/ou da ansiedade, baseados em testes comportamentais ou cognitivos.	Estudos com foco exclusivo em desempenho zootécnico, parâmetros fisiológicos, saúde física ou com resultados genéricos, sem detalhar o impacto específico sobre o medo e/ou ansiedade.

Seleção dos estudos

A seleção dos estudos foi conduzida por dois revisores, utilizando a plataforma *Rayyan*, desenvolvida pelo *Qatar Computing Research Institute* (QCRI), amplamente empregada em revisões sistemáticas para facilitar a triagem e gerenciamento das referências. As divergências entre os revisores foram discutidas até chegar em consenso, e a decisão final foi registrada na plataforma, assegurando a transparência do processo.

Inicialmente, foi realizada a identificação automática de possíveis duplicatas, seguida da remoção manual após verificação individual. A segunda etapa consistiu na triagem de títulos e resumos, avaliados com base nos critérios de elegibilidade previamente estabelecidos. Estudos que não atenderam aos critérios ou que eram irrelevantes para a pergunta norteadora da pesquisa foram excluídos nesta fase. Por fim, os estudos selecionados foram submetidos à leitura

do texto completo para uma avaliação criteriosa e posterior síntese dos resultados.

Para facilitar a triagem e evitar diferentes justificativas para um mesmo estudo, foi estabelecida uma prioridade para os critérios de exclusão. Cada artigo excluído foi classificado de acordo com o primeiro critério de inconformidade identificado, conforme ilustrado na Figura 2. Esse método permitiu padronizar as justificativas de exclusão e facilitou a construção do fluxograma PRISMA (Figura 3). Estudos que não atendiam nenhum dos critérios foram excluídos com a justificativa “fora do escopo”.

Síntese dos resultados

A síntese dos resultados foi conduzida de forma descritiva e qualitativa, considerando as diferenças metodológicas entre os estudos incluídos, especialmente quanto aos tipos de enriquecimento ambiental, delineamentos experimentais e métodos de avaliação do medo e da ansiedade. Os dados extraídos foram organizados em tabelas para facilitar a visualização e comparação das diferentes características metodológicas e principais achados.

As informações extraídas incluíram: autor(es), ano de publicação, local de realização do estudo, número de animais, linhagem, delineamento experimental, tratamentos, tipo de enriquecimento ambiental, métodos de avaliação do medo e/ou ansiedade, principais resultados e conclusões. Para uma análise mais refinada, os estudos foram agrupados de acordo com o estado emocional avaliado, distinguindo aqueles focados em medo daqueles voltados à ansiedade.

Para integrar os resultados, foram agrupadas e comparadas as informações quanto ao local de realização da pesquisa, o tipo de enriquecimento ambiental adotado e as metodologias e protocolos de avaliação empregados nos estudos, facilitando a comparação dos resultados encontrados sobre o medo e a ansiedade em diferentes intervenções de complexidade ambiental.

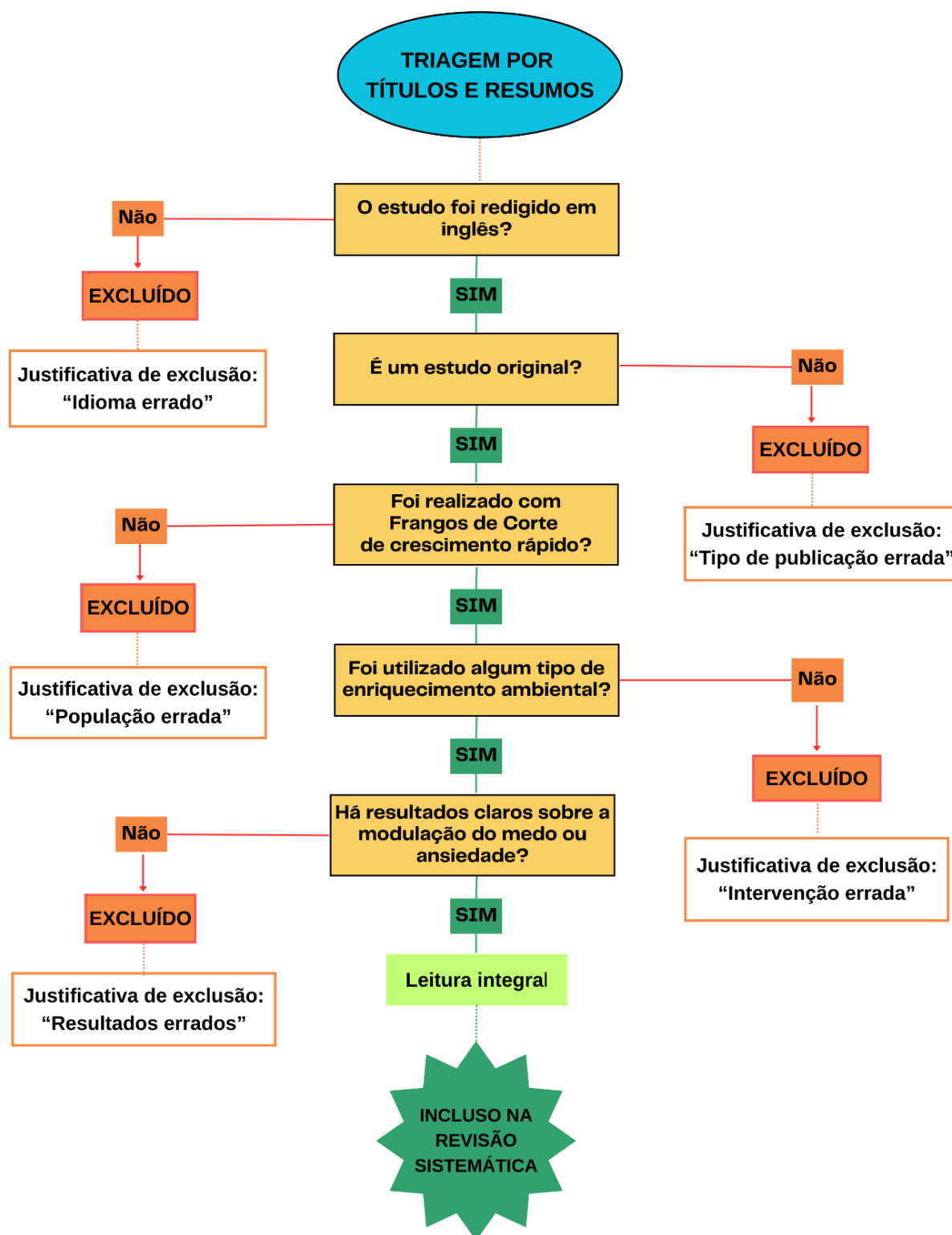


Figura 2. Fluxograma de tomada de decisão para a triagem de títulos e resumos, aplicando os critérios de elegibilidades estabelecidos para seleção dos estudos na revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte.

Avaliação do Risco de Viés

O risco de viés foi avaliado utilizando a ferramenta *Revised Cochrane risk-of-bias tool* (RoB 2.0), na versão específica para ensaios clínicos randomizados

em *cluster* (McGuinness, 2020). Esta abordagem foi adotada considerando que, nos estudos incluídos, a randomização das intervenções ocorreu de acordo com o ambiente de criação, e não individualmente por ave.

A avaliação foi conduzida por domínio, classificando o risco de viés como baixo (*low*), algum risco (*some concerns*) ou alto (*high*) risco. Os domínios avaliados foram: D1 e D1b - viés decorrente ao processo de randomização, considerando a aleatoriedade da alocação dos clusters e a adequação da análise estatística quanto ao efeito do agrupamento; D2 - viés devido a desvios das intervenções, relacionado à fidelidade da intervenção e a padronização do manejo, reconhecendo a inviabilidade do cegamento da intervenção; D3 - viés por dados ausentes, considerando mortalidade e perdas diferenciais entre os grupos; D4 - viés de desfechos, avaliando o cegamento dos avaliadores quando aplicável, assim como o treinamento dos observadores; e D5 - viés de relato, avaliando a integridade e transparência dos resultados reportados.

RESULTADOS

A busca nas bases de dados resultou na identificação de 261 artigos, sendo 47 provenientes do *Scopus*, 28 da PubMed e 186 da *Sciencedirect*. Após remoção de 41 duplicatas, 220 estudos foram triados por títulos e resumos. Durante essa fase, 196 estudos foram excluídos por não atenderem os critérios de elegibilidade, principalmente por conta do tipo de publicação não elegível (Revisões, capítulos de livro, resumos de evento, etc.) ($n = 82$), avaliação de outras espécies que não frangos de corte de crescimento rápido ($n = 58$), ausência de enriquecimento ambiental ($n = 31$), desfechos não relacionados ao medo e/ou à ansiedade ($n = 23$) ou por estarem fora do escopo da revisão ($n = 2$).

Assim, 24 estudos foram selecionados para leitura completa. Após a avaliação do texto completo, dois estudos foram excluídos, sendo um devido à indisponibilidade do texto completo e outro por avaliar outra espécie. Após todo processo de seleção 22 estudos atenderam todos os critérios de inclusão e foram incluídos na revisão sistemática. O processo de busca e seleção dos estudos está detalhado no Fluxograma PRISMA (Figura 3).

A avaliação do risco de viés dos 22 estudos incluídos indicou que a maioria apresentou baixo risco de viés na maior parte dos domínios analisados (Figura 4). Os domínios do processo de randomização (D1) e ajuste para efeito do

agrupamento (D1b) foram, na sua maioria, classificados como baixo risco, demonstrando alta qualidade metodológica. Da mesma forma, os domínios de desvio de intervenções (D2), dados ausentes (D3) e viés de relato (D5) apresentaram predominantemente avaliações de baixo risco, indicando a aplicação de metodologias e protocolos adequados, baixo impacto de perdas e transparência na apresentação dos resultados. De modo geral, a qualidade metodológica dos estudos foi considerada de moderada à alta, não sendo identificado nenhum estudo com alto risco de viés.

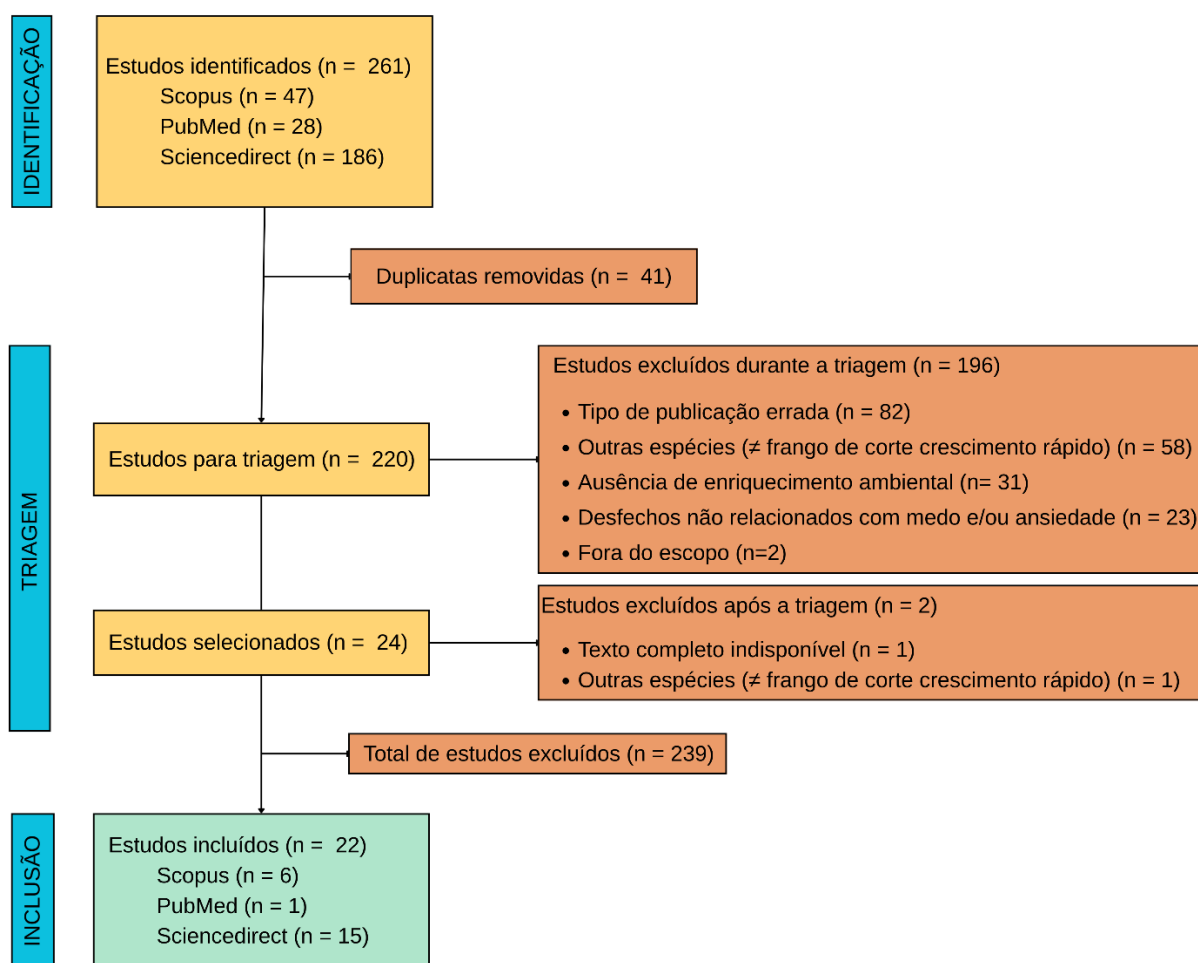


Figura 3. Fluxograma PRISMA do processo de identificação, triagem por títulos e resumos para seleção dos artigos incluídos na revisão sistemática sobre o efeito do enriquecimento ambiental nos estados de medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido.

	Risk of bias domains						
	D1	D1b	D2	D3	D4	D5	Overall
Study	Nicol, 1992	+	+	+	+	+	+
	Bizery et al., 2002	+	+	+	+	-	-
	Ventura et al., 2010	+	+	+	+	-	-
	Altan et al., 2013	+	+	+	-	-	-
	Pichova et al., 2016	-	+	+	+	-	-
	Akşit et al., 2017	+	+	+	+	-	-
	Yildirim e Taskin, 2017	+	+	+	-	+	-
	Bailie et al., 2018	+	+	+	-	+	-
	Baxter et al., 2018	+	+	+	+	+	+
	James et al., 2018	+	+	+	+	+	+
	Tahamtani et al., 2018	+	+	+	-	+	+
	Baxter et al., 2020	+	+	+	+	+	+
	House et al., 2020.	+	-	+	+	+	-
	Ipema et al., 2020	+	+	+	+	+	+
	Anderson et al., 2021	+	+	+	+	+	+
	Lourenço da Silva et al., 2021	+	+	+	+	+	+
	Taylor et al., 2022	+	+	+	+	+	+
	Meyer et al., 2023	+	+	+	+	+	+
	Herrera-Alcaíno et al., 2024	-	+	+	+	-	-
	Tamagi et al., 2024	+	+	+	+	+	+
	Ulans et al., 2024	+	+	+	+	+	+
	Forslind et al., 2025	+	+	+	+	+	+

Judgement - Some concerns + Low

Figura 4. Análise do risco de viés dos artigos incluídos na revisão sistemática sobre os efeitos do enriquecimento ambiental no medo e na ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, de acordo com a ferramenta RoB 2.0 para ensaios randomizados em cluster. . Os domínios avaliados foram: D1 – processo de randomização, D1b – ajuste do efeito do agrupamento dos clusters, D2 – desvios das intervenções, D3 – dados ausentes, D4 – mensuração dos desfechos e D5 – viés de relato.

Local de desenvolvimento dos estudos

Os estudos foram publicados entre 1992 e 2025, concentrando-se em pesquisas conduzidas na Europa e na América do Norte, embora também com publicações importantes em país da América do Sul, Ásia e Oceania (Figura 5). Em relação a avaliação dos estados emocionais de interesse, houve predominância de pesquisas voltadas ao medo, representando 86,36% (n= 19) do total de estudos incluídos. Por outro lado, a ansiedade passou a ser abordada a partir de 2021, sendo avaliada de forma isolada (Ulans et al., 2024) ou em conjunto ao medo (Anderson et al., 2021; Herrera-Alcaíno et al., 2024), mostrando ser uma abordagem recente.

Na Europa, as pesquisas avaliaram predominantemente o medo em frangos de corte, com maior número de publicações oriundas do Reino Unido (Nicol, 1992; Bailie et al., 2018; Baxter et al., 2018; James et al., 2018; Baxter et al., 2020), seguido por estudos conduzidos na França (Bizeray et al., 2002), Noruega (Pichova et al., 2016), Dinamarca (Tahamtani et al., 2018), Holanda (Ipema et al., 2020) e Suécia (Forslind et al., 2025).

Na América do Norte, os estudos foram conduzidos somente nos Estados Unidos, avaliando os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo (Ventura et al., 2010; House et al., 2020; Meyer et al., 2023) ou sobre a ansiedade (Anderson et al., 2021; Ulans et al., 2024). Na América do Sul, foram identificados apenas dois estudos, realizados no Brasil (Lourenço da Silva et al., 2021) e no Chile (Herrera-Alcaíno et al., 2024), ambos avaliando o medo, sendo que o estudo chileno também incluiu a mensuração da ansiedade.

Na Ásia, os estudos avaliaram o medo em pesquisas conduzidas na Turquia (Altan et al., 2013; Akşit et al., 2017; Yildirim et al., 2017) e na Malásia (Tamagi et al., 2024). A Oceania apresentou apenas um estudo, sobre as respostas ao medo, realizado na Austrália (Taylor et al., 2022).

Dessa forma, os resultados demonstraram uma concentração geográfica das pesquisas em países europeus e na América do Norte, assim como um domínio da avaliação do medo na produção científica, enquanto a mensuração da ansiedade é mais recente e limitada no contexto dos estudos sobre enriquecimento ambiental em frangos de corte de crescimento rápido.

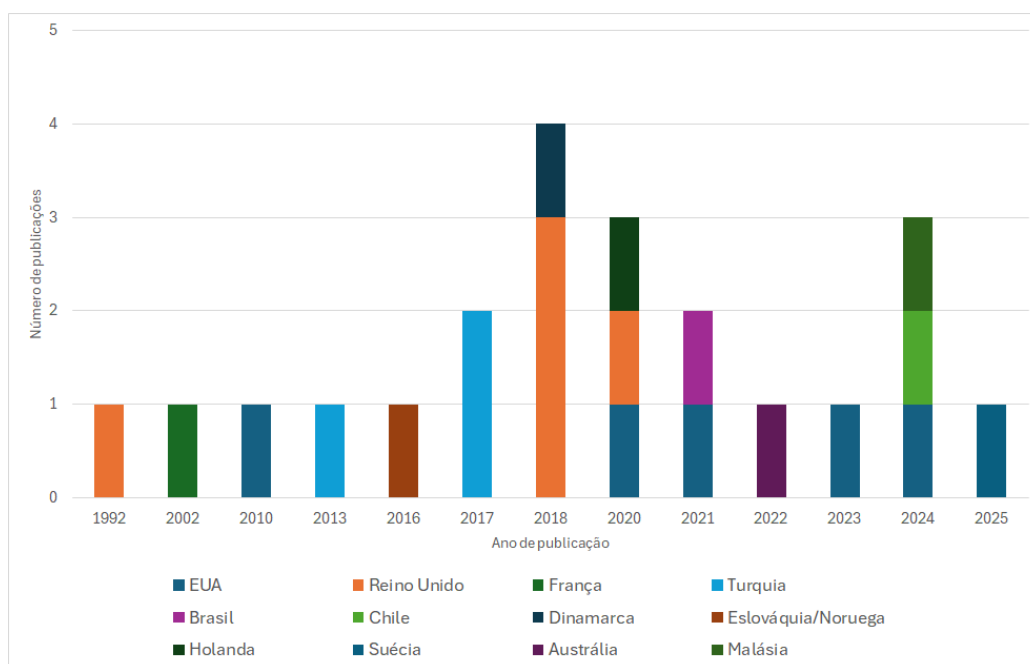


Figura 5. Distribuição temporal e geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre o uso de enriquecimento ambiental e seus efeitos no medo e ansiedade de frangos de corte de crescimento rápido.

Enriquecimentos ambientais utilizados

Os estudos empregaram uma variedade de itens de enriquecimento ambiental, classificados em físicos, ocupacionais, sensoriais e nutritivos (Figura 6). No entanto, essa classificação não é determinante, uma vez que um mesmo item promoveu, simultaneamente, mais de um estímulo ou desempenharam mais de uma função. Os estudos utilizaram diferentes tipos de enriquecimento que combinaram estímulos, resultando em ambientes mais complexos e bem estruturado para as aves.



Figura 6. Classificação e frequência dos diferentes itens de enriquecimento ambiental identificados nos estudos incluídos na revisão sistemática sobre os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo e ansiedade em frangos de corte.

Entre os enriquecimentos físicos, os objetos para empoleirar destacaram-se como os itens mais frequentes, estando presente em nove estudos, com variações quanto ao material de confecção, como os poleiros de madeira, PVC, aço galvanizado ou materiais não especificados (Nicol, 1992; Ventura et al., 2010; Aksit et al., 2017; Yildirim e Taskin, 2017; Ipema et al., 2020; Anderson et al., 2021; Taylor et al., 2022; Herrera-Alcaíno et al., 2024; Ulans et al., 2024). Da mesma forma, o uso de plataformas e poleiros de plataforma foi comum (Baxter et al., 2018; Tahamtani et al., 2018; Baxter et al., 2020; Lourenço da Silva et al., 2021; Herrera-Alcaino et al., 2024; Ulans et al., 2024). Os poleiros de plataforma são estruturas diferentes dos poleiros convencionais, pois apresentam superfícies mais largas ou planas, permitindo que as aves permaneçam utilizando o enriquecimento sem a necessidade de equilíbrio contínuo, como nos poleiros convencionais. Esses são descritos, juntamente com plataformas elevadas, como estruturas que modificam o espaço do ambiente e favorecem o descanso e estimulam comportamentos naturais, como o empoleiramento.

Outro item frequente e que possui funções variadas são os fardos de palha combinando funções ocupacionais, físicas e sensoriais, por permitirem comportamentos como exploração, bicar e forragear (Bailie et al., 2018; James et al., 2018; Tahamtani et al., 2018; Baxter et al., 2020; Lourenço da Silva et al., 2021; Herrera-Alcaino et al., 2024). Da mesma forma, as caixas de banhos de poeira ou areia funcionam como um enriquecimento físico, associados a expressão do comportamento de banho de poeira, relacionado a higiene e comportamento natural das aves (Yildirim e Taskin, 2017; Baxter et al., 2018; Anderson et al., 2021; Ulans et al., 2024). Barreiras e divisórias também foram usadas para modificar a estrutura do ambiente, promovendo maior locomoção e exploração, além de, em alguns casos, serem usadas como poleiros improvisados (Bizery et al., 2002; Tahamtani et al., 2018). Abrigos escuros aquecidos (*dark brooders*), constituídos por estruturas elevadas com aquecimento, que criam um microambiente escuro e protegido, foram utilizados como enriquecimento físico, favorecendo o descanso e servindo como local de abrigo para as aves (Forslind et al., 2025).

Além das estruturas físicas, os recursos ocupacionais foram usados principalmente para estímulo da curiosidade e a redução da ociosidade, comum

nos frangos de corte. Itens como barbantes e cordas suspensas (Bailie et al., 2018; Anderson et al., 2021; Taylor et al., 2022; Ulans et al., 2024) e bolas coloridas (Altan et al., 2013; Yildirim e Taskin, 2017; Anderson et al., 2021; Taylor et al., 2022) foram amplamente utilizados, combinando estímulos táteis, visuais e ocupacionais. Além disso, objetos de bicar, brinquedos de borracha oca, correntes, bolas com petisco, blocos de madeira, bolas de borracha com papel e outros brinquedos diversos combinaram estímulo ocupacional com aspectos sensoriais e, em alguns casos nutritivos (Nicol, 1992; Altan et al., 2013; Anderson et al., 2021; Taylor et al., 2022; Ulans et al., 2024).

Quanto aos estímulos sensoriais, os estudos focaram em estímulos visuais e auditivos. A iluminação ultravioleta foi utilizada para adequar o ambiente luminoso à sensibilidade espectral das aves, uma vez que o espectro UVA é visível para a espécie e fundamental para o bem-estar das aves (James et al., 2018; House et al., 2020). Tecnologias como luzes a laser e projetores coloridos foram usados para estimular tanto a percepção visual quanto comportamentos de exploração e forrageamento (Bizery et al., 2002; Anderson et al., 2021; Lourenço da Silva et al., 2021; Meyer et al., 2023). Espelhos, desenhos coloridos e a novidade do substrato também atuaram como estímulo visual integrado ao ambiente (Altan et al., 2013; Yildirim e Taskin, 2017; Pichova et al., 2016; Taylor et al., 2022; Ulans et al., 2024). No estímulo auditivo, foram testadas músicas clássicas (Nicol, 1992; Tamagi et al., 2024) e recitação de trechos do Alcorão, transmitidas em volume controlado, caracterizando uma forma de enriquecimento auditivo contínuo (Tamagi et al., 2024).

Por fim, os enriquecimentos nutritivos combinaram o valor alimentar com estímulos ocupacional e sensoriais. Itens como repolhos e bolas de metal com feno (Anderson et al., 2021; Ulans et al., 2024), insetos ou larvas vivas (Pichova et al., 2016; Ipema et al., 2020), estimularam a curiosidade e o comportamento alimentar. A dispersão de grãos, silagem e trigo complementou as estratégias usadas (Tahamtani et al., 2018; Pichova et al., 2016; Ulans et al., 2024).

Metodologias para avaliação do medo

Para avaliação do medo, os estudos empregaram uma variedade de métodos baseados principalmente em respostas defensivas inatas, reatividade a estímulos humanos e neofobia. A frequência e distribuição temporal dos diferentes

testes utilizados estão apresentadas na Figura 7. Uma característica em comum foram as metodologias conduzidas em ambientes padronizados, neutros ou isolados para minimizar interferências externas.

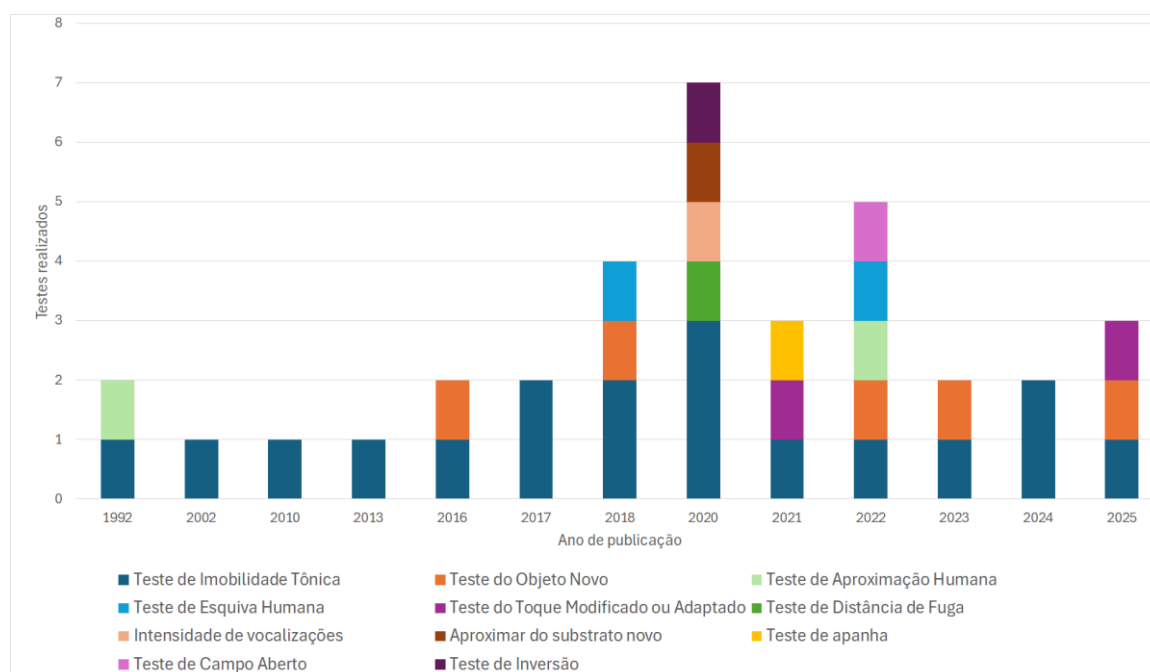


Figura 7. Frequência e diversidade dos métodos de avaliação do medo em estudos sobre os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo de frangos de corte identificados na revisão sistemática (1992–2025).

O teste de Imobilidade Tônica foi o método mais utilizado ($n = 17$) para avaliar o medo, desde os mais clássicos (Nicol, 1992) até estudos mais recentes (Tamagi et al., 2024; Forslind et al., 2025). Todos os protocolos basearam-se na resposta defensiva inata antipredatória, caracterizada por um estado de paralisia motora reversível. De modo geral, o procedimento consistiu na contenção manual da ave em decúbito dorsal por um período que variou entre 10 e 45 segundos, seguida da mensuração da latência para a ave se endireitar e da duração total do estado de imobilidade, com limites máximos variando entre 180 e 600 segundos. Maiores latências e maior duração da imobilidade foram interpretadas como indicativas de níveis mais elevados de medo.

O Teste do Objeto Novo foi o segundo método mais utilizado ($n = 5$), sendo empregado para avaliar respostas a neofobia, curiosidade e exploração (Pichova et al., 2016; Bailie et al., 2018; Taylor et al., 2022; Meyer et al., 2023; Forslind et al., 2025). Diferente da imobilidade tônica, esse teste mede a resposta ativa diante de um estímulo desconhecido pelas aves. Nesse teste, o medo foi mensurado por

meio da latência para aproximação do objeto novo, da primeira bicada e do número de aves ao redor do objeto. Menores latências e maior interação foram consistentemente interpretadas como indicativas de menor medo e maior motivação exploratória. Metodologias semelhantes foram utilizadas por Altan et al. (2013), por meio do Teste de Aproximação-Evituação e por Baxter et al. (2020), que avaliaram a latência para aproximação de um objeto ou substrato novo altamente atrativo, combinando o efeito da novidade com a atração alimentar. Em conjunto, esses testes exploraram a disposição das aves em superar o medo frente a estímulos desconhecidos.

A avaliação do medo em relação aos humanos foi realizada por meio do Teste de Aproximação Humana e dos testes de Evituação, Esquiva ou Distância de Fuga. Nos testes de aproximação (Nicol, 1992; Taylor et al., 2022), foi mensurada a latência para aproximação, o número de aves que se aproximavam ou a distância em relação ao observador, sendo que menores valores estavam associados ao menor medo. Os testes de Distância de Fuga, Evituação e de Esquiva Humana (Baxter et al., 2018; Baxter et al., 2020; Taylor et al., 2022), avaliaram a distância mínima tolerada pelas aves antes de se afastarem, interpretada como indicador do nível de medo ao estímulo humano. Além disso, testes como o toque modificado/adaptado e o teste de apanha foram utilizados para mensurar a reatividade das aves durante o manejo (Anderson et al., 2021; Forslind et al., 2025). Baxter et al. (2020) também consideraram a intensidade de vocalizações na presença humana como indicador de respostas de alarme associadas ao medo.

Outras formas de mensurar o medo incluíram o Teste de Campo Aberto, que avaliou respostas de medo associadas à novidade, isolamento social e ao ambiente desconhecido (Taylor et al., 2022), e o Teste de Inversão, usado como indicador de medo relacionado ao manejo e transporte pré-abate, com base na intensidade do bater de asas (House et al., 2020). Embora menos frequentes, esses testes seguiram a mesma interpretação dos demais, na qual a maior imobilidade, agitação ou latência de recuperação foram associados a níveis mais elevados de medo.

Metodologias para avaliação da ansiedade

A mensuração da ansiedade foi realizada exclusivamente por meio do Teste de Viés de Atenção, que envolve a exposição simultânea das aves a estímulos ameaçadores e estímulos positivos, relacionados a alimentação. Embora tenham sido observadas pequenas variações metodológicas entre os estudos, todas se basearam na premissa de que animais em estado de ansiedade tendem a priorizar o monitoramento de ameaças em detrimento de estímulos positivos.

Anderson et al. (2021) e Ulans et al. (2024) utilizaram alarmes sonoros de coespecífico acionados imediatamente após à alocação das aves na arena teste, enquanto Herrera-Alcaíno et al. (2024) permitiram 10 segundos de exploração antes da reprodução de latidos de cães como estímulo ameaçador. Foi observando ainda uma transição de testes individuais para testes em grupo, devido a observação de que o isolamento social induz o estresse agudo, caracterizado por vocalizações intensas e tentativas de fuga, o que poderia confundir a mensuração da ansiedade com a motivação para reinstalação social (Anderson et al., 2021).

Quanto as variáveis analisadas, todos os autores mensuraram as latências para primeiro passo, para iniciar e retomar a alimentação após a ameaça. Além disso, foram avaliados comportamentos de vigilância, como posturas eretas, alongamento de pescoço, olhar ao redor e congelamento, interpretando maiores latências e maior vigilância como maior nível de ansiedade.

DISCUSSÃO

Os efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo e a ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido são dependentes da relevância biológica dos estímulos e da capacidade de promover melhorias reais e duradouras no bem-estar, evitando efeitos transitórios associados à habituação. Nesse sentido, a habituação não se refere apenas à redução do interesse, mas também à diminuição da relevância do estímulo ao longo do tempo, o que limita sua capacidade de competir com a vigilância e com respostas defensivas. Para que o medo ou a ansiedade sejam efetivamente modulados, é necessário que as

intervenções ambientais resultem em menor ativação prolongada dos sistemas de estresse (Scanes, 2016).

De modo geral, intervenções que promovem estímulos sensoriais naturais, oferecem refúgio ou favorecem interações sociais positivas se mostraram mais eficazes do que enriquecimentos físicos simples ou estímulos estáticos, sujeitos a uma habituação rápida. Além disso, a modulação do medo e da ansiedade não ocorre de forma imediata, mas depende da exposição repetida a estímulos que permitam à ave aprender que o ambiente é previsível e controlável, favorecendo respostas emocionais menos defensivas ao longo do tempo.

Entre os enriquecimentos físicos, foram observadas diferenças entre estruturas que oferecem refúgio funcional e aquelas que apenas ocupam espaço no ambiente. Poleiros tradicionais, apesar de amplamente utilizados por permitirem comportamentos inatos, apresentaram efeitos inconsistentes ou ausentes na redução do medo, mensurado principalmente pela imobilidade tônica (Ventura et al., 2010; Yildirim e Taskin, 2017). Diferente do observado em poedeiras (Wang et al., 2022; Ciarelli et al., 2023), o uso de poleiros por frangos de corte foi consideravelmente menor, o que pode estar relacionado ao peso corporal elevado, que dificulta o equilíbrio e locomoção (Dawson et al., 2021; Riber et al., 2024). Ou seja, o custo associado a permanência em poleiros pode reduzir a sua atratividade e transformar o recurso em um problema, limitando os efeitos sobre sensação de segurança e expressão de comportamentos. Aksit et al. (2017) sugeriram que essas estruturas sejam ofertadas em alturas reduzidas, entre 8 e 15 cm, para facilitar o acesso quando aplicados a frangos de corte de crescimento rápido.

Em contraste, Tahamtani et al. (2018) observaram que plataformas elevadas a 30 cm, associadas a rampas de acesso, foram eficazes na redução do medo, corroborando com estudos que indicaram que o repouso em locais elevados constitui um comportamento antipredatório natural (Schrader e Muller, 2009; Malchow e Schrader, 2021), promovendo maior sensação de segurança. Plataformas na altura de 20 cm foram consideradas baixas demais para proporcionar proteção efetiva (Herrera-Alcaíno et al., 2024), possivelmente por não serem altas o suficiente para reduzir a sensação de vulnerabilidade e

vigilância. No entanto, quando utilizadas em conjunto com banhos de poeira, mostraram-se eficazes na redução do medo, quando avaliado pelo teste da distância de fuga (Baxter et al., 2018). Dessa forma, plataformas elevadas e poleiros de plataforma demonstraram maior eficiência na modulação do medo em frangos de corte por oferecerem superfícies estáveis e acessíveis, permitindo a expressão do comportamento antipredatório de busca por locais elevados, sem exigir habilidades motoras complexas (Baxter et al., 2020; Lourenço da Silva et al., 2021).

A presença de barreiras ou divisórias no ambiente não demonstrou efeito direto sobre a modulação do medo (Bizery et al., 2002; Tahamtani et al., 2018), embora fossem ocasionalmente utilizadas como poleiros improvisados. Em contraste, abrigos escuros aquecidos (*dark brooders*) demonstraram efeitos na redução do medo e da neofobia (Forslind et al., 2025). Diferente das barreiras convencionais, esses abrigos permitem que as aves escolham quando se esconder ou se expor, promovendo maior controle ambiental e enfrentamento em espaços aberto, que pode reduzir a necessidade de hipervigilância, favorecendo estratégias de enfrentamento. Esse efeito torna-se particularmente relevante em frangos de corte de crescimento rápido, que tendem a apresentar níveis mais elevados de medo quando comparados a linhagens de crescimento lento (Tahamtani et al., 2020).

No contexto dos estímulos sensoriais visuais, o uso de luz UVA reduziu significativamente o medo, evidenciada por menores durações de imobilidade tônica e maior dificuldade de indução do teste (James et al., 2018). Resultados semelhantes foram observados por House et al. (2020), que relataram menor reatividade ao manejo e menor intensidade de bater de asas, indicando respostas defensivas atenuadas. Esses efeitos estão associados à melhoria da integração sensorial e à maior clareza das informações visuais disponíveis no ambiente. As aves possuem fotorreceptores sensíveis à radiação ultravioleta, e a inclusão desse espectro facilita o reconhecimento de coespecíficos, objetos e do espaço (Lewis e Gous, 2009; Wichman et al., 2021), reduzindo a ambiguidade perceptiva e a necessidade de hipervigilância e, conseqüentemente, a expressão de respostas defensivas (Rana e Campbell, 2021; Sobotik et al., 2019).

Embora os estudos incluídos não tenham avaliado diretamente marcadores hormonais de estresse, evidências mostram que a modulação do espectro luminoso influencia a regulação fisiológica do estresse, por meio da menor ativação do eixo HPA, refletida por menores concentrações de corticosterona e indicadores imunológicos associados, como a relação heterófilo:linfócito (Ogbonna et al., 2023).

Por outro lado, outros estímulos visuais, como lasers e projeções coloridas, aumentaram a atividade locomotora e a exploração apenas durante os períodos de exposição, mas não reduziram o medo. A rápida perda do efeito atrativo para exploração ao longo do tempo sugere uma habituação rápida, uma vez que o laser não estava associado a recompensa (Bizeray et al., 2002; Anderson et al., 2021; Meyer et al., 2023). Além disso, no estudo de Bizeray et al. (2002), o uso de luzes coloridas foi associado a piores condições locomotoras, possivelmente em função do aumento da movimentação repetitiva em aves com elevada massa corporal, o que pode intensificar a sobrecarga sobre as pernas.

Quanto aos enriquecimentos sensoriais auditivos, estímulos como música clássica ou recitações reduziram a reatividade apenas nas fases iniciais, sem manutenção até a idade de abate (Tamagi et al., 2024). Esse fato pode ser relacionado à exposição contínua ao estímulo sonoro, que levou a redução da sua relevância para as aves, fazendo com que passassem a ser percebidos como um ruído ambiental. Nesse contexto, a diminuição da relevância biológica do estímulo limita sua capacidade de modular os circuitos neurais associados à avaliação de risco e respostas defensivas. Dessa forma, embora os estímulos auditivos possam influenciar o estado emocional a curto prazo, a ausência de valor funcional e oportunidades de interação ativa com o ambiente, reduz sua eficácia na modulação prolongada do medo, especialmente quando comparado com enriquecimentos que permitem interação, escolha ou que alterem o ambiente das aves.

Os enriquecimentos alimentares mostraram efeitos quando envolveram estímulos de alto valor motivacional e oferta suficiente para sustentar a atratividade ao longo do tempo. Ipema et al. (2020) demonstraram que larvas vivas reduziram o medo apenas quando fornecidas de forma contínua ou em alta

frequência, enquanto acessos limitados resultaram em respostas intermediárias, indicando que a motivação induzida pelo alimento depende da repetição do estímulo. Nesse contexto, Píchova et al. (2016) observaram resposta comportamental intensa durante a presença dos tenébrios, resultando no aumento do forrageio e de comportamentos ativos associados à exploração. Porém, sem resultar em redução do medo, pois o efeito não se prologava após o consumo, sugerindo uma ativação dopaminérgica não contínua após a saciedade. Assim, a ausência de modulação do medo, nesse caso, reflete a limitação do protocolo de oferta, e não a eficácia do enriquecimento alimentar.

Nesse contexto, os enriquecimentos alimentares de alto valor motivacional atuam por meio da ativação do sistema dopaminérgico, responsável por regular o valor esperado da recompensa, o esforço e a persistência comportamental (Salamone e Correa, 2023; Schultz, 2024). A ativação desse sistema promove uma mudança de prioridades comportamentais, deslocando o foco para a obtenção de recursos, o que favorece comportamentos ativos, como exploração e forrageio. Esses comportamentos são incompatíveis com estados de medo intenso, caracterizados por congelamento, evitação e passividade, o que explica por que o aumento do forrageio e de comportamentos exploratórios foi interpretado como indicativo de estados afetivos positivos (Moe et al., 2014; Elsayed et al., 2024).

A dopamina, entretanto, não atua como um bloqueador direto dos sistemas de estresse, mas exerce um papel modulador indireto sobre a resposta ao estressor ao regular a ativação motivacional, o engajamento comportamental e a persistência frente a desafios. Ambientes imprevisíveis, ameaçadores ou pobres em estímulos biologicamente relevantes favorecem a ativação do eixo HPA, uma vez que o animal não consegue antecipar eventos positivos nem associar ações a consequências recompensadoras. Em contraste, a ativação dos sistemas dopaminérgicos associada a estímulos de alto valor motivacional favorece o aprendizado de previsibilidade e controle ambiental, reduz o estado de hipervigilância e acelera a recuperação emocional após desafios, limitando a duração da resposta ao estressor e a expressão do medo (Salamone e Correa, 2024; Schultz, 2024). Assim, a ativação dopaminérgica induzida por

enriquecimentos alimentares fornece mecanismos para a redução do medo observada nos testes comportamentais.

Por outro lado, recursos alimentares de menor valor motivacional, como trigo integral ou silagem de milho, não reduziram o medo e, em alguns casos, provocou respostas iniciais de pânico ou ausência de efeitos nos testes comportamentais, apesar de estimularem o forrageamento (Bizery et al., 2002; Tahamtani et al., 2018). Reforçando que a simples indução de comportamentos naturais não garante a redução do medo, sendo necessário que o enriquecimento alimentar apresente alta relevância biológica e valor motivacional para engajar os sistemas de recompensa associados à dopamina (Wise, 2004; Moe et al., 2014; Elsayed et al., 2024). Em frangos de corte, estímulos eficazes incluem alimentos de alto valor motivacional, oportunidades de forrageio prolongado e elementos que aumentem a previsibilidade e o controle ambiental. Quando adequadamente manejados, esses estímulos favorecem não apenas o engajamento dopaminérgico sustentado, mas também contribuem para a limitação da ativação crônica do eixo HPA, ao reduzir a imprevisibilidade ambiental e o estado de hipervigilância, promovendo uma recuperação emocional mais eficiente após desafios (Wood et al., 2021; Jacobs et al., 2023; Ogbonna et al., 2023; Bongiorno et al., 2024).

Um fato importante a ser considerado é que nem todos os enriquecimentos foram avaliados de forma isolada, mas foram utilizadas de forma integrada, caracterizando um ambiente complexo (Riber et al., 2018; Pritchett-Corning, 2019; Veissier et al., 2024). Elementos como fardos de palha, plataformas, bolas coloridas, espelhos, dispenses de alimentos, entre outros, foram utilizados simultaneamente, dificultando a atribuição de efeitos específicos a um único item. Dessa forma, a complexidade ambiental busca aumentar a diversidade estrutural do ambiente, fornece refúgio, estimula a exploração e promove maior controle das aves sobre o ambiente, assim, os benefícios observados são interpretados como resultado da interação entre diferentes componentes ambientais. Entretanto, é importante destacar que mais itens não significa necessariamente melhor efeito, pois a eficácia depende da funcionalidade e da capacidade de estimular as aves. Um conjunto de itens só vai modular o medo ou a ansiedade se, no conjunto, ele reduzir a avaliação de ameaça e/ou aumentar a previsibilidade ou controle

percebidos, diminuindo a ativação do eixo HPA. Caso contrário, pode haver aumento de atividade sem redução do estado defensivo (Scanes, 2016; Mohammed et al., 2021).

Em relação ao medo, os efeitos da complexidade ambiental apresentaram resultados variáveis entre os estudos. Lourenço da Silva et al. (2021) observaram que frangos criados em ambientes mais complexos, compostos por plataformas, fardos de palha e luz à laser, apresentaram-se calmos durante o teste de apanha e menor distância em relação ao observador, indicando redução do medo direcionado aos humanos. Resultados semelhantes foram relatados por Herrera-Alcaíno et al. (2024) que relataram que ambientes complexos reduziram tanto o medo quanto a ansiedade, sugerindo que a combinação de estímulos estruturais, sensoriais e ocupacionais pode gerar efeitos emocionais mais consistentes do que intervenções isoladas.

Anderson et al. (2021) que também empregaram diferentes itens de enriquecimento não observaram redução significativa da imobilidade tônica, principal indicador de medo agudo. Esses achados sugerem que o aumento do número de estímulos por si só não garante a modulação do medo. Assim, a eficácia da complexidade ambiental parece depender não apenas da quantidade de itens adicionados, mas principalmente da relevância funcional desses estímulos para as necessidades comportamentais das aves. Ou seja, se os itens não alteram a entrada do sistema de ameaça, o eixo HPA pode continuar ativo, mantendo a corticosterona elevada em resposta a estressores do ambiente. Nesse caso, a ave pode até explorar mais em alguns momentos, mas não há redução do estado negativo (Mohammed et al., 2021; Scanes, 2016). Além disso, a própria imobilidade tônica pode sofrer influência da habituação, o que reforça a necessidade de interpretar ausência de efeito com cautela, quando o estímulo não gera mudança estável de estado emocional.

Enquanto os efeitos da complexidade ambiental sobre o medo apresentaram inconsistência, resultados mais claros foram observados em relação à ansiedade. Anderson et al. (2021) demonstraram também que frangos criados em ambientes de alta complexidade apresentaram menores indicadores de ansiedade no teste de viés de atenção, caracterizados por menores latências

para iniciar e retomar a alimentação após estímulos ameaçadores, além de menor frequência de comportamentos de vigilância. Esses resultados indicam que a complexidade ambiental pode atuar de forma mais pronunciada sobre estados afetivos relacionados à percepção de ameaça, característicos de ansiedade.

A ansiedade, por sua vez, está associada a um estado de vigilância prolongada e prontidão frente a potenciais ameaças. Em ambientes mais previsíveis e nos quais as aves exercem maior controle sobre os estímulos, reduz a necessidade de monitoramento contínuo do ambiente, o que atenua a ativação do eixo HPA e seus efeitos sistêmicos associados ao estresse crônico (Scanes, 2016; Mohammed et al., 2021). Evidências com frangos indicam que o estresse crônico está associado à redução da serotonina cerebral, comprometendo a regulação emocional e favorecendo estados de hipervigilância e ansiedade (Ahmed-Farid et al., 2021), reforçando a ligação entre previsibilidade ambiental, regulação fisiológica do estresse e os desfechos observados no teste de viés de atenção.

Ulans et al. (2024) demonstraram que, embora a complexidade ambiental reduza a ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, esse efeito é progressivamente reduzido à medida que as aves ganham peso corporal. Dessa forma, a capacidade de modulação emocional dos enriquecimentos pode ser limitada pelas características das linhagens de crescimento rápido. Uma explicação é que o aumento do peso corporal reduz a mobilidade e a capacidade de acessar ou interagir com os itens de enriquecimento, diminuindo as oportunidades de exploração, escolha e controle ambiental. Consequentemente, a avaliação dos estados afetivos em diferentes idades ou faixas de peso torna-se fundamental para compreender adequadamente os efeitos das intervenções ambientais. Quando a interação com o ambiente é reduzida, diminui também a probabilidade de o enriquecimento realmente alterar a forma como a ameaça é percebida e, sem essa mudança, o HPA tende a permanecer reativo aos estressores de criação (Scanes, 2016), limitando os benefícios emocionais da intervenção.

De modo geral, os estudos indicam que a complexidade ambiental representa uma ferramenta útil para a modulação dos estados emocionais

negativos em frangos de corte de crescimento rápido. Porém, os efeitos sobre o medo foram dependentes do tipo de estímulo empregado. Em contraste, os efeitos sobre a ansiedade foram mais claros, sugerindo que ambientes enriquecidos complexos contribuem para reduzir a vigilância excessiva e a percepção de ameaça nas aves. Assim, intervenções baseadas na combinação de enriquecimentos biologicamente relevantes tendem a ser mais eficazes do que a implementação de estímulos isolados ou de baixa relevância motivacional. Dessa forma, para o enriquecimento seja capaz de modular e reduzir o medo ou a ansiedade, é necessário diminuir o estado de hipervigilância das aves e aumentar previsibilidade e controle sobre o ambiente. Essas condições reduzem a ativação contínua do eixo HPA, limitando a liberação sustentada de corticosterona e, ao longo do tempo, atenuando os efeitos sistêmicos associados ao estresse crônico, como alterações metabólicas, imunossupressão e prejuízos ao crescimento (Scanes, 2016; Mohammed et al., 2021; Ahmed-Farid et al., 2021).

Lacunas e perspectivas futuras

Apesar dos avanços nas pesquisas dos efeitos do enriquecimento ambiental sobre o medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, existem lacunas metodológicas. A maioria dos estudos concentrou-se predominantemente na avaliação do medo agudo, principalmente por meio do teste de imobilidade tônica, enquanto a ansiedade foi avaliada de forma limitada e apenas em publicações recentes, o que limita a compreensão completa e ampla dos efeitos sobre a ansiedade, uma vez que diferentes dimensões emocionais podem responder de forma distinta às intervenções ambientais.

Além disso, grande parte dos enriquecimentos ambientais foi avaliada de maneira combinada, compondo ambientes de alta complexidade. Essa abordagem dificulta a identificação dos efeitos específicos de cada estímulo, limitando a compreensão sobre quais componentes são de fato responsáveis pelas alterações emocionais observadas. Outro ponto refere-se às diferenças nas metodologias de avaliação, especialmente no teste de imobilidade tônica, que apresentou variações quanto ao tempo necessário de indução, número de tentativas e duração máxima do teste entre os estudos. Essas diferenças podem influenciar a intensidade da resposta emocional e a sensibilidade das medidas, contribuindo para a variabilidade dos resultados.

Dessa forma, estudos futuros devem ampliar a avaliação da ansiedade, explorar de maneira sistemática os efeitos individuais dos diferentes tipos de enriquecimento, considerar a influência da idade e do desenvolvimento corporal sobre a eficácia das intervenções. Avançar na padronização e validação dos protocolos comportamentais, integrando tecnologias da zootecnia de previsão e inteligência artificial aplicada, representa um avanço para a avaliação comportamental dentro da produção avícola. O uso dessas tecnologias elimina a necessidade da presença de um observador e da captura dos animais para marcação ou realização de testes em locais isolados, procedimentos que podem gerar estresse e alterar as respostas comportamentais.

CONCLUSÕES

O enriquecimento ambiental se mostrou capaz de modular positivamente o medo e ansiedade em frangos de corte de crescimento rápido, desde que os estímulos sejam biologicamente relevantes e organizados de forma funcional no ambiente de criação. A eficácia das intervenções não está associada apenas à presença de itens de enriquecimento, mas à sua capacidade de atender às necessidades comportamentais da espécie, promover sensação de segurança, estimular a exploração e favorecer uma regulação emocional mais estável ao longo do tempo. Em contraste, enriquecimentos isolados, de baixa relevância motivacional ou sujeitos à rápida habituação mostraram efeitos limitados ou temporários, indicando que a simples inclusão de objetos ao ambiente não é suficiente para promover melhorias.

De forma geral, esta revisão sistemática reforça a importância de estratégias de manejo que priorizem ambientes enriquecidos mais complexos, funcionais e alinhados às necessidades comportamentais das aves, contribuindo para a redução de estados emocionais negativos e para a melhoria do bem-estar, e, consequentemente, para sistemas de produção mais responsáveis do ponto de vista ético e científico.

REFERÊNCIAS

AHMED-FARID, O. A. et al. Effects of chronic thermal stress on performance, energy metabolism, antioxidant activity, brain serotonin, and blood biochemical indices of broiler chickens. *Animals*, v. 11, n. 9, p. 2554, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11092554>.

AKŞIT, M.; YARDIM, Z. K.; YALCIN, S. Environmental enrichment influences on broiler performance and meat quality: effect of light source and providing perches. *European Poultry Science*, v. 81, p. 1-10, 2017. <https://doi.org/10.1399/eps.2017.182>.

ALTAN, Ö.; ŞEREMET, Ç.; BAYRAKTAR, H. The effects of early environmental enrichment on performance, fear and physiological responses to acute stress of broiler. *Archiv für Geflügelkunde*, v. 77, n. 1, p. 23-28, 2013.

ANDERSON, M. G. et al. Effect of environmental complexity and stocking density on fear and anxiety in broiler chickens. *Animals*, v. 11, n. 8, p. 2383, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11082383>.

BAILIE, C. L.; IJICHI, C.; O'CONNELL, N. E. Effects of stocking density and string provision on welfare-related measures in commercial broiler chickens in windowed houses. *Poultry Science*, v. 97, n. 5, p. 1503-1510, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pey013>.

BAXTER, M.; BAILIE, C. L.; O'CONNELL, N. E. Play behaviour, fear responses and activity levels in commercial broiler chickens provided with preferred environmental enrichments. *Animal*, v. 13, n. 1, p. 171-179, 2019. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001118>

BAXTER, M. et al. Investigating optimal levels of platform perch provision for windowed broiler housing. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 225, p. 104967, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2020.104967>.

BILAL, R. M. et al. Thermal stress and high stocking densities in poultry farms: potential effects and mitigation strategies. *Journal of Thermal Biology*, v. 99, p. 102944, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.102944>.

BIZERAY, D. et al. Influence of increased environmental complexity on leg condition, performance, and level of fearfulness in broilers. *Poultry Science*, v. 81, n. 6, p. 767-773, 2002. <https://doi.org/10.1093/ps/81.6.767>.

BOISSY, A.; ERHARD, H. W. How studying interactions between animal emotions, cognition, and personality can contribute to improve farm animal welfare. *In: Genetics and the Behavior of Domestic Animals*. 2. ed. [S.l.]: Academic Press, 2014. p. 51-92.

BONGIORNO, V. et al. Organic medium-growing chickens fed live black soldier fly larvae: a welfare improvement study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 108, p. 1-12, 2024. <https://doi.org/10.1111/jpn.13997>.

BROWNING, H.; VEIT, W. Studying animal feelings: integrating sentience research and welfare science. *Animal Welfare*, v. 32, e32, 2023. <https://doi.org/10.1017/awf.2023.23>.

BULLER, H. et al. Animal welfare management in a digital world. *Animals*, v. 10, n. 10, p. 1779, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10101779>.

CAMPBELL, D. L. M.; DICKSON, E. J.; LEE, C. Application of open field, tonic immobility, and attention bias tests to hens with different ranging patterns. *PeerJ*, v. 7, e8122, 2019. <https://doi.org/10.7717/peerj.8122>.

CIARELLI, C. et al. Space use and navigation ability of hens at housing in the aviary for the laying phase: effect of enrichment with additional perches and genotype. *Poultry Science*, v. 102, n. 10, p. 102951, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102951>.

D'SILVA, J. et al. Animal sentience: the science and its implications, with particular reference to farmed animals. *Animal Research and One Health*, v. 2, p. 1-11, 2024. <https://doi.org/10.1002/aro2.65>.

DAWSON, L. C. et al. In pursuit of a better broiler: a comparison of the inactivity, behavior, and enrichment use of fast- and slower growing broiler chickens. *Poultry Science*, v. 100, n. 10, p. 101379, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101379>.

EDGAR, J. L. et al. Fear, anxiety, and production in laying hens with healed keel bone fractures. *Poultry Science*, v. 102, n. 4, p. 102514, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102514>.

ELSAYED, R. A. et al. Effects of different types of environmental enrichment on behaviour, performance, welfare, carcass characteristics and lipid profile of broiler chickens. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, v. 25, n. 1, p. 8-18, 2024. <https://doi.org/10.35926/MVMJ.2024.1.2>.

FORSLIND, S. et al. Dark brooders during rearing affect fearfulness but not production parameters of broiler chickens. *Poultry Science*, v. 104, n. 2, p. 105682, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.105682>.

GOTO, T. A.; TELLES, T. C. B.; PAULA, Y. A. A questão dos afetos na fenomenologia de Edmund Husserl: um estudo preliminar. *Revista Pesquisa Qualitativa*, v. 4, n. 4, p. 30-45, 2016.

HARTCHER, K. M.; LUM, H. K. Genetic selection of broilers and welfare consequences: a review. *World's Poultry Science Journal*, v. 76, n. 1, p. 154-167, 2020. <https://doi.org/10.1080/00439339.2019.1680025>.

HERRERA-ALCAÍNO, S. et al. Social enrichment improves affective state and foraging behavior compared to physical enrichment, while maintaining growth performance in broiler chickens. *Animals*, v. 14, n. 22, p. 3186, 2024. <https://doi.org/10.3390/ani14223186>.

HOUSE, G. M. et al. Effect of the addition of ultraviolet light on broiler growth, fear, and stress response. *Poultry Science*, v. 99, n. 7, p. 3314-3320, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.048>.

IPEMA, A. F. et al. Long-term access to live black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) stimulates activity and reduces fearfulness of broilers, without affecting health. *Scientific Reports*, v. 10, p. 17428, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74514-x>.

JACOBS, L. et al. Enhancing their quality of life: environmental enrichment for poultry. *Poultry Science*, v. 102, n. 10, p. 102830, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102830>.

JAMES, C. et al. The effect of supplementary ultraviolet wavelengths on broiler chicken welfare indicators. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 209, p. 55-64, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.09.006>.

JIRKOF, P.; RUDECK, J.; LEWEJOHANN, L. Assessing affective state in laboratory rodents to promote animal welfare — what is the progress in applied refinement research? *Animals*, v. 9, n. 11, p. 985, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9110985>.

KIM, C.-H. et al. Effects of providing enrichment to broilers in an animal welfare environment on productivity, litter moisture, gas concentration (\$CO_2\$ and \$NH_3\$), animal welfare indicators, and stress level concentration. *Agriculture*, v. 15, n. 2, p. 182, 2025. <https://doi.org/10.3390/agriculture15020182>.

LEWIS, P. D.; GOUS, R. M. Responses of poultry to ultraviolet radiation. *World's Poultry Science Journal*, v. 65, n. 3, p. 499-510, 2009. <https://doi.org/10.1017/S0043933909000361>.

LOURENÇO DA SILVA, M. I. et al. Behaviour and animal welfare indicators of broiler chickens housed in an enriched environment. *PLOS ONE*, v. 16, n. 9, e0256963, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256963>.

LOURENÇO-SILVA, M. I.; ULANS, A.; JACOBS, L. Pharmacological validation of an attention bias test for conventional broiler chickens. *PLOS ONE*, v. 19, n. 4, e0297715, 2024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297715>.

MALCHOW, J.; SCHRADER, L. Effects of an elevated platform on welfare aspects in male conventional broilers and dual-purpose chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 8, p. 660602, 2021. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.660602>.

MARINO, L. Thinking chickens: a review of cognition, emotion, and behavior in the domestic chicken. *Animal Cognition*, v. 20, n. 2, p. 127-147, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10071-016-1064-4>.

MELLOR, D. J. Operational details of the Five Domains Model and its key applications to the assessment and management of animal welfare. *Animals*, v. 7, n. 8, p. 60, 2017. <https://doi.org/10.3390/ani7080060>.

MENDL, M.; PAUL, E. S. Animal affect and decision-making. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 112, p. 144-163, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.025>.

MEYER, M. M.; JOHNSON, A. K.; BOBECK, E. A. Increased duration of laser environmental enrichment increased broiler physical activity and pen-wide movement without altering tibia measurements. *Poultry Science*, v. 102, n. 7, p. 102713, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102713>.

MOE, R. O. et al. Anticipatory and foraging behaviors in response to palatable food reward in chickens: effects of dopamine D2 receptor blockade and domestication. *Physiology & Behavior*, v. 133, p. 170-177, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.018>.

MOHAMMED, A. et al. Effect of a synbiotic supplement on fear response and memory assessment of broiler chickens subjected to heat stress. *Animals*, v. 11, n. 2, p. 427, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11020427>.

NICOL, C. J. Effects of environmental enrichment and gentle handling on behaviour and fear responses of transported broilers. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 33, n. 4, p. 367-380, 1992. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(05\)80073-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(05)80073-4).

OGBONNA, E. O. et al. Effects of ultraviolet-A light supplementation on stress response, immune indicators and welfare of broiler chickens. *Animals*, v. 13, n. 17, p. 2768, 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13172768>

PAGE, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, v. 372, n. 71, 2021. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>.

PANKSEPP, J. Affective consciousness: core emotional feelings in animals and humans. *Consciousness and Cognition*, v. 14, n. 1, p. 30-80, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.concog.2004.10.004>.

PICHOVA, K. et al. The effects of food-related environmental complexity on litter directed behaviour, fear and exploration of novel stimuli in young broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 174, p. 83-89, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.11.008>.

PRITCHETT-CORNING, K. R. Environmental complexity and research outcomes. *ILAR Journal*, v. 60, n. 2, p. 239-251, 2019. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilaa007>.

RANA, A.; CAMPBELL, D. L. M. Fear and anxiety in poultry: the role of environmental predictability and control. *Poultry Science*, v. 100, n. 7, p. 101155, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101155>

RIBER, A. B.; WURTZ, K. E.; THODBERG, K. On-farm study of walking ability in Danish government-certified 'Better Animal Welfare' and conventional broilers. *Veterinary Record*, e5323, 2024. <https://doi.org/10.1002/vetr.5323>.

RICCI, G. D.; TITTO, C. G.; SOUSA, R. T. Enriquecimento ambiental e bem-estar na produção animal. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 16, n. 3, p. 324-332, 2017. <https://doi.org/10.5965/223811711632017324>.

SALAMONE, J. D.; CORREA, M. The neurobiology of activational aspects of motivation: exertion of effort, effort-based decision making, and the role of dopamine. *Annual Review of Psychology*, v. 75, p. 1-32, 2024. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-020223-012208>.

SCANES, C. G. Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poultry Science*, v. 95, n. 9, p. 2208-2215, 2016. <https://doi.org/10.3382/ps/pew114>.

SCHULTZ, W. A dopamine mechanism for reward maximization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, v. 121, n. 20, e2316658121, 2024. <https://doi.org/10.1073/pnas.2316658121>

SOBOTIK, E. B.; NELSON, J. R.; ARCHER, G. S. How does ultraviolet light affect layer production, fear, and stress? *Applied Animal Behaviour Science*, v. 221, p. 104926, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.104926>

SOULET, D. et al. Exploration of skin redness and immunoglobulin A as markers of the affective states of hens. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 274, p. 106268, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2024.106268>.

STOKES, J. E. et al. Economic and welfare impacts of providing Good Life opportunities to farm animals. *Animals*, v. 10, n. 4, p. 610, 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10040610>.

SULIMOVA, L. I.; ZHUCHAEV, K. V.; KOCHNEVA, M. L. Poultry behavior reactions and welfare (review). *Agricultural Biology*, v. 55, n. 2, p. 209-224, 2020. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.2.209eng>.

TAHAMTANI, F. M. et al. Effects of environmental complexity on fearfulness and learning ability in fast growing broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 207, p. 49-56, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.07.001>.

TAMAGI, H. M. et al. Effects of auditory enrichment and regular human contact on stress response, underlying fearfulness, and growth performance in broiler chickens. *European Poultry Science*, v. 88, 2024. <https://doi.org/10.1399/eps.2024.399>.

TAYLOR, P. S. et al. Environmental complexity: additional human visual contact reduced meat chickens' fear of humans and physical items altered pecking behavior. *Animals*, v. 12, n. 3, p. 310, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12030310>.

TAYLOR, P. S. et al. An effective environmental enrichment framework for the continual improvement of production animal welfare. *Animal Welfare*, v. 32, e14, p. 1-11, 2023. <https://doi.org/10.1017/awf.2023.5>.

ULANS, A.; BROOKS, G. C.; JACOBS, L. Environmental complexity impacts anxiety in broiler chickens depending on genetic strain and body weight. *Scientific Reports*, v. 14, p. 17535, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67965-z>.

VEISSIER, I. et al. Review: Rethinking environmental enrichment as providing opportunities to acquire information. *Animal*, v. 18, p. 101251, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ansci.2024.101251>.

VENTURA, B. A.; SIEWERDT, F.; ESTEVEZ, I. Effects of barrier perches and density on broiler leg health, fear, and performance. *Poultry Science*, v. 89, n. 8, p. 1574-1583, 2010. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00576>.

WANG, Y. et al. Effect of social order, perch, and dust-bath allocation on behavior in laying hens. *Animal Bioscience*, v. 35, n. 2, p. 299-307, 2022. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0198>.

WHITHAM, J. C.; MILLER, L. J. Utilizing vocalizations to gain insight into the affective states of non-human mammals. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 11, p. 1366933, 2024. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1366933>.

WICHMAN, A. et al. Influence of different light spectrums on behaviour and welfare in laying hens. *Animals*, v. 11, n. 4, p. 924, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11040924>.

WISE, R. A. Dopamine, learning and motivation. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 5, n. 6, p. 483-494, 2004. <https://doi.org/10.1038/nrn1406>.

WOOD, B. et al. The utility of scatter feeding as enrichment: do broiler chickens engage with scatter-fed items? *Animals*, v. 11, n. 12, p. 3478, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11123478>.

YILDIRIM, M.; TASKIN, A. The effects of environmental enrichment on some physiological and behavioral parameters of broiler chicks. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v. 19, n. 2, p. 355-362, 2017. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0402>.

CAPÍTULO II

ALÉM DA PRODUTIVIDADE: ANTIBIÓTICO, PROBIÓTICO E COMPLEXIDADE AMBIENTAL NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

Protocolo experimental aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Grande Dourados (CEUA/UFGD) sob protocolo de nº 38.2022

ALÉM DA PRODUTIVIDADE: ANTIBIÓTICO, PROBIÓTICO E COMPLEXIDADE AMBIENTAL NA MODULAÇÃO DO MEDO E DA ANSIEDADE EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO – Os estados afetivos de frangos de corte podem ser influenciados tanto pelo ambiente quanto por intervenções nutricionais. Estratégias como o uso de probióticos e o aumento da complexidade ambiental promovem o bem-estar das aves, entretanto, os efeitos combinados dessas intervenções ainda são pouco compreendidos. Nesse contexto, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos dos aditivos melhoradores de desempenho e da complexidade ambiental sobre o estado emocional de frangos de corte, considerando o medo e ansiedade como medidas. Foram utilizados 1.440 pintinhos de um dia machos (linhagem Ross 308, $39,26 \pm 0,51$

g), distribuídos em um delineamento em blocos casualizado, em arranjo fatorial 3×2, considerando aditivos (antibiótico, probiótico e controle negativo) e dois níveis de complexidade ambiental (alta e baixa), totalizando seis tratamentos com oito repetições. A alta complexidade ambiental incluiu o uso permanente de plataforma com rampas e enriquecimento temporários rotacionados, enquanto a baixa complexidade simulou o sistema convencional de criação. Aos 37 dias, foi avaliada a concentração de serotonina sérica como marcador fisiológico periférico, associado indiretamente com a regulação emocional e do bem-estar. O medo agudo foi avaliado aos 39 dias pelo teste de imobilidade tônica, e a ansiedade foi mensurada aos 40 e 41 dias pelo teste de viés de atenção, considerando latências para alimentação, locomoção, vocalização e comportamentos de vigilância. Os resultados mostraram que a concentração de serotonina sérica foi influenciada pelo aditivo, com maiores concentrações nas aves que receberam antibiótico em comparação ao controle negativo, enquanto as aves que receberam o probiótico apresentaram valores intermediários. No teste de imobilidade tônica, não foram observados efeitos dos aditivos, da complexidade ambiental ou de sua interação. No teste de viés de atenção, houve efeito do aditivo sobre a latência para o primeiro passo, sendo que as aves que receberam antibiótico e probiótico apresentando menores latências que o controle. A complexidade ambiental reduziu a latência para retomar a alimentação e influenciou a primeira vocalização, com aves criadas em alta complexidade ambiental vocalizando mais rapidamente. Além disso, a interação entre aditivo e complexidade ambiental foi determinante para o início da alimentação, com o tratamento antibiótico associado à alta complexidade apresentando a menor latência. Nos comportamentos de vigilância, observou-se efeitos de interação entre aditivo e complexidade, que aumentou a ocorrência dos comportamentos olhar ao redor e postura ereta, especialmente em alta complexidade. Enquanto o comportamento de congelamento foi menos frequente em aves que receberam antibiótico ou probiótico. Os resultados indicam que os efeitos dos aditivos e da complexidade ambiental dependem do estado emocional avaliado e do tipo de medida empregada, sendo a ansiedade mais sensível às intervenções do que o medo agudo. O aumento da serotonina sérica nas aves que receberam antibiótico sugere melhor equilíbrio fisiológico e suporte do eixo intestino–cérebro, potencializando os efeitos positivos do ambiente enriquecido, enquanto o probiótico manteve a homeostase fisiológica com um impacto intermediário.

Palavras-chave: cognição, enriquecimento ambiental, estados afetivos, melhoradores de desempenho, serotonina sérica, viés de atenção

BEYOND PRODUCTIVITY: ANTIBIOTIC, PROBIOTIC, AND ENVIRONMENTAL COMPLEXITY IN THE MODULATION OF FEAR AND ANXIETY IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT – The affective states of broiler chickens can be influenced by both the environment and nutritional interventions. Strategies such as the use of probiotics and increasing environmental complexity promote bird welfare; however, the combined effects of these interventions are still poorly understood. In this context, this study aimed to evaluate the effects of performance-enhancing additives and environmental complexity on the emotional state of broiler chickens, considering fear and anxiety as measures. A total of 1,440 one-day-old male chicks (Ross 308 strain, 39.26 ±0.51 g) were used, distributed in a randomized block design in a 3x2 factorial arrangement, considering additives (antibiotic, probiotic, and negative control) and two levels of environmental complexity (high and low), totaling six treatments with eight replicates. High environmental complexity

included the permanent use of a platform with ramps and rotated temporary enrichment, while low complexity simulated the conventional rearing system. At 37 days, serum serotonin concentration was evaluated as a peripheral physiological marker indirectly associated with emotional regulation and welfare. Acute fear was assessed at 39 days using the tonic immobility test, and anxiety was measured at 40 and 41 days using the attention bias test, considering latencies for feeding, locomotion, vocalization, and vigilance behaviors. The results showed that serum serotonin concentration was influenced by the additive, with higher concentrations in birds that received antibiotics compared to the negative control, while birds that received the probiotic showed intermediate values. In the tonic immobility test, no effects of the additives, environmental complexity, or their interaction were observed. In the attention bias test, there was an effect of the additive on the latency to the first step, with birds receiving antibiotics and probiotics showing shorter latencies than the control. Environmental complexity reduced the latency to resume feeding and influenced the first vocalization, with birds reared in high environmental complexity vocalizing faster. Furthermore, the interaction between additive and environmental complexity was crucial for the onset of feeding, with the antibiotic treatment associated with high complexity presenting the shortest latency. In vigilance behaviors, interaction effects between additive and complexity were observed, which increased the occurrence of looking around and upright posture behaviors, especially under high complexity. Conversely, freezing behavior was less frequent in birds that received antibiotics or probiotics. The results indicate that the effects of additives and environmental complexity depend on the emotional state evaluated and the type of measure employed, with anxiety being more sensitive to interventions than acute fear. The increase in serum serotonin in birds that received antibiotics suggests better physiological balance and support of the gut–brain axis, boosting the positive effects of the enriched environment, while the probiotic maintained physiological homeostasis with an intermediate impact.

Keywords: affective states; attention bias; cognition; enhancing feed additives; environmental enrichment; performance; serum serotonin.

INTRODUÇÃO

Na avicultura de corte, os sistemas intensivos convencionais são caracterizados pela alta densidade de criação, ambiente com poucos estímulos comportamentais, condições que podem comprometer o bem-estar das aves. Nesse contexto, têm sido relatados aumento do estresse, maior reatividade ao medo, elevada incidência de dermatite de contato e queimaduras de jarrete, dificuldades locomotoras e redução na expressão de comportamentos naturais desejáveis (Sakamoto et al., 2020; Nielsen et al., 2023). Além dos impactos físicos, essas condições afetam diretamente a forma como as aves percebem e respondem ao ambiente, influenciando seus estados afetivos.

O aumento da complexidade ambiental por meio da implementação de enriquecimentos ambientais promove maiores estímulos e oportunidades comportamentais, favorecendo experiências positivas e contribuindo para os estados afetivos positivos (De Azevedo et al., 2023). Enriquecimentos estruturais que introduzem variação espacial e tridimensionalidade estimulam o maior uso do espaço, diversificam padrões de atividades e aumentam oportunidades de controle do animal sobre o ambiente (Meyer et al., 2023; Guinebretière et al., 2025). Além disso, o uso de objetos manipuláveis e estímulos de novidade, como itens pendulares e reflexivos, favorecerem exploração, atenção ao ambiente e engajamento comportamental, ainda que a eficácia dependa do valor biológico do estímulo e da forma de oferta (Riber et al., 2018; Jacobs et al., 2023; Esayed et al., 2024).

A relevância dessas intervenções se torna ainda mais importante quando se considera que medo e ansiedade, que possuem implicações para o bem-estar das aves. O medo agudo está associado a respostas defensivas imediatas frente a ameaças percebidas, já a ansiedade envolve processos cognitivos mais complexos, relacionados à antecipação de risco e à avaliação do ambiente (Campbell et al., 2019; Lourenço da Silva et al., 2024). Ambos podem comprometer a adaptação ao ambiente, a saúde e a eficiência biológica das aves, além de aumentar a dificuldade de manejo em granja, resultando em impactos indiretos sobre o desempenho produtivo e a qualidade dos produtos (Dupjan e Dawkins, 2022; Neethirajan, 2022). O medo agudo pode ser avaliado por meio de testes clássicos de reatividade, como a imobilidade tônica, enquanto testes cognitivos, como o teste de viés de atenção, têm sido empregados para avaliar a ansiedade em aves, baseando-se na forma como o animal distribui sua atenção entre estímulos ameaçadores e estímulos positivos. Aves mais ansiosas tendem a manter a atenção por mais tempo na ameaça e a responder mais lentamente a estímulos recompensadores, refletindo um estado afetivo mais negativo (Campbell et al., 2019; Anderson et al., 2023). Na prática, esse tipo de abordagem permite avaliar não apenas a reatividade imediata, mas também a capacidade de recuperação emocional e de processamento cognitivo relacionado ao ambiente.

Além das medidas comportamentais e cognitivas, marcadores fisiológicos podem complementar a interpretação do estado afetivo. Nesse contexto, a

serotonina (5-HT) é relevante por estar fortemente vinculada ao trato gastrointestinal e por integrar sinais metabólicos e neuroimunes envolvidos na comunicação intestino–cérebro. Embora a serotonina central atue como neurotransmissor, a maior parte da serotonina corporal é produzida periféricamente, associada a funções de motilidade, imunidade e inflamação, compondo um cenário fisiológico que modula, de forma indireta, a reatividade emocional (Koopman et al., 2021; Guzel e Mirowska-Guzel, 2022; Kanova e Kohout, 2021).

A microbiota intestinal exerce papel central nesse eixo ao modular a produção de serotonina e de outros neurotransmissores, como dopamina, GABA e norepinefrina, por meio de mecanismos que envolvem a disponibilidade de triptofano, a integridade da barreira intestinal, a produção de metabólitos neuroativos e a ativação de vias imunológicas e neurais (O'Mahony et al., 2015; Huang & Wu, 2021; Dicks, 2022). Alterações na microbiota e processos inflamatórios aumentam a liberação de citocinas e sinais metabólicos que informam ao sistema nervoso central o “estado interno” do organismo, influenciando circuitos relacionados à vigilância, ansiedade e respostas ao medo (Kanova e Kohout, 2021; Guzel e Mirowska-Guzel, 2022). Assim, a serotonina sérica pode ser utilizada como indicador periférico complementar do equilíbrio fisiológico associado à saúde intestinal e à sinalização do eixo intestino–cérebro.

Nesse contexto, aditivos melhoradores de desempenho historicamente incluem antimicrobianos, pela capacidade de reduzir desafios entéricos, estabilizar o ambiente intestinal e favorecer a homeostase. Embora seu uso esteja cada vez mais restrito, os antibióticos ainda representam uma referência importante na comparação com alternativas não antimicrobianas, especialmente no que se refere à modulação da saúde intestinal e de marcadores fisiológicos associados ao bem-estar. Os probióticos representam uma alternativa não antimicrobiana por contribuírem para o equilíbrio da microbiota, fortalecimento da barreira intestinal e modulação imunometabólica (Plaza-Díaz et al., 2019; El-Hack et al., 2020). Essas intervenções podem modular a microbiota intestinal e, indiretamente, influenciar o eixo intestino–cérebro e a aumentar a serotonina periférica (Mohammed et al., 2021).

Apesar dos avanços na compreensão dos efeitos isolados do enriquecimento ambiental ou dos aditivos, ainda há uma lacuna de conhecimento quanto à interação entre essas estratégias na modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte. Poucos estudos investigaram de forma integrada como o estado fisiológico pode potencializar ou limitar os efeitos de ambientes mais complexos sobre os estados afetivos das aves. Diante disso, objetivou-se avaliar os efeitos da interação entre aditivos melhoradores de desempenho (antibiótico e probiótico) e diferentes níveis de complexidade ambiental sobre o medo e a ansiedade em frangos de corte. Para isso, foram combinadas abordagens fisiológicas, comportamentais e cognitivas, incluindo a avaliação da serotonina sérica, o teste de imobilidade tônica e o teste de viés de atenção, visando compreender de forma integrada como fatores nutricionais e ambientais modulam o bem-estar emocional das aves. A principal hipótese foi que a modulação do ambiente intestinal promovida pelos aditivos associada a um ambiente de maior complexidade resultaria em um menor nível de ansiedade e medo nas aves.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado nas instalações da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), no Mato Grosso do Sul, Brasil, após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo n.º 38.2022.

Instalações experimentais e manejo

O aviário experimental possui 50 m de comprimento, 10 m de largura e 3 m de pé direito, sendo projetado com um sistema de ventilação em pressão negativa, cortinas, sobrecortinas e placa evaporativa para controle da temperatura interna. Cada unidade de alojamento estava equipada com comedouros tubulares, bebedouros pendulares e maravalha de segundo uso como cama com aproximadamente 15 cm de profundidade.

As variáveis ambientais de temperatura e umidade foram monitoradas continuamente por meio de dataloggers digitais posicionados na altura dos animais, dentro dos boxes, em três pontos do aviário. O aquecimento inicial foi mantido usando campânulas e lâmpadas de 250W e, para garantir o conforto e controle da temperatura foi utilizado círculo de proteção na fase pré-inicial (1-7 dias). Ao longo do período experimental, a temperatura e a umidade relativa do ar

foram mantidas de acordo com as necessidades da linhagem, sendo ajustadas gradualmente conforme a idade das aves. As médias de temperatura e umidade foram, respectivamente, de 29,0 °C e 69,7% na fase pré-inicial (1–7 dias), 25,4 °C e 78,6% na fase inicial (8–21 dias), 21,1 °C e 76,8% na fase de crescimento (22–35 dias) e 19,2 °C e 68,9% na fase final (36–42 dias).

Delineamento experimental e tratamentos

Foram utilizados 1.440 pintinhos machos de um dia de idade, da linhagem Ross 308®, provenientes de um incubatório comercial (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil). As aves foram uniformizadas pelo peso ($39,26 \pm 0,51$ g) e distribuídas em um delineamento de blocos casualizado, em um arranjo fatorial 3x2, avaliando dois fatores: aditivos (antibiótico x probiótico x controle negativo) e complexidade ambiental (alta x baixa). Cada um dos seis grupos de tratamento resultantes foi replicado oito vezes, totalizando 48 unidades experimentais com 30 aves cada.

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas para atender às exigências nutricionais para frangos de corte propostas por Rostagno et al. (2017), sendo isonutritivas entre os tratamentos. As dietas foram fornecidas *ad libitum* em um programa de alimentação de quatro fases: pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais (100kg) formuladas para frangos de corte de crescimento rápido com a inclusão de antibiótico e probiótico como aditivos melhoradores de desempenho.

Ingredientes	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho	42,858	46,26	53,137	62,819
Farelo de soja	46,218	42,749	35,592	27,675
Óleo de soja	5,096	5,826	6,182	5,003
Fosfato bicálcico	2,331	2,132	1,821	1,471
Calcário	0,762	0,721	0,557	0,424
Sal	0,489	0,473	0,449	0,42
DL-Metionina	0,351	0,327	0,286	0,228
L-Lisina	0,105	0,224	0,178	0,217
L-Treonina	0,06	0,058	0,064	0,058
Cloreto de colina	0,08	0,08	0,08	0,08
Premix vitamínico ¹	0,03	0,025	0,016	0,015
Premix mineral ²	0,07	0,06	0,05	0,05
Porção Variável*	1,55	1,065	1,588	1,54
Atendimento das Exigências, %				
EM, kcal/kg	3.000	3.100	3.200	3.250
Proteína bruta	25,01	23,75	21,04	18,29
Cálcio	1,029	0,911	0,758	0,606

Fósforo disponível	0,553	0,525	0,458	0,383
Sódio	0,21	0,21	0,201	0,191
Lisina	1,369	1,366	1,161	1,008
Metionina	0,667	0,627	0,558	0,473
Metionina + Cistina	1,011	0,955	0,856	0,742
Treonina	0,905	0,852	0,763	0,661

¹Suplemento vitamínico níveis de inclusão: Ácido fólico (mín.) 2,25 mg; Ácido pantotênico (mín.) 30 mg; Biotina (mín.) 0,240 mg; Niacina (mín.) 120 mg; Vitamina A (mín.) 24.000 UI; Vitamina B1 (mín.) 9,0 mg; Vitamina B12 (mín.) 54 µg; Vitamina B2 (mín.) 18 mg; Vitamina B6 (mín.) 9,75 mg; Vitamina D3 (mín.) 7.500 UI; Vitamina E (mín.) 45,0 UI; Vitamina K3 (mín.) 7,5 mg.

²Suplemento mineral níveis de garantia: Cobre (mín.) 18,9 mg; Ferro (mín.) 1,57 mg; Iodo (mín.) 3,78 mg; Manganês (mín.) 2,1 mg; Selênio (mín.) 0,9 mg; Zinco (mín.) 1,8 mg.

*Porção Variável: Composta por areia como material inerte, substituído pelos aditivos experimentais (probiótico ou bacitracina de zinco) de acordo com as recomendações dos fabricantes.

Aditivos e complexidade ambiental

Os tratamentos aditivos consistiram em dietas experimentais diferenciadas pela inclusão de aditivos: Controle negativo (dieta basal sem aditivos melhoradores de crescimento); Antibiótico (500 mg/kg de bacitracina de zinco); e Probiótico (200 mg/kg de um *blend* comercial contendo *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e *Lactobacillus*). Em ambos os aditivos foram incluídos em substituição ao inerte (areia) na dieta basal.

Os tratamentos de enriquecimento ambiental consistiram em boxes de baixa complexidade que simulavam o padrão de alojamento convencional, sem nenhum tipo de enriquecimento ambiental adicionado (Figura 1), ou boxes de alta complexidade contendo objetos de enriquecimentos ambiental permanente e temporários. O enriquecimento permanente consistia em uma plataforma com rampas de piso vazado (Figura 2). Os enriquecimentos temporários consistiram em seis objetos disponibilizados em duplas e rotacionados a cada três dias com o objetivo de manter a novidade (Tabela 2).

Tabela 2. Itens de enriquecimento ambiental temporários utilizados na composição do ambiente de alta complexidade para frangos de corte.

Grupo	ITEM	DESCRIÇÃO	Imagem
1	Rede de malha	Rede em formato de malha plástica preenchida com feno de trigo, suspenso na altura da cabeça das aves.	Figura 3
	Bolas coloridas	Uma bola de plástico vermelha e uma azul, com aproximadamente 76mm, dispostos na cama do box.	
2	Corrente de ferro	Duas correntes de ferro de 10 cm suspensas na altura da cabeça das aves.	Figura 4
	Bola de metal	Bola de metal vazada preenchida com feno de trigo dispostas na cama do box.	

- 3 Fitas metálicas Feixes de fitas metálicas de 1 cm de largura e 20 cm de comprimento nas cores vermelho e dourado, suspensas na altura da cabeça das aves
- 3 Espelho Dois espelhos retangulares de 24 cm (altura) x 18 cm (largura), fixados nas laterais do box na altura do peito das aves.

Figura 5



Figura 1. Boxe de alta complexidade (esquerda) e baixa complexidade (direita).



Figura 2. Plataforma com rampa de piso vazado (enriquecimento permanente).



Figura 3 Rede de forrageamento e bolas coloridas (enriquecimentos temporários).



Figura 4. Correntes e bola de metal com feno (enriquecimentos temporários).

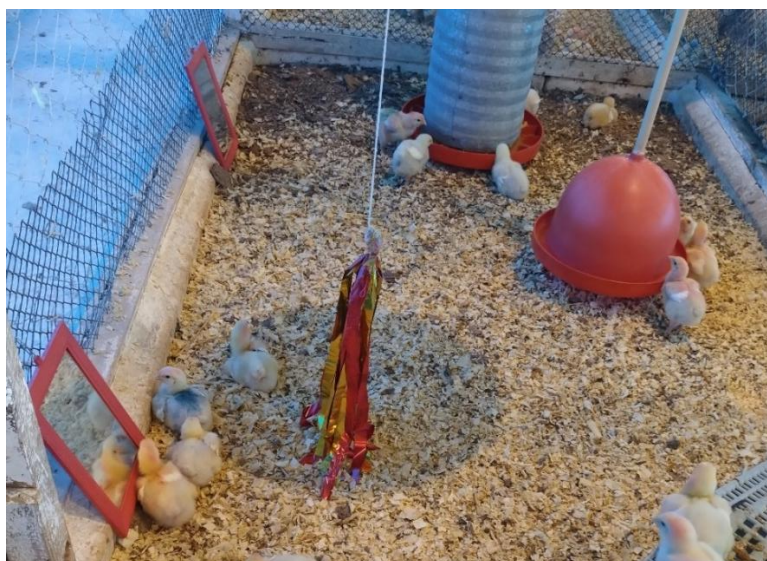


Figura 5. Feixes de fitas metálicas e espelhos (enriquecimentos temporários).

Avaliações

Serotonina sérica (5-HT)

Aos 37 dias de idade, foram coletados 3 mL de sangue por ave por punção da veia ulnar (duas aves por repetição, n= 16 aves/tratamento), cerca de dois minutos após a apanha, para minimizar alterações induzidas pelo estresse agudo. As amostras foram depositadas em tubos sem anticoagulante, mantidas para coagulação e centrifugadas para separação do soro, que foi armazenado à -80°C até as análises. A concentração da serotonina sérica foi quantificada utilizando o método ELISA (Chicken 5-HT kit, E-EL-0033, Elabscience, USA).

Teste de Imobilidade Tônica (medo)

O teste de imobilidade tônica foi realizado no próprio aviário, aos 39 dias em três aves por repetição (n = 24/ tratamento), com a finalidade de observar a expressão do medo. Cada ave foi testada individualmente, seguindo a metodologia descrita por Anderson et al. (2021). A ave era posicionada em decúbito dorsal em uma superfície de madeira em formato de V, com a cabeça direcionada para fora. Então o observador cobria levemente a cabeça com uma mão e com a outra aplicava uma leve pressão com dois dedos por 15 segundos sobre o esterno da ave (Figura 6), para induzir a imobilidade tônica. Em seguida iniciava-se o cronômetro para mensurar a latência para a ave se levantar (s). O observador mantinha-se afastado e evitava o contato físico ou visual.

Se a ave se levantasse em menos de 10 segundos, recebia o escore zero e era realizada uma nova tentativa de indução, permitindo no máximo três. O teste tinha duração máxima de 300 segundos, as aves que não se levantassem nesse período recebiam o escore máximo de 300 segundos. O teste finalizava se em qualquer momento entre 10 e 300 segundos a ave tentasse se levantar (sair da imobilidade tônica). Maiores latências de imobilidade indicam níveis mais elevados de medo.



Figura 6. Teste de Imobilidade Tônica: A. Indução da imobilidade, B. Ave em imobilidade tônica.

Teste de viés de atenção (ansiedade)

O teste de viés de atenção foi realizado seguindo a metodologia descrita em Anderson et al. (2021) e validada farmacologicamente por Lourenço-Silva et al. (2024), para mensurar a ansiedade nas aves. Aos 40 e 41 dias de idades, foram selecionadas aleatoriamente 6 aves por repetição ($n = 48/\text{tratamento}$), sendo as avaliações realizadas em grupos de 3 aves em cada dia de teste. Cada grupo foi testado uma única vez.

O teste foi realizado em uma arena instalada em uma sala próxima ao aviário, construída nas dimensões de 121 cm (comprimento) x 114 cm (largura) x 68 cm (altura), equipada com maravalha e comedouro com ração, buscando oferecer um ambiente semelhante ao conhecido pelos animais (Figura 7). No teste, as aves foram apresentadas simultaneamente a uma ameaça e um estímulo positivo. O nível de ansiedade foi mensurado pela resposta comportamental das aves após o alarme, considerando o tempo em que o animal leva para mudar a atenção, ou o foco, da ameaça para o estímulo positivo. Aves mais ansiosas tendem dedicar mais tempo à ameaça, indicando um estado afetivo negativo, mais ansioso.

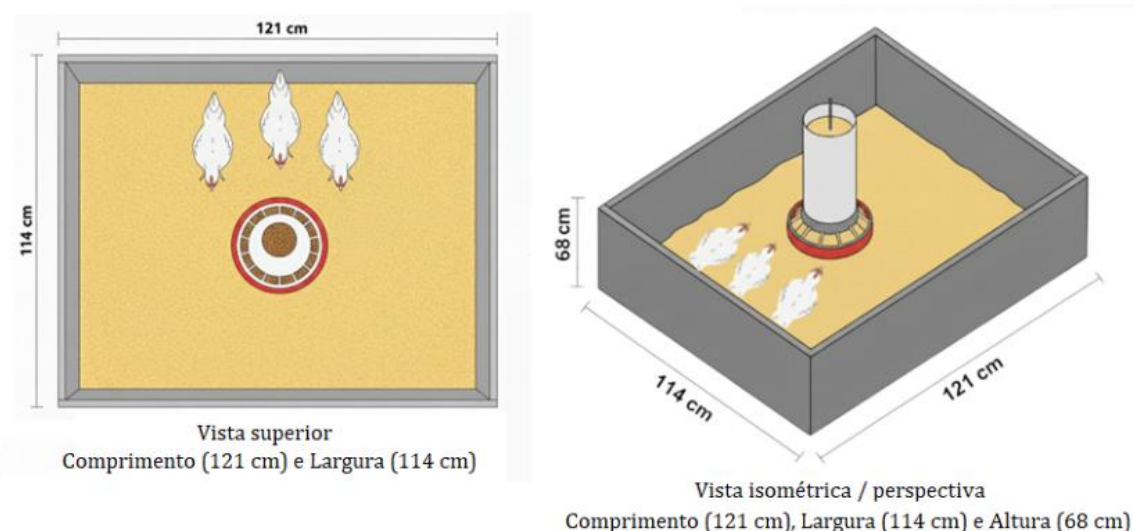


Figura 7. Ilustração da arena experimental utilizada durante o Teste de Viés de Atenção com frangos de corte.

Schiavone e Castillo (2023) destacaram que as larvas desidratadas podem estimular comportamentos de forrageamento e servir como enriquecimento, dessa forma, forma ofertados tenébrios (*tenébrio molitor*) desidratado na ração, como estímulo positivo. A ameaça foi uma vocalização de alarme coespecífica para predador terrestre. O alarme simulava uma galinha vocalizando alerta de presença de um predador terrestre, estimulando uma resposta comportamental de vigilância (Evans et al., 1993). A vocalização de alarme foi reproduzida em caixa de som localizado ao lado da arena testes, na frequência aproximada de 72 dB.

Para início do teste, as aves eram posicionadas próximo a parede da arena, voltadas para o comedouro e imediatamente o alarme coespecífico tocava por 8 segundos. O teste foi estruturado em quatro categorias de avaliação: alimentação, comportamentos de vigilância, locomoção e vocalização (Tabela 2). A ansiedade das aves foi mensurada inicialmente pelas latências para iniciar e retomar a alimentação após a ameaça. Adicionalmente, foram registradas as latências individuais para o primeiro passo e latência para primeira vocalização do grupo. E também foram registrados comportamentos de vigilância nos primeiros 30 segundos após o alarme.

Tabela 3 Variáveis comportamentais e critérios de avaliação utilizados no Teste de Viés de Atenção para mensurar a ansiedade em frangos de corte.

Categoria	Ação	Descrição	Duração	Critério para finalizar
Alimentação	Início da alimentação	Latência para as três aves iniciarem o consumo após o estímulo inicial	300 s	As 3 aves se alimentarem ou tempo esgotado

	2° alarme	A última ave a se alimentar é permitida se alimentar por 10 s.	10 s	10 s após o consumo da terceira ave, independente do tempo do teste.
	Retorno da alimentação	Latência para as aves retomarem a alimentação após um segundo alarme.	120 s	As aves que se alimentaram na fase 1 retornarem ou tempo esgotado
Vigilância	Comportamentos de vigilância	Ocorrência ou não do comportamento	30 s	As aves apresentam os comportamentos nos primeiros 30 s de teste
Locomoção	Primeiro passo	Latência para a ave dar o primeiro passo após o alarme	300 s	Finalizando o tempo de teste
Vocalização	Primeira vocalização do grupo	Latência para primeira vocalização no grupo após o alarme	300 s	Finalizando o tempo de teste

Para observar e registrar os comportamentos, duas câmeras foram instaladas com a vista superior da arena. Uma das câmeras foi conectada a um monitor, localizado a distância aproximada de quatro metros, para evitar interferências por contato visual com as aves. Através do vídeo ao vivo no monitor foram registradas as latências para iniciar e retornar a alimentação, durante a realização do teste. A segunda câmera registrou variáveis de comportamentos de vigilância (olhar ao redor, postura ereta, esticar o pescoço e congelar) nos 30 segundos seguintes ao primeiro alarme. Cada comportamento foi pontuado com 0, quando não observado, ou 1, quando observado. A latência para o primeiro passo (s) e latência para primeira vocalização (s) foram registradas como indicadores complementares de ansiedade. Os avaliadores foram previamente treinados e realizaram as análises às cegas, sem a identificação dos tratamentos, garantindo a imparcialidade na coleta de dados.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados utilizando o software SAS Studio 3.8 (SAS Institute Inc., Cary, NC). A normalidade dos resíduos foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Todas as variáveis do teste de viés de atenção (início da alimentação, retorno à alimentação, primeira vocalização e primeiro passo) e as variáveis de imobilidade tônica (latência e tentativas de indução) foram analisadas por meio de modelos lineares mistos generalizados (GLIMMIX) utilizando a distribuição Gamma com função log.

Para as variáveis de comportamento de vigilância (congelar, olhar ao redor, postura ereta e esticar o pescoço), os dados foram analisados utilizando a distribuição binária. O modelo estatístico incluiu efeitos fixos de aditivos (antibiótico, controle e probiótico), complexidade ambiental (alta e baixa) e a interação entre aditivos e complexidade. Os efeitos de bloco, dia de teste e boxe foram incluídos como efeitos aleatórios.

As Médias dos Quadrados Mínimos foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Para as variáveis comportamentais de frequência, as porcentagens de ocorrência foram avaliadas pelo GLIMMIX. O nível de significância foi 5%.

RESULTADOS

Serotonina sérica (5-HT)

A concentração de serotonina sérica (5-HT) foi influenciada pelo tipo de aditivo utilizado ($p = 0,040$), enquanto a complexidade ambiental não exerceu efeito significativo ($p = 0,399$), assim como a interação entre aditivo e complexidade ambiental ($p = 0,432$) (Tabela 4). As aves que receberam antibiótico como melhorador de desempenho apresentaram maiores concentrações de serotonina sérica em comparação ao grupo controle negativo. As aves que receberam probiótico apresentaram valores intermediários, não diferindo significativamente nem do antibiótico nem do controle negativo.

Tabela 4. Concentração de serotonina sérica (5-HT) em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental, considerando efeitos fixos e a interação entre os fatores.

Aditivo	Compl. Amb.	Média (ng/mL)	EP	Valor p
CON		184,30 b	19,64	0,040*
ANT		271,49 a	28,93	
PRO		242,00 ab	25,79	
	BC	217,91	18,96	0,399
	AC	241,99	21,06	

CON	BC	186,00	28,03	0,432
CON	AC	182,62	27,52	
ANT	BC	229,94	34,65	
ANT	AC	320,56	48,31	
PRO	BC	241,94	36,48	
PRO	AC	242,06	36,48	

Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). O Valor p refere-se ao teste de efeitos fixos. Compl. Amb: Complexidade Ambiental; EP: Erro padrão; ANT: Antibiótico; CON: Controle Negativo; PRO: Probiótico; AC: Alta complexidade; BC: Baixa complexidade

Teste de Imobilidade Tônica (TI)

Não foram observados efeitos significativos do tipo de aditivo, da complexidade ambiental ou da interação entre os fatores sobre a latência para se levantar após a indução da imobilidade tônica ou sobre o número de tentativas necessárias para induzir a imobilidade tônica ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Latência para se levantar e número de tentativas para induzir a imobilidade tônica em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental, considerando efeitos fixos e a interação entre os fatores.

Aditivo	Compl. Amb.	Latência média (s)	EP	valor p	Nº tentativas	EP	valor p
CON		108,96	14,42	0,482	1,56	0,1	0,308
ANT		104,7	13,86		1,75	0,1	
PRO		129,59	17,15		1,54	0,5	
	BC	107,61	11,63	0,457	1,64	0,12	0,608
	AC	120,59	13,03		1,58	0,1	
CON	BC	95,51	17,88	0,344	1,67	0,17	0,163
CON	AC	124,30	23,26		1,46	0,15	
ANT	BC	90,98	17,03		1,88	0,19	
ANT	AC	120,50	22,55		1,63	0,17	
PRO	BC	143,42	26,84		1,42	0,15	
PRO	AC	117,09	21,91		1,67	0,17	

Os valores p correspondem aos testes de efeitos fixos para os fatores (Aditivo e Enriquecimento) e para a interação (Aditivo x Enriquecimento). Compl. Amb: Complexidade Ambiental; EP: Erro padrão; ANT: Antibiótico; CON: Controle Negativo; PRO: Probiótico; AC: Alta complexidade; BC: Baixa complexidade

Teste de Viés de Atenção (ABT)

Foram observados efeitos significativos do tipo de aditivo sobre a latência para o primeiro passo ($p = 0,005$), com aves que receberam antibiótico ou probiótico apresentando a menor latência em comparação ao controle negativo (Tabela 6). Para a latência da primeira vocalização, foi identificado efeito da complexidade ambiental ($p = 0,015$), sendo que aves mantidas em ambiente de

alta complexidade vocalizaram mais rapidamente do que aquelas em baixa complexidade.

Tabela 6. Latência para primeiro passo, primeira vocalização, início e retorno da alimentação no Teste de Viés de Atenção em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental.

Aditivo	Compl. Amb.	Latência											
		Primeiro passo			Primeira vocalização			Iniciar a alimentação			Retomar a alimentação		
		Média (s)	EP	valor p	Média (s)	EP	valor p	Média (s)	EP	valor p	Média (s)	EP	valor p
CON		78,86 a	14,26		20,70	6,91		246,78	22,2		14,46	4,64	
ANT		47,96 b	8,37	0,005*	22,61	7,51	0,758	223,06	20	0,181	14,08	3,73	0,708
PRO		43,59 b	7,63		17,17	5,64		223,35	20,1		22,00	6,46	
	BC	56,8	8,91	0,649	29,52 a	8,71	0,015*	235,66	20,34	0,410	25,47 a	5,84	0,016*
	AC	52,9	8,50		13,59 b	3,95		226,04	19,5		11,26 b	2,55	
CON	BC	93,3	21,22		33,13	14,86		244,17 ab	24,36		30,36	12,49	
CON	AC	66,7	15,29		12,94	5,32		249,42 A	24,88		6,98	2,10	
ANT	BC	45	9,71	0,467	34,38	14,51	0,866	259,79 A	25,92	0,002*	20,40	9,06	0,328
ANT	AC	51,1	11,35		14,87	6,45		191,52 B	19,02		11,81	3,91	
PRO	BC	43,7	9,18		22,58	9,53		206,31 ab	20,58		26,02	9,80	
PRO	AC	43,5	9,96		13,05	5,51		241,79 ab	24,12		17,19	8,28	

Números seguidos por letras diferentes na mesma coluna apresentam valores significativos ($P < 0,05$). * significância no teste de efeito fixo para o fator correspondente. Compl. Amb: Complexidade Ambiental; EP: Erro padrão; ANT: Antibiótico; CON: Controle Negativo; PRO: Probiótico; AC: Alta complexidade; BC: Baixa complexidade

A latência para iniciar a alimentação não foi influenciada pelo tipo de aditivo ou pela complexidade ambiental, entretanto, houve efeito significativo da interação entre os fatores ($p = 0,002$). As aves que receberam antibiótico e foram mantidas em ambiente de alta complexidade apresentaram a menor latência para iniciar a alimentação, diferindo das aves do controle negativo em alta complexidade e das aves que receberam antibiótico em baixa complexidade, que exibiram as maiores latências. Os demais tratamentos, não diferiram entre si. Em relação à latência para retomar a alimentação após o segundo alarme de ameaça, observou-se efeito significativo da complexidade ambiental ($p = 0,016$), com aves criadas em alta complexidade retornando mais rapidamente à alimentação do que aquelas em baixa complexidade.

Comportamentos de vigilância

Foram observados efeitos significativos da interação entre aditivos e complexidade ambiental sobre a frequência do comportamento de olhar ao redor ($p = 0,034$), com as aves criadas em ambiente de alta complexidade ambiental e

que receberam antibiótico ou probiótico e as aves criadas em baixa complexidade que receberam probiótico como melhorador de desempenho tiveram maior frequência de olhar ao redor comparados as aves que foram criadas em baixa complexidade ambiental e receberam antibiótico como melhorador de desempenho (Tabela 7).

Tabela 7. Ocorrência (%) de comportamento de vigilância e congelamento durante os primeiros 30 segundos do Teste de Viés de Atenção em frangos de corte submetidos a diferentes aditivos e níveis de complexidade ambiental, considerando efeitos fixos e a interação entre os fatores.

Aditivo	Compl. Amb.	Olhar ao redor		Postura ereta		Esticar o pescoço		Congelar	
		Freq. (%)	valor p	Freq. (%)	valor p	Freq. (%)	valor p	Freq. (%)	valor p
CON		48,96 b		28,13		16,67		95,83 a	
ANT		58,33 ab	0,005*	32,29	0,338	15,63	0,293	81,25 b	0,013*
PRO		72,92 a		35,42		22,92		83,33 b	
	BC	50,00 b	0,001*	25,69 b	0,014*	15,28	0,117	88,89	0,291
	AC	70,14 a		38,19 a		21,53		84,72	
CON	BC	41,67 bc	0,034*	12,50 b	0,022*	8,33	0,155	12,50	ns
CON	AC	56,25 abc		43,75 a		25,00		43,75	
ANT	BC	37,5 c		27,08 ab		12,50		27,08	
ANT	AC	79,17 a		37,50 ab		18,75		37,50	
PRO	BC	70,83 ab		37,50 ab		25,00		37,50	
PRO	AC	75,00 a		33,33 ab		20,83		33,33	

Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

Número seguidos de * apresentam significância para o fator correspondente

Compl. Amb: Complexidade Ambiental; ANT: Antibiótico; CON: Controle Negativo; PRO: Probiótico; AC: Alta complexidade; BC: Baixa complexidade

A interação entre os fatores também apresentou efeitos significativos sobre o comportamento de postura ereta ($p = 0,022$), onde as aves do grupo controle e que foram criadas em ambientes de alta complexidade exibiram a maior ocorrência deste comportamento em comparação às do grupo controle em baixa complexidade. Os demais tratamentos não diferiram entre si.

Não foram observados efeitos para o comportamento de esticar o pescoço para nenhum dos fatores avaliados ($p > 0,05$). Para o comportamento de congelar, indicador de medo nas aves, foram observados efeitos significativos para o fator aditivo ($p=0,013$). As aves que receberam os aditivos melhoradores de desempenho, antibiótico ou probiótico, apresentaram as menores ocorrências desse comportamento em comparação com as aves do grupo controle negativo.

DISCUSSÃO

Os efeitos dos aditivos melhoradores de desempenho e da complexidade ambiental sobre os estados afetivos de frangos de corte variaram de acordo com o tipo de teste utilizado. Enquanto a imobilidade tônica avalia o medo agudo, o teste de viés de atenção permite inferir a ansiedade, e a serotonina sérica atua como marcador fisiológico associado à saúde intestinal e à modulação do eixo intestino–cérebro. Dessa forma, a combinação entre medidas comportamentais, cognitiva e fisiológica permite compreender a modulação emocional promovida pelas intervenções testadas. A utilização de probióticos visa alternativas ao uso de antibióticos, enquanto a complexidade ambiental busca promover experiências positivas e melhorar o bem-estar. Assim, este estudo partiu da hipótese de que o uso de aditivos melhoradores de desempenho associado a ambientes mais complexos, poderia influenciar o medo e/ou a ansiedade das aves.

Apesar da imobilidade tônica ser utilizada como indicador de medo agudo em aves, por refletir uma resposta defensiva inata frente a estímulos ameaçadores, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para a duração da resposta ou para o número de tentativas de indução. Essa ausência de efeito pode estar relacionada ao baixo nível basal de medo, possivelmente decorrente da habituação ao manejo frequente e ao contato humano ao longo do experimento, devido à realização de diferentes testes e avaliações, que podem ter favorecido a habituação à presença humana, reduzindo a reatividade e resultando em respostas mais homogêneas.

A eficácia da imobilidade tônica depende da relevância biológica dos estímulos ambientais. Embora a complexidade ambiental tenha incluído plataformas e enriquecimentos temporários, é possível que estímulos não tenham sido suficientes para modificar respostas antipredatórias. Estudos indicaram maior eficácia de enriquecimentos que oferecem refúgio ou controle ambiental, como abrigos funcionais, enquanto estruturas simples tendem a apresentar efeitos inconsistentes (Yildirim e Tashin, 2017; Tahamtani et al., 2018; Taylor et al., 2022; Forslind et al., 2025). Resultados semelhantes foram descritos por Anderson et al. (2021a), que observaram efeitos positivos do enriquecimento sobre a ansiedade, mas não sobre a imobilidade tônica, reforçando que esse teste é menos sensível a variações ambientais e que não reduzam diretamente a percepção de ameaça.

Portanto, a ausência de efeito não invalida os potenciais benefícios da complexidade ambiental sobre o estado afetivo das aves, mas indica que os efeitos podem não ser observados sobre esse estado emocional.

A idade e o desenvolvimento corporal também influenciam a resposta à imobilidade tônica. Brake et al. (1994) observaram que as aves avaliadas em idades mais avançadas apresentaram maiores durações de imobilidade tônica, sugerindo que a maturidade fisiológica influencia a expressão das respostas defensivas. Em contraste, Taylor et al. (2022) avaliaram frangos de corte aos 21 e 35 dias de idade e observaram efeitos do enriquecimento apenas na fase mais jovem, onde as aves apresentaram maior resistência à indução da imobilidade tônica, enquanto aos 35 dias, os efeitos não foram observados. Forslind et al. (2025), ao avaliarem frangos de corte aos 24 dias de idade, também relataram redução significativa da imobilidade tônica em ambientes que incluíam abrigos funcionais, indicando maior sensibilidade às intervenções ambientais em fases iniciais do desenvolvimento.

Além da idade, o elevado peso corporal e as limitações locomotoras características de linhagens de crescimento rápido podem influenciar a expressão comportamental durante o teste. Nessas aves, a permanência prolongada em imobilidade pode refletir não apenas a intensidade da resposta defensiva, mas também restrições físicas à recuperação motora, resultando em respostas mais passivas e homogêneas (Sozcu et al., 2025). No presente estudo, a realização do teste de imobilidade tônica aos 39 dias de idade, fase caracterizada pelo rápido acúmulo de massa corporal e pela proximidade do peso de abate, pode ter limitado a sensibilidade do teste para detectar diferenças entre os tratamentos. Dessa forma, a duração da imobilidade tônica pode ser superestimada em aves com mobilidade reduzida, comprometendo a sensibilidade do teste para detectar variações emocionais.

Adicionalmente, Tiemann et al. (2022) destacaram que o teste de imobilidade tônica perde seu poder discriminatório quando as respostas se tornam extremas ou homogêneas, limitando a detecção de variações sutis entre os tratamentos. Dessa forma, os resultados sugerem que fatores como a relevância funcional dos enriquecimentos e o elevado peso corporal das aves aos 39 dias

pode ter contribuído para a ausência de efeitos significativos na resposta ao medo, o que reforça a importância de considerar diferentes indicadores emocionais para avaliar o impacto do enriquecimento ambiental em cada fase de desenvolvimento.

Nesse contexto, a ausência de efeitos na imobilidade tônica não invalida a relevância desse teste como medida de medo agudo em aves, mas indica que, nas condições do estudo, ele pode não ter sido suficientemente sensível para captar alterações emocionais associadas às intervenções avaliadas. Em frangos de corte de crescimento rápido, avaliados em idade avançada e com elevado peso corporal, respostas defensivas inatas tendem a ser mais homogêneas e fortemente influenciadas por limitações locomotoras, o que pode mascarar os efeitos de enriquecimentos ambientais que não envolvem refúgio funcional ou redução direta da ameaça. Assim, testes baseados em processos cognitivos ou atencionais mostram-se mais adequados para identificar mudanças no estado afetivo dessas aves. Diante disso, a inclusão de marcadores fisiológicos menos dependentes da capacidade locomotora, como a serotonina sérica representa uma ferramenta complementar para avaliação dos estados emocionais.

A serotonina sérica (5-hidroxitriptamina, 5-HT) representa uma fração circulante da serotonina, sendo em sua maioria, sintetizada por células enteroendócrinas do trato gastrointestinal, liberada na circulação e armazenada principalmente em plaquetas, atuando como um hormônio periférico (Herr et al., 2017; Yabut et al., 2019; Jones et al., 2020). Diferente da serotonina central, que atua como neurotransmissor no sistema nervoso central, a serotonina periférica não atravessa a barreira hematoencefálica, configurando dois sistemas funcionalmente distintos. Porém, esses sistemas são interconectados por vias neuroimunes, metabólicas e neurais, compondo o eixo intestino-cérebro (Jones et al., 2020; Kanova e Kohout, 2021). A fração periférica da serotonina atua na regulação da motilidade intestinal, resposta imune, metabolismo energético, tônus vascular e processos inflamatórios (Mohamed-Zadeh et al., 2008; Herr et al., 2017; Yabut et al., 2019), sendo, portanto, um importante indicador do estado fisiológico sistêmico.

Por esse motivo, a serotonina sérica é reconhecida como um mediador entre o estado fisiológico do organismo e, indiretamente, dos processos

emocionais, incluindo a ansiedade. Alterações em sua concentração refletem condições de inflamação intestinal, disbiose, estresse sanitário e aumento da permeabilidade intestinal, afetando a atividade das células enteroendócrinas, a disponibilidade de triptofano e a sinalização imune, resultando em mudanças na produção e liberação da serotonina periférica (Nelson et al., 2020; Ahmed-Farid et al., 2021). Por conta disso, a serotonina sérica tem sido considerada um biomarcador fisiológico relevante para o bem-estar animal.

No presente estudo, aves que receberam antibiótico apresentaram concentrações significativamente mais elevadas de serotonina sérica em comparação ao grupo controle negativo, indicando modulação fisiológica associada ao uso desse aditivo. Esses achados refletem maior estabilidade intestinal e possível redução de processos inflamatórios subclínicos, uma vez que a síntese e liberação da serotonina periférica estão diretamente relacionadas à integridade da mucosa intestinal, à composição da microbiota e à disponibilidade de triptofano (Guzel & Mirowska-Guzel, 2022). Estudos demonstraram que aditivos antimicrobianos reduzem a colonização por patógenos entéricos, minimizam inflamações subclínicas e favorecem o funcionamento adequado do sistema imune, promovendo maior homeostase fisiológica (Fasina et al., 2021; Paul et al., 2022). Essa melhoria do ambiente intestinal pode estimular células enteroendócrinas a manterem uma produção mais eficiente de serotonina, explicando os níveis elevados.

Por outro lado, a menor concentração de serotonina observada nas aves do controle negativo pode indicar maior carga fisiológica associada ao desafio sanitário, possivelmente intensificado pelo uso de cama reutilizada, que favorece o acúmulo de patógenos, matéria orgânica e maior pressão microbiológica (Gomes et al., 2022). De acordo com Téllez-Isaías et al. (2023), desafios inflamatórios no trato gastrointestinal comprometem a estabilidade da microbiota, promovem disbiose, aumentam a permeabilidade intestinal e intensificam a ativação de vias imunológicas pró-inflamatórias. Esses processos afetam diretamente o eixo intestino-cérebro por meio da liberação de citocinas inflamatórias, alteração da sinalização vagal e modulação metabólica, impactando na regulação emocional e comportamental, o que reforça a relevância desse eixo na interpretação dos resultados obtidos.

O eixo intestino–cérebro consiste em uma rede bidirecional de comunicação entre o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central, envolvendo vias neurais, mecanismos imunológicos e metabólitos produzidos pela microbiota intestinal. Alterações na microbiota e processos inflamatórios aumentam a liberação de citocinas pró-inflamatórias e sinais metabólicos que informam ao cérebro o estado fisiológico do organismo, modulando circuitos neurais associados à ansiedade, vigilância e respostas ao medo (Kanova e Kohout, 2021; Guzel e Mirowska-Guzel, 2022). Assim, embora a serotonina periférica não atravesse diretamente a barreira hematoencefálica, ela influencia indiretamente o sistema nervoso central ao modular o contexto fisiológico no qual as respostas emocionais são geradas, ajustando a intensidade dessas respostas.

Em condições de inflamação intestinal, ocorre redução da produção eficiente de serotonina periférica, associada ao aumento de sinais pró-inflamatórios que intensificam estados de estresse fisiológico. Esse desequilíbrio favorece a ativação de circuitos neurais relacionados à ansiedade e à vigilância excessiva, contribuindo para estados afetivos mais negativos (Ahmed-Farid et al., 2021; Nelson et al., 2020). Dessa forma, a menor concentração de serotonina observada nas aves do controle negativo pode refletir uma condição de maior desafio inflamatório intestinal, comprometendo a comunicação adequada do eixo intestino–cérebro e favorecendo respostas emocionais mais negativas.

Por outro lado, a elevação da serotonina sérica nas aves que recebem antibiótico indica um ambiente intestinal mais equilibrado, com menor inflamação e melhor funcionamento das vias fisiológicas associadas ao eixo intestino–cérebro. Esse estado favorece a redução de sinais pró-inflamatórios sistêmicos e promove uma modulação mais eficiente das respostas emocionais, contribuindo para menores níveis de ansiedade e melhor adaptação frente a estímulos ambientais. Dessa forma, os resultados indicam que o uso do antibiótico como melhorador de desempenho contribuiu para a melhora do estado fisiológico geral das aves, possivelmente por meio da redução do desafio sanitário intestinal e da promoção de maior estabilidade da microbiota, refletida no aumento da serotonina periférica.

Embora o antibiótico tenha promovido aumento significativo da serotonina sérica em relação ao controle negativo, o probiótico não diferiu estatisticamente nem do antibiótico nem do controle. Ou seja, o probiótico manteve uma concentração intermediária, não comprometeu a homeostase fisiológica das aves, mantendo níveis de serotonina comparáveis aos demais tratamentos. Esses resultados mostram que os efeitos do probiótico podem estar relacionados a mecanismos distintos daqueles promovidos pelo antibiótico, envolvendo principalmente a modulação local da microbiota intestinal, da integridade da barreira epitelial e de vias imunológicas, cujos efeitos nem sempre se refletem diretamente em marcadores sistêmicos, como a serotonina sérica (Gao et al., 2017; Yosi & Metzler-Zebeli, 2023). Além disso, a ausência de efeito significativo pode estar associada à dose ou ao nível de desafio sanitário enfrentado pelas aves, fatores conhecidos por influenciar a eficácia de probióticos em frangos de corte (Rodrigues et al., 2020; Soumeh et al., 2021; Hussain et al., 2024). Assim, embora o antibiótico tenha se destacado como a estratégia mais eficaz na modulação fisiológica avaliada, o probiótico manteve um perfil neutro, ou intermediário, o que não anula seu potencial como alternativa em sistemas de produção que buscam reduzir o uso de antimicrobianos, ainda que com impacto fisiológico mais discreto nas condições experimentais avaliadas.

Esses resultados corroboram com os resultados obtidos no teste de viés de atenção, reforçando que melhorias na saúde intestinal e no equilíbrio fisiológico estão diretamente relacionadas à modulação positiva dos estados afetivos em frangos de corte. No teste, a ansiedade é mensurada a partir do tempo que a ave leva para redirecionar sua atenção do estímulo negativo para o estímulo positivo, onde um período mais prolongado de atenção voltada ao estímulo negativo indica níveis mais elevados de ansiedade, e, conseqüentemente, um estado afetivo mais negativo (Campbell et al., 2019; Anderson et al., 2021a; Lourenço da Silva et al., 2024).

As aves que receberam antibiótico e foram criadas em ambiente de alta complexidade apresentaram a menor latência para iniciar a alimentação, em comparação com aquelas que receberam antibiótico em baixa complexidade e com o grupo controle negativo em alta complexidade. A redução dessa latência indica menor viés atencional direcionado à ameaça e a maior capacidade de

redirecionar o foco rapidamente para o estímulo positivo, refletindo um menor nível de ansiedade e maior percepção da segurança ambiental. Esse padrão comportamental sugere que fatores ambientais podem modular a expressão desses efeitos fisiológicos.

Assim, embora a alta complexidade isoladamente não tenha reduzido a latência, sua associação com um estado fisiológico mais equilibrado (uso de antibiótico) parece ter favorecido uma recuperação comportamental mais eficiente frente à ameaça. Esses achados corroboram com os estudos onde os ambientes mais complexos promovem a modulação positiva dos estados afetivos (Anderson et al., 2021b; Vas et al., 2023; Guinebrerière et al., 2025). Anderson et al. (2021a) observaram que frangos de corte criados em ambientes complexos apresentaram menor viés de atenção à ameaça, maior engajamento em estímulos positivos e maior previsibilidade ambiental, entendida como um ambiente mais estável, com maior controle do animal sobre recursos e menor ocorrência de estímulos imprevisíveis ou aversivos. Lourenço da Silva et al. (2021) também destacaram que ambientes enriquecidos promovem maior capacidade de enfrentamento de desafios ambientais e melhor modulação emocional. Porém, esses efeitos podem ser condicionados pelo estado fisiológico das aves.

Os resultados mostram que os benefícios da complexidade ambiental foram significativos quando associados ao suporte fisiológico proporcionado pelo antibiótico, uma vez que as aves do controle negativo em ambiente de alta complexidade apresentaram uma das maiores latências para iniciar a alimentação, reforçando que, embora o ambiente enriquecido ofereça estímulos positivos, sua eficácia depende do estado fisiológico das aves. A utilização da cama de reuso pode ter imposto um desafio adicional para as aves, pois foi demonstrado por Gomes et al. (2022), que sistemas de cama reutilizada favorecem o acúmulo de microrganismos patogênicos, aumentando a pressão sanitária sobre as aves. Esse desafio intensifica processos inflamatórios intestinais, que, conforme discutido por Téllez-Isaías et al. (2023), estão associados à ativação crônica de respostas de estresse sistêmico, comprometendo o bem-estar e a expressão comportamental.

Dessa forma, a combinação entre o suporte fisiológico proporcionado pelo aditivo e estímulos ambientais positivos potencializou a percepção de segurança e a adaptação emocional das aves, permitindo que a complexidade ambiental fosse processada de forma mais eficiente. Em condições de menor desafio inflamatório, as aves apresentaram maior capacidade de processamento cognitivo da ameaça, favorecendo o redirecionamento da atenção para a alimentação e a redução da ansiedade. Isso mostra que os efeitos positivos do enriquecimento ambiental são mais relevantes quando o animal se encontra em boas condições de saúde intestinal e fisiológica.

Os resultados referentes a latência para retomar a alimentação após o segundo alarme reforçam os efeitos positivos da complexidade ambiental sobre os estados afetivos das aves. As aves criadas em alta complexidade retornaram mais rapidamente à alimentação, indicando menor manutenção do estado de vigilância prolongada e melhor recuperação após a ameaça. Desta forma, pode-se inferir que ambientes enriquecidos não eliminam a resposta inicial de medo, mas facilitam a recuperação emocional e a transição para comportamentos positivos, reduzindo a duração do estado ansioso. Enquanto o primeiro estímulo induz uma resposta de sobressalto em todos os grupos, apenas indivíduos mais ansiosos tendem a manter estados prolongados de vigilância e inibição comportamental após ameaças subsequentes (Campbell et al., 2019; Anderson et al., 2021a). Assim, o retorno mais rápido à alimentação observado nas aves de alta complexidade indica menor persistência do estado de ansiedade e maior capacidade de processamento da informação de segurança, sem eliminar completamente a resposta de medo inicial.

Além das respostas relacionadas às latências para consumo, o teste de viés de atenção permite avaliar como as aves reagem nos primeiros momentos após a exposição à ameaça. Entre essas respostas, está a latência para a primeira vocalização. Os resultados mostram que aves criadas em ambientes de alta complexidade apresentaram as menores latências, o que, segundo Lourenço da Silva et al. (2024), isoladamente, poderia ser interpretado como maior reatividade imediata ao estímulo ameaçador. Entretanto, quando essa variável é analisada em conjunto com as latências para alimentação, torna-se evidente que a vocalização mais rápida nas aves de alta complexidade não representou maior

ansiedade, já que essas aves apresentaram um retorno mais rápido à alimentação. Assim, a vocalização precoce reflete uma resposta de alerta inicial, seguida por rápida recuperação comportamental e emocional.

Adicionalmente, a maior latência para dar o primeiro passo e maior ocorrência de congelamento após o estímulo ameaçador estão associadas a maior ansiedade, refletindo hesitação, evitação e manutenção da resposta defensiva. O primeiro passo está fortemente associado ao comportamento de congelamento, que indica a reatividade ao medo, de modo que em aves menos ansiosas apresentam tempo de congelamento menor, assim como a latência para primeiro passo (Lourenço da Silva et al., 2024; Ulans et al., 2024). As aves que receberam ambos os tipos de aditivos melhoradores de desempenho apresentaram menores latências para o primeiro passo e menor ocorrência de congelamento, indicando menor reatividade emocional e maior capacidade de interromper rapidamente a resposta defensiva inicial. Esses resultados complementam que as melhorias fisiológicas associadas à estabilidade intestinal contribuem para estados afetivos mais positivos.

Além das latências, o teste de viés de atenção permite avaliar respostas iniciais de vigilância nos primeiros segundos após a ameaça. Lourenço da Silva et al. (2024), em um estudo farmacológico, demonstraram que essas respostas iniciais refletem principalmente medo e alerta imediato, não sendo indicadores diretos de ansiedade crônica. No presente estudo, a maior ocorrência de olhar ao redor e postura ereta em aves que receberam os aditivos e foram mantidas em ambiente de alta complexidade esteve associada a respostas comportamentais mais rápidas, como menor latência para locomoção e retomada da alimentação, sugerindo uma vigilância funcional, caracterizada pela avaliação do ambiente sem uma inibição comportamental prolongada. Em contraste, a menor expressão desses comportamentos associada a latências mais elevadas, observada principalmente no controle negativo, indica respostas menos adaptativas, compatíveis com maior estado afetivo negativo.

Os resultados indicam que a modulação da ansiedade em frangos de corte está associada à interação entre condições fisiológicas e características ambientais externas. O antibiótico promoveu maior equilíbrio fisiológico,

evidenciado pelo aumento da serotonina sérica, o que potencializou os efeitos da alta complexidade ambiental sobre respostas comportamentais mais adaptativas no teste de viés de atenção. A complexidade ambiental atuou principalmente na facilitação da recuperação emocional e na redução da persistência do estado ansioso, sendo mais eficaz quando as aves apresentavam melhores condições fisiológicas, enquanto o probiótico apresentou um perfil intermediário nas condições avaliadas.

CONCLUSÕES

A modulação do medo e da ansiedade em frangos de corte não ocorre de forma uniforme e não pode ser plenamente compreendida a partir de um único indicador. Enquanto respostas defensivas inatas, como a imobilidade tônica, mostraram-se pouco sensíveis às intervenções avaliadas nas condições do estudo, no entanto, processos emocionais mais complexos, como a ansiedade, foram melhor captados por medidas cognitivas. A ansiedade, por sua vez, foi modulada pela interação entre estado fisiológico e ambiente. O antibiótico promoveu maior equilíbrio fisiológico, evidenciado pelo aumento da serotonina sérica, potencializando os efeitos da alta complexidade ambiental sobre respostas comportamentais no teste de viés de atenção, resultando em respostas mais adaptativas frente a estímulos ameaçadores. O probiótico apresentou efeito mais discreto, mantendo um perfil intermediário nas condições avaliadas.

Assim, o estudo reforça que a avaliação do bem-estar emocional em frangos de corte requer a combinação entre indicadores fisiológicos, comportamentais e cognitivos. Estratégias voltadas à substituição de antibióticos devem ir além do desempenho produtivo e, também considerar os impactos sobre os estados afetivos das aves, especialmente em interação com o ambiente de criação. Estudos futuros devem explorar diferentes fases de desenvolvimento e estratégias de enriquecimento biologicamente mais relevantes, além de explorar metodologias mais específicas relacionadas ao eixo intestino–cérebro, para aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos na modulação do medo e da ansiedade.

REFERÊNCIAS

AHMED-FARID, O. A. et al. Effects of Chronic Thermal Stress on Performance, Energy Metabolism, Antioxidant Activity, Brain Serotonin, and Blood Biochemical Indices of Broiler Chickens. *Animals*, v. 11, n. 9, p. 2554, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11092554>.

ANDERSON, M. G. et al. Effect of Environmental Complexity and Stocking Density on Fear and Anxiety in Broiler Chickens. *Animals*, v. 11, n. 8, p. 2383, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11082383>.

ANDERSON, M. G. et al. Environmental complexity positively impacts affective states of broiler chickens. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 16966, 2021b. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95280-4>.

ANDERSON, M. G. et al. Influence of Perch-Provision Timing on Anxiety and Fearfulness in Laying Hens. *Animals*, v. 13, n. 19, p. 3003, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani13193003>.

BRAKE, J.; KEELEY, T. P.; JONES, R. B. Effect of Age and Presence of Perches During Rearing on Tonic Immobility Fear Reactions of Broiler Breeder Pullets. *Poultry Science*, v. 73, n. 10, p. 1470-1474, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.0731470>.

CAMPBELL, D. L. M. et al. An attention bias test to assess anxiety states in laying hens. *PeerJ*, v. 7, p. e7303, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.7303>.

DE AZEVEDO, C. S. et al. Review of the Effects of Enclosure Complexity and Design on the Behaviour and Physiology of Zoo Animals. *Animals*, v. 13, n. 8, p. 1277, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani13081277>.

DICKS, L. M. T. Gut Bacteria and Neurotransmitters. *Microorganisms*, v. 10, n. 9, p. 1838, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091838>.

DUPJAN, S.; DAWKINS, M. S. Animal Welfare and Resistance to Disease: Interaction of Affective States and the Immune System. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 9, p. 929805, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.929805>.

EL-HACK, M. E. A. et al. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 104, n. 6, p. 1835-1850, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>.

ELSAYED, R. A. et al. Effects of different types of environmental enrichment on behaviour, performance, welfare, carcass characteristics and lipid profile of broiler chickens. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, v. 25, n. 1, p. 7-15, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.35975/mvmj.v25i1.1245>.

EVANS, C. S.; EVANS, L.; MARLER, P. On the meaning of alarm calls: functional reference in an avian vocal system. *Animal Behaviour*, v. 46, n. 1, p. 23-38, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/anbe.1993.1158>.

FASINA, Y. O. et al. Comparative efficacy of spray-dried plasma and bacitracin methylene disalicylate in reducing cecal colonization by *Salmonella Enteritidis* in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 100, n. 11, p. 101431, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101431>.

FORSLIND, S. et al. Dark brooders during rearing affect fearfulness but not production parameters of broiler chickens. *Poultry Science*, v. 104, n. 1, p. 105682, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.105682>.

GAO, P. et al. Feed-additive probiotics accelerate yet antibiotics delay intestinal microbiota maturation in broiler chicken. *Microbiome*, v. 5, n. 1, p. 91, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0315-1>.

GOMES, B. et al. Microbial Contamination of Bedding Material: One Health in Poultry Production. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 24, p. 16508, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph192416508>.

GUINEBRETIERE, M. et al. Structuring and enriching the rearing environment in conventional broiler chicken production: effects on behavioral indicators, emotional states, and cecal microbiota composition. *Poultry Science*, v. 104, n. 1, p. 105663, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.105663>.

GUZEL, T.; MIROWSKA-GUZEL, D. The Role of Serotonin Neurotransmission in Gastrointestinal Tract and Pharmacotherapy. *Molecules*, v. 27, n. 5, p. 1680, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27051680>.

HERR, N.; BODE, C.; DUERSCHMIED, D. The Effects of Serotonin in Immune Cells. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, v. 4, p. 48, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00048>.

HUANG, F.; WU, X. Brain Neurotransmitter Modulation by Gut Microbiota in Anxiety and Depression. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 9, p. 649103, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.649103>.

HUSSAIN, M. et al. Positive impact of early-probiotic administration on performance parameters, intestinal health and microbiota populations in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 103, n. 1, p. 103215, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103215>.

JACOBS, L. et al. Enhancing their quality of life: environmental enrichment for poultry. *Poultry Science*, v. 102, n. 10, p. 102943, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102943>.

JONES, L. A. et al. The ever-changing roles of serotonin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 125, p. 105776, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105776>.

KANOVA, M.; KOHOUT, P. Serotonin—Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 9, p. 4837, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22094837>.

KOOPMAN, N. et al. The Multifaceted Role of Serotonin in Intestinal Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 17, p. 9487, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22179487>.

LOURENÇO DA SILVA, M. I. et al. Behaviour and animal welfare indicators of broiler chickens housed in an enriched environment. *PLOS ONE*, v. 16, n. 9, p. e0256963, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256963>.

LOURENÇO DA SILVA, M. I.; ULANS, A.; JACOBS, L. Pharmacological validation of an attention bias test for conventional broiler chickens. *PLOS ONE*, v. 19, n. 4, p. e0297715, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297715>.

MEYER, M. M.; JOHNSON, A. K.; BOBECK, E. A. Increased duration of laser environmental enrichment increased broiler physical activity and pen-wide movement without altering tibia measurements. *Poultry Science*, v. 102, n. 5, p. 102602, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102602>.

MOHAMMED, A. et al. Effect of a Synbiotic Supplement on Fear Response and Memory Assessment of Broiler Chickens Subjected to Heat Stress. *Animals*, v. 11, n. 2, p. 427, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11020427>.

NEETHIRAJAN, S. Affective State Recognition in Livestock—Artificial Intelligence Approaches. *Animals*, v. 12, n. 6, p. 759, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12060759>.

NELSON, J. R. et al. Effects of supplementing yeast fermentate in the feed or drinking water on stress susceptibility, plasma chemistry, cytokine levels, antioxidant status, and stress- and immune-related gene expression of broiler chickens. *Poultry Science*, v. 99, n. 12, p. 6571-6582, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.043>.

NIELSEN, S. S. et al. Welfare of broilers on farm. *EFSA Journal*, v. 21, n. 2, p. e07788, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7788>.

O'MAHONY, S. M. et al. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, v. 277, p. 32-48, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.027>.

PAUL, S. S. et al. Effects of Dietary Antimicrobial Growth Promoters on Performance Parameters and Abundance and Diversity of Broiler Chicken Gut Microbiome and Selection of Antibiotic Resistance Genes. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 905050, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.905050>.

PLAZA-DIAZ, J. et al. Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances in Nutrition*, v. 10, n. suppl_1, p. S49-S66, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>.

RIBER, A. B. et al. Review of environmental enrichment for broiler chickens. *Poultry Science*, v. 97, n. 2, p. 378-396, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps/pex344>.

RODRIGUES, D. R. et al. Comparative effectiveness of probiotic-based formulations on cecal microbiota modulation in broilers. *PLOS ONE*, v. 15, n. 5, p. e0225871, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225871>.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017. 488 p.

SAKAMOTO, K. S. et al. The challenges of animal welfare in modern Brazilian poultry farming. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, v. 8, n. 2, p. 131-135, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.31893/jabb.20018>.

SCHIAVONE, A.; CASTILLO, A. Incorporating whole insect larvae into poultry diets: state of the art and future perspectives. *Italian Journal of Animal Science*, v. 23, n. 1, p. 1-14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2023.2283083>.

SOUMEH, E. A. et al. The Efficiency of Probiotics Administrated via Different Routes and Doses in Enhancing Production Performance, Meat Quality, Gut Morphology, and Microbial Profile of Broiler Chickens. *Animals*, v. 11, n. 12, p. 3607, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11123607>.

SOZCU, A.; IPEK, A.; GUNNARSSON, S. Differences between behavioral time budget and welfare indicators in two different slow-growing broiler genotypes kept in the free-range system. *Veterinary Research Communications*, v. 49, n. 1, p. 239, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11259-025-10814-9>.

TAHAMTANI, F. M. et al. Effects of environmental complexity on fearfulness and learning ability in fast growing broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 207, p. 49-56, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.07.001>.

TAYLOR, P. S.; HEMSWORTH, P. H.; RAULT, J. L. Environmental Complexity: Additional Human Visual Contact Reduced Meat Chickens' Fear of Humans and Physical Items Altered Pecking Behavior. *Animals*, v. 12, n. 3, p. 310, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12030310>.

TÉLLEZ-ISAÍAS, G. et al. Effects of chronic stress and intestinal inflammation on commercial poultry health and performance: A review. *German Journal of Veterinary Research*, v. 3, n. 2, p. 1-18, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.51585/gjvr.2023.2.0053>.

TIEMANN, I. et al. Differences among domestic chicken breeds in tonic immobility responses as a measure of fearfulness. *PeerJ*, v. 11, p. e14703, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.14703>.

ULANS, A.; BROOKS, G. C.; JACOBS, L. Environmental complexity impacts anxiety in broiler chickens depending on genetic strain and body weight. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 17535, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67965-z>.

VAS, J. et al. Better welfare for broiler chickens given more types of environmental enrichments and more space to enjoy them. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 261, p. 105901, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2023.105901>.

YILDIRIM, M.; TASKIN, A. The effects of Environmental Enrichment on Some Physiological and Behavioral Parameters of Broiler Chicks. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v. 19, n. 2, p. 355-362, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0402>.

YOSI, F.; METZLER-ZEBELI, B. U. Dietary Probiotics Modulate Gut Barrier and Immune-Related Gene Expression and Histomorphology in Broiler Chickens under Non- and Pathogen-Challenged Conditions: A Meta-Analysis. *Animals*, v. 13, n. 12, p. 1970, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani13121970>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diferencial desta pesquisa está em expandir o escopo dos aditivos melhoradores de desempenho, retirando-os de uma análise limitada a ganhos produtivos e integrando-os à modulação dos estados afetivos e da cognição animal, demonstrando sua importância na saúde emocional das aves. Os resultados indicam, pela primeira vez, que existe uma interdependência entre a estabilidade fisiológica promovida por aditivos e a eficácia das intervenções ambientais. Assim, o desempenho emocional das aves passa a ser compreendido como resultado da interação entre condições internas e externas, e não como efeito exclusivo de uma única estratégia de manejo.

Enquanto a revisão sistemática apresentada no Capítulo I evidenciou que a literatura ainda se caracteriza por uma grande heterogeneidade metodológica e por um foco predominante na avaliação do medo agudo, sobretudo por meio da imobilidade tônica, o estudo experimental descrito no Capítulo II reforçou o papel

do teste de viés de atenção como uma abordagem mais sensível e alinhada à avaliação da ansiedade. Esse teste mostrou-se particularmente mais sensível para captar alterações no estado emocional das aves, permitindo identificar que a ansiedade é um estado maleável, sensível tanto ao suporte fisiológico fornecido pelo trato gastrointestinal quanto à complexidade estrutural do ambiente de criação.

Os resultados obtidos indicam que a eficácia das estratégias de bem-estar depende da interação entre múltiplos níveis de organização biológica. Observou-se que a complexidade ambiental, quando aplicada de forma isolada, não constitui uma solução geral, uma vez que os animais são biodinâmicos. A elevada latência para o consumo de alimento apresentada por aves do grupo controle, mesmo em ambiente complexo, sugere que indivíduos sob maior desafio sanitário ou fisiológico podem não dispor de recursos metabólicos ou cognitivos suficientes para processar completamente os benefícios do enriquecimento ambiental. Assim, ambientes enriquecidos exigem um animal com a saúde minimamente estável para que seus efeitos positivos se manifestem de forma efetiva.

Outro ponto relevante foi a análise da serotonina sérica como um indicador fisiológico, evidenciando como a integridade intestinal reflete diretamente na regulação dos estados afetivos das aves. A elevação desse biomarcador no grupo tratado com antibiótico sugere que a redução da inflamação subclínica intestinal pode diminuir o estado de alerta fisiológico associado ao estresse crônico, favorecendo um processamento mais eficiente das informações ambientais. Nesse contexto, o antibiótico não representou uma solução única para os estados de ansiedade ou medo, mas favoreceu condições de saúde mais equilibradas, o que permitiu às aves perceberem o ambiente complexo como mais previsível e seguro, resultando em respostas emocionais mais adaptativas.

Dessa forma, os achados desta pesquisa contribuem para ampliar a compreensão sobre a integração entre nutrição e estados afetivos na produção animal, apontando para uma linha ainda pouco explorada. Em analogia ao conceito de *comfort food* para humanos, no qual a alimentação pode ultrapassar o valor nutricional ao promover conforto emocional e redução do estresse, os resultados sugerem que intervenções nutricionais em animais podem modular condições fisiológicas que influenciam a forma como estímulos ambientais são percebidos e processados. Nesse sentido, a associação entre aditivos e maior

complexidade ambiental pode atuar de maneira complementar, criando condições fisiológicas e comportamentais mais favoráveis para a adaptação ao ambiente e para a modulação de estados afetivos negativos em frangos de corte.

Adicionalmente, os resultados levantam a necessidade de uma avaliação crítica do uso da imobilidade tônica como principal medida de medo, sobretudo em linhagens de crescimento rápido. A ausência de diferenças significativas nesse teste aos 39 dias de idade sugere que fatores como peso corporal elevado podem mascarar a resposta emocional. Esses achados indicam que testes baseados exclusivamente em respostas reflexas podem apresentar sensibilidade limitada, reforçando a importância de priorizar abordagens que envolvam tomada de decisão e processamento cognitivo.

Além disso, reconhece-se que a inclusão de análises diretas da microbiota e de marcadores intestinais teria ampliado e fortalecido a compreensão dos mecanismos associados aos efeitos intermediários observados no grupo tratado com probiótico e o destaque do antibiótico. Entender quais populações bacterianas foram moduladas ajudaria a explicar por que o probiótico não atingiu os picos de serotonina observados com o antibiótico, como era esperado. Além disso, a avaliação dos estados afetivos em diferentes idades ao longo do ciclo produtivo permitiria compreender como o aumento progressivo do peso corporal influencia a interação das aves com o enriquecimento ambiental e, possivelmente, revelaria efeitos sobre a avaliação de medo.

Estudos futuros podem aprofundar a investigação sobre o papel de probióticos específicos na modulação da fisiologia intestinal e de vias associadas ao eixo intestino–cérebro, avaliando seus efeitos sobre a adaptação e o comportamento das aves. Além disso, o desenvolvimento de itens de enriquecimento ambiental adaptados às limitações locomotoras de frangos de corte em idades avançadas representa uma etapa importante para assegurar que os benefícios comportamentais e emocionais dessas intervenções sejam efetivamente acessíveis ao longo das fases de criação.

Por fim, conclui-se que a modulação do medo e, sobretudo, da ansiedade em frangos de corte não pode ser compreendida de maneira isolada, exigindo uma abordagem integrada entre ambiente, fisiologia e cognição. Os resultados reforçam que estratégias de manejo voltadas ao bem-estar devem considerar simultaneamente o estado interno do animal e a qualidade funcional do ambiente

de criação. Nesse sentido, confirma-se que o ambiente importa, mas a capacidade da ave de “sentir-se bem” e, conseqüentemente, se beneficiar dele depende diretamente de um trato gastrointestinal equilibrado, que permita responder positivamente aos estímulos disponíveis. Assim, as estratégias de manejo devem buscar avançar para além da produtividade, considerando o equilíbrio fisiológico, ambiental, cognitivo e nutricional.