



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

CAMILA KATARYNE DE FREITAS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO CRÍTICA DAS PRINCIPAIS METODOLOGIAS DE ANÁLISE
DO BEM-ESTAR DE ANIMAIS SILVESTRES UTILIZADAS NA LITERATURA
CIENTÍFICA BRASILEIRA**

SALVADOR

2016

CAMILA KATARYNE DE FREITAS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO CRÍTICA DAS PRINCIPAIS METODOLOGIAS DE ANÁLISE DO
BEM-ESTAR DE ANIMAIS SILVESTRES USADAS NA LITERATURA
CIENTÍFICA BRASILEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Zootecnista.

Orientador: Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro

Salvador
Semestre 1/2016

CAMILA KATARYNE DE FREITAS OLIVEIRA

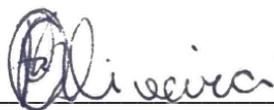
**AVALIAÇÃO CRÍTICA DAS PRINCIPAIS METODOLOGIAS DE ANÁLISE DO
BEM-ESTAR DE ANIMAIS SILVESTRES USADAS NA LITERATURA
CIENTÍFICA BRASILEIRA**

DECLARAÇÃO DE ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Declaro, para todos os devidos fins de direito e que se fizerem necessários, que isento completamente a Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, a coordenação da disciplina MEVA99 - Trabalho de Conclusão de Curso e os professores indicados para compor o ato de defesa, de toda e qualquer responsabilidade, pelo conteúdo e ideias expressas no presente trabalho de Conclusão de Curso.

Estou ciente de que poderei responder administrativa, civil e criminalmente em caso de plágio comprovado.

Salvador, 19 de novembro de 2015



Camila Kataryne de Freitas Oliveira

TERMO DE APROVAÇÃO

CAMILA KATARYNE DE FREITAS OLIVEIRA

AVALIAÇÃO CRÍTICA DAS PRINCIPAIS
METODOLOGIAS DE ANÁLISE DO BEM-ESTAR DE
ANIMAIS SILVESTRES USADAS NA LITERATURA
CIENTÍFICA BRASILEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como
requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em
Zootecnia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia,
Universidade Federal da Bahia.
Aprovado em 11/10/2016

Banca Examinadora:


Dr. Cláudio Vaz Di Mambro Ribeiro


Dra. Chiara Albano de Araújo Oliveira


Dr. Robson José Freitas Oliveira

AGRADECIMENTOS

Como não podia ser diferente, antes de mais nada, quero agradecer a Deus por ter me dado toda a força e resignação necessária para chegar até o fim.

A minha mãezinha por passar madrugadas em claro comigo para mostrar que estava tudo bem, que juntas conseguiríamos. Ao meu pai, meu exemplo, por sempre fazer o impossível por mim. Agradeço por todo o apoio, amor e incentivo não só nesse momento mas em toda a vida. Tudo isso é e sempre será por vocês e para vocês.

A minha irmã Jessica e ao meu afilhado Thiago que mesmo longe sei que estão sempre na torcida por mim.

Ao meu namorado Alexandre, por todo o amor, compreensão e paciência

Minha eterna gratidão ao meu orientador Claudio Vaz o qual tenho grande admiração. Agradeço pelo apoio, pela disponibilidade, paciência e pela grande ajuda em todos esses anos de orientação

Aos amigos companheiros dessa jornada, Sara, Tayana, Jandrei, Mauricio, Adriele. Obrigada por terem compartilhado esses cinco anos comigo, eles não teriam sido o mesmo sem vocês. Ao colega Esau pela generosidade e por todo o auxílio dado nesse trabalho.

Quero agradecer em especial a minha amiga Tais, que com o seu coração enorme, com toda boa vontade e paciência me estendeu a mão tantas vezes que precisei fazendo por mim o que pouco fariam.

As minhas amigas-irmãs Lua, Juliana e Leila agradeço pelo apoio, por me tranquilizaram e por estarem sempre ao meu lado nesse projeto e em tantos outros.

A todos, o meu muito obrigada!

Oliveira, Camila Kataryne de Freitas. **Avaliação crítica das principais metodologias de análise do bem-estar de animais silvestres usadas na literatura científica brasileira.** Salvador, Bahia, 2016. 44p. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2016.

RESUMO

Atualmente a tocante “bem-estar” tem sido frequentemente levantada no que diz respeito ao manejo de animais, sejam eles para produção ou conservação. Encontrar uma forma efetiva de mensurar o bem-estar de animais cativos configura-se com um grande desafio e, para isso, tem-se feito o uso dos estudos comportamentais, através, principalmente, da avaliação dos comportamentos estereotipados, e das avaliações fisiológicas, através da mensuração glicocorticoide cortisol. Portanto, objetivou-se avaliar criticamente as principais metodologias de análise do bem-estar em animais silvestres usadas na literatura científica brasileira. Dentro do estudo comportamental, a avaliação dos comportamentos estereotipados é largamente utilizada como indicadores de bem-estar, porém há grande divergência nos resultados dos trabalhos que utilizam as estereotipias como parâmetro. Já os trabalhos que analisam os comportamentos como um conjunto avaliando a sua complexidade parecem ter mais consistência. Apesar dos seus resultados apresentarem grande divergência, as análises das de cortisol demonstra ser um bom indicador de bem-estar. Os indicadores comportamento e cortisol devem ser usados concomitantemente para gerar resultados mais consolidados. As técnicas de enriquecimento ambiental demonstram ser uma boa alternativa para a promoção do bem estar, pois através da sua aplicação os animais apresentam aumento no repertório comportamental e diminuição dos comportamentos estereotipados.

Palavras-Chaves: 1.Comportamento. 2.Estereotipia. 3.Enriquecimento ambiental.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros indicadores de Bem-Estar animal	12
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Resposta neuroendócrina ao estresse: Liberação do cortisol	15
Figura 2 - Formulário de etograma do projeto de extensão bichos vivos: adequado para felinos de cativeiro.	18

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1. Bem-estar	11
2.2. Estresse	13
2.3. Metodologias utilizadas na avaliação do bem-estar	14
2.3.1. Análise de cortisol	14
2.3.2. Estudos etológicos.....	16
2.3.2.1. Comportamentos estereotipados	20
2.4. Enriquecimento ambiental.....	21
3. CRÍTICAS.....	23
3.1. Limitações do comportamento como indicador de bem-estar	23
3.1.1. Influência do sexo	24
3.1.2. Influencia cronológica ou de estação.....	24
3.1.3. Outros.....	25
3.2. Limitações uso do cortisol como indicador de bem-estar	28
3.3. Limitações da utilização das técnicas de Enriquecimento Ambiental como alternativas para a promoção do bem-estar	33
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o “bem-estar” tem sido frequentemente levantada no que diz respeito ao manejo de animais silvestres e domésticos (destinados a produção ou não), onde cada vez mais há uma preocupação em relação à saúde física e mental dos animais, diretamente relacionada com a manutenção do bem-estar dos mesmos. Atualmente diversas ações envolvendo códigos morais e éticos tem demonstrado a importância do bem-estar animal no cenário nacional e mundial.

A Organização Mundial da Saúde Animal (OIE), define o termo como sendo o modo em que um animal enfrenta o meio em que se encontra. O conceito de bem-estar foi desenvolvido do ponto de vista científico rapidamente durante os últimos quinze anos (BROOM; FRASER, 2010). Começou a ser levantado em 1965, com a publicação do Relatório Brambell na Grã-Bretanha com o conceito das “cinco liberdades”, o qual descreve o que seriam as necessidades de bem-estar primárias de um animal: livre de fome e de sede, livre de desconforto, livre de dor, ferimentos e doença, liberdade de expressar comportamento normal, livre de stress, medo e ansiedade (BRAMBELL, 1965).

A OIE estabelece, no artigo 7.2.1. do Código Sanitário para os Animais, os princípios básicos em que o bem-estar dos animais se fundamenta, e alguns desses incluem: que exista uma relação entre a sanidade e o bem-estar, que as cinco liberdades devam regir o bem-estar e que a utilização de animais envolva vertentes éticas para garantir a manutenção do seu bem-estar (OIE, 2016).

A situação tediosa causada pelos ambientes cativos pode afetar o bem-estar dos indivíduos (PEREIRA et al., 2009), e por isso existe uma preocupação dos zoológicos em garantir o bem-estar dos animais, mantendo assim, a sanidade física e mental dos mesmos. Pesquisas tem sido feita no intuito de avaliar o bem-estar dos animais. As metodologias para este fim, mais comumente utilizadas, envolvem a mensuração do cortisol (sanguíneo, fecal e salivar) e o estudo do comportamento (etologia). Técnicas para melhorar as condições de bem-estar dos animais cativos, como uso de enriquecimento ambiental, também tem sido amplamente estudadas.

Entretanto, na mensuração do bem-estar encontram-se grandes divergência nos resultados, falta de padronização nas metodologias como, por exemplo, o número de animais experimentais utilizados (PIZZUTTO et al., 2013) e o tempo de coleta de dados (BROOM; FRASER, 2010). Sendo assim, por meio deste documento objetivou-se avaliar criticamente as

principais metodologias de avaliação do bem-estar de animais silvestres, usadas na literatura científica brasileira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Bem-estar

Segundo Webster (2001), bem-estar pode ser definido como a capacidade que o animal detém de evitar o sofrimento e manter a sua performance. O bem-estar pode ser definido ainda como sendo o estado de um indivíduo em relação a suas tentativas de se adaptar ao meio em que se encontra, é uma característica inerente ao animal (BROOM, 1986), e varia entre um grau auto ou baixo (BROOM; FRASER, 2010). Segundo Broom (2011) é um conceito científico que descreve qualidade de vida potencialmente mensurável de um ser vivo em determinado momento, e seu estudo científico está amplamente separada da questão ética. O bem-estar é claramente afetado pela dificuldade ou incapacidade que o animal tem de lidar com uma situação, (BROOM, 1991), em resposta a essa incapacidade, o animal pode utilizar uma série de mecanismos fisiológicos permitindo que o mesmo mantenha sua estabilidade mental e corporal (BROOM, 1991).

Algumas situações podem provocar efeitos sobre o bem-estar animal, como as circunstâncias provenientes de doença, traumatismos, fome, estimulação benéfica, interações sociais, condições de alojamento, tratamento inadequado, manejo, transporte, procedimentos laboratoriais, mutilações variadas e tratamento veterinário (BROOM; MOLENTO, 2004).

É necessário identificar e quantificar os indicadores de bem-estar para que se possa avaliar as condições de bem-estar dos animais. Broom (1991), cita alguns exemplos de indicadores de bem-estar, dentre eles estão a ocorrência ou não da reprodução, danos corporais evidentes (como ossos quebrados e arranhões) e o nível de enfermidade (animais enfermos tem sempre bem-estar mais afetado que os não enfermos). Outras medidas são a debilitação do sistema imunológico, parâmetros fisiológicos como o aumento da frequência cardíaca, alterações hormonais e o comportamento, sendo o comportamento uma resposta regulatória mais emergencial. Ainda segundo o autor, é essencial que seja usada uma variedade de indicadores de bem-estar para uma avaliação mais adequada.

Tabela 1 - Parâmetros Indicadores de Bem-Estar animal

Demonstração de uma variedade de comportamentos normais
Grau em que comportamentos preferidos podem ser apresentados
Indicadores fisiológicos de prazer
Indicadores hormonais
Indicadores comportamentais de prazer
Expectativa de vida reduzida
Crescimento ou reprodução reduzidos
Danos corporais
Doença
Imunossupressão
Tentativas fisiológicas de adaptação
Tentativas comportamentais de adaptação
Estereotípias comportamentais
Auto-narcotização
Grau de aversão comportamental
Grau de supressão de comportamento normal
Grau de prevenção de processos fisiológicos normais e de desenvolvimento anatômico

Fonte: Adaptado de (BROOM; JOHNSON, 1993). Apud (BROOM; MOLENTO, 2004)

O ambiente em que o animal vive é tido como apropriado se permitir a esse a satisfação das suas necessidades (BROOM; FRASER, 2010). O cativeiro é uma situação limite de impõem desafios às necessidades dos animais selvagens (CASTRO, 2009). Ambientes cativos diferem dos ambientes naturais de maneira significativa, principalmente no que diz respeito ao pouco dinamismo, e a maior previsibilidade encontrada nos cativeiros, além disso, diferem em termos de estrutura física, condições ambiente e quantidade e disponibilidade alimentar, esses fatores tornam o ambiente cativo pouco estimulante para o animal (PIZZUTTO et al., 2013). É devido a essa baixa complexidade que o ambiente cativo apresenta em comparação aos ambientes naturais que nos animais cativos tem o bem-estar mais afetado em relação aos animais de vida livre (BROOM, 1991). Através de análises concomitantes envolvendo parâmetros fisiológicos e comportamentais, percebe-se que animais cativos podem apresentar estresse em decorrência

do dos problemas gerados pelo ambiente, esse estresse poderá ser refletido por altos níveis de cortisol e comportamentos estereotipados (CASTRO, 2009). Encontrar uma forma efetiva de mensurar o bem-estar de animais cativos configura-se com um grande desafio para animais cativos, e para isso, tem-se feito o uso de avaliações fisiológicas, através da mensuração do glicocorticoide cortisol, e de estudos comportamentais (PIZZUTO, 2013).

2.2. Estresse

As situações estressoras estão diretamente relacionadas como o comprometimento do bem-estar animal. O estresse pode ser definido como um estímulo pontual, agressivo ou não, que é percebido como fator ameaçador à homeostasia dos animais (FABRICE et al., 2010). O estresse pode ser definido ainda, como a incapacidade do indivíduo de solucionar determinado problema, causando uma série de respostas fisiológicas e comportamentais como tentativa de reestabelecer o bem-estar (BROOM; MOLENTO, 2004). Um conjunto de reações são ativadas pelo estresse, isso implica em respostas comportamentais e fisiológicas (neurais, metabólicas e neuroendócrinas) (FABRICE et al., 2010). Reações fisiológicas como o aumento da frequência cardíaca, respiratória, inibição da digestão, do crescimento e da reprodução estão associadas a situações estressantes enfrentadas pelos animais (BROOM, 1986), e contribuem para a disponibilização ou armazenamento de metabolitos (principalmente a glicose) que tem função de produzir energia para o organismo (GUYTON, 2012).

Uma vez exposto a uma situação estressora, a análise do estresse, pelo organismo, acontece em três fases: percepção e filtragem das informações, programação da reação ao estresse, e por fim ativação da resposta ao estresse (FABRICE et al., 2010).

Segundo (FABRICE et al., 2010), a resposta adaptativa ao estresse pode ocorrer em 3 fases: 1) corresponde à fase de alerta, onde, mediante o estresse o hipotálamo estimula a glândula supra renal (zona medular) para secreção do hormônio adrenalina através de reações catabólicas que disponibilizam energia para o organismo; 2) corresponde à fase de defesa, mediante a persistência do estresse, na qual a supra renal (zona fasciculada) irá secretar o glicocorticoide cortisol que irá promover a manutenção dos níveis de glicose para “nutrir” tecido e órgãos, e enquanto a adrenalina fornece energia para reações rápidas, o cortisol assegura a renovação das reservas energéticas; e 3) corresponde à fase de esgotamento e ocorre quando não cessada a situação estressora. Nessa fase, as alterações hormonais são crônicas e os hormônios circulantes são menos eficazes, os níveis desses se mantem elevados na corrente sanguínea, nessa situação a saúde dos animais é afetada.

A resposta ao estresse é dependente de como o indivíduo filtra e avalia a situação estressora (MARGIS et al., 2003), podendo a partir disso desenvolver respostas comportamentais e/ou fisiológicas.

2.3. Metodologias utilizadas na avaliação do bem-estar

O bem-estar animal pode ser avaliado a partir da utilização de metodologias específicas. A reação à situação estressora a qual o animal é exposto pode ser bastante variável e depende das características do meio, da espécie, também podendo variar entre indivíduos da mesma espécie (SILVA, 2011). Essa reação à circunstância estressora pode ser refletida em uma resposta fisiológica ou comportamental (MARGIS et al., 2003). Em um levantamento bibliográfico, pôde-se observar que as mais usuais são as análises de parâmetros fisiológicos e os estudos etológicos.

Na avaliação dos parâmetros fisiológicos, a análise dos níveis de cortisol é a mais usual, sendo considerada representativa na avaliação do bem-estar animal. Estudos etológicos relacionados a avaliação dos comportamentos estereotipados são largamente realizados para avaliação do bem-estar animal. Essas avaliações diferem entre os estudos abordados na literatura quanto: às variáveis a serem analisadas, a espécie, ao número experimental e ao método, não existindo uma padronização que confere maior confiabilidade aos resultados.

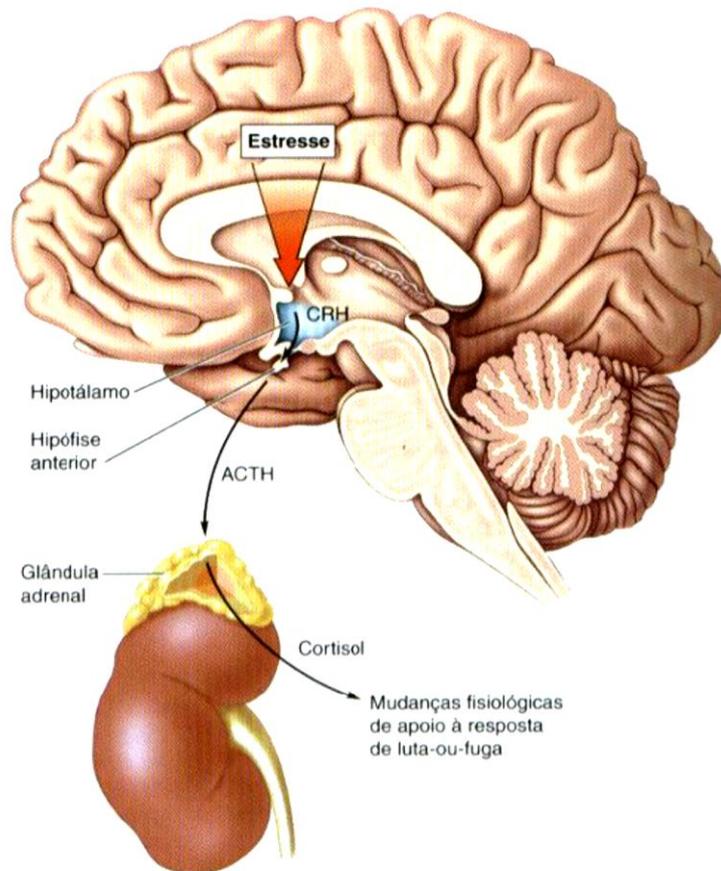
Para se proporcionar o bem-estar, técnicas de enriquecimento ambiental são utilizadas, pois buscam melhor adaptação dos animais, favorecendo que esses consigam exibir comportamentos típicos da espécie quando em ambiente natural que é uma condição ideal para a manutenção de animais em cativeiro (ALMEIDA; MARGARIDO; MONTEIRO FILHO, 2008).

2.3.1. Análise de cortisol

O cortisol é um dos principais hormônios associados a situações estressoras. Análises que quantificam as concentrações séricas de cortisol são utilizadas com frequência na avaliação das condições de estresse de animais domésticos, silvestres e exóticos. Assim como os demais hormônios glicocorticoides, o cortisol é metabolizado no fígado, porém o mesmo é sintetizado na zona fasciculada do córtex adrenal através do colesterol e de hormônios esteroides (GUYTON, 2012). Diante de um estímulo estressante, o hipotálamo libera o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a secreção do hormônio adenocorticotrófico

(ACTH) pela adenohipófise, que por sua vez se liga à camada média externa do córtex da supra-renal (Figura 1) induzindo o aumento da síntese de cortisol (GURTLER; KOLB, 1987). O eixo hipotálamo-hipofise- corticosuprarenal tem a intensidade e a duração modulados por meio de feedback dos glicocorticoides (FABRICE et al., 2010).

Figura 1 - Resposta neuroendócrina ao estresse: Liberação do cortisol



Fonte: <http://vignette4.wikia.nocookie.net/infomedica/images/e/e9/Glico3.jpg/revision/latest?cb=20101202225605&path-prefix=pt-br>

Os glicocorticoides, como o cortisol, são liberados em um ritmo circadiano; porém, em uma situação de estresse, ocorre uma alteração no ritmo (PIZARRO; TROSTER, 2007). Segundo Guyton (2012), as principais funções dos glicocorticoides são:

a) bloqueio da assimilação de glicose: é sugerido que esse fato ocorra porque os glicocorticoides diminuem a oxidação do NADH a NAD^+ e, como é necessária a oxidação de NADH para que ocorra a glicólise, a mesma diminui pelos músculos e pelo tecido adiposo, para que, nesses tecidos, a queima dos ácidos graxos aumente;

b) aumento da gliconeogênese através do aumento das enzimas necessárias para a conversão de compostos não glicídicos (como os aminoácidos) em glicose, e maior mobilização de aminoácidos do tecido muscular para o plasma e posterior gliconeogênese;

Devido a diminuição da oxidação do NADH e da promoção da gliconeoênese, sob o efeito da elevação da concentração de cortisol, conclui-se que o animal pode ter um aumento da sua glicose plasmática. O cortisol influencia também outros macronutrientes, proteínas e lipídeos; outra ação do cortisol que deve ser levada em consideração é o efeito de imunossupressão sobre o animal.

O cortisol circula na corrente sanguínea conjugado às duas proteínas transportadoras: a transcortina, a principal proteína transportadora de corticóides (CBG); e, em menor quantidade, ligado à albumina, fazendo com que apenas 5-10% do cortisol se encontre livre, ou seja, na fração biologicamente ativa (CASTRO; MOREIRA, 2003). Os autores afirmam ainda que a maior parte dos imunoenaios quantificam a concentração total de cortisol, que corresponde a forma conjugada mais a fração livres, como é o caso da mensuração pelas fezes, enquanto metodologias de dosagem na urina e saliva quantificam apenas o cortisol livre.

Os níveis de corticóide variam nas diferentes espécies animais, sendo, ainda, dependente da idade e sobrecarga desses indivíduos, e o tempo médio no sangue depende da extensão da secreção (GURTLER; KOLB, 1987). É possível encontrar na literatura estudos que avaliam as concentrações de cortisol plasmático (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 1998), fecal (CASTRO, 2009) e salivar (MONTANHA et al., 2009; SILVA, 2011). As duas últimas análises têm como vantagem o fato da sua coleta não causar alterações no comportamento dos indivíduos estudados por não se tratar de uma técnica invasiva (SILVA, 2011), sendo a fecal a mais usual.

Um exemplo que demonstra a eficácia do cortisol como indicador de bem-estar pode ser dado por Broom e Fraser (2010), os autores mensuraram o cortisol através de análise sanguínea de ovelhas durante o embarque e transporte dos animais, os autores relataram que ocorreu um aumento acentuado nos níveis de cortisol devido ao estresse enfrentado pelos animais no processo de embarque, observou-se que o pico teve duração de seis horas, a concentração chegando próximo ao nível basal a medida que os animais foram se adaptando com o ambiente e a situação de serem transportados.

2.3.2. Estudos etológicos

Etologia é uma ciência que estuda o comportamento animal de maneira individual ou conjunta com o objetivo de descobrir o funcionamento de mecanismos fisiológico (BRUSIUS;

OLIVERA; FILHO MACHADO, 2009; BROOM; FRASER, 2010; (GARCIA, 1978).), e a avaliação do comportamento pode ser realizada mediante a análise do etograma dos animais, (Figura 2). O etograma é uma lista de comportamentos ou elementos comportamentais e deve ser clara e precisa, pois é a partir do etograma que será reconhecida a conduta do animal estudado (SOUTO, 2005). Nos estudos etológicos de comportamento anormal, verifica-se grande heterogeneidade em relação ao número de categorias comportamentais incluídas nos etogramas e na forma como estes são descritos (CASTRO, 2010).

Fonte: Adaptado de Silva (2011).

Compreendem as categorias de comportamento: social, territorial, anormal, fisiológico, autocuidado, play, ativo, inativo, e compreende as subcategorias sociais: display, vocalização, sexual, play interativo, agonístico, contato, e observações (Figura 2).

Os métodos de amostragem são metodologias utilizadas para se definir a maneira que os indivíduos avaliados serão observados, para que posteriormente os comportamentos sejam utilizados na formulação e preenchimento dos etogramas. Esses métodos de avaliação são extremamente valiosos, com reflexo direto no momento da análise dos dados (SOUTO, 2005). Os métodos de amostragem são os seguintes (ALTMANN, 1974):

a) Animal Focal: consiste em amostrar o comportamento individual (atividades individuais e sociais) de um único animal durante um período de tempo padronizado;

b) Varredura: como o nome sugere, nesse método são feitas varreduras rápida ou esquadrinha os diversos indivíduos de um grupo, em intervalos de tempos regulares de todo o grupo analisado e nesse período um único comportamento de cada animal é observado;

c) Todas as ocorrências: esse método registra todas as atividades executadas pelo indivíduo, sendo anotado todos os comportamentos que forem pertinentes. Não há intervalo entre os tempos, o pesquisador observa todo o repertório comportamental em determinado momento. É preciso que cada animal esteja visível e seja observado com minúcia. Nesse, é possível avaliar a interação dentro de um grupo. É mais usual quando se observa uma espécie de comportamento ainda pouco estudado.

Ao se escolher uma técnica de amostragem, o observador deve considerar as características de comportamento e interações sociais que são relevantes para a população em estudo e as questões avaliadas na pesquisa. Não existe um método perfeito, e sim aquele que melhor se adequa ao animal ou grupo de animais a serem estudados, nas circunstâncias em que se encontram (SOUTO, 2005).

O que se observa é que há uma diversidade comportamental entre os animais fortemente marcada, e que os indivíduos apresentam reações distintas aos estímulos. Quando comparados, alguns grupos demonstram um repertório comportamental mais amplo e complexo, como é o caso dos primatas; já outros tem um repertório comportamental reduzido, como é o caso dos répteis e, ainda, mesmo indivíduos pertencentes à mesma espécie apresentam respostas comportamentais diversas em relação às mesmas situações e ao mesmo ambiente. Entretanto, ao analisar etologicamente os animais cativos, de forma geral, os mesmo apresentam-se de suas

maneiras indo desde uma aparente situação de apatia, ou realizando sequencias de comportamentos repetidamente e pouco variáveis (Dados não publicados¹)

2.3.2.1. Comportamentos estereotipados

Dentro do estudo etológico, os comportamentos estereotipados ainda são largamente utilizados como indicadores de bem-estar. Dentre os mais de 85 milhões de animais que vivem em cativeiro apresentam algum tipo de estereotipia comportamental (MANSON; LATHAM, 2004) atribui-se a esse fato o enfoque que tem sido dado aos comportamentos estereotipados como indicador de bem-estar. Broom e Fraser (2010) definem estereotipia como uma sequência de movimentos com pouca ou nenhuma variação sem uma função aparente. Para fins de bem-estar, Broom (1983) definiu o comportamento estereotipado como sendo uma sequência invariável de movimentos que ocorrem com tamanha frequência que não poderia ser considerado como fazendo parte de um do sistema funcional normal do animal, como a alimentação, manutenção do corpo, reprodução, etc. Se os comportamentos estereotipados ocupam um tempo relativo a 10% da vida do animal, esta, indica que as condições podem ser ditas como prejudiciais ao bem-estar (BROOM,1983).

As estereotipias podem ser quantitativas ou qualitativas (SHEPHERDSON, 1998 APUD CAPATANI, 2014). A primeira compreende os comportamentos que já são habituais da espécie; porém, realizados de maneira repetitiva (como lambar-se repetidamente e dar voltas no recinto por exemplo). Já as estereotipias qualitativas são aquelas que fogem da gama de comportamento dos animais quando em habitat natural e livre de estresse. Em animais de cativeiro, o comportamento estereotipado mais comumente observado é o “andar para um lado e outro” (*pacing*), como observado nos trabalhos de Rodrigues et al. (2010) e Rodrigues (2014).

Atualmente, o fato de se atribuir a “falta de função aparente” das estereotipias tem sido largamente questionado. Japyassú e Malange (2014), observaram que existem diferentes usos para o termo, onde o primeiro uso corresponde a etologia clássica compreendendo definições como a de Broom (1991), enquanto no segundo a etologia se relaciona com as vertentes do bem-estar e define o comportamento estereotipado como sendo comportamentos invariáveis diante de um contexto variável ou mesmo contexto. Segundo a revisão de Japyassú e Malange (2014), nessa conceituação de estereotipia o fato de considerar tal comportamento como não

¹ OLIVEIRA, C.K.F. Observações e dados da autora não publicados.

tendo função, é apontada como uma inferência possivelmente errônea, se forem consideradas as seguintes hipóteses abaixo:

a) A hiperatividade do movimento pode ser considerada como uma forma do animal lidar com a situação estressora (WIEPKEMA, 1981; DANTZER, 1986).

b) Antes de se afirmar que o comportamento não se tem função, deveriam ser revistas e investigadas as funções de cada comportamento observado para se chegar a essa conclusão (GARRIGUES et al., 1982).

Outro exemplo que corrobora com Japyassú e Malange (2014) é o do comportamento alimentar dos Sagüis (*Callithrix jacchus*). Indivíduos da espécie *Callithrix jacchus* em ambiente natural tem comportamento de gomivoria (fazer furos nos troncos para se alimentar), sendo um comportamento natural e com função estabelecida (alimentar-se) em ambiente natural, porém quando colocados em cativeiro alguns indivíduos podem manter esse hábito passando a morder a plataforma de comida e outros utensílios do cativeiro (CASTRO, 2010). Ou seja, o comportamento tinha uma função e mesmo com a mudança do meio o comportamento foi mantido, e a depender da ótica adotada para definição de estereotipia esse podia ser considerado ou não um comportamento estereotipado.

Há ainda dentro da análise comportamental a metodologia que faz utilização da relação entre estresse e complexidade comportamental. Essa complexidade comportamental estaria atribuída a frequência que o comportamento é exibido, a quantidade de comportamentos exibidos e as conexões entre esses comportamentos (OLIVEIRA, 2014), sendo assim, em animais com maior frequência de comportamentos um maior número de comportamentos com mais conexões entre eles tem maior complexidade comportamental. A situação contrária dessas variáveis aponta baixa complexidade comportamental. Segundo Oliveira (2014), animais com maior complexidade comportamental são indivíduos com bem-estar menos afetado enquanto que aqueles com pouca complexidade se encontrariam mais estressados.

2.4. Enriquecimento ambiental

Como uma alternativa de favorecer o bem-estar de animais cativos podem ser aplicadas técnicas de enriquecimento ambiental. O enriquecimento ambiental (EA) é um conjunto de técnicas que surgiram como uma estratégia de melhorar o bem-estar físico e psicológico dos animais cativos através de modificações físicas ou sociais (BOERE, 2001 APUD PIZZUTTO; SGAI; GUIMARÃES, 2009; YOUNG, 2003), essas técnicas estimulam os animais diminuindo a situação de apatia causada pelo cativeiro (ALMEIDA; MARGARIDO MONTEIRO FILHO,

2008). O EA influencia de maneira positiva sobre o bem-estar físico, mental e social dos animais em situação de cativeiro, proporcionando assim, benefícios a saúde dos mesmos (PIZZUTTO et al., 2013). Young (2003), citando Shepherdson (1989), destaca os objetivos a serem alcançados quando se implementam as técnicas de EA, como aumentar o repertório comportamental dos animais, reduzir a frequência de comportamentos anormais, aumentar a utilização positiva do ambiente, aumentar a capacidade de conseguir lidar com o ambiente e com a situação adversa na qual o animal se encontra.

As técnicas são diversificadas e variam desde a promoção do envolvimento social entre os animais até a introdução de brinquedos (YOUNG, 2003). Contudo, a utilização das técnicas de enriquecimento implica no uso de mais de um tipo de EA. A escolha do tipo a ser usado deve ser feita tendo-se em vista os hábitos naturais dos animais da espécie estudada, já que os elementos aplicados tendem a simular situações que os animais enfrentariam na natureza para trazer o ambiente de cativeiro mais próximo do ambiente natural (PIZZUTTO; SGAI, GUIMARÃES, 2009). Segundo Young. (2009), os tipos de enriquecimentos podem ser:

a) Físico: consiste em introduzir elementos físicos que se assemelhem aqueles encontrados nos habitats naturais dos animais ou interferindo no tamanho e forma e localização dos elementos físicos já existentes (galhos, areia, tocas, folhas, entre outros);

b) Sensorial: consiste em estimular os cinco sentidos dos animais através da introdução de odores, vocalização, fezes e urinas de outros animais por exemplo;

c) Cognitivos: nesse, o objetivo é estimular a capacidade cognitiva dos animais o expondo em situações-problema para que o mesmo possa solucionar;

d) Social: consiste em possibilitar as relações inter e intra-específicas, dando oportunidade dos animais se relacionarem com outros da mesma espécie ou de espécies distintas que conviveriam na natureza;

e) Alimentar: o objetivo desse enriquecimento é fornecer alimentos que compõe a dieta natural dos animais porem não estão sendo usualmente ofertadas, ou ainda, oferecer as que estão sendo ofertadas, mas de uma maneira diferente, a integrando ao EA cognitivo, por exemplo.

Silva (2011) observou que após a aplicação de técnicas de EA, os animais diminuíram os comportamentos denominados sexual (comumente observado em machos), agonístico e demarcação, enquanto o comportamento *play* (brincar sozinho) surgiu nesses animais. Borges (2010), ao aplicar EA dos tipos físico e alimentar, constatou que os animais tiveram diminuição nos comportamentos estereotipados, enquanto os comportamentos positivos, como o exploratório, de forrageamento e outros tiveram a frequência aumentada; ou seja, de maneira

geral, o uso do EA diminui alguns comportamentos indicadores de estresse e/ou mais frequentes em situações estressoras, assim como podem gerar novas categorias de comportamento no repertório comportamental dos animais. As técnicas de enriquecimento possibilitam que os animais demonstrem comportamentos típicos das espécies bem como alterações endócrinas benéficas à saúde dos indivíduos (YOUNG, 20013).

As técnicas de enriquecimento ambiental podem também eliminar ou minimizar comportamentos associados ao estresse animal. Cada indivíduo tem alterações comportamentais diferentes quando aplicado o EA, porém, de uma maneira geral, cada indivíduo tem o bem-estar melhorado com o uso das técnicas (SILVA, 2011). A utilização das técnicas de mensuração de metabólitos de esteroides (cortisol) e o estudo etológico servem como forma de avaliação do resultado pós EA nos animais (PIZZUTTO; SGAI, GUIMARÃES, 2009).

3. CRÍTICAS

Embora o bem-estar animal tenha sido estudado por vários anos com diversas metodologias já bastante utilizadas, existem críticas às mesmas que precisam ser levantadas visando o aprimoramento das técnicas ou mesmo para auxiliar na interpretação dos resultados, principalmente por haver muitas divergências.

3.1. Limitações do comportamento como indicador de bem-estar

O estudo do comportamento vem sendo utilizado como ferramenta para avaliação do bem-estar animal, e essa avaliação vem sendo realizada sobretudo, com relação aos comportamentos estereotipados.

Há uma falta de homogeneidade (quanto ao sexo, idade etc) comumente encontrada nos grupos de indivíduos estudados. Como alternativa, sugere-se a elaboração de protocolos que tenham como base, características relevantes dentro do grupo a ser estudado (HASHIMOTO, 2008). Se a variável gênero, influencia significativamente o comportamento do grupo, podem ser elaborados protocolos distintos, para machos e para fêmeas.

Ao se avaliar a condição de bem-estar dos animais através de análises etológicas, observamos que existem variáveis que podem influenciar o comportamento dos animais.

3.1.1. Influência do sexo

Quando proposto enriquecimento no ambiente, as fêmeas demonstram maior curiosidade e interação com os mesmos (CARNIATTO et al, 2009). Esse fato requer mais estudos afim de analisar se esse resultado é atribuído ao maior estresse das fêmeas, curiosidade ou outros fatores. Pereira e Oliveira (2010), ao elaborarem em seu trabalho um etograma para a espécie Irara (*Eira barbara*), constatou que há frequências e comportamentos distintos quando analisados machos e fêmeas separadamente. Machos podem apresentar maior frequência para o comportamento andar para um lado e para ou outro enquanto nas fêmeas, a média da frequência desses comportamentos é inferior (ALBUQUERQUE; CODENOTTI, 2006). Porém, os dados na literatura são inconsistentes. Segundo Venturieri e Pendu (2006) esse comportamento pode não diferenciar entre os sexos. Uma hipótese é que talvez o efeito de sexo seja espécie-específico, já que para algumas espécies a distinção entre o comportamento de machos e fêmeas é considerável, enquanto em outras o mesmo não acontece. Nas espécies em que essa diferença é pronunciada, a variável gênero deve ser levada em consideração pois pode influenciar os resultados, podendo indicar a necessidade de separar os indivíduos por sexo nos estudos etológicos. Ainda, deve-se levar em conta as variações do estado fisiológico das fêmeas (ciclo estral e prenhez, por exemplo) e dos machos (período de acasalamento, hierarquia, etc).

3.1.2. Influência cronológica ou de estação

Quando se avalia bem-estar a partir dos estudos etológicos, deve-se levar em conta as variáveis tempo (cronologia) e estação do ano. Albuquerque e Codenotti (2006), constataram que macacos da espécie Bugio (*Alouatta caraya*), tinham diferentes frequências de comportamentos em relação as estações do ano, sobretudo o comportamento “se alimentar”. Essa diferença pode ter ocorrido devido ao aumento da temperatura que, por vezes, suprime o comportamento de “se alimentar” dos animais (MANNO et al, 2005), como uma forma de dissipar o calor e/ou produzir menos incremento calórico.

Alguns comportamentos estão diretamente relacionados com o ambiente, como estação do ano, como relatado por Borges et al. (2011), que atribuiu a diminuição dos comportamentos “aquecimento” e “coçar”, com a diferença de temperatura encontrada quando realizada as observações comportamentais em duas fases do experimento. Nesse experimento, as fases foram pré enriquecimento (fase 1) e pós enriquecimento (fase 2), onde a fase 1 decorreu no inverno e a 2 na primavera. Sendo assim, o autor inferiu que a diminuição dos comportamentos

aquecimento e coçar ocorreram em função do aumento da temperatura e diminuição da incidência de ectoparasitas, respectivamente.

Outros comportamentos podem sofrer alteração de frequência por conta do desenvolvimento dos animais, ou seja, existe diferença no comportamento em relação a idade e ao estado fisiológico ao qual o animal se encontra. Ao analisar a interação das brincadeiras sociais de macacos-prego (*Cebus apella*), Resende e Ottoni (2002), observaram que alguns comportamentos (como o uso de ferramentas para abrir cocos, que varia entre infantes e juvenis) e as frequências de determinados comportamentos (como o comportamento brincar, mais realizado por juvenis que por infantes), podem variar de acordo com a idade dos animais. Rodrigues (2014), atribuiu a diminuição de comportamentos indicadores de estresse devido a não só o estabelecimento de técnicas de enriquecimento, mas também ao desenvolvimento dos animais. Os dados de Lessa (2009), corroboram com os demais trabalhos citados, em seu experimento foi observado que animais adultos apresentaram mais comportamentos estereotipados e de interação com o enriquecimento ambiental em relação aos animais jovens. Silva (2011) relatou que a época do ano tem influência sobre o ciclo estral dos animais, e que o ciclo estral influencia o comportamento das fêmeas. O que corrobora como os dados de Furtado (2006), segundo o autor, fêmeas tem comportamento influenciado pelo ciclo estral. Desta forma causar interferência nos dados, categoriza-los seria uma opção, caso fosse necessário.

Ainda, o horário de observação deve ser levado em conta, já que existem espécies de hábito diurno crepuscular e noturno, variando assim a frequência comportamental (VENTURIERI; PENDU, 2006). A animais de hábito noturno tem maior atividade nesse período e o mesmo tende a ocorrer par animais de hábito diurno (SILVA, 2011). Venturieri e Pendu (2006), avaliaram o comportamento de caíto (*Tayassu tajacu*) e constataram alta incidência do comportamento “deitar” ao longo do período noturno por se tratar de animais diurnos. Já em animais de hábito noturno como o Puma (*Puma concolor*), esse comportamento pode ser observado com maior frequência no período diurno (CARNIATTO, 2009; CARVALHO, 2011). Contudo, aconselha-se descrição na interpretação dos dados pois ainda segundo o autor não foi avaliado o etograma pré-enriquecimento.

3.1.3. Outros

Um dos comportamentos estereotipados comumente observados nas análises etológicas é o de andar de um lado para o outro (CASTRO, 2009), observa-se que, mesmo em diferentes

espécies, esse comportamento tem sua frequência significativamente aumentada sobretudo próximos ao horário de alimentação, como observado em: Macacos-prego (*Cebus apella*) (RODRIGUES, 2014), Macacos-prego (*Sapajus apela*) (LESSA, 2009), (*Spajus nigritus*) (SANTOS; REIS,2009), Suçuarana (*Puma concolor*), Onça pintada (*Panthera onça*) (CARVALHO, 2011) e primatas do gênero *Ateles* (ALMEIDA; MARGARIDO, MONTEIRO FILHO, 2008). Sendo assim, uma estratégia para diminuir possíveis erros pela influência do aumento desse comportamento próximo a alimentação seria dividir em blocos de observação (já utilizados em trabalhos científicos). Contudo, deve-se utilizar esses blocos na análise estatística para retirar o efeito de período sobre o comportamento a ser estudado. Para reestabelecer o padrão comportamental, Almeida, Margarido e Monteiro Filho, (2008), estabeleceram uma refeição a mais na rotina dos animais como estratégia de enriquecimento alimentar, culminando na diminuição dessa estereotipia pré-alimentar.

97% das estereotipias relatadas em carnívoros em cativeiro são a andar para um lado e pra o outro, e estão relacionadas com a restrição do espaço físico (MANSON et al., 2003), Apesar dos trabalhos avaliados apresentarem resultados semelhantes quando a alta frequência do comportamento andar de um lado para o outro o motivo pelo qual essa alta frequência ocorre não é investigada. Sendo assim, sugere-se maiores investigações afim de se avaliar o motivo que leva o animal realizar essa estereotipia, e se essa realmente indica estresse ou corresponde apenas em manter um hábito (andar), que é realizado com grande frequência em ambiente natural.

Os animais expressam certos comportamentos estereotipados em locais específicos e invariáveis. Contudo, justificativas para esse fato não são fornecidas na literatura. Rodrigues (2014), observou uma trilha formada pelos animais em função do comportamento andar de um lado para o outro no mesmo local. Esse mesmo fato pode ser observado em Iraras (*Eira barbara*) ao exibir a estereotipia andar de um lado para o outro no mesmo local, e em indivíduos da espécie *Mustela putorius* (furões), ao realizarem um circuito em local invariável e com uma sequência de comportamento igualmente invariáveis (Dados não publicados).²

Possíveis hipóteses podem ser levantadas: pode ser que o animal considere o local um espaço mais seguro, e se assim fosse, se incluído o EA nesse local os animais sentiram-se mais estressado devido a retirada do seu local de fuga; se incluídas técnicas de enriquecimento no local em que o animal exibe o comportamento o mesmo seria cessado ou apenas muda de local?

² OLIVEIRA, C.K.F. Observações e dados da autora não publicados.

A invariabilidade do local da estereotipia requer maior aprofundamento, visto que, nenhum trabalho levantado dentro deste documento considerou ou discutiu a relação entre o local e a ocorrência da estereotipia.

Observa-se que alguns trabalhos utilizam dados de animais proveniente de instituições distintas e os comparam. Essa comparação apenas pode ser feita quando o uso do artifício de comparar dois ambientes distintos é justificado como pergunta a ser testada na hipótese. Por exemplo, o objetivo do trabalho seria avaliar se há diferença no bem-estar de animais provenientes de centros de conservação distintos (CARVALHO, 2011), ou quando se deseja testar a hipótese que os animais podem ter o bem-estar mais afetado quando alojados em zoológicos ou em um Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) (OLIVEIRA, 2014), ou ainda se há mais incidência de estresse em animais confinados ou em vida livre (se comparando zoológicos, com parques) Nessas situações as comparações são necessárias para o estudo. Porém, quando dados de locais distintos são agrupados e comparados, é necessário que haja cautela ao extrapolar a interpretação dos dados, pois, existem grandes limitações quando se comparam comportamentos entre ambientes heterogêneos.

Manson e Latham (2004), realizaram um levantamento afim de avaliar a ligação entre estereotipia e o bem-estar animal, e definiu que a estereotipia é uma importante ferramenta para avaliação do bem-estar, mas seu uso deve estar associado a outra metodologia devido a contrariedade dos resultados encontrados nos trabalhos que analisam bem-estar através dos comportamentos estereotipados. Os autores observaram, que ambientes que induzem o aumento da estereotipia (ppor apresentar uma baixa complexidade, por exemplo) são piores do que aqueles que não o fazem, e que, os animais mais estereotipados são os mais suscetíveis ao comprometimento do bem-estar, no entanto essa condição ainda não é claramente definida, quando expostos a alguns tratamentos ou condições de bem estar ótimo e/ou neutro e as estereotipias também podem aparecer.

A inatividade dos animais pode ser um indicativo de bem-estar afetado (HASHIMOTO, 2008; CASTRO, 2009). A frustração de não conseguir realizar o seu repertório comportamental característico quando em ambiente natural gera respostas neuroendócrinas a pré-disposição de baixos níveis de bem-estar (MONTANHA et al., 2009). Alguns etogramas mostram incidência pouco significativa de comportamentos estereotipados, o que não significa que os animais se encontram em bem-estar, pois a ausência de comportamento também pode ser um indicativo de estresse. Como já relatado, as estereotipias servem como fuga dessa condição de estresse (CASTRO, 2009) e, se o animal não a realiza, podemos sugerir que o mesmo detém uma incapacidade maior de lidar com esse estresse.

Existem metodologias mais completas que são possivelmente mais precisas devido ao fato de se avaliar os comportamentos e a complexidade deste. No trabalho de Oliveira (2014) foi analisada a complexidade comportamental como indicadora de estresse. Sendo assim, foram analisados animais em diferentes níveis de estresse através de duas metodologias (lei de zipf e teoria dos grafos), os animais pertenciam ao centro de triagem de animais silvestres (grupo 1) zoológico (grupo 2). O autor observou que os animais do grupo 1 apresentaram baixa conexão entre os comportamentos, alta frequência dos comportamentos e um número reduzido de comportamentos, ou seja, esses pontos indicam baixa complexidade comportamental; já os animais do grupo 2 apresentaram maior conexão, menor frequência e mais comportamentos. Esse resultado apontou que, os animais do grupo 1 passaram mais tempo realizando uma mesma sequência de comportamentos repetidos, ou seja, como já esperado pelo autor, os animais do grupo 1 se encontraram em situação de maior estresse comparado aos animais do zoológico, sendo evidenciada essa afirmação mediante a menor complexidade comportamental dos animais pertencentes a esse grupo.

Como observado, os experimentos que avaliam comportamento e quantificaram as estereotípias como indicadores de estresse, são ligeiramente divergentes, esse fato pode afetar a interpretação do resultado no sentido de os animais se encontrarem com o bem-estar afetado. Já os trabalhos que analisam os comportamentos como um conjunto, avaliando a sua complexidade parecem ter mais consistência.

3.2. Limitações uso do cortisol como indicador de bem-estar

O cortisol é o principal hormônio associado a situações estressoras e, por isso, alguns trabalhos utilizam a mensuração dos seus níveis para determinar se o animal tem o bem-estar afetado ou ainda, se a aplicação de técnicas de enriquecimento ambiental tem efeito positivo sobre o bem-estar dos animais.

O que se observa na literatura é que usualmente as análises do cortisol são feitas através de análises sanguíneas, fecais e salivares. A escolha da metodologia a ser utilizada para avaliação do cortisol reflete o objetivo do estudo (SILVA, 2011); por exemplo, podemos utilizar o cortisol salivar se o objetivo for realizar várias coletas ao longo do dia, por causarem menor intervenção no animal (em relação a sanguínea), ou se o objetivo for ter disponibilidade de material a ser coletado (o que difere da fecal). Alguns imunoenaios quantificam a concentração total de cortisol, ativa e não ativa, como é o caso da mensuração pelas fezes e pelo sangue (UMEDA et al., 1981). Enquanto a mensuração do cortisol por análise salivar, além de oferecer

vantagens por serem menos invasivas, proporciona menor estresse e possíveis irritações na pele (UMEDA et al., 1981). A depender da metodologia utilizada as concentrações de cortisol irão diferir entre valores maiores (fração não ativa) e valores menores (fração ativa), sendo assim, a comparação entre os resultados desses imunoenaios não deve ser realizada. A coleta das amostras deve ser feita causando a mínima perturbação aos animais (BROOM; FRASER, 2010) e por isso análises de níveis de cortisol fecal tem se mostrado mais viáveis, pois a coleta não envolve contato direto com os animais e tão pouco procedimentos invasivos. Portanto, espera-se que essa metodologia dê resultados mais reais e satisfatórios, já que o estresse decorrente do processo de coleta das amostras é menor.

Observamos que alguns fatores, que não são padronizados e/ou controlados entre os estudos, podem influenciar concentrações séricas do cortisol. Espécies distintas pertencentes ao mesmo gênero possuem perfis de metabólitos fecais de glicocorticoides semelhantes, sendo o cortisol o mais abundante (FURTADO, 2012). Porém, as variações de cortisol inter e intra-individual são bem acentuadas (CASTRO, 2009). Isso significa dizer que as análises dos níveis de cortisol variam ente indivíduos e até mesmo no próprio indivíduo, reforçando a necessidade de aumentar o número de repetições e, conseqüentemente, o poder do teste.

Um possível problema entre os estudos na metodologia de cortisol seria a padronização do tempo de coleta. A meia-vida do cortisol é de 90 minutos com o pico de liberação ocorrendo em 8h, sendo secretado entre 10 e 20 mg do hormônio na corrente sanguínea (FREITAS; SOUZA, 2007). Diante de um estímulo estressor ao longo do dia um pico de cortisol pode ocorrer aumentando as concentrações séricas do hormônio. É por essa razão que, se considerarmos um mesmo animal, os níveis séricos podem variar a depender do horário da coleta. Por exemplo, se o animal sofreu estresse e a coleta foi realizada entre a meia vida do hormônio, a análise de cortisol irá sinalizar que o animal se encontra estressado; porém, se realizada após o tempo transcorrido da meia vida do hormônio, possivelmente a análise de cortisol não irá apresentar um nível muito acima da normalidade, apesar de o animal já ter sido exposto à uma situação estressora. Sendo assim, deve-se questionar a interferência do tempo de coletar sobre os resultados, sendo mais prudente a padronização dos tempos como já acontece em outras metodologias como na análise de glicose sanguínea onde os tempos de coleta são pré-definidos. Broom e Fraser (2010), afirmam ainda que, após o estímulo estressor, o aumento do cortisol ocorre cerca de 1,5 a 3,0 minutos, sendo assim, mensurações entre período dariam resultados mais exato.

É possível que a oferta de alimento afete o bem-estar. Furtado (2012), analisando o bem-estar de Macacos-prego, observou a que a disponibilidade de alimento causa influência no nível

de cortisol. O autor observou que a alta disponibilidade do recurso alimentar fez com que os animais elevassem o cortisol, atribuindo essa resposta fisiológica a necessidade do animal de aumentar a sua agressividade para defender o seu alimento instintivamente. Enquanto que, em situações de pouca disponibilidade de alimento, o cortisol não aumentou. Porém, o resultado parece contraditório e mais pesquisas devem ser realizadas antes de uma decisão final.

Para animais confinados, a visitação pode ser um fator que compromete o bem-estar. Porém, resultados da mensuração de cortisol demonstram que o que vai estressar os animais (aumento do cortisol) é o número de pessoas que compõe os grupos de visitação (SILVA, 2011). No trabalho do autor ainda, observou-se os animais cativos que receberam pouca visitação não tiveram níveis de cortisol afetados, enquanto aqueles com visitação de grupos com muitas pessoas (mais de 20) tiveram alto cortisol, indicando que o bem-estar será afetado pelo número de pessoas que compõe os grupos de visitantes e não a visitação em si.

Segundo Rodrigues (2014), os animais que compõe grupos com comportamento hierárquico marcado tem grandes variações de cortisol. O autor destaca, ainda, que nos animais subordinados tendem a apresentar maiores níveis de cortisol por terem menos controle do ambiente. Logo, para espécies que apresentam essa estrutura organizacional sugere-se levar em consideração as avaliações individuais (e não em grupo), de modo que não cause interferência na média geral das observações.

Embora expostos às mesmas situações de cativeiros, por vezes apenas as fêmeas podem apresentar níveis de cortisol fecal mais elevados (CASTRO, 2009). Silva (2011) analisou comportamentos de macho e fêmeas antes, pouco e muito após a colocação de enriquecimentos e observou que mesmo muito após a colocação, os machos tiveram os níveis de cortisol diminuídos enquanto o mesmo não aconteceu com as fêmeas, sugerindo que o fato ocorreu devido as fêmeas estarem no estro. Além dessa hipótese, existem algumas outras para justificar a resposta neuroendócrina distintas para machos e fêmeas:

- a) As fêmeas são mais susceptíveis a situações de estresse;
- b) Os indivíduos machos conseguem lidar melhor com o ambiente em questão enquanto o mesmo não ocorre com as fêmeas;
- c) Machos conseguem dissipar o estresse fazendo o uso de comportamentos estereotipados enquanto as fêmeas não conseguem realizar os comportamentos;
- d) O maior nível de cortisol em fêmeas é uma questão evolutiva, por que um alto nível de cortisol as possibilita ficar em estado de alerta para se defender e defender suas crias (CASTRO, 2009). Para obtenção de resultados mais precisos, estudos categorizados por sexo

poderiam ser realizados de modo que as fêmeas sejam comparadas entre si, e o mesmo ocorreria entre os indivíduos machos.

No trabalho de Castro (2009), foi analisada a variação de cortisol antes, durante e após os enriquecimentos ambientais. O autor observou que durante e após o uso dos enriquecimentos, alguns comportamentos estereotipados (marcação de território, andar de um lado para o outro e coçar) se correlacionaram positivamente com os níveis de cortisol, ou seja, os comportamentos estereotipados não apresentaram uma frequência significativa assim como os níveis de cortisol mantiveram-se baixos, indicando que os animais tinham o bem-estar em boas condições.

Levando em consideração as literaturas analisadas, foi possível constatar as seguintes situações:

- 1- Estereotipia + cortisol elevado;
- 2- Estereotipia + cortisol baixo;
- 3- Ausência de estereotipia + cortisol elevado;
- 4- Ausência de estereotipia + cortisol baixo.

Na situação 1 as duas variáveis se correlacionam positivamente, indicando que os animais estão em situação de estresse pois apresentam comportamento estereotipado e cortisol elevado.

A situação 2 abrange resultados onde as variáveis cortisol e estereotipias se relacionam negativamente (CASTRO, 2009). Ou seja, os animais apresentam estereotipias porém, o cortisol se encontra nos níveis basais. Nesse caso, pode-se considerar que os animais estavam sob estresse de acordo com as seguintes hipóteses:

a) Os comportamentos estereotipados funcionam como um “dissipador” de estresse ajudando o animal a lidar com a situação estressora (BROOM, 1991), porém considera-se que o animal que exhibe o comportamento anormal tem o bem-estar mais afetado que aquele que não o exhibe (MANSON; LATHAM, 2004), logo:

b) Se assim fosse, uma vez dissipado o estresse o animal não deveria apresentar estereotipias, fato que corrobora com (BROOM; FRASER, 2010) ao afirmar que não existe uma evidência clara que a estereotipia alivie os efeitos das condições adversas;

c) Uma vez estressado, o animal apresenta comportamentos estereotipados e essa estereotipia pode se tornar um comportamento adquirido. Assim como relatado por Steiner et al. (2013), ao relatarem que equinos podem adquirir o comportamento da “aerofagia” quando expostos a situações (quando estabulados, por exemplo) que afeta de maneira negativa o seu

bem-estar, e que após reestabelecido o bem-estar, os animais continuam a expressar tal comportamento como um vício;

d) O tempo que o metabolito cortisol chega as fezes e na urina devem ser levados em consideração (BROOM; FRASER, 2010). Pode acontecer de serem coletada fezes em horário que não correspondiam com a excreção do glicocorticoide nesses resíduos. Após secretado na corrente sanguínea, resíduos de metabólitos fecais de glicocorticoides demoram cerca de 4 horas para serem excretados nas fezes (FURTADO, 2012). Cerca de 85% dos hormônios esteroides vão aparecer os resíduos fecais cerca de 12 a 24 horas após a secreção (BROWN et al., 2001). Furtado (2012) sugere que essa diferença pode ser dada em função do tamanho do trato intestinal, por exemplo. Isso pode indicar que, assim como o que acontece no caso da análise de cortisol sanguíneo, o horário da coleta das fezes para posterior análise pode interferir no resultado real.

A situação 3 abrange resultados onde as variáveis cortisol e estereotipias se relacionam negativamente. Ou seja, os animais não apresentam estereotipias porém, o cortisol se encontra em níveis elevados, hipóteses para justificar esse fato podem ser formuladas:

a) O enriquecimento ambiental consiste em propor situações distintas daquelas nas quais o animal cativo está habituado, de modo a tirar o animal da situação tediosa. Ao expor o animal a essa nova situação, e se mensurado logo após a introdução do enriquecimento, pode-se observar um nível de cortisol mais elevado (HASHIMOTO, 2008), atribuído a exposição a uma situação inédita para o animal, não necessariamente ao estresse;

b) Nas análises são mensurados o cortisol ao logo de um certo período ou antes, durante e após um enriquecimento, quando se deseja avaliar a mudança de um ambiente sobre o bem-estar do animal. Sendo assim, o aumento registrado em algum desses momentos pode não corresponder a um nível clínico onde cortisol indicaria estresse, pois não se sabe qual seria o nível basal de cada indivíduo já que as análises quantificam esse metabolito apenas em um período de tempo;

c) A ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal múltiplas vezes pode causar uma elevação dos níveis do cortisol por vários dias (BROOM; FRASER, 2010). Isso significa dizer que o animal anteriormente pode ter passado por diversas situações estressoras liberando cortisol diversas vezes, mas o nível do metabólito precisou de dias até que se estabilizasse;

d) Um animal pode mostrar principalmente estereotipias como uma resposta, enquanto outro pode mostrar uma combinação de níveis mais baixos de estereotipias com outras respostas (BROOM, 1983). Isso significa dizer que, embora com situação desfavorável de bem-estar, o estresse pode ser indicado sobre outras formas (como o cortisol) que não sejam níveis de

estereotípias. Os pontos 2 e 3 são os que possuem maior divergência na literatura, pois como o cortisol e comportamento são indicadores de bem-estar, espera-se uma correlação positiva entre eles, mas como observado, nem sempre esse resultado é encontrado. Já a situação 4 demonstra o estado de animais livres de estresse.

Broom e Fraser (2010), afirmam que a metodologia que utiliza cortisol como medida de bem-estar, não se mostra eficiente quando se avalia instalações ou outro tratamento de longo prazo. Contudo essa metodologia é largamente utilizada e para se mensurar o bem estar de animais cativos, sobretudo para animais de zoológicos.

Apesar das divergências nos resultados que correlacionam as metodologias que utilizam o cortisol e estereotípias, ambos devem estar presentes na mesa situação sendo usados como parâmetros que indicam estresse, pois a utilização unicamente da metodologia do cortisol para determinação do bem-estar não se mostra viável. Ainda a utilização do cortisol como única técnica para mensurar bem-estar implicaria em definir os níveis basais de cada indivíduo estudado e isso se tornaria algo inviável principalmente em estudos com grupos maiores e animais.

3.3. Limitações da utilização das técnicas de Enriquecimento Ambiental como alternativas para a promoção do bem-estar

O EA proporciona, maior controle do animal sobre o ambiente, acarretando na diminuição do estresse (CASTRO, 2009) e favorece o bem-estar (PIZZUTTO et al., 2009). Uma prova disso é o seu efeito sobre a diminuição do cortisol em animais cativos (SILVA, 2011).

Além disso, ambientes enriquecidos que possibilitam a interação social, atividades físicas e exploratórias favorecem a proliferação celular, a sobrevivência e o número de neurônios (SILVA, 2011). Para saber o resultado do efeito das técnicas de EA sobre os animais em estudo, aconselha-se observar o estado de bem-estar que antecede o enriquecimento, no momento da introdução e após a introdução (CARNIATTO, 2009; GONÇANVES et al., 2010).

Observa-se que os tipos de enriquecimento podem ser utilizados de maneiras diferentes entre os animais (refúgio ou alimentação, por exemplo) e podem refletir respostas diferente no comportamento dos animais como o aumento ou a diminuição de determinados comportamentos (VASCONCELLOS et al., 2009). Em grupos com hierarquia marcada, os EA físicos apresentam resultados satisfatórios na diminuição do estresse, principalmente para os animais subordinados, pois as técnicas podem servir de refúgio para esses animais

(RODRIGUES, 2014). Esse fato torna interessante o uso da técnica para grupos com hierarquia marcada. O EA físico pode também causar maior interação social entre os indivíduos (ALMEIDA, 2008). Apesar da baixa interação com o enriquecimento sensorial, Borges et al (2011) notaram que os animais aumentaram o comportamento exploratório após a aplicação da técnica.

O EA do tipo alimentar e outros que estão associados ao alimento, em sua maioria, são bem aceitos pelos animais (CAMARGO, 2014; BORGES et al., 2011; VASCONCELLOS et al., 2009; LESSA, 2009). Algumas hipóteses para justificar a aceitabilidade dessa técnica seriam:

a) Instinto natural que abrange todas as espécies que é o de se alimentar;

b) Animais em cativeiro tem horários determinados para alimentação e, quando a recebem, sob a forma de enriquecimento ou de alimentação normal, tem o instinto de comer de imediato por uma questão “predatória”, sendo essa justificativa válida para animais que detêm esse instinto;

c) O EA do tipo alimentar, oferece uma imprevisibilidade alimentar no cativeiro que também acomete o animal na natureza (CASTRO, 2009). O enriquecimento proporciona para os animais alimentos em horários e nas formas de apresentação distintas e isso cria certa semelhança com a imprevisibilidade que os mesmos encontrariam em vida livre por não terem em habitat natural um alimento específico a ser predado e nem horário pré-estabelecido para caçar. Sendo assim, por causar uma situação semelhante a encontrada na natureza, essa seria uma justificativa para o fato dos animais interagirem de maneira significativa com essa técnica.

O que se observa é que, usualmente, é feita a introdução de um objeto da técnica de enriquecimento por vez no recinto dos animais. Por exemplo, Borges et al. (2011) introduziram 4 objetos: 1- Flor com mel, 2- alimentos em uma roda de madeira, 3- alimentos na garrafa, 4- ninhos artificiais; sendo introduzido um tipo de objeto de cada vez e cada um sendo introduzido seis vezes. Contudo, segundo Castro (2009) a introdução simultânea de vários tipos de enriquecimento causa diminuição na duração relativa dos comportamentos estereotipado, podendo-se inferir que esse resultado é possível porque a introdução simultânea de vários objetos de EA aumentaria a complexidade do ambiente. Em trabalhos futuros, aconselha-se testar a hipótese de se obter diferentes respostas quando comparada a introdução de um objeto por vez com a introdução de vários objetos simultaneamente.

É possível obter a diminuição da frequência de comportamentos estereotipados mediante a aplicação de técnicas de EA. De acordo com Silva (2011) e Lessa (2009), a introdução dos enriquecimentos mostra-se capaz de diminuir os comportamentos

estereotipados. Borges et al. (2011) considera que em indivíduos Sagui de tufo pretos (*C. penicillata*), a diminuição dos comportamentos estereotipados foi o marco mais evidente do aumento do bem-estar gerado pelo EA.

Outro resultado de grande relevância observado na literatura analisada, é que as técnicas de EA têm influência no aumento do repertório comportamental dos animais. Esse resultado é de grande importância, pois o aumento do repertório comportamental se correlaciona com a promoção do bem-estar (SILVA, 2011). Segundo o autor citado, o repertório comportamental dos animais sofreu um aumento de quase 40% com a introdução do EA, destacando-se comportamentos de forrageio e de interação social. Esse aumento resulta na maior exploração do ambiente do cativeiro e diminuição das estereotipias (BORGER et al., 2011). No estudo de Borges et al. (2011), o comportamento exploratório foi observado em todo o grupo indicando que houve benefício para o grupo como um todo e não só para alguns indivíduos. No estudo de Castro (2009), foram analisadas as frequências totais e individuais dos comportamentos nas fases de colocação do enriquecimento (fase 2), e após a retirada (fase 3), foi relatado que na fase 2 ocorreu um aumento da frequência total, porém os comportamentos estavam associados a interação com o EA e pouca estereotipia. Já na fase 3 ocorreu a diminuição da frequência total, ocorrendo um aumento gradativo do comportamento estereotipado. Analisando o repertório comportamental de bugios (*Alouatta spp.*), nas fases 1 (recinto sem enriquecimento), fase 2 (recinto enriquecido) e fase 3 (recinto enriquecido após um ano), observou-se um repertório de comportamentos composto por 26%, 40,5% e 33,5% para as respectivas fases (MUHLE; MARQUES, 2008). O que significa que neste trabalho ocorreu um acréscimo de 14,5% entre as fases 1 e 2, e 7,5% entre as fases 1 e 3, indicando que a introdução do enriquecimento aumentou a gama de comportamento dos animais e o mesmo aconteceu (ainda que em menor intensidade) mesmo após um ano mantendo os animais no recinto enriquecido. Em estudos com onças-pintadas (*Panthera onça*), o aumento do repertório comportamental também foi observado durante o enriquecimento; os animais tiveram um acréscimo de comportamentos dado por comportamentos considerados “normais” (não estereotipados) e ocorreu diminuição das estereotipias (CASTILLO-GUEVARA et al., 2012). Segundo os autores, este padrão se manteve ainda por 22 dias após a retirada do EA. Em animais de zoológico as estereotipias ainda são vastamente utilizadas como avaliação de bem-estar (MANSON; LATHAM, 2004). Porém, como observado, nos estudos levantados, são relatados um aumento do repertório total dos comportamentos (onde comportamentos normais e estereotipados são contabilizados). Esse é um resultado de grande relevância, visto que o aumento do repertório comportamental se relaciona positivamente com a promoção do bem

estar (BORGES, 2011). A complexidade comportamental é uma medida de bem-estar satisfatória (OLIVEIRA, 2014), sendo assim, pesquisas complementares devem ser realizadas para se definir a complexidade comportamental desses animais podem ser realizadas para que sejam gerados resultados ainda mais precisos.

O histórico do animal influencia o modo como ele vai reagir em relação a comportamento e a interação com o enriquecimento. Furtado (2006), submeteu animais ao uso de três diferentes objetos de EA: uma ferramenta (que possibilitava a quebra de coco), um brinquedo e uma caixa contendo tenébrios. A escolha pelo uso da ferramenta teve diferença significativa para os animais que sabiam utilizar a ferramenta para quebrar cocos devido ao fato de terem aprendido a utilizá-la anteriormente. Vasconcellos et al. (2009), compararam níveis de cortisol em resposta à introdução de EA e observaram que um dos animais não teve variações significativas de cortisol e os comportamentos, e este fato pode ser explicado pelo histórico anterior de habituação dos animais com os humanos devido a convivência.

Como visto, as técnicas de EA, em sua maioria, melhoram as condições de bem-estar dos animais; porém, há dados divergentes na literatura. Em alguns estudos, o EA pode aumentar o comprometimento do bem-estar dos animais, sendo marcado pelo aumento de comportamentos agonísticos ou de estereotipias. Como observado por Rodrigues (2014), que ao introduzir enriquecimento do tipo alimentar observou um aumento dos comportamentos agonísticos, o resultado foi atribuído ao aumento da competição direta entre os animais, isto é decorrente principalmente nas espécies com comportamento de dominância marcado. Chiquitelli Neto et al. (2011), ao avaliarem a introdução de uma fêmea bugio (*Alouatta caraya*), no recinto de um macho como enriquecimento social, observaram que houve um aumento do comportamento andar de um lado para o outro, exibido pelo macho. Hipóteses para a situação dos Bugios seria que o aumento da competição por alimentação e a frustração causada pela impossibilidade de copular e/ou interagir socialmente com a fêmea, possa ter resultado no aumento da estereotipia. Porém, há divergências em relação a resultados que apontem o EA como fator que afete negativamente o bem-estar. Embora relatado o aumento de comportamentos agonísticos posteriormente a introdução de EA, Borges et al. (2011) não consideraram que a técnica teve efeito negativo sobre o bem-estar dos animais. Os autores justificaram afirmando que o comportamento agonístico não teve expressividade diante dos demais comportamentos que indicaram sucesso na utilização da técnica para promoção do bem-estar, e que mesmo tendo aumentado o grau de agressividade, não foram causados danos, podendo atribuir essa agressividade a um comportamento esperado de hierarquia. Há de ser levado em consideração que, por colocar o animal frente a uma situação nova ao se estabelecer

enriquecimentos nos recintos, o EA pode causar aumento do cortisol no animal (CASTRO, 2009; VASCONCELLOS et al., 2009), podendo não significar obrigatoriamente que o animal se encontra em estresse, visto que após um período (sendo necessário estudos para estabelecimento desse período) o enriquecimento passa a favorecer o bem-estar dos animais.

A utilização de número experimental pequeno de animais é recorrente nos estudos avaliados: Camargo (2014) utilizou 1 fêmea de gato-do-mato (*Leopardus guttulus*), Muhle e Marques, (2008) usaram 3 indivíduos da espécie bugios (*Alouatta spp.*) e Ferrari et al. (2011) utilizaram 2 indivíduos de lontra neotropical (*Lontra longicaudis*). Ferrari et al. (2011) relatam que, embora um número experimental (N) pequeno, trabalhos envolvendo animais cativos são importantes pois tendem a mostrar estratégias para melhorar o bem-estar dos animais. Em estudos de EA que utilizam um número pequeno de unidades experimentais já é um problema reatado por Pizzutto (2013). Um número experimental pequeno pode implicar em uma problemática devido a um baixo poder de teste, ou seja, um elevado erro estatístico Tipo II que ocorre quando o teste tem incapacidade de detectar diferença quando elas existem.

Na literatura analisada, observa-se que em relação às técnicas de EA, algumas questões ainda não foram claramente definidas:

- a) Determinar quanto tempo o enriquecimento deve permanecer em contato com o animal sem que cause habituação e perca o efeito;
- b) Determinar quanto tempo o enriquecimento deve permanecer em contato com o animal até que as técnicas comecem a demonstrar resultados positivos sobre o bem-estar animal;
- c) Determinar se ocorre retorno das estereotipias e/ou diminuição do repertório comportamental após a retirada dos objetos. Se essa hipótese for verdadeira determinar em quanto tempo ocorreria. A literatura já apresenta resultado que corresponde a essa hipótese. Para que os resultados do enriquecimento sejam revertidos em melhorias efetivas na qualidade de bem-estar dos animais, é necessário que a utilização das técnicas de EA sejam realizadas de maneira contínua (BORGES et al., 2011). Porém, aconselha-se maiores investigações.

Como já observado nessa revisão, não há uma padronização nos espécimes estudados tanto em relação ao comportamento quanto em relação aos níveis de cortisol e ao número experimental utilizado para avaliação dessas metodologias, e assim como a uma grande variação em relação a esses dois parâmetros, os resultados da aplicação do enriquecimento ambiental sobre o bem-estar dos animais também é bastante variável. Ainda, quando o objetivo é analisar a resposta do enriquecimento, e tem-se um número amostral pequeno (e possível grande variabilidade entre os animais avaliados), pode-se usar como alternativa o animal em

estudo como seu próprio parâmetro comparativo e não comparar os seus resultados com outros animais pertencentes a população estudada. É necessário utilizar um número amostral grande para que os efeitos dos comportamentos individuais possam ser representados na população total de animais estudados (HASHIMOTO, 2008), pois o comportamento individual de animais, mesmo que sejam da mesma espécie, pode variar significativamente.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora tenha ocorrido um aumento no número de pesquisas avaliando o bem-estar animal, as metodologias utilizadas para esse fim, bem como a interpretação dos resultados, carecem de um olhar mais crítico, sempre com o intuito de aprimoramento. Há uma grande falta de padronização na execução das metodologias de avaliação de bem-estar dos animais silvestres, gerando assim, resultados muito divergentes. Para que seja obtido resultados mais representativos, as análises de cortisol e as análises comportamentais devem estar presentes na avaliação de bem-estar.

Já as técnicas de enriquecimento ambiental demonstram ser uma boa alternativa para a promoção do bem-estar, pois através da sua aplicação os animais apresentam aumento no repertório comportamental e diminuição dos comportamentos estereotipados

Além disso, há várias hipóteses levantadas sobre o uso das metodologias cortisol, análise de comportamento e da técnica EA que necessitam de avaliações complementares visando o aprimoramento das técnicas ou mesmo para auxiliar na interpretação dos resultados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, V. J.; CODENOTTI, T. L. Etograma de um grupo de bugios-pretos, *Alouatta Caraya* (humboldt, 1812) (primates, atelidae) em um habitat fragmentado. **Rev. Etol.**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 97-107, 2006.
- ALMEIDA, A. M. R.; MARGARIDO, T. C. C.; MONTEIRO FILHO, E. L. A. Influência do enriquecimento ambiental no comportamento de primatas do gênero *Ateles* em cativeiro. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 11, n. 2, p. 97-102, jul./dez. 2008.
- ALTMAN, J. **Observational study of behaviour: sampling methods**. Behaviour: [s.n], 1974. v. 49, p. 223-265.
- APYASSÚ. H. F. MALANGE. J. Plasticity, stereotypy, intra-individual variability and personality: Handle with care. **Behav. Processes**, [S.l], v.109, p. 40-47, nov. 2014
- BOERE, V. Behavior and environment enrichment. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Ames, IA: University Press, 2001. p. 263-266.
- BORGES, M. P.; BYK, J.; CLARO, K. D. Influência de técnicas de enriquecimento ambiental no aumento do bem-estar de *Callithrix penicillata* (E. geoffroy, 1812) (primates: callitrichidae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 24, n.1, p. 83-94, mar. 2011.
- BRAMBELL, F. **Report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems**. Londres: HMSO, 1965.
- BROOM, D. Assessing welfare and suffering. **Behav. Process.**, Shannon, v. 25, p.117-123, 1991.
- BROOM, D.; JOHNSON, K. Stress and Animal Welfare. In: BROOM, D.; JOHNSON, K. **Stress and Animal Welfare**. Londres: Kluwer Academic Publishers, 1993.
- BROOM, D. M., A history of animal welfare science. **Acta Biotheor.** Cambridge, v.59, p.121-137, 2011.
- BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **BR. Vet. J.** Londres, v.142, p.524-526, 1986.
- BROOM, D. M. Stereotypies as animal welfare indicators. SMIDT, D. (Ed.). **Indicators Relevant to Farm Animal Welfare**. Brussels-Luxembourg: [s.n], 1983.
- BROOM, D.; MOLENTO, C. Animal welfare: concept and related issues. **Arch. Vet. Sci.**, Curitiba, v. 9, p.1-11, 2004.
- BROOM, D.; FRASER, A. **Comportamento e bem-estar de animais domésticos**. 4. ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2010.
- BROWN, J.L.; KOTLER, B. P.; BOUSKILA, A. Ecology of fear: foraging games between predators and prey with pulsed resources. **Ann. Zool. Fenn.**, Finlândia, v. 38, n.1, p. 7-87, 2011.

BRUSIUS, L.; OLIVEIRA, L. G. S.; FILHO MACHADO, L. C. P. Difusão dos conhecimentos sobre comportamento da fauna silvestre como instrumento de conservação. **Extensio Revista Eletrônica de Extensão.**, Santa Catarina, n. 3, p.11, 2009.

CAMARGO, P. R. P.; NASCIMENTO, E. L.; PREZOTO, H. H. S. Técnicas de enriquecimento ambiental de gato do mato *Leopardus gattulus* (Schreber, 1775), em cativeiro: um estudo de caso. **CES Revista**, Juiz de Fora, v. 28, n. 1. p. 169-179, jan./dez. 2014.

CARVALHO, D. C. **Análise comparativa dos cativeiros de puma concolor e panthera onca no criadouro conservacionista no extinction- NEX e na fundação jardim zoológico de Brasília/DF.** 2011. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2011.

CASTILLO-GUEVARA, C. et al. Enriquecimiento ambiental y su efecto en la exhibición de comportamientos estereotipados en jaguares (*Panthera onca*) del Parque Zoológico “Yaguar Xoo”, Oaxaca. **Acta Zool. Mex.**, Xalapa, v. 28, n. 2, p. 365-377, Ago.2012.

CASTRO, C. S. S. Pesquisa com primatas em ambiente natural: técnicas para coleta de dados ecológicos e comportamentais. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA PROGRESSO DA CIÊNCIA. 62., Natal. **Anais...Natal**, RN: SBPC, 2010. 26-30 jul.2010.

CASTRO, L. S. **Influências do enriquecimento ambiental no comportamento e nível de cortisol em felídeos silvestres.** 2009. 110f. Tese (Mestrado em Saúde Animal), Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

CASTRO, M.; MOREIRA, A. C. Análise crítica do cortisol salivar a avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 47, n. 4, p.358-367 ago. 2003.

CARNIATTO, C. H.O.; BABÁ, A. Y.; ROSADO, F. R. Enriquecimento ambiental com felinos em cativeiro do parque do ingá. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6., Paraná. **Trabalho de Iniciação Científica...** Paraná: CESUMAR, 2009, 27-30 out. 2009

CATAPANI, M.L. **Comportamento de tamanduá-mirim, *Tamandua tetradactyla* (Linnaeus, 1758) (Pilosa, Myrmecophagidae) em condições de cativeiro:** implicações ao bem-estar. 2014. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

CHIQUITELLI NETO, M. et al. Avaliação do bem-estar de um bugio (*Alouatta caraya*) cativo durante enriquecimento social e ambiental: indicadores comportamentais. **Rev. Etol.**, São Paulo, v.10, n. 1, p. 12-20, 2011.

DANTZER, R. Behavioural physiological and functional aspects of stereotypedbehaviour. A review and a reinterpretation. **J. Anim. Sci.**,Champaign, v. 62, n. 6, p. 1776-1782, June 1986.

FABRICE, D. M. D.; FÉLIX, G. M. D.; HASSEN, R. M. D. Neurobiología del estrés. **Rev. Chil. Neuro-Psiquiat.**, Chile, v. 48, n. 4, p. 307-318, 2010. Disponível em: <www.sonepsyn.cl>. Acesso em: 20. ago.2016

FERRARI, R. C. L.; COMELLI, A.B.A.; SCHMIEGELOW, J. M. M. Estudo do comportamento de lontra longicaudis (olfer 1818) cativo, mediante estímulos de enriquecimento ambiental. **Rev. Ceciliana**, Santa Catarina, v. 3, n. 2, p. 40-43, Dez. 2011.

FREITAS, T. H. P.; SOUZA, D. A. F. Systemic corticosteroids in dermatological practice. Part I – Main adverse effects. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 1, p. 63-70, 2007.

FURTADO, M. **O uso de ferramentas como enriquecimento ambiental para macacos – prego (cebus apela) cativos**. 2006.77 f. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FURTADO, O. M. **Medidas de metabólitos de cortisol em macacos-prego (Gênero Sapajus): análise comparativa entre populações para investigação de fatores estressores**. 2012. 113 f. Tese (Doutorado em Psicologia Experimental) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

GARCIA, F. L. Etologia: uma definição dos objetivos. **Semina**, Londrina, v.1, n.2, jul./dez. 1978.

GARRIGUES, P. J. M. et al. 1982. On behavioural similarities between animal and human stereotypies. **J. Appl. Anim. Ethol.**,[S.l], v. 9, n. 2, p. 197-198, 1982.

GUYTON, A. C.; JOHN, E.; HALL, P. H. D. (Hormônios adrenocorticais). In: GUYTON, A. C.; JOHN, E. HALL, P. H. D. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. cap. 77, p. 969-983.

GÜRTLER, H.; KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Acribia, 1987.

HASHIMOTO, C.Y. **Comportamento em cativeiro e teste da eficácia de técnicas de enriquecimento ambiental para jaguatiricas (*Leopardus pardalis*)**. 2008. 141 f. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental)- Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

JAPYASSÚ, H. F; MANAGE, J. Plasticity, stereotypy, intra-individual variability and personality: Handle with care. **Behavioural Processes**. v.109, p.40-47, 2014.

LESSA, M. A. A. **Bem- estar em cativeiro: amnalise e planejamento da ocupação do tempo em macacos-prego (cebus apella)**. 2008. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2008.

MANNO, M. C. et al. Efeito da temperatura ambiental sobre o desempenho de suínos dos 15 aos 30 kg. **R. Bras. Zootec.**, Minas Gerais, v. 34, n. 6, p.1963-1970, 2005.

MARGIS, R. et al. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Psiquiatr. rev.**, Rio Grande do Sul, v. 25, supl., p. 65-74, abril 2003.

MANSON. et al. Captivity effects on wide-ranging carnivores. **Nature.**, Londres, v.452, p.473, out.2003

MASON, G. J.; LATHAM, N. R. Can't stop, won't stop: is stereotypy a reliable animal welfare indicator? **Anim. Welf.**, Inglaterra, v. 13, p.s57-69, 2004.

MONTANHA, J. C.; SILVA, S. L.; BOERA, V. Comparação das concentrações de cortisol salivar em onças-pintadas em cativeiro com diferença de exposição ao público. **Ciênc. Rural.**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p.1745-1751, set. 2009.

MUHLE, C. B.; BICCA-MARQUES, J. C. Influência do enriquecimento ambiental sobre o comportamento de bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) em cativeiro. In: FERRARI, S.F.; RÍMOLI, J. (Eds.). **A Primatologia no Brasil – 9**. Aracaju: Sociedade Brasileira de Primatologia, Biologia Geral e Experimental – UFS, 2008. p. 38-48.

OLIVEIRA, C. G. L. **Estresse e complexidade comportamental em macacos-prego-de-peito-amarelo (*Sapajus xanthosernus*)**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, Ba, 2014.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD MUNDIAL.OIE. **Código Sanitário para los Animales Terrestres**. [S.l.: s.n], 23 June 2016. v.1.

PEREIRA, L. B.; DE ALMEIDA, A. R.V.; SOARES, A. F. **Enriquecimento ambiental para animais que vivem em cativeiros**. Recife, 2009. Disponível em:<<http://www.eventosufrpe.com.br/jepeX2009/cd/resumos/R0763-2.pdf>>. Acesso em: 28 jul. 2016 .

PEREIRA, R. L. A.; OLIVEIRA, M. A. B. Etograma do *Eira barbara* (Carnivora:Mustelidae) em cativeiro. **Rev. Etol.**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 45-57, 2010.

PIZARRO, C. F.; TROSTER, E. J. Função adrenal na sepse e choque séptico. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 5, p. 3, 2007.

PIZZUTTO, C. et al. Bem-estar no cativeiro: um desafio a ser vencido. **Revista mv&z**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 6-17, 2013.

PIZZUTTO, C. S.; SGAI, M. G. F. G.; GUIMARÃES, M. A. B.V. O enriquecimento ambiental como ferramenta para melhorar a reprodução e o bem-estar de animais cativos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v. 33, n. 3, p.129-138, jul./set. 2009.

RESENDE, B. D.; OTTONI, E. B. Brincadeira e aprendizagem do uso de ferramentas em macacosprego (*Cebus apella*). **Estud. Psicol.**, Campinas, v. 7, n. 1, p.173-180, 2002.

RODRIGUES, L. S. F. et al. Comportamento e distribuição de um grupo de macaco-prego (*Cebus apella* Linnaeus, 1758) mantido em cativeiro. **CES Revista**, Juiz de Fora, v. 24, 2010.

RODRIGUES, B. **Etologia aplicada ao enriquecimento ambiental para macacos-prego (*Sapajus spp.*) semi-cativos**. 2014. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Psicologia da Universidade, São Paulo, 2014.

SANTOS, L. B.; REIS, N.R. Behavioral study of *Cebus nigritus* (Goldfuss, 1809) (Primates, Cebidae) in captivity. **Semina Ciênc. Biol. Saúde**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 175-184, jul./dez. 2009.

SHEPHERDSON, D. J. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In: SHEPHERDSON, D. J.; MELLEEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Orgs.). **Second Nature: environmental enrichment for captive animals**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1998. p. 1-12.

SILVA, R. O. **Enriquecimento Ambiental cognitivo e sensorial para onças-pintadas (*Panthera onca*) sedentária em cativeiro induzindo redução de níveis de cortisol promovendo bem-estar**. 2011. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Comportamental) - Instituto de Psicologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

SOUTO, A. S. **Etologia: princípios e reflexões**. 3.ed. Recife: Editora Universitária da UFPE, 2005. p. 46-50.

STEINER, D.; ALBERTON, L. R.; MARTINS, W. D. C. Aerofagia em equinos: revisão de literatura. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 16, n. 2, p. 185-190, jul./dez. 2013.

UMEDA, T. et al. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. **Clin. Chim. Acta.**, Amsterdam, v. 110, n.2-3, p. 245- 253, Mar. 1981.

URIBE-VELÁSQUEZ, L. F. et al. Concentração plasmática de cortisol, hormônios tireoideanos, metabólitos lipídicos e temperatura corporal de cabras Alpina submetidas ao estresse térmico. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 27, n. 6, p.1123-1130, 1998.

VASCONCELLOS, A. S. et al. Environmental enrichment for maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*):group and individual effects. **Anim. Welf.**, Inglaterra, v.18, n. 3, p. 289-300, 2009.

WEBSTER, A. Farm animal welfare: the Five Freedoms and the Free Market. **Vet. J.**, Londres, n.161. p. 229-237, 2001. Disponível em: <<http://www.idealibrary.com>>. Acesso em: 10. agos.2016

WIEPKEMA, P. R. On the identity and significance of disturbed behaviour invertebrates. In: BESSEI, W. (Ed.). **Disturbed Behaviour in Farm Animals**. Stuttgart: VerlagEugen Ulmer, 1981. p. 7-17.

YOUNG, R. J. **Environmental enrichment for captive animals**. Oxford: Blackwell Science, 2003. 228 p.

RESPOSTA NEUROENDÓCRINA AO ESTRESSE: LIBERAÇÃO DO CORTISOL.
Vignette4. Disponível em:
<<http://vignette4.wikia.nocookie.net/infomedica/images/e/e9/Glico3.jpg/revision/latest?cb=20101202225605&path-prefix=pt-br>> . Acesso em:10. agos.2016