



Universidade de Brasília - UnB

Instituto de Psicologia - IP

Departamento de Processos Psicológicos Básicos – PPB

Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

Rodrigo Oliveira Silva

**ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COGNITIVO E SENSORIAL
PARA ONÇAS-PINTADAS (*Panthera onca*) SEDENTÁRIAS
EM CATIVEIRO INDUZINDO REDUÇÃO DE NÍVEIS DE
CORTISOL PROMOVENDO BEM-ESTAR**

Brasília, DF – agosto de 2011



Universidade de Brasília - UnB
Instituto de Psicologia - IP
Departamento de Processos Psicológicos Básicos – PPB
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

Rodrigo Oliveira Silva

**ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COGNITIVO E SENSORIAL
PARA ONÇAS-PINTADAS (*Panthera onca*) SEDENTÁRIAS
EM CATIVEIRO INDUZINDO REDUÇÃO DE NÍVEIS DE
CORTISOL PROMOVENDO BEM-ESTAR**

Dissertação para a conclusão do Curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento do Departamento de Processos Psicológicos Básicos do Instituto de Psicologia da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Leme da Silva

Brasília, DF – agosto de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Rodrigo Oliveira

Enriquecimento Ambiental cognitivo e sensorial para onças-pintadas (*Panthera onca*) sedentárias em cativeiro induzindo redução de níveis de cortisol promovendo bem-estar. Orientação do Prof. Dr. Sérgio Leme da Silva. – Brasília, 2011. 58 p.:

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento/Departamento de Processos Psicológicos Básicos - PPB/Instituto de Psicologia - IP/Universidade de Brasília - Unb, 2011.

1. *Panthera onca*. 2. Enriquecimento Ambiental. 3. Cortisol. 4. Comportamento. 5. Plasticidade Neural.

I. Da Silva, S. L.

Nome do Autor: Rodrigo Oliveira Silva

Título da Dissertação para a conclusão do Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências do Comportamento: Enriquecimento Ambiental cognitivo e sensorial para onças-pintadas (*Panthera onca*) sedentárias em cativeiro induzindo redução de níveis de cortisol promovendo bem-estar.

Ano: 2011

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Nome: Rodrigo Oliveira Silva

Endereço: Quadra 103 Lote 08 Bloco A apartamento 604 – Águas Claras

CEP – 72030-100 – Brasília/DF - Brasil

Telefone: 8421-8601

e-mail: rodrigo_oliveira_silva@hotmail.com

Universidade de Brasília - UnB
Instituto de Psicologia - IP
Departamento de Processos Psicológicos Básicos – PPB
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

COMISSÃO AVALIADORA

Prof. Dr. Sérgio Leme da Silva – IP/UnB - Presidente

Prof. Dr. Francisco Dyonísio Cardoso Mendes - IP/UnB

Prof. Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal - FAV/UnB

Prof. Dr. Antônio Pedro de Mello Cruz – IP/UnB (Suplente)

*Ter conhecimento e consciência a respeito de outras espécies
nos faz responsáveis da interação que teremos com elas.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Força Maior que me permitiu a vida e tudo que até hoje consegui.

À minha família, mãe, pai, avós, tios, primos, que sempre me incentivaram a buscar mais e foram exemplo em cada etapa que percorri.

Mariana, querida companheira, agradeço o apoio em cada instante de desafio. Sempre doce e sensata me inspirando e compreendendo as dificuldades que, juntos, superamos.

Meus amigos que me acompanham e me querem bem, agradeço por todos os momentos que passamos juntos.

Ao professor e amigo Sérgio Leme que com paciência e dedicação me orientou à melhor forma de concluirmos este trabalho.

Agradeço ao professor Dida que me transmitiu a experiência da vida acadêmica em ótimos momentos de pesquisa e convívio.

Aos professores do Instituto de Psicologia que receberam tão bem um Médico Veterinário para compor seu Programa de Pós-Graduação.

A todos os integrantes do Projeto de Extensão Bichos-Vivos os quais participaram ativamente desta pesquisa. Pedro Ayello e Gustavo Marcolino que acompanharam todo o trabalho, desde a linha de base. A todos que sempre se disponibilizaram, abrindo mão de fins de semana e o conforto de casa, Felype, Yumi, Tainã, Adriano, Camilla, Renner. E a todos que participaram de alguma maneira, Juliana Pigossi, Murilo, Fernanda, Juliana, Lara, Mayara.

Agradeço à Ong NEX que nos abriu as portas para a realização desta pesquisa, a Júlio Montanha que me forneceu a experiência com o tema estudado e a Rogério, um exemplo de dedicação e carinho aos animais, que participou ativamente desta pesquisa.

À sempre eficiente Joyce Novaes e a todos os funcionários do PPB, pelo apoio em todos os momentos que foram necessários.

A todas instituições, (Baleia Jubarte, Vale do Rio Doce, Projeto Tamar e Ong IEESC) e seus colaboradores, que apoiaram nosso trabalho e contribuíram com o estágio em docência.

Agradeço a todos os alunos que conheci e que me motivaram ainda mais a buscar a docência e a vida acadêmica.

Ao Hospital Veterinário da UnB que se mostrou disponível à pesquisa científica disponibilizando seus equipamentos e laboratórios.

Obrigado a todos aqueles que se tornaram amigos neste últimas anos e a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, com o sucesso deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Lista de Abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xii
Abstract.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1

LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

1 – Bem-Estar e o Enriquecimento Ambiental.....	3
2 – Estresse e Cortisol.....	5
3 – A Observação e as Categorias do Comportamento.....	8
4 – Biologia de Grandes Felídeos.....	10
4.1 - Carnivora.....	10
4.2 - Felidae.....	12
4.3 - Onça-Pintada.....	13
5 – Plasticidade Cerebral.....	14
6 – Modelos Animais de Neuropatologias.....	17

OBJETIVOS

Objetivo Geral.....	20
Objetivos Específicos.....	20

METODOLOGIA

1 – Sujeitos.....	21
2 – Técnica de Observação.....	22
3 – Técnica de Medida de Cortisol.....	25
4 – Técnicas de Enriquecimento Ambiental.....	27
4.1 – Tronco-Surpresa e Caixa-Surpresa.....	28
4.2 – Trilha de Cheiro.....	28
4.3 – Enriquecimento Social.....	28
5 – Delineamento Experimental.....	30
6 – Análise dos dados.....	31

RESULTADOS

1 – Efeitos da Coleta sobre o Comportamento.....	32
2 – Homogeneidade das Medidas em cada Etapa.....	33
3 – Análise do Sedentarismo.....	33
4 – Cortisol e Comportamentos.....	34
5 – Análise da Influência da Visitação nos Níveis de Cortisol.....	36
6 – Análise do Nível de Cortisol entre as Etapas do EA.....	37
7 – Análise do Enriquecimento Ambiental e Visitação.....	38
8 – Enriquecimento Ambiental e Medidas Comportamentais.....	38

DISCUSSÃO.....	42
-----------------------	-----------

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

APÊNDICE I

Etograma

APÊNDICE II

Carta de Aprovação do Comitê de Ética de Uso Animal

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos Sujeitos.....	21
Tabela 2 – Cronograma de Enriquecimento Ambiental.....	29
Tabela 3 – Diferença entre Médias Observadas entre dias consecutivos de cada Etapa do EA....	33
Tabela 4 – Padrão de Atividade dos Sujeitos Observados.....	34
Tabela 5 – Relação de Medidas Comportamentais e Classe Etária.....	35
Tabela 6 – Medidas Comportamentais com diferença Significativa entre as Etapas de EA.....	39
Tabela 7 – Medidas Comportamentais PLAY, PLAY SOCIAL e PLAY GERAL do Sujeito CHICO....	40
Tabela 8 – Coeficiente de Correlação de Pearson entre Cortisol e Medidas Comportamentais.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do Eixo HPA.....	6
Figura 2 – Descrição das Categorias de Comportamento.....	23
Figura 3 – Subcategorias de Comportamento Social.....	23
Figura 4 - Esquema de quadrantes de um recinto.....	24
Figura 5 - Mastigador feito com mangueira amarrado a uma corda.....	26
Figura 6 - Coletor com palito, canudo e gaze.....	27
Figura 7 - Fotos do Tronco Surpresa.....	28
Figura 8 - Foto do Tronco Surpresa.....	29
Figura 9 - Etapas de Coleta de Dados “Antes”, “Durante” e “Após EA”, e Aplicação do EA.....	30
Figura 10 - Médias de Medidas Comportamentais Pré Coleta e Pós Coleta.....	32
Figura 11 - Medidas Comportamentais ANORMAL e CORTISOL ao longo do dia (Alvorada, Meio dia e Crepúsculo).....	34
Figura 12 - Medidas Etográficas ao longo do dia (Alvorada, Meio dia e Crepúsculo).....	35
Figura 13 - Níveis de cortisol entre as diferentes Etapas de EA.....	37
Figura 14 - Grupos COM VISITAÇÃO e SEM VISITAÇÃO em cada Etapa do EA.....	38
Figura 15 - Medidas Comportamentais PLAY, PLAY SOCIAL e PLAY GERAL do Sujeito CHICO..	40

LISTA DE ABREVIATURAS

SN.....Sistema Nervoso

EA.....Enriquecimento Ambiental

ACTH.....Hormônio Adrenocorticotrófico

HPA.....Hipófise-Pituitária-Adrenal

CRF.....Fator Liberador de Corticotropina

RIA.....Radio Imunoensaio

BANTEA.....Etapa Bem Antes ao Enriquecimento Ambiental

IMEA.....Etapa Imediatamente ao Enriquecimento Ambiental

BAPOEA.....Etapa Bem Após o Enriquecimento Ambiental

ANOVA.....Análise de Variância

EP.....Erro Padrão

SV.....Sem Visitação

PV.....Pouca Visitação

MV.....Muita Visitação

Resumo

O estudo do efeito da aplicação de Enriquecimento Ambiental e avaliações dos níveis de cortisol em um indivíduo vêm subsidiando o conhecimento acerca do desenvolvimento ontogenético, da plasticidade neural e das condições de bem-estar de animais mantidos em cativeiro. Neste estudo foram observados os efeitos da aplicação de Enriquecimento Ambiental em sete onças-pintadas (*Panthera onca*), de hábitos sedentários, mantidas em cativeiro. Foram aferidas as concentrações de cortisol presente na saliva dos animais como parâmetro fisiológico. A coleta salivar não causou alteração comportamental nos animais, indicando a eficácia deste método como alternativa não-invasiva. Os resultados obtidos indicam que houve redução significativa dos níveis de cortisol com a aplicação do Enriquecimento Ambiental, o que reflete em uma diminuição do estresse e aumento da qualidade de vida. A presença de muitos visitantes se associou a níveis elevados de cortisol, por outro lado este efeito foi diminuído com a aplicação do Enriquecimento Ambiental. O presente estudo gerou informações relevantes para a melhora da condição de bem-estar de animais em cativeiro, além de ser subsídio como modelo animal para a discussão da aplicação de Enriquecimento Ambiental dirigida à pacientes com doenças neurodegenerativas ou lesões cerebrais.

Palavras-chave:

1. *Panthera onca*. 2. Enriquecimento Ambiental. 3. Cortisol. 4. Comportamento. 5. Plasticidade Neural.

Abstract

The study of effect of Environmental Enrichment application and assessment of cortisol levels in a individual have been subsidizing the knowledge about ontogenetic development, neural plasticity and welfare conditions of animals kept in captivity. In this study the effects of application of Environmental Enrichment in seven jaguars (*Panthera onca*) kept in captivity with sedentaries habits was observed. The concentrations of cortisol in the saliva of animals were measured as a physiological parameter. The saliva collection didn't cause behavioral changes in animals, indicating the effectiveness of this method as a non-invasive alternative. Results indicate that there was a significant reduction of cortisol levels with the application of Environmental Enrichment, which reflects in decreased stress and improved quality of life. The presence of many visitors was associated with elevated levels of cortisol. On the other hand this effect was decreased with the application of Environmental Enrichment. The present study generated relevant information to improve well-being conditions of animals kept in captivity, in addition to allowance as an animal model for discussing direct application of Environmental Enrichment to patients with neurodegenerative diseases or brain damage.

Keywords:

1. *Panthera onca*. 2. Environmental Enrichment. 3. Cortisol. 4. Behaviour. 5. Neural Plasticity.

INTRODUÇÃO

A adaptação de um animal ao ambiente em que vive depende de algumas características e habilidades que permitirão sua sobrevivência, por meio da obtenção de recursos e esquivas de intempéries, de acordo com Charles Robert Darwin, em sua obra *A Origem das Espécies* (Darwin, 1860). Nesse sentido, o Sistema Nervoso (SN) é o responsável por adequar as respostas do organismo aos estímulos recebidos pelo ambiente, definindo o êxito ou fracasso do animal na permanência no habitat, que envolve obtenção de alimento, conquista de um parceiro sexual, fuga de um predador e transposição de problemas (Dethier, 1988; Da Silva, Coelho, & Alchieri, 2007).

A resposta do SN ao estímulo depende de fatores filogenéticos e ontogenéticos. Entre as espécies animais, diferenças taxonômicas podem determinar tipos diferentes de SN (Dethier, 1988; Da Silva *et al.*, 2007) que aliados a fatores genéticos em interação com o ambiente no qual foram gerados, determinam a manifestação responsiva específica ao estímulo proveniente do ambiente.

A formação e desenvolvimento neuronal que constituem a especificidade de um sistema nervoso dependem de estímulos que ocorrem em fases específicas da vida do animal, como no imprinting (Lorenz, 1958) e em outros momentos do decorrer de seu desenvolvimento. Cruz e Landeira-Fernandez (2007) citam as observações de Donald Olding Hebb (1940) e posteriores estudos de Mark Rosenzweig, David Hubel e Torsten Wiesel na década de 1960 acerca desta questão. Estes autores observaram que os animais apresentam correlação positiva entre fatores neurais (densidade, peso do cérebro e número de sinapses) e a quantidade e variedade de desafios ambientais em que eram criados, e sugeriram conseqüentemente, que a complexidade do desenvolvimento do Sistema Nervoso Central aumenta proporcionalmente à quantidade e complexidade das situações ambientais que o estimulam.

Em animais mantidos em cativeiro, o desafio ambiental é limitado ao recinto que o abriga, podendo comprometer o seu desenvolvimento neural. O confinamento pode gerar alterações tanto anatômicas quanto fisiológicas, uma vez que o organismo não recebe as condições necessárias para seu desenvolvimento (Vasconcelos, 2009). Estes animais em cativeiro por vezes expressam comportamentos anormais, que não correspondem ao repertório comportamental

relatado da espécie em vida livre, o que reflete uma interferência em seu bem-estar em decorrência da limitação dos ambientes de confinamento, que não proporcionam a eles as mesmas condições de seu habitat natural (Andersen, 2004 citado por Pereira, 2009), gerando estresse.

O termo estresse denota o estado gerado pela percepção e interpretação de estímulos no hipocampo, provocando uma sequência de alterações fisiológicas e comportamentais que levam o organismo a despender energia na tentativa da manutenção do equilíbrio alostático (Selie, 1936). Nesse processo, os níveis plasmáticos de alguns hormônios, como o cortisol, refletem a resposta do animal às condições estressoras (Joca, Padovan, & Guimarães, 2003).

Para amenizar o efeito dos fatores de estresse do confinamento e auxiliar o desenvolvimento neural do animal, há o recurso do Enriquecimento Ambiental (Vasconcelos, 2009; Castro, 2009; Da Silva *et al.*, 2007) que consiste em um conjunto de atividades que tem como finalidade atender às necessidades etológicas e psicológicas dos animais, proporcionando modificações nos recintos dos sujeitos, ou em suas rotinas (Gonçalves *et al.*, 2010).

Os níveis plasmáticos de alguns hormônios, como o cortisol, refletem a resposta do animal a condições estressoras (Joca *et al.*, 2003). Determinadas condições crônicas de estresse podem favorecer o desenvolvimento de doenças e distúrbios neurológicos (Marcuzzo, 2006).

O ambiente limitado do recinto e a supressão de desafios para o animal em cativeiro, com a conseqüente não estimulação de seu Sistema Nervoso, pode acarretar-lhe um menor adensamento neural, menor capacidade cognitiva, menor agilidade de resposta a um desafio quando comparado a animais que foram estimulados em ambientes enriquecidos (Da Silva *et al.*, 2007). O estudo desta situação de cativeiro além de gerar informações relevantes que acarretem na melhora da condição de bem-estar destes animais, pode servir de modelo a distúrbios humanos, como a Doença de Alzheimer ou a Doença de Parkinson, onde a privação de desafios pode ter influência na plasticidade neuronal do indivíduo.

O presente trabalho estudou o comportamento de alguns felídeos em cativeiro, sua relação com níveis salivares de cortisol e a influência da introdução de Enriquecimentos Ambientais em seus recintos.

LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

1 – BEM-ESTAR E O ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

O bem estar animal refere-se, basicamente, à qualidade de vida dos animais e a como estes a percebem (Baptista, Da Silva, & Oliveira, 2009; Gonçalves, Da Silva, Tavares, Grosmann, Cipreste, & Di Castro, 2010). Segundo Silva (2008), a avaliação do bem-estar animal pode envolver aspectos ligados às instalações, ao manejo, ao ambiente e, principalmente, à resposta do animal ao meio no dia-a-dia, ou seja, a resposta comportamental frente aos regimes de criação.

Ambientes com estimulação, física ou social, podem ter grande influência na capacidade cognitiva (resolução de problemas), na diminuição de estereotípias e na capacidade de recuperação diante de eventos desafiadores (Rosenzweig & Bennet, 1996). O estudo da interação com objetos e seu efeito no desenvolvimento ontogenético da aprendizagem e do comportamento social e suas repercussões na neuro-anatomia e neurofisiologia são objeto de estudo da pesquisa experimental em psicologia (Renner & Rosenzweig, 1986; Da Silva *et al.*, 2007).

O ambiente proporcionado ao animal em cativeiro é menos complexo do que o seu ambiente natural. Esta baixa complexidade é associada à alta previsibilidade das situações, o que gera uma condição tediosa e estressante para os indivíduos, (Gonçalves *et al.*, 2010; Wiepkema & Koolhaas, 1993 citado por Bassett & Buchanan-Smith, 2007), que pode ser atenuada pelos estímulos ambientais adequados denominados Enriquecimento Ambiental (EA).

O EA pode ser definido como um conjunto de atividades que visam atender às necessidades etológicas e psicológicas dos animais, proporcionando modificações no recinto dos sujeitos ou em suas rotinas (Gonçalves *et al.*, 2010).

Deve-se considerar o repertório comportamental da espécie em questão para aplicação do EA. Pereira, De Almeida, & Soares (2009), Gonçalves *et al.* (2010) e Bosso (2011), sugerem que as técnicas podem ser divididas em cinco grupos:

a) Físico: Consiste na introdução de aparatos que deixem os recintos semelhantes ao habitat de cada uma das espécies. Para tal podem ser inseridas vegetações, diferentes substratos (como terra, areia, grama ou folhas secas), estruturas para se pendurar ou balançar (como cordas, troncos ou mangueiras de bombeiro) entre outros. b) Sensorial: Consiste na estimulação dos sentidos dos

animais. Para o olfato a introdução de odores (plantas, fezes de outros animais, etc), para a audição a exposição a sons de vocalização, para o paladar a avaliação de alimentos e para o tato a exposição a texturas. c) Cognitivo: Consiste em oferecer um problema para que o animal solucione. Como exemplo há a caixa-surpresa ou tronco-surpresa onde é colocado o alimento dentro de um objeto (caixa ou tronco) que exigirá do animal uma manipulação para obtenção do prêmio. d) Social: Consiste na interação intra-específica ou inter-específica que pode ser proporcionada dentro do recinto. Os animais são colocados a interagir com outros animais em seu ambiente de cativeiro. e) Alimentar: Consiste na manipulação da forma que é oferecido o alimento, bem como alterações da dieta e também dos horários e frequência de alimentação.

É interessante observar que um EA pode se enquadrar em mais de uma categoria como no caso do tronco-surpresa, que além de cognitivo (por representar um problema a ser solucionado) é também um enriquecimento alimentar, pois modifica a maneira de oferecer a ração.

A variação no tempo e local de oferta do alimento estimula o forrageamento e simula uma situação de vida livre, remetendo a comportamentos exploratórios, o que aumenta o bem-estar dos animais em cativeiro (Bassett & Buchanan-Smith, 2007).

Segundo Vasconcelos (2009), os trabalhos atuais com EA se baseiam em três grandes diferenças entre o ambiente natural e de cativeiro: a previsibilidade do ambiente de cativeiro, sua falta de complexidade e o tempo reduzido que o animal cativo gasta para se alimentar ou procurar por comida. O objetivo da intervenção seria, portanto: a redução do comportamento anormal e aumento da atividade de comportamento exploratório, das brincadeiras, e da expressão de comportamentos naturais (Gonçalves *et al.*, 2010).

2 - ESTRESSE E CORTISOL

O termo estresse foi adaptado da física para a saúde por Hans Selye (1936) para designar a resposta geral e inespecífica de um organismo a um estressor, ou situação estressante, que decorre no deslocamento do aporte energético deste organismo na tentativa de se manter o equilíbrio alostático (Joca *et al.*, 2003, Margis, Cosner, & Silveira, 2003; Koob, 2009).

Para animais mantidos em cativeiro o primeiro fator estressante é a impossibilidade de expressar comportamentos típicos da espécie por limitações intrínsecas do recinto, outro fator é a restrição ou eliminação da escolha e controle do meio, devido ao contato forçado com o ser humano, da restrição alimentar e da restrição social (Gonçalves *et al.*, 2010).

A manifestação que o animal apresentará à situação estressora depende das características do meio e de cada indivíduo, havendo respostas diferentes entre animais de mesma espécie para o mesmo estímulo ambiental. Porém, de uma maneira geral, a resposta ao estressor compreende aspectos cognitivos, comportamentais e fisiológicos que têm como objetivo o processamento mais rápido da informação disponível, o que possibilita maior agilidade na busca de soluções e na escolha da conduta adequada ao momento, permitindo que o animal aja de maneira mais rápida e vigorosa (Joca *et al.*, 2003; Margis *et al.*, 2003). É um processo (e não uma reação única) em que uma longa cadeia de reações bioquímicas é ativada no contato do organismo com o estressor (Dos Reis, 2009).

Em uma análise evolucionista, este mecanismo de estresse tem raízes nas reações de adaptação dos animais, ocorrendo em resposta aos desafios no meio ambiente. Quando um animal se depara com uma ameaça ao seu bem-estar, à sua integridade física, ou até mesmo à sua sobrevivência, começa uma cadeia de reações a partir do hipotálamo que alteram todo o organismo (Margis *et al.*, 2003).

A resposta fisiológica ao estresse envolve a liberação de glicocorticóides pela glândula adrenal, em consequência à ativação do eixo Hipotálamo - Hipófise (Pituitária) - Adrenal (HPA). A ativação da glândula adrenal é desencadeada pela liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela Hipófise que é controlada, por sua vez, pela liberação do Fator Liberador de Corticotropina (CRF – Corticotropin Release Factor) pelo Hipotálamo (Koob, 2009; Rodrigues, Toniollo, Lopes, Cardilli, & Oliveira, 2009)(Figura 1).

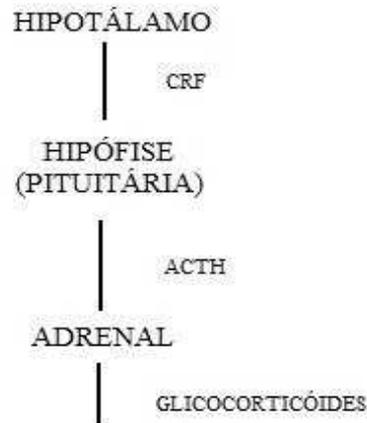


Figura 1. Esquema do Eixo HPA.
(Esquema adaptado de Koob, 2009 e Rodrigues *et al.*,2009)

A preparação do organismo para desafios fisiológicos ou ambientais envolve a produção de Glicocorticóides que são importantes para a consolidação da resposta ao estresse. Entretanto, a contínua liberação destes hormônios, decorrente de estresse crônico, pode tornar o eixo HPA hiper reativo e acarretar prejuízos ao animal (Joca *et al.*,2003).

Os principais glicocorticóides no reino animal são a corticosterona e o cortisol, que são produzidos pelas glândulas adrenais em sua porção cortical. Estes se caracterizam por serem hormônios esteróides sintetizados a partir do colesterol (Jericó, 1999). As glândulas adrenais, presentes em todos os animais vertebrados, sintetizam e liberam estes hormônios quando necessário, sendo que não são estocados nas células adrenais. O principal estímulo para a sua secreção é o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), ou corticotropina, produzido por células basófilas da Hipófise, que por sua vez são estimuladas pela secreção do CRH pelo Hipotálamo – Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (Rodrigues, 2009).

Concentrações séricas de hormônios como o cortisol são importantes biomarcadores de estresse (Contarteze, 2007), sendo que a concentração sanguínea deste hormônio aumenta em resposta a estímulos estressantes (Rodrigues, 2009).

O Cortisol é uma molécula de pequeno peso molecular (250-350 Da), assim como os outros esteróides adrenais, não é espécie específico, resistente ao calor e , portanto, estável à temperatura ambiente. Apresenta concentrações plasmáticas na ordem de nanomoles ou micromoles por litro, o que não exige ensaios muito sensíveis para detecção. Porém a semelhança estrutural com outros esteróides

exige anticorpos altamente específicos ou cromatografia prévia (Castro e Moreira, 2003).

Este hormônio circula no sangue ligado a proteínas transportadoras: transcortina, a principal transportadora de corticóides (CBG), e albumina. Apenas uma pequena fração (de 5 a 10%) se encontra na forma livre, sendo esta a fração biologicamente ativa (*idem*).

A maioria dos métodos utilizados para determinação do cortisol do plasma detecta o hormônio total (ligado e livre), porém a dosagem aferida na urina ou na saliva quantifica o cortisol livre. Os níveis de cortisol livre, tanto urinário quanto salivar, aumentam rapidamente quando as concentrações séricas do cortisol total atingem 25µg/dl (700nmol/L), excedendo a capacidade de ligação da transcortina (*idem*).

O cortisol salivar é um excelente índice da concentração de cortisol livre no plasma, pois sua medida independe das taxas de fluxo de saliva e das flutuações da transcortina (Laudat *et.al*, 1988). As amostras de saliva são obtidas por procedimentos simples, não invasivos e podem ser coletadas muitas vezes ao dia, permitindo a avaliação dinâmica da secreção de cortisol livre. Estas amostras de cortisol salivar são estáveis em temperatura ambiente por 1 semana e podem ser transportadas ao laboratório, até mesmo pelo correio, sem nenhuma perda da atividade do cortisol (Castro, 2009).

Segundo Gonçalves *et al.* (2010) o EA é uma ótima ferramenta terapêutica não invasiva para a questão do estresse e cortisol.

3 – A OBSERVAÇÃO E AS CATEGORIAS DO COMPORTAMENTO

Na observação científica do comportamento de um animal é necessário haver um planejamento que defina a forma de registro, métodos de quantificação e análise das informações (Freitas & Nishida, 2006).

Nesse sentido, não é apropriado utilizar descrições cujas consequências não possam ser atestadas como aconteceria em “chamar o filhote”. Neste caso o mais apropriado seria a descrição “vocalizar”, “miar”, “ladrar” (idem). A descrição deve ser influenciada o mínimo possível por aspectos subjetivos, para que as informações possam ser quantificadas e apresentem-se, por si só, suficientes para análise de qualquer um que se interesse em acessá-las.

Traçado o objetivo da pesquisa, são definidas categorias de comportamento que significam a padronização das variáveis comportamentais. As manifestações comportamentais dos animais são observadas e traduzidas pelo pesquisador a medidas comportamentais quantificáveis, reduzidas a algumas categorias pré-definidas para possibilitar a análise e subsidiar o estudo em questão. Se o animal estiver, por exemplo, urinando ou defecando, e para o estudo esta ação importar apenas como a execução de um comportamento fisiológico, o registro seria reduzido a “comportamento fisiológico” (Freitas & Nishida, 2006).

A definição das categorias comportamentais deve oferecer confiabilidade suficiente para que erros experimentais não ocorram, como diferenças de interpretação (Freitas & Nishida, 2006) e para tal é muito importante a descrição detalhada dos itens componentes de cada categoria, diminuindo, senão eliminando, a ambiguidade de registro e interpretação.

Em pesquisas de observação do comportamento animal é necessário que, além de descrições detalhadas sobre cada ação, se esclareça sobre as relações de causa e efeito entre elas. Para que se possa generalizar o comportamento observado para todos os indivíduos da espécie, é preciso um método quantitativo para delinear os estudos experimentais, testar as hipóteses e tecer comparações e associações entre aspectos comportamentais de interesse na investigação. Nesse sentido, Freitas & Nishida (2006) apontam o etograma como um inventário ou uma lista de unidades comportamentais de uma determinada espécie acompanhado das respectivas descrições.

Cada item do catálogo é representado por um verbo ou por um verbo acompanhado de complementos verbais (p ex. perseguir andando). Após a

catalogação das unidades, o comportamento pode ser descrito sob o ponto de vista estrutural, em que se considera a aparência, a forma física ou os padrões motores do comportamento. Sob o ponto de vista da consequência, descreve-se o resultado que o comportamento do animal produziu sobre o ambiente ou sobre seus pares. Os autores colocam ainda que é fundamental que o etograma passe por uma fase de teste, tendo em vista que descrições dúbias podem induzir a erros que comprometem a qualidade do trabalho, e que um etograma eficiente deve servir como referência para outros cientistas que trabalhem com a mesma espécie (Freitas & Nishida, 2006).

Animais em cativeiro podem apresentar comportamentos que não compõem o repertório comportamental da espécie em vida livre. Uma estereotipia é um padrão de movimento executado repetidamente, de forma relativamente invariante e que não tenha função ou objetivo aparente, como o *pacing* (andar de um lado para outro sem propósito) (Gonçalves *et al.*, 2010), sendo bastante comuns em ambientes de cativeiro. Podem ser um indicativo comportamental de um baixo nível de bem-estar do animal (Castro, 2009). A impossibilidade de escapar de uma fonte estressora geralmente contribui para a estereotipia (Carlstead, 1996; Gonçalves *et al.*, 2010), que pode ser considerada patológica por consumir tempo e energia do animal (Mason, 1991 citado por Castro, 2009)

Paulk *et al.* (1997) afirmam que a limitação de espaço favorece a estereotipia, sendo que quanto menor a jaula ou recinto, maior será a manifestação estereotipada.

Castro (2009) cita alguns estudos que relacionam o ambiente dos recintos ao comportamento dos animais reclusos demonstrando que más condições das instalações favorecem a ocorrência de comportamentos anormais, alguns estereotipados, como: o *pacing* – comportamento estereotipado onde o animal utiliza o mesmo percurso dentro do recinto, repetidamente (De Rouck, Kitchener, Law, & Nelissen, 2005); lambe-se ou morder-se excessivamente (Lyons *et al.*, 1997; van den Bos, 1998); reingerir, regurgitar alimento, coprofagia (Lyons *et al.*, 1997); coçar-se, balançar a cabeça (van den Bos, 1998), apatia, esconder-se ou automutilar-se (Wielebnowske *et al.*, 2002).

Bassett & Buchanan-Smith (2007), em seu estudo sobre os efeitos da previsibilidade no bem-estar dos animais, sugeriu que uma alta previsibilidade nos ambientes de cativeiro dos animais, com baixa complexidade, afeta negativamente seu bem-estar, pela escassez de estímulos.

4 - BIOLOGIA DE GRANDES FELÍDEOS

4.1- CARNÍVORA

A Ordem taxonômica *Carnivora* caracteriza-se, entre outros atributos, pela anatomia especializada na alimentação por carne. Os carnívoros são um grupo fascinante que instiga a vontade de muitos pesquisadores para o estudo de sua evolução e desenvolvimento das estratégias convergentes e paralelas do grupo (Eisenberg, 1986). Carnívoro significa literalmente devorador de carne (do latim *carne* + *vorare*).

Konrad Gesner, pretendendo organizar uma grande coleção de “bestas” agrupou animais que comem carne em sua classificação, procedimento que Linnaeus também utilizou em suas classificações dando origem a ordem Ferae. O agrupamento de mamíferos que eram carnívoros foi refinado por Geoffroy Saint-Hilaire, Cuvier e Temminck. Eles inferiram relações entre espécies e grupos, primeiramente, com base em similaridades morfológicas na dentição (Gittleman, 1989).

Muito do ímpeto de classificar carnívoros resultou dos curadores de grandes coleções que publicavam catálogos de suas coleções, para os quais era exigida a consideração dos arranjos taxonômicos para padronizar o que se observava nessas listas. Segundo Wozencraft (1989) as primeiras tentativas realmente abrangentes de se compreender e classificar os Carnívoros foram baseadas na natureza (peles e crânios) dos espécimes de museus.

Estudos do comportamento de carnívoros compõem parte da história e desenvolvimento da etologia, ecologia comportamental e outras disciplinas comportamentais. Gittleman (1989) afirma que abordagens mecanicistas da teoria da motivação foram guiadas pelo trabalho clássico de Leyausen (1973, 1979) na ontogenia e locomoção do modo de abate de presas praticado por felídeos e mangustos, bem como por observações de Eibl-Eibesfeldt's (1950, 1956) a respeito do *play* e do comportamento agonístico de texugos e doninhas na Europa. O estudo de Wilson (1975) sobre sociobiologia, que estimulou o desenvolvimento da ecologia comportamental, utiliza exemplos de lobos cinza (*Canis lupus*), cães selvagens africanos (*Lycaon pictus*), e leões africanos (*Panthera leo*) para ilustrar teorias relativas à seleção de parentesco e altruísmo recíproco. Pesquisas sobre o comportamento dos carnívoros pode continuar a oferecer estudos de casos

importantes para testar teorias e revelar melhor compreensão a respeito da variação comportamental e sistemas de acasalamento (idem).

Muitos autores concordam que a dispersão de comida (presas) é um dos maiores fatores ecológicos que influenciam a organização social dos carnívoros (Silveira, 2004). Animais mantidos em cativeiro têm sua dieta e forma de obtenção de alimento muito alterada em relação aos animais de vida livre, o que pode ocasionar alterações comportamentais. (Kleiman, 1984).

Os carnívoros formam um grupo de complexa organização social que é mantida através da comunicação entre seus indivíduos. Alguns dos sinais são transmitidos através da visão, outros com sons e muito frequentemente com odores (Gorman & Trowbridge, 1989).

Estímulos olfatórios permitem a comunicação em condições que não favorecem os outros sentidos, como à noite, ou na vegetação densa. Os odores podem ser depositados no ambiente como marcas e servem como histórico de comportamento e movimentação dos indivíduos. A persistência dos odores é uma característica importante da comunicação olfativa (Gorman & Trowbridge, 1989).

Quando a urina e fezes são depositadas, uma das dificuldades pode ser a distinção entre a excreção e a comunicação. Uma diferença é que a sinalização com urina e fezes envolve, geralmente, pequenas quantidades depositadas em locais específicos e certas vezes em objetos que são visitados frequentemente (Kleiman 1966). Há também comportamentos como os observados em grandes felídeos que levantam a cauda e direcionam a urina em jatos no local a ser demarcado.

Gittleman (1989) cita uma série de autores que mostram que diferente dos leões africanos (*Panthera leo*) que aparentemente defecam aleatoriamente, a maioria dos felídeos, como o lince (*Lynx rufus*), defecam ao longo de trilhas e em cima de objetos elevados. Em áreas centrais de seu território, gatos domésticos (*Felis catus*) e gatos selvagens escoceses (*Felis silvestris*) enterram seus dejetos, em outras regiões mantêm as fezes a mostra. Os machos de vários felídeos urinam em jatos demarcando rochas, cupinzeiros e outros focos de atenção.

Muitas espécies aparentam ser capazes de determinar e distinguir indivíduos através do olfato (Gorman & Trowbridge, 1989). Vários odores sociais consistem em complexos componentes que apresentam grande variedade de volatilidade. Considerando que a evaporação ocorrerá em diferentes taxas, não é absurdo sugerir que estas marcas contêm informação relativa ao tempo (Gorman & Trowbridge, 1989).

Alguns indivíduos em populações de gatos domésticos podem utilizar a mesma área, porém cada um em diferentes momentos (Leyhausen 1965 citado por Gittleman, 1989) . Sugere-se um esquema baseado na habilidade dos gatos de distinguir a idade da marcação, no qual uma marca recente indica um local ainda em uso e marcas antigas estão livres para serem remarcadas e reutilizadas (Leyhausen & Wolff, 1959; Leyhausen 1971, 1979 citado por Gittleman, 1989). Da mesma forma, lince evitam passar por trilhas que tenham sido recentemente demarcadas por urina (Eaton 1970 citado por Gittleman, 1989).

Os mamíferos em geral são animais sociais, alguns mais que outros, e regularmente interagem com membros de sua espécie, portanto um animal de estilo de vida solitário não significa que não apresente relações sociais (Leyhausen 1965 citado por Gittleman, 1989). Um animal carnívoro é considerado solitário se com exceção da corte e do momento parental, não apresentar comportamento cooperativo com outros indivíduos (Sandell, 1989).

4.2 - FELIDAE

A família *Felidae* engloba todos os felídeos vivos e descendem de um ancestral que viveu há 40 milhões de anos denominado *Dinictis* que tinha o tamanho aproximado ao do lince e assemelhava-se muito aos animais modernos, porém, apresentava seus dentes caninos muito mais desenvolvidos e seu cérebro muito menor em comparação ao seu corpo (Loxton, 1982).

Todos os felídeos são digitígrados, se apoiam sobre os dedos, com quatro dedos nos pés e cinco dedos nas mãos. Todos, com exceção do Guepardo (*Aciononyx jubatus*), possuem garras retráteis, que são preservadas quando não estão sendo utilizadas. Elas são expostas no instante do ataque para agarrar e prender a presa. As garras são mantidas limpas e afiadas com a raspagem de troncos de árvores, o que acarreta a necessidade de materiais de madeira nas instalações de cativeiro que mantêm esses animais (Gittleman, 1989)

A língua desses animais é extremamente áspera por possuir papilas filiformes direcionadas para o fundo da boca que são utilizadas em diversas tarefas como a retirada de pelos ou penas das presas, na raspagem da carne dos ossos dos animais abatidos além da higienização do próprio pelo, uma atividade de autocuidado que é realizada constantemente (Gittleman, 1989).

Com raras exceções, como a do Leão africano (*Panthera leo*), os felídeos selvagens apresentam hábitos de vida solitária (Sandell, 1989). Em geral, os animais desta família apresentam hábitos noturnos ou de pouca luz, o que não significa que não se observem indivíduos espreitando durante o dia. O leão (*Panthera leo*), o leopardo (*Panthera pardus*), a suçuarana (*Puma concolor*), e a maioria das pequenas espécies evitam entrar em fontes de água, apesar de fazê-lo quando necessário. Outras espécies como o tigre (*Panthera tigris*) e a onça (*Panthera onca*) têm o hábito de nadar e frequentemente abatem presas em lagos e rios.

4.3 - ONÇA-PINTADA

Panthera onca é o maior felídeo das Américas, e é o terceiro maior de toda a família *Felidae*. Ocorre do sul dos Estados Unidos da América até o norte da Patagônia. Em algumas áreas já foi extinta e em outras apresenta um número bem reduzido de indivíduos (Crandall, 1974; Leite, 2000).

É essencialmente um habitante da parte baixa de florestas, mas consegue saltar e escalar árvores com habilidade e agilidade. Na maioria das vezes caçam no solo e se aventuram frequentemente no ambiente aquático, onde abatem presas como tartarugas, capivaras, peixes e até mesmo crocodilianos.

Considerada uma excelente oportunista, possui uma dieta tão variada que estudos desta dieta revelam a abundância relativa de presas na natureza, já que essas são consumidas em proporções muito próximas às encontradas em sua área de dispersão (Emmons, 1987 citado por Leite, 2000).

Em cativeiro não costuma apresentar muita atividade, apresentando-se geralmente pouco responsivos. São relativamente sensíveis a temperaturas extremas, devendo haver local para se protegerem do frio em baixas temperaturas e lagoas artificiais para se refrescarem em épocas muito quentes. A ambientação com árvores e tocas são convenientes em seus recintos (Crandall, 1974).

5 - PLASTICIDADE CEREBRAL

O interesse científico pelo estudo do cérebro, bem como os avanços tecnológicos que permitem novas técnicas de investigação da atividade neural permitiram a constatação de que o cérebro não apenas comanda o comportamento, mas também o comportamento e a experiência ambiental alteram funcional e estruturalmente o cérebro (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007; Da Silva *et al.* 2007).

Esta característica de modelagem do Sistema Nervoso é denominada Plasticidade Cerebral (Marcuzzo, 2006). A alteração que ocorre pode estar associada à liberação de alguns hormônios em função de algum evento específico e podem variar de acordo com o estágio de vida do animal. Isto é ilustrado no achado no estudo de Shors, Falduto, & Leuner (2004) em que hormônios sexuais tiveram efeito notável na presença e densidade dos dendritos e que o tratamento com estradiol pode aumentar a densidade dos espinhos dendríticos da região basal e apical dos dendritos de células piramidais da área CA1 em ratas ovariectomizadas.

Donald Olding Hebb, com estudos realizados ao longo da década de 1940, mostrou que ratos criados em ambientes que possuíam objetos para interação eram menos ansiosos e aprendiam mais rapidamente que animais-controle mantidos em condições usuais de laboratório. Posteriormente, na década de 1960, dois grupos independentes, um liderado pelo cientista Mark Rosenzweig e o outro por David Hubel e Torsten Wiesel, coletaram as primeiras evidências neuroanatômicas e fisiológicas indicando que o cérebro era extremamente plástico e passível de mudanças funcionais e estruturais ao longo do seu desenvolvimento (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007).

Segundo Nikolaev, Kaczmarek, Zhu, Winblad, & Mohammed (2002), ratos apresentam consideráveis diferenças estruturais e bioquímicas em regiões encefálicas, principalmente no córtex, quando mantidos em ambientes “empobrecidos” em comparação a animais mantidos em ambientes enriquecidos. Em biotérios, a introdução de bolas, rampas, escadas, cubos e rodas disponibilizados aos animais por períodos variáveis, são formas de se enriquecer o ambiente, enquanto caixas “empobrecidas” ou caixas-padrão não apresentam qualquer objeto que lhes permita interação (Marcuzzo, 2006).

Hubel e Rosenzweig demonstraram que as diferenças comportamentais dos ratos expostos aos ambientes enriquecidos eram acompanhadas de aumentos do peso encefálico e maiores taxas metabólicas de acetilcolina (Cruz & Landeira-

Fernandez, 2007). A comparação entre animais mantidos agrupados em relação a animais isolados mostrou que havia aumento de 20% das ramificações dendríticas dos primeiros em relação aos segundos em estudo realizado por Greenough, Briones e Klintsova (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007). Técnicas de microscopia eletrônica demonstraram que o aumento das ramificações dendríticas e sinápticas é acompanhado de aumentos correspondentes em glias (principalmente astrócitos) e vasos sanguíneos (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007).

A relação da plasticidade do sistema nervoso com o estímulo ambiental também foi observada por meio da supressão sensorial em animais experimentais. Como citam Cruz & Landeira-Fernandez (2007), David Hubel e Torsten Wiesel mostraram que a oclusão de um olho de animais jovens no momento que eles abriam os olhos pela primeira vez, reduzira o número de células do córtex occipital que respondiam à estimulação daquele olho.

A experiência ambiental é capaz de alterar a estrutura e função do cérebro tanto favorecendo novas sinapses no tecido neural, o que facilita sua função, quanto inibindo ou incapacitando as sinapses, o que prejudica a função mediada por aquela estrutura (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007; Da Silva *et al.* 2007; Gonçalves *et al.*, 2010).

Os efeitos dos estímulos ambientais na plasticidade do Sistema Nervoso podem ser variados, podendo ser distintos dependendo da idade e do sexo do animal, com peso menor da última variável (Kolb, Gibb, & Gorny, 2003). Esta capacidade de se modificar em função da exigência ambiental é muito importante para a adaptação do animal, pois a consolidação de experiências em processos de aprendizagem e memória refletirá na habilidade de interagir e responder ao ambiente (Rosenzweig & Bennet, 1996). Estes autores ilustraram este fato com o experimento de levar alguns ratos de laboratório para explorar suas casas, como se fossem animais de estimação de seus filhos e em seguida, após alguns dias, levando-os de volta e percebendo que eles possuíam mais habilidade na resolução de problemas que os ratos que não saíram do laboratório.

A estampagem ou *imprinting*, descrita por Konrad Lorenz, representa parte da dinâmica da influência dos estímulos ambientais na determinação e desenvolvimento do Sistema Nervoso e conseqüentemente do comportamento (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007; Da Silva *et al.*, 2007).

Alguns experimentos nos quais foram identificadas mudanças causadas pelo EA, entre elas: aumento no número de sinapses e na densidade de espinhos

dendríticos na região CA1 do hipocampo de ratos em trabalhos de (Moser, Trommald, Andersen, 1994; Rampson, Tang, Goodhouse, Shimizu, Kyin, & Tsien, 2000; Nithianantharajah, Levis, & Murphy, 2004), aumento no comprimento total e no número de ramos dendríticos, além do aumento no número de espinhos dendríticos nos neurônios piramidais da área CA3 do hipocampo de ratos em ambientes enriquecidos (Briones, Klintsova, & Greenough, 2004; Johansson & Belichenko, 2002), aumento significativo na densidade de espinhos dendríticos nos neurônios piramidais do córtex somatossensorial (Johansson & Belichenko, 2001), aumento da ramificação dendrítica em experimento realizado por Yu-Yen, Giza, & Houda (2002) entre outras mudanças que surgiram a partir de comparações entre ambientes enriquecidos e não enriquecidos, como aumento de neurotrofinas no córtex cerebral, hipocampo e prosencéfalo basal de ratos (Ickes, Pham, Sanders, Albeck, Mohammed, & Granholm, 2000) e aumento de duas proteínas relacionadas com locais de sinapses, a sinaptofisina e a PSD-95, em diversas regiões como córtex pré-frontal, hipocampo, tálamo e hipotálamo (Nithianantharajah *et al.*, 2004), sugerindo que um maior número de contatos sinápticos excitatórios foram estabelecidos. Segundo Marcuzzo (2006), estes resultados podem indicar que a maior quantidade de informações e de ações a que os ratos foram submetidos, podem ter gerado maior demanda sináptica nos neurônios das regiões que participam dos estímulos relacionados aos enriquecimentos introduzidos no ambiente dos animais.

O desempenho comportamental em diversas tarefas de aprendizado e a habilidade de solucionar problemas são significativamente melhorados com a experiência precoce em ambientes com enriquecimento (Rosenzweig & Bennett, 1996 citado por Cruz e Landeira, 2007) que também é capaz de reduzir a resposta neuroendócrina e a recomposição do estresse segundo Nikolaev *et al.* (2002).

Segundo Gonçalves *et al.* (2010), evidência de que neurônios adultos podem se regenerar foi demonstrada em estudo de Eriksson *et al.* em 2008 e curiosamente só se replicavam as células de animais que receberam enriquecimento ambiental.

6 - MODELOS ANIMAIS DE NEUROLOGIAS

Um modelo é definido como qualquer preparação experimental que permita estudar uma condição em um animal de mesma ou diferente espécie (Corrêa, 2009). Modelos animais para estudo de neuropatologias humanas são largamente utilizados em pesquisas científicas. Alguns experimentos como os realizados por Mark Rosenzweig na década de 1960, que permitiram comparar o peso de encéfalos de ratos em situações experimentais diferentes (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007) jamais poderiam ser realizados, por questões éticas, em seres humanos. Desta maneira se adaptam os resultados observados nos animais para as condições humanas. Porém, deve-se observar alguns critérios para que o modelo animal tenha sua validade estendida a outros indivíduos e outras espécies (Geyer & Markou, 2009). O processo, dimensão e estrutura da situação a ser comparada deve ser bem conhecido para que se consiga estabelecer um paralelo teórico entre as duas espécies (Geyer & Markou, 2009).

As características que permitem comparar o modelo à situação pretendida nem sempre são explícitas, gerando conflitos entre alguns autores, porém existem algumas normas gerais que funcionam como critérios de validação para os modelos animais (Geyer & Markou, 2009). Assim, é comumente assumido que há homologia, ou pelo menos analogia, entre características fisiológicas ou comportamentais de várias espécies, permitindo extrapolações dos modelos para as situações de interesse, muitas vezes em humanos. Portanto a validade será avaliada em decorrência do quanto o modelo for representativo do objeto de estudo.

A confiabilidade do modelo acontece em decorrência da consistência e estabilidade com que as variáveis de interesse são observadas onde são considerados: a habilidade de manipulação da Variável Independente com alto grau de precisão; a habilidade de se mensurar objetivamente a Variável Dependente; uma pequena variação intra-sujeito e inter-sujeitos da Variável Dependente; a reprodução do fenômeno com a máxima similaridade das condições; e a replicabilidade dos efeitos da manipulação.

Observemos que nenhuma condição experimental será exatamente igual a outra, e que a variabilidade, por si só, não pode ser considerada um erro. Cada delineamento experimental deve estabelecer seu Grau de Confiança e testes estatísticos que permitirão considerar a similaridade ou desuniformidade dos dados obtidos (Kantowitz, Roediger III, & Elmes, 2006).

Há vários tipos de validade descritos para oferecer confiabilidade ao modelo animal e a relevância de cada uma é relativa aos objetivos propostos. Geyer e Markou (2009) citam algumas importantes:

a) Validade preditiva que é definida pela capacidade do teste de prever um critério definido pelo observador. Os resultados obtidos se apresentam próximos aos esperados para aquela situação. b) Validade de construto de um teste que é definida como a precisão com que o teste mede o que se pretende. As concepções a respeito do que o experimento realmente deve aferir estão em constante mudança à medida que as teorias científicas e conceitos teóricos são modificados, devendo a busca pela precisão, e conseqüente validade de construto, estar sempre presentes no aperfeiçoamento do modelo. c) Validade etiológica que refere-se a similaridade etiológica da situação simulada no modelo em relação à situação objeto de estudo. Um modelo animal geneticamente manipulado para expressar uma deficiência tem uma boa validade etiológica se pretende representar um distúrbio que for amplamente relatado como uma patologia congênita. Com os atuais avanços científicos na genética e biologia molecular, modelos animais geneticamente manipulados para expressar patologias humanas estão em constante utilização na compreensão destes distúrbios. d) Validade convergente que se refere ao grau de correlação de um teste em relação a outros testes que se referem ao mesmo construto. Ao se delinear um experimento, é imprescindível que se observe na literatura o que já se realizou para a mesma situação ou pelo menos semelhante, e a convergência dos resultados gerados com o observado em outros casos aumenta a confiabilidade do modelo. e) A validade aparente que se refere à similaridade entre o comportamento ou característica aparente observada no modelo em relação ao que seria observado no animal a que se pretende o modelo. Um modelo de rato em condições de estresse não pode ser exclusivamente avaliado pelo comportamento que demonstre inquietação, porém esta manifestação pode ser associada à situação de ansiedade pela manifestação comportamental aparente.

Todos os vertebrados possuem semelhanças relativas ao Sistema Nervoso: o desenvolvimento do SN acontece a partir de um tubo neural (embriologia); o SN dos vertebrados possui simetria bilateral; há hierarquia funcional, o cérebro modula várias funções da medula espinhal; observa-se a nítida separação do Sistema Nervoso Central e do Sistema Nervoso Periférico nestes animais. As diferenças entre os cérebros de mamíferos são basicamente quantitativas, considerando-se as

diferenças entre os tamanhos relativos do cérebro como um todo, de suas regiões ou das células nervosas (Breedlove, Rosenzweig, & Watson, 2007).

O estudo da anatomia cerebral associadas a funções neurais e comportamentais utilizam largamente o uso de modelos animais. Certas funções são controladas por estruturas semelhantes ou homólogas no Sistema Nervoso Central das diversas espécies, o que é essencial para que se possa generalizar resultados entre as espécies (Fitch, 2000).

Os modelos animais desenvolvidos para demonstrar influências ambientais capazes de alterar processos fisiológicos, comportamentais e cognitivos subsidiam teorias sobre plasticidade do SN (Prado, Caramelli, Ferreira, Cammarota, & Izquierdo, 2007).

Se utilizados com cautela, os modelos animais podem oferecer informações extremamente relevantes para a compreensão das desordens humanas de etiologia emocional, degenerativa ou mecânica (Da Silva *et al.*, 2007).

OBJETIVO

OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo geral analisar o efeito da aplicação de Enriquecimento Ambiental para onças-pintadas (*Panthera onca*) sedentárias mantidas em cativeiro sobre os níveis de cortisol e comportamento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Analisar em etogramas o comportamento dos animais nos períodos da Alvorada, Meio-dia e Crepúsculo.
- 2) Avaliar o índice de sedentarismo dos animais.
- 3) Analisar a eficiência da técnica de coleta de cortisol.
- 4) Analisar os níveis de cortisol salivar nos diferentes períodos do dia.
- 5) Aplicar técnicas de Enriquecimento Ambiental.
- 6) Analisar a interferência do Enriquecimento Ambiental nos níveis de cortisol e no comportamento.
- 7) Avaliar influências externas, como visitação, sobre os níveis de cortisol.
- 8) Discutir a validade do Enriquecimento Ambiental como estimulação cognitiva e sensorial no modelo animal.

METODOLOGIA

Alguns parâmetros como a quantificação de níveis fisiológicos e a rotina comportamental de animais em cativeiro, associados e comparados à manifestação comportamentais de animais em vida livre são ferramentas que possibilitam analisar a situação de indivíduos mantidos cativos em relação a seu bem-estar (Da Silva et al., 2007).

1 - SUJEITOS

O grupo estudado nesta pesquisa foi composto por onças-pintadas (*Panthera onca*) mantidas em cativeiro no criadouro conservacionista NEX¹ (No extinction), implantado no município de Corumbá de Goiás a 80 km de Brasília (No extinction, 2011).

No local são mantidos, além de outros felídeos silvestres, 11 onças-pintadas (*Panthera onca*). Para este trabalho foram estudados 07 (sete) indivíduos identificados na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos Sujeitos

NOME	PROVÁVEL LOCAL DE ORIGEM	PROCEDÊNCIA	CLASSE ETÁRIA	DATA DE NASCIMENTO	SEXO	RECINTO
Sansão	Nascido no Zoo	Zoológico de Brasília	Adulto	25/04/2001	Macho	1
Dalila	Nascido no Zoo	Zoológico de Brasília	Adulto	25/04/2001	Fêmea	1
Carlota	Nascido no Zoo	Zoológico de Brasília	Adulto	24/05/2001	Fêmea	1
Chico	Nova Olinda - TO	IBAMA/TO	Juvenil	Junho/2009	Macho	2
Catarina	Coari – AM	CETAS/AM	Juvenil	Maio/2009	Fêmea	2
Brutus	Mato Grosso	CETAS/GO	Juvenil	Julho/2008	Macho	3
Gavião	Lambari d'Oeste – MT	IBAMA/MT	Idoso	1994	Macho	4

1. O NEX tem por finalidade a preservação da vida dos felídeos da fauna silvestre do Brasil ameaçados de extinção, defesa de seu habitat natural, proteção contra a caça a esses animais, integrando as populações rurais mais carentes ao trabalho de defesa e preservação através de conscientização, treinamento e educação ambiental (No Extinction, 2011).

2 - TÉCNICA DE OBSERVAÇÃO

Foi utilizado o formulário etograma/ambulação (Apêndice I) preenchido pelos pesquisadores participantes do projeto de extensão Bichos Vivos – Unb sob orientação do professor orientador. Todos os participantes foram previamente treinados e orientados em relação às categorias de comportamento a serem observadas (Figuras 2 e 3).

Na fase de preparação foi realizada uma observação *ad libitum*, onde se discutiram os comportamentos observados em relação às categorias definidas para o projeto, quaisquer dúvidas e comentários foram debatidas ao ponto de se estabelecerem o padrão a ser utilizado na pesquisa.

O treinamento foi realizado primeiramente na Fundação Zoológico de Brasília e posteriormente no Criadouro Conservacionista NEX, onde foi realizada a pesquisa. Consistiu no registro etográfico, simulando a situação real, e posterior retirada de eventuais dúvidas acerca das categorias comportamentais.

Os pesquisadores utilizaram roupas discretas e evitaram o uso de odores fortes (perfumes, repelentes) para não se tornarem uma distração ao animal. Posicionaram-se, então, próximo ao recinto de maneira que pudessem observar o animal e seu comportamento influenciando minimamente na rotina do local. Foi importante que evitassem se movimentar para que não chamar a atenção do animal.

A técnica para obtenção e quantificação das unidades comportamentais foi de uma amostragem por escaneamento, também conhecida como fotográfica ou varredura. Foi fixado um número de intervalos regulares de tempo (Freitas & Nishida, 2006), de um minuto. Ao final de cada minuto, a manifestação comportamental observada era instantaneamente registrada segundo as categorias dos Figuras 2 e 3. O pesquisador observou e registrou o comportamento de cada animal (Freitas & Nishida, 2006) pelo período de uma hora em cada registro etográfico.

CATEGORIAS DE COMPORTAMENTO	DESCRIÇÃO
<p>SOCIAL Interações com outros animais com ou sem contato. Expressão Comportamental Interagir com outros animais.</p>	A ação do animal deve estar direcionada para outro animal. O registro será realizado conforme especificação de Subcategorias demonstrada na Figura 3.
<p>TERRITORIAL Comportamento ligado à ocupação territorial. Expressão Comportamental Farejar, lambar ou cavar o chão (forrageamento); urinar em jato de demarcação.</p>	O comportamento não envolve a interação direta com outro animal. A expressão comportamental é caracterizada pela exploração do ambiente (forrageamento) ou pela demarcação do território.
<p>ANORMAL Não comum ao relatado em vida livre. Expressão Comportamental Andar de um lado ao outro repetidamente (pacing), lambar ou morder compulsivamente, automutilar.</p>	O animal expressa comportamento, estereotipado (pacing) ou não (coprofagia), que não representa o repertório comportamental observado em um animal de mesma espécie em vida livre. Comportamento sem objetivo ou função aparente com características compulsivas.
<p>FISIOLÓGICO Atendimento de necessidades fisiológicas. Expressão Comportamental Comer, beber, urinar ou defecar</p>	O comportamento é realizado para suprir necessidade fisiológica.
<p>AUTO CUIDADO Higienização. Expressão Comportamental Lamber-se, coçar-se.</p>	O animal se lambe ou se coça, mantendo-se limpo.
<p>PLAY Comportamento lúdico. Expressão Comportamental Brincar.</p>	O animal manifesta, sozinho, atividade comportamental de forma lúdica, com brincadeiras, manipulando objetos como galhos ou brinquedos introduzidos no recinto.
<p>ATIVO Movimento, ação. Expressão Comportamental Andar, correr, movimentar-se</p>	O animal expressa uma ação que não seja direcionada a outro animal e que não se inclua em nenhuma categoria descrita anteriormente.
<p>INATIVO Inerte, sem atividade Expressão Comportamental Estar deitado, sentado ou parado.</p>	O animal não apresenta qualquer outro comportamento, apresenta-se imóvel.

Figura 2. Descrição das Categorias Comportamentais

SUBCATEGORIAS SOCIAIS	DESCRIÇÃO
<p>DISPLAY Comunicação corporal.(Exibir-se).</p>	O animal direciona comunicação a outro animal utilizando postura corporal.
<p>VO CALIZAÇÃO Produção de som. (Produzir som com os pulmões).</p>	O animal manifesta som produzido com ar proveniente dos pulmões
<p>SEXUAL Atividade sexual. (Copular, entrar em contato com a genitália de outro animal).</p>	O comportamento é diretamente ligado aos órgãos sexuais.
<p>PLAY INTERATIVO Comportamento lúdico com outro indivíduo. (Brincar).</p>	O animal manifesta atividade com outro indivíduo, com brincadeiras.
<p>AGONÍSTICO Agressividade dirigida a outro indivíduo. (Mostrar os dentes, bater, avançar sobre).</p>	O comportamento é direcionado a interações de disputa.
<p>CONTATO Interação inativa. (Estar em contato).</p>	O animal encontra-se inativo e em contato com outro indivíduo.
<p>OBSERVAÇÃO Observando. (Direcionar o olhar).</p>	O animal está com o olhar direcionado para outro indivíduo. Podendo ser da mesma espécie, de outra espécie, visitante ou pesquisador.

Figura 3. Subcategorias de Comportamento Social

Para a análise estatística foram agrupadas em INATIVIDADE as Subcategorias Sociais “contato”, “observando mesma espécie”, “observando outra espécie”, “observando visitante”, “observando pesquisador” e a categoria “inativo”. Em ATIVIDADE, foram agrupadas as Subcategorias Sociais “display”, “vocalização”, “parental”, “sexual”, “play”, “agonístico”, e as Categorias “forrageamento”, “demarcação”, “anormal”, “play”, “fisiológico”, “auto cuidado” e “ativo”.

Os recintos foram divididos em quadrantes imaginários (Figura 4) e junto ao comportamento, foi registrado no etograma o local onde o animal se encontrava em cada minuto (quadrante). Ao final da observação foi calculada a ambulação (do latim *ambulare* – passear, andar). Esta foi definida pelo número de cruzamentos que o animal realizou entre os quadrantes (número de vezes que o sujeito ultrapassou de um quadrante ao outro) durante a locomoção. Desta maneira, estimou-se a taxa de ambulação que o animal desempenhou para seu deslocamento.

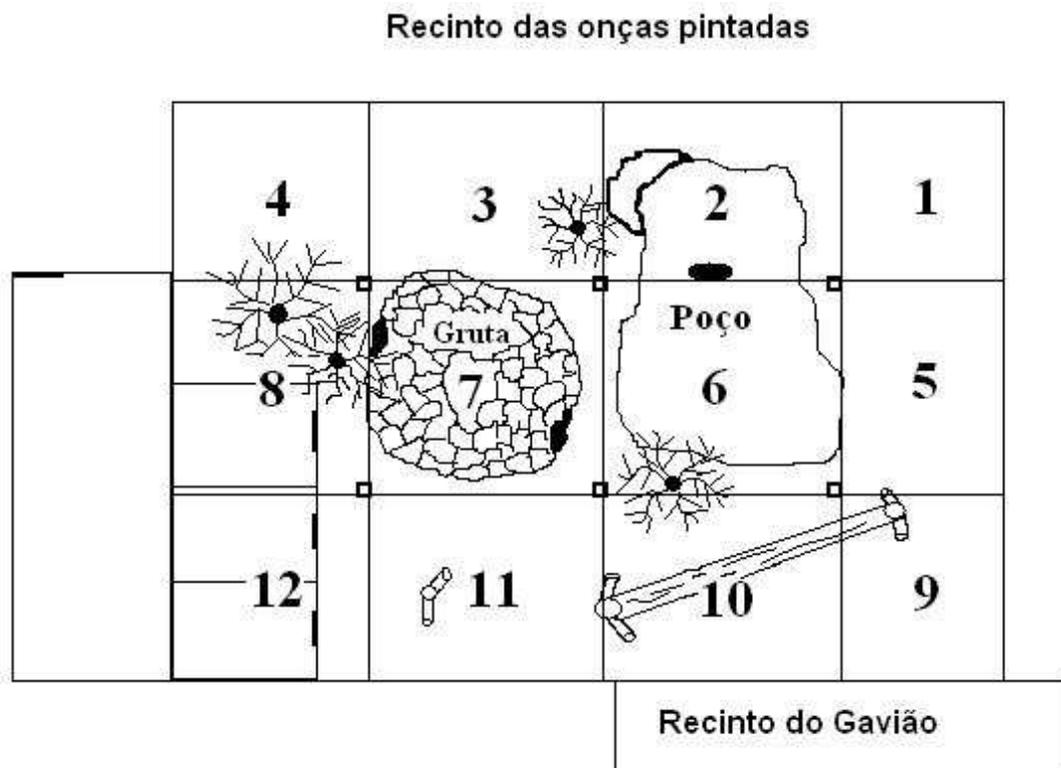


Figura 4. Esquema de quadrantes de um recinto.

3 - TÉCNICA DE MEDIDA DE CORTISOL

A avaliação de parâmetros fisiológicos e comportamentais em estudos com animais pressupõe a menor intervenção da pesquisa de maneira que não se adicionem variáveis externas às medidas obtidas. A aferição e quantificação de hormônios como o Cortisol podem ser obtidas de diversas maneiras que se apresentarem disponíveis, como a análise das concentrações plasmáticas por coleta de sangue, pela mensuração desta substância nas fezes do animal ou até mesmo pela análise das concentrações deste hormônio em outras secreções como a saliva (Castro, 2009; Castro & Moreira, 2003).

A escolha do método a ser utilizado na pesquisa reflete as perguntas que foram traçadas como objetivo de estudo. Para a presente pesquisa foram analisados os diferentes períodos do dia, o que afastou a possibilidade de análise dos parâmetros hormonais residuais nas fezes, pois os metabólitos presentes nas fezes provêm de frações agrupadas de variações hormonais que o animal sofre enquanto acontece o processo de digestão, refletindo o nível plasmático de 12h a 24h agrupados nas fezes expelidas (Castro, 2009).

A coleta sanguínea necessita de um aparato veterinário complexo de contenção. Desta maneira foi descartada a análise do sangue por se tratar de uma possível intervenção com exacerbado estresse aos animais.

Optou-se pela análise da concentração de Cortisol dos animais através da coleta salivar, sendo o cortisol salivar um excelente índice da concentração de cortisol livre no plasma. (Umeda, Hiramatsu, Iwaoka, Shimada, Miura, & Sato, 1981). Para a coleta salivar foram utilizados coletores, tipo mastigadores, confeccionados com material inerte e absorvivo, introduzidos individualmente no recinto de cada animal. A técnica foi testada anteriormente por Montanha, Da Silva, Boere (2009) e a quantidade e qualidade do material foram consideradas satisfatórias.

Cada mastigador foi composto por frações de 20 a 40cm de mangueira de incêndio com camada dupla de tecido sintético revestida internamente por borracha vulcanizada que se mostraram bem resistentes à mordida e à tração do animal (Figura 5). Eles são presos a uma corda sintética (como utilizadas em rapel) e oferecidos ao animal enquanto se segura pela corda.



Figura 5. Mastigador feito com mangueira amarrado a uma corda.

Como o material de coleta não podia ser contaminado com o piso ou qualquer aparato, as mangueiras foram amarradas a grandes nós evitando a passagem destas pelas aberturas da grade. Com esse artifício, descartamos a possibilidade do animal tomar para si o material de coleta. Cada mangueira foi lavada e então esterilizada em autoclave com o objetivo de se preservar a saúde do animal evitando a introdução de algum agente patógeno em seu ambiente além de garantir que no material absoritivo de coleta só estaria presente a saliva do momento desejado. Cada mastigador foi utilizado apenas uma vez, sendo reutilizado apenas após lavagem e nova autoclavagem.

Previamente, foi realizada rotina de adaptação e condicionamento. O objetivo foi o de habituar o animal à presença das mangueiras em seu recinto de aprisionamento, bem como condicionar o animal a morder o material.

Com material absoritivo (gaze ou salivette®) extraiu-se a saliva retida no mastigador e foi transferida a tubos de ensaio adequadamente esterilizados e identificados. O material foi congelado e levado ao laboratório do Hospital Veterinário de Brasília da Unb para centrifugação da saliva. Novamente congelada, a saliva coletada foi encaminhada ao laboratório particular contratado, Instituto Gênese de Análises Científicas - SP, onde foram dosados os índices de cortisol através de "kit" de dosagem de cortisol com técnica de Radioimunoensaio (RIA).

O interesse dos animais pelo mordedor foi despertado com a introdução de pedaços de carne no interior das mangueiras na fase de condicionamento. E pedaços de carne também foram utilizados na coleta como distrativo.

Foi oferecido o mordedor ao animal através da grade para que dele se retirasse a saliva. Para a aproximação do animal, eram mostrados pedaços de carne. Nos recintos que possuem mais de um animal, foi realizado oambeamento, que consiste na individualização dos animais em jaulas menores presentes nos recintos. A individualização dos animais no momento da coleta foi realizada para que não houvesse interferência de um indivíduo no mordedor do outro.

Alternativo à mangueira, foram preparados coletores com palito, canudo e gaze (Figura 6). O aparato permitiu a coleta direta na boca do animal enquanto o animal se distraia com a mangueira.

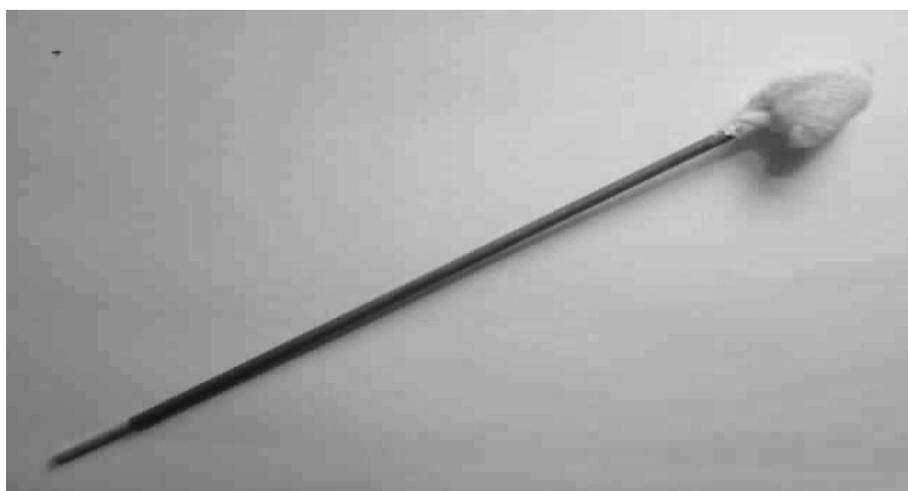


Figura 6. Coletor com palito, canudo e gaze.

Todo o procedimento foi realizado o mais rápido possível para que o procedimento não afetasse o nível do hormônio aferido. O material de coleta foi posicionado próximo ao recinto de maneira que o procedimento não durasse mais que 05 minutos.

4 - TÉCNICAS DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

O EA pode ser definido como um conjunto de atividades que visam atender às necessidades etológicas e psicológicas dos animais, proporcionando modificações no recinto dos sujeitos ou em suas rotinas (Gonçalves *et al.*, 2010). Os Enriquecimentos Ambientais aplicados neste estudo são descritos a seguir:

4.1 - Tronco-surpresa e Caixa-surpresa – Consiste em um EA cognitivo, alimentar onde se ofereceu o alimento dentro de uma caixa lacrada, não tóxica e sem abrasivos, para que o animal não apenas se alimente, mas desenvolva uma maneira de abrir a caixa. Esta técnica foi adaptada com a preparação de troncos (denominados troncos-surpresa) que permitiram a introdução da carne em seu interior de maneira que os animais tiveram dificultada a oferta do alimento (Figuras 7 e 8).

4.2 - Trilha de cheiro – Se trata de um EA sensorial que consistiu na realização de uma trilha com cheiros que pudessem ser percebidos pelo animal. Foram utilizados Catnip (*Nepeta cataria*) e fezes dos animais de outros recintos. Este enriquecimento pode estimular a capacidade sensorial dos animais e permitir um aumento do forrageamento.

4.3 - Enriquecimento Social – Consiste em abrigar os animais em conjunto com outros da mesma espécie ou de espécies diferentes. Foi introduzida uma fêmea Catarina) no recinto do Sujeito Chico, vizinho ao Sujeito Brutus, anteriormente à Etapa de aplicação do EA e posterior à primeira Etapa de coleta de dados.



Figura 7. Fotos do Tronco Surpresa.



Figura 8. Foto do Tronco Surpresa.

A aplicação do EA foi introduzida na rotina dos animais por 4 semanas consecutivas seguindo o cronograma da Tabela 2.

Tabela 2. Cronograma de Enriquecimento Ambiental

ANIMAL	TERÇA	QUARTA	QUINTA	SEXTA	SÁBADO	DOMINGO
SANSÃO	TRO	CHE		TRO	CHE	
DALILA	TRO	CHE		TRO	CHE	
CARLOTA	TRO	CHE		TRO	CHE	
CHICO		TRO	CHE		TRO	CHE
CATARINA		TRO	CHE		TRO	CHE
BRUTUS		TRO	CHE		TRO	CHE
GAVIÃO	CHE		CAIXA	CHE		CAIXA

TRO→Tronco Surpresa, CHE→Trilha de Cheiro, CAIXA→Caixa-Surpresa

Ao Sujeito GAVIÃO foi aplicada a Caixa-Surpresa ao invés do Tronco-Surpresa pelo fato de este animal não possuir garras. Estas foram retiradas em cativeiro antes de ser apreendido pelo IBAMA. De maneira que para cada sujeito foram realizadas, por semana, quatro aplicações de EA sendo duas sensoriais (Trilhas de Cheiro) e Duas Alimentares (Tronco-Surpresa ou Caixa-Surpresa).

5 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Segundo Gonçalves *et al.* (2010) os estudos comportamentais que envolvem o uso de EA são realizados com a coleta de dados em três momentos distintos: anterior, durante e posterior à aplicação do enriquecimento.

Foram realizadas três etapas de coleta de dados (registro etográfico e coleta salivar): Etapa Bem Antes ao EA (BANTEA), Etapa Imediatamente ao EA (IMEA) e Etapa Bem Após o EA (BAPOEA).

Em cada uma dessas etapas ocorreram observações e coletas salivares em três períodos do dia, em três dias consecutivos. Adotamos os seguintes períodos de observação e coleta salivar: Alvorada, 6:30hs; 12:00hs ou seja, Meio dia; e o Crepuscular às 17:30hs. De forma a estar de acordo com referências como Sandell (1989) que descrevem a alteração de atividade de grandes felinos conforme o período do dia.

Para cada período do dia foi realizada uma hora de registro etográfico, seguida de uma hora destinada à coleta salivar, encerrando-se com outra hora de registro etográfico. Desta maneira se obteve, para cada sujeito, um etograma Pré-Coleta, um etograma Pós-Coleta e uma Coleta Salivar para cada período do dia.

A aplicação do EA foi realizada por quatro semanas, segundo cronograma da Tabela 2, e seguida imediatamente pela Etapa “IMEA” de observação e coleta de dados. Desta maneira, pretendeu-se registrar os comportamentos e os níveis fisiológicos que os animais manifestaram em decorrência da aplicação do EA.

As Etapas do delineamento para aplicação do EA ocorreram de acordo com a Figura 9.

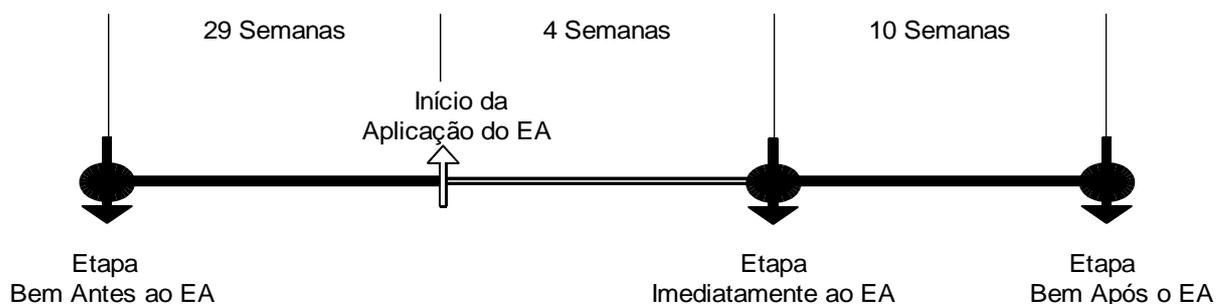


Figura 9. Etapas de Coleta de Dados BANTEA, IMEA, BAPOEA, e Aplicação do EA.

6 - ANÁLISE DOS DADOS

Cada etograma possui 60 minutos de registros comportamentais. Para este estudo foram considerados os 15 primeiros minutos como um período de habituação do animal à presença do pesquisador. Desta maneira, foram utilizados os 45 minutos finais de cada etograma para as análises do comportamento.

Devido a disponibilidade de recursos financeiros destinados ao projeto, foram realizadas quantificação da concentração de cortisol em quatro dos sujeitos estudados, foram eles: Brutus, Sansão, Dalila e Carlota.

Os resultados para os comportamentos foram expressos em médias (\pm Erro Padrão) das taxas de comportamento, que correspondem à quantidade de unidades fotográficas (scan) do comportamento em questão com indicação do tamanho da amostra (N). Enquanto que para as concentrações de cortisol os resultados foram expressos em médias (\pm Erro Padrão) em nanogramas por decilitro (ng/dL).

Toda apresentação de médias foi seguida das razões de diferença “t” ou “F” conforme o teste estatístico pertinente. Sendo que para três variáveis relacionadas a um único fator (nos casos das comparações dos níveis de cortisol e taxa de comportamento BANTEA, IMEA e BAPOEA; como também nas comparações Sem Visitação, com Pouca Visitação ou com Muita Visitação) utilizou-se Análise de Variância (ANOVA), seguida de teste Post-Hoc Tukey para identificação da homogeneidade dos grupos, ou seja, para identificação dos grupos significativamente diferentes. O teste-T Student foi utilizado para análise de duas variáveis independentes (no caso da comparação dos sujeitos em grupos de gênero ou classe etária), enquanto que o teste-T Pareado foi utilizado para analisar duas variáveis de uma mesma condição, como no caso das diferenças entre os etogramas Pré e Pós Coleta.

RESULTADOS

1 - EFEITOS DA COLETA SOBRE O COMPORTAMENTO

A técnica de coleta salivar realizada por esta pesquisa não acarretou alteração do comportamento dos sujeitos estudados. Observou-se por análise estatística realizada com o Teste-T Pareado que as medidas comportamentais realizadas antes da coleta (Pré Coleta) e as medidas comportamentais realizadas após o procedimento (Pós Coleta) não apresentaram diferença significativa como se pode observar na Figura 10. Cada medida apresentou N=159 e os valores das médias (\bar{x}) e Erro Padrão (EP) para a medida AMBULAÇÃO Pré Coleta e Pós Coleta foram respectivamente 11,92 ($\pm 1,30$) e 11,34 ($\pm 1,10$) com $t=0,426$ e $p=0,669$; enquanto que para a medida ATIVIDADE respectivamente 10,03 ($\pm 0,97$) e 9,77 ($\pm 0,93$) $t=,259$ e $p=0,259$; e para a medida INATIVIDADE os valores foram respectivamente 31,33 ($\pm 1,15$) e 31,61 ($\pm 1,14$) com $t=0,189$ e $p=0,851$; e para a medida ANORMAL respectivamente 2,82 ($\pm 0,67$) e 2,62 ($\pm 0,61$) com $t=0,430$ e $p=0,668$.

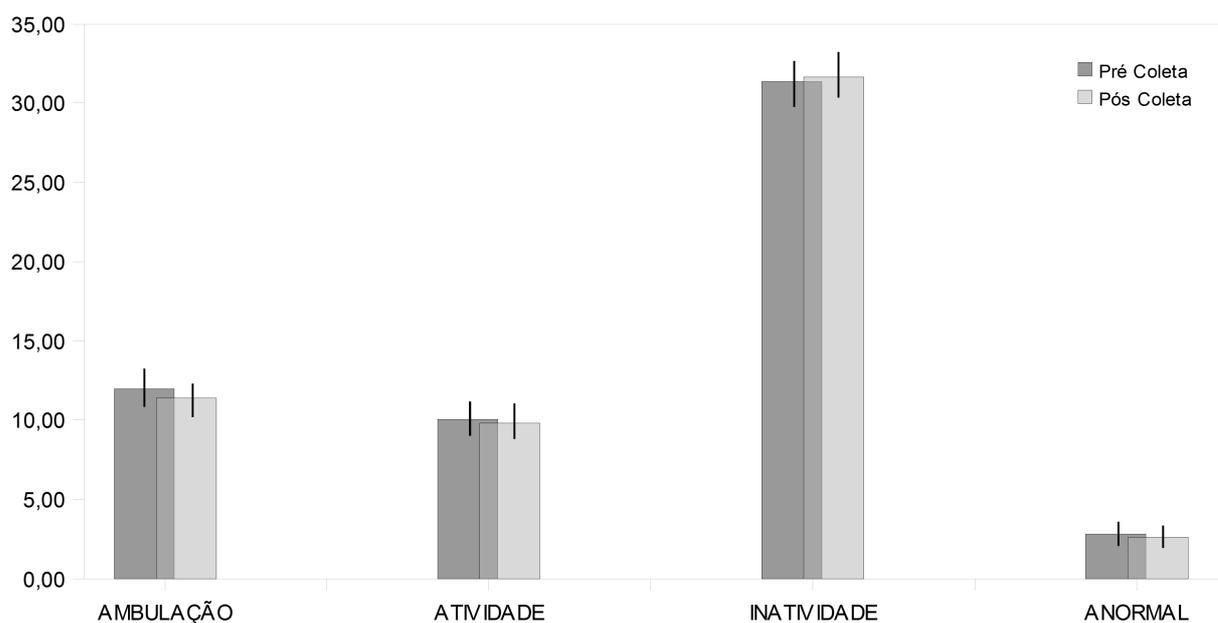


Figura 10. Médias de Medidas Comportamentais Pré Coleta e Pós Coleta.

2 - HOMOGENEIDADE DAS MEDIDAS EM CADA ETAPA

Tanto as medidas comportamentais, quanto os níveis de cortisol, não apresentaram diferenças significativas, conforme teste ANOVA, dentro de cada Etapa do EA. O que demonstra que as observações ocorridas nos três dias consecutivos, dentro de cada etapa, mantiveram um padrão tanto comportamental quanto fisiológico.

Tabela 3. Diferença entre Médias Observadas entre dias consecutivos de cada Etapa do EA.

BEM ANTES AO EA						
	1º DIA	2º DIA	3º DIA	MÉDIA	F	Sig
CORTISOL	313,42	459,50	324,42	365,78	1,103	0,344
ANORMAL	0,25	0,17	0,08	0,17	0,214	0,808
PLAY	0,42	0,42	0,33	0,39	0,056	0,946
ATIVIDADE	10,67	9,33	9,33	9,78	0,082	0,921
AMBULAÇÃO	20,00	15,75	16,83	17,53	0,222	0,802
INATIVIDADE	30,25	32,83	29,17	30,75	0,266	0,768
IMEDIATAMENTE AO EA						
	1º DIA	2º DIA	3º DIA	MÉDIA	F	Sig
CORTISOL	156,83	161,08	143,33	153,75	0,295	0,746
ANORMAL	3,92	5,50	0,42	3,28	0,876	0,426
PLAY	0,17	0,75	0,67	0,53	1,022	0,371
ATIVIDADE	10,25	13,25	11,33	11,61	0,157	0,855
AMBULAÇÃO	11,08	15,33	14,75	13,72	0,212	0,810
INATIVIDADE	34,50	28,75	33,83	32,36	0,628	0,540
BEM APÓS O EA						
	1º DIA	2º DIA	3º DIA	MÉDIA	F	Sig
CORTISOL	139,83	187,75	118,75	148,78	2,624	0,088
ANORMAL	0,50	3,17	2,58	2,08	0,717	0,496
PLAY	0,25	0,33	0,00	0,19	1,723	0,194
ATIVIDADE	8,58	17,00	12,33	12,64	1,147	0,330
AMBULAÇÃO	13,08	22,42	16,00	17,17	0,782	0,466
INATIVIDADE	35,92	28,00	24,67	29,53	1,723	0,194

3 – ANÁLISE DO SEDENTARISMO

Observou-se diferença significativa entre as medidas ATIVIDADE e INATIVIDADE para todos os sujeitos conforme a Tabela 4. Em análise com Teste-T com N=254, foram observadas as médias 32,56 ($\pm 0,85$) para INATIVIDADE e 8,25 ($\pm 0,63$) para ATIVIDADE, com $t=-18,003$ e $p<0,05$.

Tabela 4. Padrão de Atividade dos Sujeitos Observados.

	N	INATIVIDADE	EP		ATIVIDADE	EP		TOTAL
SANSÃO	42	26,45	2,14	65,67%	13,83	1,78	34,33%	100,00%
DALILA	42	29,67	2,12	77,35%	8,69	1,26	22,65%	100,00%
CARLOTA	42	30,19	2,22	80,72%	7,21	1,50	19,28%	100,00%
BRUTUS	36	39,22	1,80	91,51%	3,64	1,08	8,49%	100,00%
CHICO	36	32,94	2,51	82,54%	6,97	1,71	17,46%	100,00%
CATARINA	24	34,67	2,33	77,61%	10,00	2,30	22,39%	100,00%
GAVIÃO	32	38,00	1,71	84,44%	7,00	1,71	15,56%	100,00%
TOTAL	254	32,56	0,85	79,78%	8,25	0,63	20,22%	100,00%

4 - CORTISOL E COMPORTAMENTOS

Foram realizadas coletas salivares e registros etográficos em três períodos do dia em todos os dias da pesquisa.

As médias dos níveis de cortisol entre os períodos Alvorada, Meio dia e Crepúsculo respectivamente de 202,92 ($\pm 21,55$) ng/dL; 211,53 ($\pm 25,52$) ng/dL; e 253,86 ($\pm 44,69$) ng/dL, com N=36 em cada período, não apresentaram diferença significativa conforme ANOVA, N=108, com média total de 222,77 ($\pm 18,55$) ng/dL, F=0,717 e p=0,491. Entretanto apresentou-se uma tendência de aumento do cortisol ao longo do dia conforme Figura 11.

A medida comportamental ANORMAL, apresentou diferença significativa entre suas médias ao longo do dia conforme ANOVA, N=108, com média total de 1,84 ($\pm 1,09$), F=3,960 e p<0,05. Exibindo uma curva de aumento com N=36 para cada período e os seguintes valores: 0,14 ($\pm 0,14$) para a Alvorada, 1,19 ($\pm 0,93$) para o Meio dia e 4,19 ($\pm 1,57$) para o Crepúsculo, conforme Figura 11.

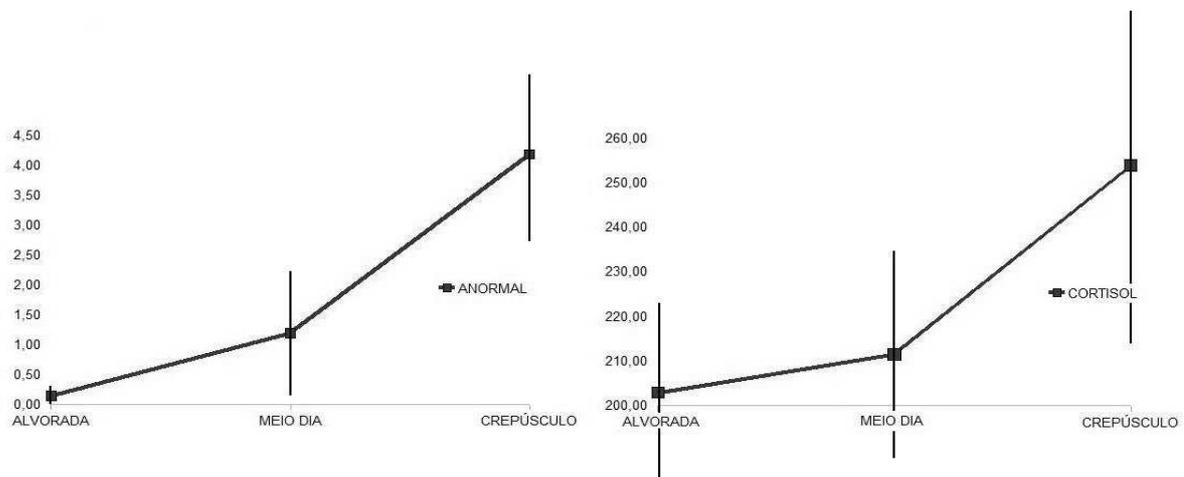


Figura 11. Medida Comportamental ANORMAL e níveis de Cortisol ao longo do dia (Alvorada, Meio dia e Crepúsculo).

As médias das medidas etográficas INATIVIDADE, ATIVIDADE, AMBULAÇÃO e PLAY ao longo do dia são apresentadas na Figura 12. Houve diferença significativa observada através de ANOVA entre os períodos para estas medidas com $N=36$ para cada medida em cada período do dia. INATIVIDADE apresentou média 30,88 ($\pm 2,31$) com $F=3,146$ e $p<0,05$; ATIVIDADE apresentou média 11,34 ($\pm 2,00$) com $F=9,528$ e $p<0,05$; AMBULAÇÃO apresentou média 16,14 ($\pm 2,99$) com $F=12,539$ e $p<0,05$; e PLAY apresentou média de 0,37 ($\pm 0,13$) com $F=3,438$ e $p<0,05$.

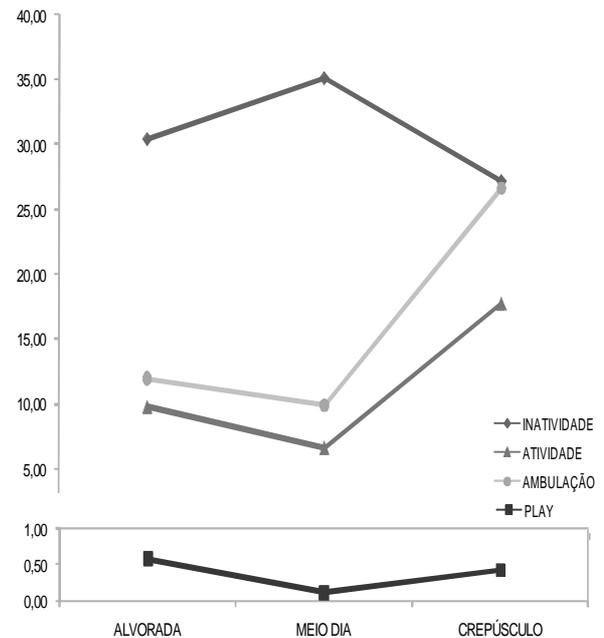


Figura 12. Medidas Etográficas ao longo do dia (Alvorada, Meio dia e Crepúsculo)

Os sujeitos estudados também foram divididos em duas Classes Etárias: Infante, $N=3$ (de dois a três anos de idade) e Adultos e $N=3$ (9 anos de idade). O sujeito Gavião, considerado idoso (17 anos de idade) foi desconsiderado desta análise por ser único indivíduo nesta situação. Os grupos se diferem quanto a maturidade sexual, sendo que os infantes estão em uma fase de início de atividade estral, enquanto os adultos já possuem o ciclo estral estabelecido (Rodini, 2008). Entre estes grupos observou-se diferença significativa com análise estatística do Teste-T Student para alguns comportamentos como se observa na Tabela 5.

Tabela 5. Relação de Medidas Comportamentais e Classe Etária.

	INFANTE			ADULTO			t	Sig
	N	Média	EP	N	Média	EP		
SEXUAL	120	0,00	0,00	144	0,39	0,07	-4,99	0,000*
AGONÍSTICO	120	0,01	0,01	144	0,84	0,16	-4,73	0,000*
AMBULAÇÃO	120	12,20	1,76	144	17,29	1,36	-2,32	0,023*
INATIVIDADE	120	33,52	1,24	144	28,13	1,19	3,12	0,002*
PLAY GERAL	120	1,40	0,33	144	0,38	0,08	3,22	0,001*
OBSERVANDO VISITANTE	120	0,66	0,08	144	0,17	0,01	2,40	0,017*
OBSERVANDO PESQUISADOR	120	0,32	0,20	144	0,02	0,08	4,16	0,000*

*Diferença Significativa ($p<0,05$) conforme Student.

Não foi possível a comparação dos níveis de cortisol entre as classes etárias, porque dos 4 sujeitos que foram analisadas as amostras salivares, apenas um encontra-se na categoria INFANTE e os outros três são classificados como ADULTOS, o que impossibilita a análise estatística.

Quanto ao gênero (Machos, N=4; Fêmeas, N=4) foi observada diferença significativa conforme teste-T Student apenas para a medida comportamental DEMARCAÇÃO com N=308 média total 0,08 ($\pm 0,01$), F=12,29 e $p < 0,05$. Sendo que os machos, N=182, apresentaram uma média de 0,14 ($\pm 0,03$) enquanto as fêmeas, N=126, não registraram esta medida, média = 0,00.

5 – ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA VISITAÇÃO NOS NÍVEIS DE CORTISOL

Observou-se diferença significativa dos níveis de cortisol em relação à presença de visitantes com períodos sem visitação, N=84, 201,381 ($\pm 15,81$) ng/dL enquanto em períodos com visitação, N=24, 297,62 ($\pm 61,12$) ng/dL, conforme análise com Teste-T de Student $t = -2,196$ e $p < 0,05$.

Quando diferenciada a presença de visitantes entre SEM VISITAÇÃO (SV=Apenas Pesquisador ou Pesquisador e Tratador), POUCA VISITAÇÃO (PV=até sete visitantes) e MUITA VISITAÇÃO (MV=mais de 20 visitantes), observou-se N=84 201,38 ($\pm 15,80$) ng/dL; N=26, 232,25 ($\pm 45,55$) ng/dL; e N=8, 428,38 ($\pm 155,91$) ng/dL para as condições SV, PV e MV respectivamente. Houve diferença significativa entre os grupos, N=108 observada em ANOVA, com média total de 222,77 ($\pm 18,55$) ng/dL, F=5,518 e $p < 0,05$. Em teste Post-Hoc Tukey o grupo MV apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos outros dois grupos: SV e PV. Enquanto estes últimos grupos não apresentaram diferença significativa entre si ($p = 0,814$).

A quantidade de visitantes também apresentou diferença significativa em relação à medida comportamental ANORMAL conforme ANOVA, N=108 com média total de 1,54 ($\pm 0,55$), F=6,639 e $p < 0,05$. Sendo observada N=84 e média de 0,87 ($\pm 0,44$) para SV; N=26, 3,12 ($\pm 1,61$) para PV, e N=8, 4,4 ($\pm 3,39$) para MV.

6 – ANÁLISE DO NÍVEL DE CORTISOL ENTRE AS ETAPAS DO EA

Os dados revelaram diferença significativa, observada com ANOVA, dos níveis de cortisol entre as Etapas de EA como se pode observar na Figura 13. Tanto as medidas agrupadas (todos os sujeitos), quanto as medidas individuais, apresentaram diferenças significativas entre as diferentes Etapas (BANTEA, IMEA e BAPOEA). Apresentando respectivamente, o sujeito denominado SANSÃO, N=9 para cada etapa, 338,78 ($\pm 52,63$) ng/dL, 210,67 ($\pm 22,06$) ng/dL e 161,67 ($\pm 23,93$) ng/dL, com $F=6,550$, $p<0,05$; o sujeito DALILA, N=9 em cada etapa, respectivamente 461,22 ($\pm 70,07$) ng/dL, 166,89 ($\pm 11,08$) ng/dL e 141,00 ($\pm 17,57$) ng/dL, com $F=17,723$ e $p<0,05$. O sujeito CARLOTA, N=9 para cada etapa, respectivamente 210,33 ($\pm 30,72$) ng/dL, 98,78 ($\pm 10,13$) ng/dL; e 106,22 ($\pm 22,71$) ng/dL, com $F=20,208$ e $p<0,05$. E o sujeito BRUTUS, N=9 para cada etapa, respectivamente as médias 452,78 ($\pm 146,26$) ng/dL, 138,67 ($\pm 2,51$) ng/dL e 186,22 ($\pm 34,77$) ng/dL, com $F=3,795$ e $p<0,05$. Os valores de todos animais agrupados apresentaram N=36 com 365,78 ($\pm 44,85$) ng/dL para BANTEA; N=36, 153,75 ($\pm 9,65$) ng/dL para IMEA e N=36, 148,78 ($\pm 13,17$) ng/dL para BAPOEA, com $F=20,208$ e $p<0,05$.

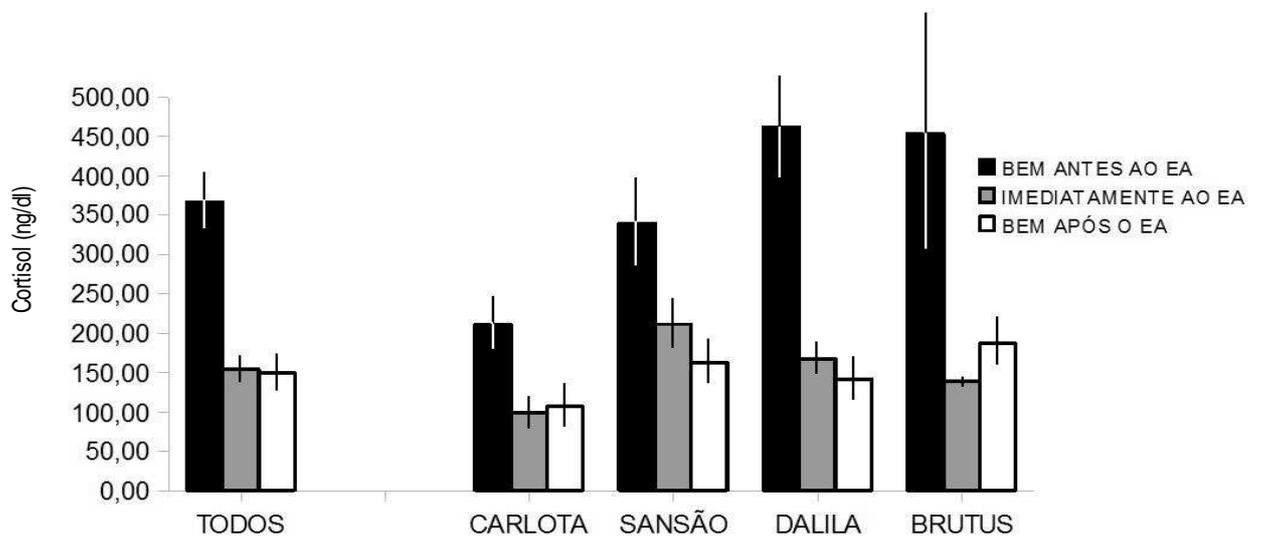


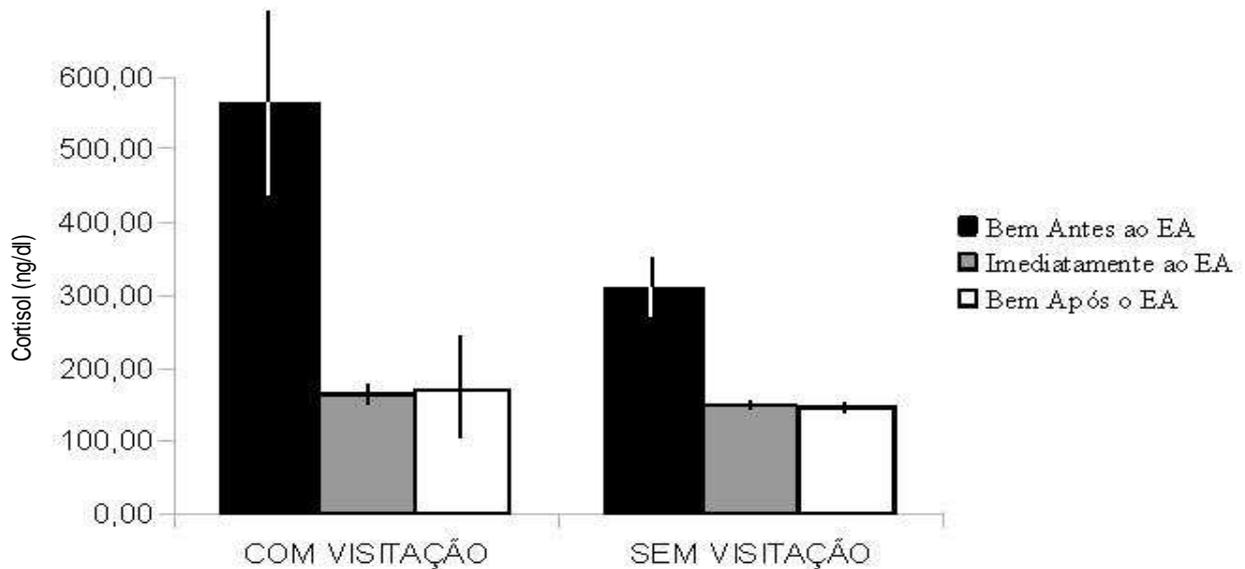
Figura 13. Níveis de cortisol entre as diferentes Etapas de EA.

Em Teste Post-Hoc Tukey demonstrou-se que BANTEA apresentou diferença significativa ($p<0,05$) em relação as outras duas Etapas, porém IMEA e BAPOEA não apresentaram diferença entre si ($p=0,991$).

7 – ANÁLISE DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E VISITAÇÃO

A Figura 14 apresenta os níveis de cortisol dos grupos COM VISITAÇÃO e SEM VISITAÇÃO em cada Etapa do EA (Bem Antes, Imediatamente e Bem Após).

Figura 14. Grupos COM VISITAÇÃO e SEM VISITAÇÃO em cada Etapa do EA.



Conforme ANOVA, houve diferença significativa entre os grupos, $F=12,418$ com $p<0,05$. Segundo teste Post-Hoc Tukey, a condição Com Visitação BANTEA se diferenciou significativamente de todas as outras condições ($p<0,05$). Além disso apenas a condição Sem Visitação BANTEA apresentou diferença significativa para as condições Sem Visitação IMEA e Sem Visitação BAPOEA. As condições Com Visitação IMEA e BAPOEA não apresentaram diferença significativa entre as condições Sem Visitação IMEA e BAPOEA, respectivamente com $p=1,00$ e $p=1,00$.

8 - ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E MEDIDAS COMPORTAMENTAIS

A variação comportamental observada entre as Etapas do EA foi diferente para cada sujeito. Cada indivíduo, conforme ANOVA, apresentou diferenças significativas em diferentes comportamentos como apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Médias das Medidas Comportamentais entre as Etapas de EA.

Etapa do EA	Bem Antes ao EA	Imediatamente ao EA	Bem Após o EA	Total	F	Sig
SANSÃO						
Ambulação	25,11	25,60	23,60	24,79	0,043	0,958
Sexual	1,28	0,47	0,00	0,62	8,852	0,001*
Agonístico	3,39	0,47	0,00	1,42	12,294	0,000*
Demarcação	0,89	0,13	0,07	0,40	7,742	0,001*
Vocalização	0,61	0,80	0,07	0,50	2,264	0,116
Play	0,06	0,40	0,47	0,29	1,403	0,256
Auto Cuidado	0,56	0,47	0,53	0,52	0,055	0,947
Atividade	14,67	15,20	16,40	15,37	0,075	0,928
Inatividade	24,50	26,00	26,20	25,50	0,069	0,934
DALILA						
Ambulação	21,17	8,20	13,13	14,60	4,340	0,019*
Sexual	1,11	0,00	0,00	0,42	12,123	0,000*
Agonístico	2,17	0,20	0,07	0,90	9,220	0,000*
Demarcação	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Vocalização	0,33	0,13	0,00	0,17	1,790	0,179
Play	0,50	0,47	0,20	0,40	0,520	0,598
Auto Cuidado	0,61	2,07	1,20	1,25	1,399	0,257
Atividade	11,78	7,47	10,47	10,02	0,775	0,467
Inatividade	26,22	32,80	29,80	29,40	0,915	0,408
CARLOTA						
Ambulação	5,78	17,13	15,87	12,48	4,520	0,016*
Sexual	0,00	0,40	0,00	0,12	4,885	0,012*
Agonístico	0,17	0,40	0,07	0,21	1,801	0,177
Demarcação	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Vocalização	0,00	0,80	0,00	0,25	6,629	0,003*
Play	0,06	0,73	0,67	0,46	2,243	0,118
Auto Cuidado	1,00	1,00	1,00	1,00	0,000	1,000
Atividade	2,39	13,73	11,67	8,83	5,975	0,005*
Inatividade	29,28	26,93	32,33	29,50	0,519	0,599
BRUTUS						
Ambulação	6,67	9,53	10,47	8,89	0,264	0,769
Sexual	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Agonístico	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Demarcação	0,00	0,33	0,00	0,11	7,000	0,002*
Vocalização	0,00	0,53	0,07	0,20	4,200	0,022*
Play	0,47	0,13	0,00	0,20	3,845	0,029*
Auto Cuidado	0,67	0,73	1,80	1,07	2,531	0,092
Atividade	4,33	6,67	7,40	6,13	0,448	0,642
Inatividade	40,73	36,53	33,20	36,82	1,428	0,251
CHICO**						
Ambulação	18,60	11,87	22,40	17,62	0,625	0,540
Sexual	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Agonístico	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Demarcação	0,00	0,07	0,07	0,04	0,500	0,610
Vocalização	0,53	0,13	0,00	0,22	2,261	0,117
Play	4,47	0,93	1,47	2,29	2,786	0,073
Auto Cuidado	2,13	0,07	0,00	0,73	9,393	0,000*
Atividade	14,73	7,73	7,73	10,07	1,676	0,199
Inatividade	30,20	28,33	33,87	30,80	0,511	0,603
GAVIÃO						
Ambulação	1,42	1,93	3,53	2,36	0,705	0,500
Sexual	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Agonístico	0,08	0,00	0,13	0,07	0,569	0,571
Demarcação	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Vocalização	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Play	0,33	0,00	0,00	0,10	2,143	0,131
Auto Cuidado	8,67	2,20	4,27	4,79	3,487	0,040*
Atividade	12,92	5,40	8,20	8,55	1,884	0,165
Inatividade	29,58	39,60	36,40	35,60	2,541	0,092

*Diferença Significativa ($p < 0,05$) conforme ANOVA.

** Etapa de Enriquecimento acompanhada de acréscimo de outro sujeito (Catarina) ao recinto.

O sujeito denominado CHICO encontrava-se sozinho em seu recinto na **Etapa Antes do Enriquecimento**, e recebeu uma companheira (CATARINA) que dividiu seu recinto a partir da Segunda Etapa de Observações e Coleta.

Observou-se a diminuição das médias da medida PLAY INDIVIDUAL e o aumento das médias da medida PLAY SOCIAL, Tabela 7. A medida PLAY (Soma das medidas PLAY INDIVIDUAL E PLAY SOCIAL) não apresentou diferença significativa por ANOVA entre as Etapas de Observação, N=15 em cada etapa, com média de 4,47 ($\pm 1,50$) para a Primeira Etapa 0,93 ($\pm 0,43$) para a Segunda Etapa e 1,47 ($\pm 1,21$) para a Terceira Etapa, $F=2,786$ e $p=0,073$.

Tabela 7. Medidas Comportamentais PLAY, PLAY SOCIAL e PLAY GERAL do Sujeito CHICO.

Etapa de Observação	Primeira (Sem Catarina)		Segunda (Com Catarina)		Terceira (Com Catarina)		Total N=45	
	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão	Média	Erro Padrão
Play	4,40	1,48	0,13	0,09	0,00	0,00	1,51	0,43
Play Social	0,07	0,07	0,80	0,44	1,47	1,21	0,78	0,57
Play Geral	4,47	1,50	0,93	0,43	1,47	1,21	2,29	0,69

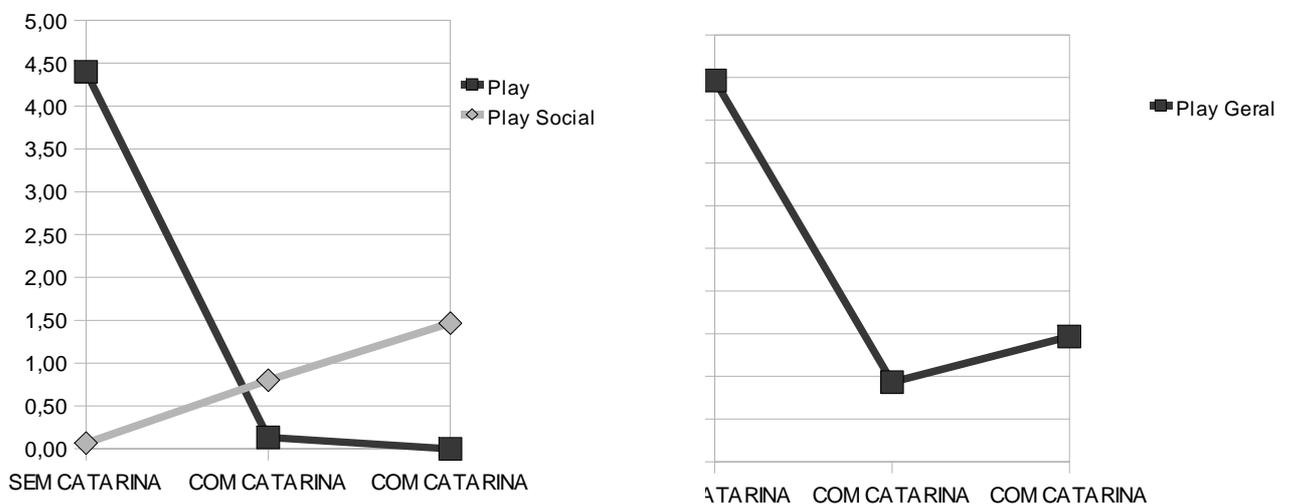


Figura 15. Medidas Comportamentais PLAY, PLAY SOCIAL e PLAY GERAL do Sujeito CHICO.

Em análise estatística de Correlação de Pearson se observaram algumas relações entre as medidas comportamentais entre si e com o cortisol.

As Correlações de Pearson significativas entre os níveis de cortisol e as Medidas Comportamentais para cada sujeito que teve análise salivar são mostradas na Tabela 8 .

Tabela 8. Coeficiente de Correlação de Pearson (ρ) entre Cortisol e Medidas Comportamentais.

	Sexual		Demarcação		Agonístico		Play	
	ρ	Sig.	ρ	Sig.	ρ	Sig.	ρ	Sig.
Sansão	0,421	0,029*	0,499	0,008**	-	-	-	-
Dalila	0,531	0,004**	-	-	0,450	0,018*	-	-
Carlota	-	-	-	-	-	-	-	-
Brutus	-	-	-	-	-	-	0,808	0,000**

*Correlação Significativa ao nível de 0,05

**Correlação Significativa ao nível de 0,01

Com relação aos comportamentos, o Sujeito SANSÃO apresentou Correlação de Pearson entre a Medida Comportamental DEMARCAÇÃO, $\rho=0,466$ com $p<0,01$ e $\rho=0,309$ com $p<0,05$ respectivamente às Medidas Comportamentais AGONÍSTICO e SEXUAL. O Sujeito DALILA apresentou entre a Medida Comportamental AMBULAÇÃO $\rho=0,467$ com $p<0,01$ e de $\rho=0,469$ com $p<0,01$ respectivamente às Medidas Comportamentais SEXUAL e AGONÍSTICO. O Sujeito CARLOTA apresentou entre a Medida Comportamental VOCALIZAÇÃO $\rho=0,641$ com $p<0,01$; $\rho=0,307$ com $p<0,05$; e $\rho=0,398$ com $p=0,01$ respectivamente às Medidas Comportamentais SEXUAL, AMBULAÇÃO E ATIVIDADE. Além de ter apresentado entre a Medida ATIVIDADE $\rho=0,398$ com $p<0,05$; $\rho=0,305$ com $p<0,05$; e $\rho=0,859$ com $p<0,01$ respectivamente às Medidas Comportamentais VOCALIZAÇÃO, SEXUAL e AMBULAÇÃO. E o Sujeito BRUTUS apresentou Correlação de Pearson entre as Medidas Comportamentais DEMARCAÇÃO e VOCALIZAÇÃO $\rho=0,608$ com $p<0,01$.

DISCUSSÃO

Observou-se neste trabalho a eficiência da coleta salivar como método não invasivo para o estudo de animais em cativeiro. Foram comparadas as medidas comportamentais aferidas antes da Coleta (Pré Coleta) e as medidas aferidas após a Coleta (Pós Coleta) e não houve diferença significativa entre essas duas variáveis, Pré e Pós Coleta. A coleta salivar, em si, não causou alteração no comportamento dos animais estudados, como indicado em outros estudos como de Castro (2009) e Montanha *et al.* (2009).

Os níveis plasmáticos de alguns hormônios, como o cortisol, refletem a resposta do animal a condições estressoras (Joca *et al.*, 2003), sendo que determinadas condições crônicas de estresse podem favorecer o desenvolvimento de doenças e distúrbios neurológicos (Concannon, Butter, Hansel, Knigth, & Hamilton, 1978; Toniollo & Vicente, 1993; Feldman & Nelson, 1996).

Por outro lado, podemos perceber a redução dos níveis de cortisol, como relatado no estudo de Carlstead (1993) onde foram ofertados pontos de fuga, como EA, para leopardos que podendo se esconder da presença de outros grandes felinos (*Panthera spp.*) alojados em cativeiro vizinho, tiveram redução na concentração de cortisol, revelando melhora da qualidade de vida destes animais.

O presente estudo revelou diferença significativa dos níveis de Cortisol da etapa anterior à aplicação do EA em relação às etapas posteriores ao EA. BANTEA apresentou valores maiores da concentração deste hormônio em relação às Etapas IMEA e BAPOEA, como dados obtidos por Carlstead (1993). Porém foram geradas agora informações de base referentes ao grupo de grandes felinos da espécie *Panthera onca*. Esta variação hormonal indica uma diminuição do estresse desse grupo de animais com a aplicação do EA e o efeito da persistência da terapêutica do EA na diminuição do estresse.

A diminuição dos níveis de cortisol observada neste experimento nas Etapas IMEA e BAPOEA reforça a idéia de que esta intervenção pode promover bem-estar (Carlstead, 1993; Gonçalves *et al.*, 2010; Silva, 2008), prevenção de condições estressoras (Joca *et al.*, 2003) e geradoras de doenças e distúrbios neurológicos (Concannon *et al.*, 1989; Feldman & Nelson, 1996; Joca *et al.*, 2003; Marcuzzo, 2006; Toniollo & Vicente, 1993) e por conseguinte, promoção de qualidade de vida aos animais (Shepherdson, 1998).

Podemos verificar, também, o efeito persistente da aplicação do EA. Ao analisarmos os níveis de Cortisol 10 semanas após a aplicação dos Enriquecimentos (BAPOEA) observamos que esta não apresentou diferença significativa em relação à IMEA mas que os índices foram significativamente diferentes em relação à Etapa Anterior à Aplicação do EA. O que indica que o efeito do EA não se restringe ao momento de aplicação, mas perdura ao longo do tempo.

A presença de visitantes pode ser um fator estressor para animais de cativeiro, como relatado por Montanha *et al.* (2009). Porém, neste estudo, observou-se que a visita com poucas pessoas não apresentou diferenças dos índices de cortisol em relação aos períodos sem visita, enquanto que grupos com muitos visitantes refletiram em altos níveis deste hormônio. A quantidade de pessoas se mostrou relevante em relação aos índices de cortisol aferidos, constatando-se diferença significativa dos níveis de cortisol entre grupos com muitos visitantes em relação a grupos com poucos ou nenhum visitante. A visita, por si, não necessariamente se apresentou como estressor aos animais, mas somente quando considerada a quantidade de visitantes. Visto que grupos com mais de 20 pessoas alterou significativamente os níveis de cortisol dos Sujeitos, indiciando uma real condição estressora aos animais.

Por outro lado, com a aplicação do EA foram reduzidos os índices de cortisol inclusive em períodos com visita.

Na Etapa anterior à aplicação do EA foi percebida diferença significativa nas médias de concentração de cortisol entre os grupos com visita e sem visita, com maiores índices no primeiro caso. O mesmo não ocorreu nas Etapas IMEA e BAPOEA, tendo em vista que com ou sem visita não houve diferença entre os níveis de cortisol IMEA, o que se repetiu 10 semanas após a aplicação do EA, sem diferença significativa deste hormônio em relação à visita (Figura 14).

Estes resultados sugerem que o EA pode ter causado um efeito modulador dos níveis de cortisol com a variável VISITAÇÃO, o que reforça a idéia de que com a aplicação de EA se promove bem-estar aos animais em cativeiro (Shepherdson, 1998), e que o EA pode servir como um modelo animal de intervenção terapêutica ao estresse em outros distúrbios psicológicos e comportamentais (Da Silva *et al.*, 2007; Schaeffer, 2009; Gonçalves *et al.*, 2010).

As alterações comportamentais em relação às Etapas do EA foram diferentes e específicas para cada Sujeito, entretanto todos os sujeitos, individualmente, tiveram seus níveis de cortisol reduzidos a partir da aplicação do EA.

O sujeito SANSÃO apresentou redução significativa das medidas comportamentais SEXUAL, AGONÍSTICO e DEMARCAÇÃO nas etapas IMEA e BAPOEA, com correlações significativas entre esses comportamentos. Isso sugere que aspectos de dominância do macho possivelmente foram reduzidos em função da alteração de atividade sexual e também pela aplicação do EA. Em relação à atividade sexual das fêmeas, a suposição é de que elas se encontravam em estro porque apresentavam a medida comportamental SEXUAL (disponibilidade a cópula ou interação com a genitália de outro indivíduo). Desta maneira, foi observado que a fêmea DALILA estaria em estro em BANTEA, a fêmea CARLOTA estaria em estro em IMEA e nenhuma das duas se encontrava em estro em BAPOEA.

Entretanto, mesmo com uma fêmea em estro (CARLOTA) em IMEA, observou-se a redução dos índices das categorias SEXUAL, AGONÍSTICO E DEMARCAÇÃO do sujeito SANSÃO, provavelmente pela influência da aplicação do EA. Supõe-se então que as fezes de outros animais e o psicoativo Catnip (*Nepeta cataria*) em seu recinto (EA sensorial), e a resolução de problemas para alimentar-se (Tronco-Surpresa, EA alimentar e cognitivo) aplicados em dias diferentes, mas sucessivamente por quatro semanas, afetou a manifestação comportamental de maneira a distribuir as taxas de comportamentos em maior variedade de categorias de registros deste animal além de gerar uma nova categoria de comportamento em seu repertório comportamental, pois observa-se a redução das medidas comportamentais SEXUAL, AGONÍSTICO e DEMARCAÇÃO e o surgimento da medida PLAY, como podemos observar na Tabela 6.

Ao considerarmos a suposição de que as fêmeas se encontravam em estro, DALILA em BANTEA e CARLOTA em IMEA, podemos discutir os resultados encontrados fazendo referência à literatura sobre regularidade do ciclo estral em onças. Isto é, conforme Rodini (2004) o ciclo estral em animais desta espécie é em média de 28 a 30 dias com duração média de sete a quinze dias em animais de cativeiro. Assim, calculando uma média total de 39 dias para renovação de cada ciclo estral (média de nove dias de duração e regularidade de 30 dias), o sujeito CARLOTA deveria manifestar estro também em BAPOEA, o que não ocorreu, considerando que este animal não apresentou a medida comportamental SEXUAL nesta etapa. Isto levanta a hipótese de que o EA pode ter alterado a regularidade estral, adiantando ou atrasando este ciclo, o que pode sugerir que os comportamentos sexuais e seus correlatos podem ser influenciados pela aplicação do EA.

O Sujeito BRUTUS apresentou maior VOCALIZAÇÃO e DEMARCAÇÃO em IMEA, fato que pode ser considerado positivo para um animal que apresentou 91,51% de INATIVIDADE nos registros etográficos desta pesquisa.

Outra Medida Comportamental deste sujeito com diferença entre as Etapas do EA foi o PLAY. Foi observada uma diminuição gradativa deste comportamento, um indício do início da maturidade sexual deste animal. Aos 3 anos de idade inicia-se a maturidade sexual desta espécie (Rodini, 2008), idade que se encontrava o animal nos períodos da coleta. Esta alteração do comportamento PLAY coincidiu com a Etapa de Aplicação do EA e com a introdução de uma jovem fêmea no recinto vizinho (Catarina). Celotti (1997), Gonçalves *et al.* (2010) e Pereira *et al.* (2009) definem a introdução de interação com outros animais como uma forma de Enriquecimento Ambiental Social. Desta maneira, aparentemente a aplicação de EA para este sujeito influenciou em sua maturação sexual.

O Sujeito CHICO apresentou redução significativa da medida comportamental AUTO CUIDADO em IMEA, e com persistência à BAPOEA (Tabela 6). Em IMEA foi também introduzida uma fêmea em seu recinto (Catarina), considerando este fato como EA Social (Celotti, 1997; Pereira *et al.*, 2009). Observamos, então, o efeito da aplicação de EA na alteração do comportamento deste animal.

Com a introdução de outro Sujeito no recinto de CHICO, observou-se uma redução da Medida Comportamental PLAY (brincar sozinho) e um aumento da Medida Comportamental PLAY SOCIAL, sem alteração significativa do comportamento PLAY GERAL (soma dos comportamentos PLAY e PLAY SOCIAL) (Tabela 7). O Sujeito CHICO manteve o PLAY mas deixou de manifestá-lo sozinho, interagindo com o a fêmea recém introduzida em seu ambiente.

O sujeito GAVIÃO apresentou uma redução da Medida Comportamental AUTO CUIDADO em IMEA assim como o Sujeito CHICO. A expressão exacerbada do comportamento de auto limpeza pode ser um indicativo de estresse para animais mantidos em cativeiro (Broom & Molento, 2004; Pereira *et al.*, 2011) sendo que esta redução do comportamento pode ser um indicativo de promoção de bem-estar.

Os níveis de Cortisol não apresentaram associação direta com nenhuma medida comportamental específica. Para cada sujeito houve uma correlação estabelecida deste hormônio com um determinado comportamento, como por exemplo SEXUAL e DEMARCAÇÃO para o SANSÃO, SEXUAL e AGONÍSTICO para a DALILA, ou PLAY para o BRUTUS. Não se pôde fazer uma associação direta de elevação ou redução do cortisol com um determinado comportamento, tendo em

vista que as mesmas medidas não apresentaram correlação em outros Sujeitos, como no caso da CARLOTA que não apresentou correlação entre cortisol e nenhuma medida comportamental (Tabela 8).

O que observamos é uma individualização na resposta comportamental frente ao EA e níveis de cortisol. Ou seja, cada sujeito apresentou correlação específica entre níveis hormonais e o comportamento, de certa forma indo ao encontro da abordagem de Broom (1991), que propõe o bem estar como o estado de um indivíduo do ponto de vista de suas tentativas de adaptação ao ambiente, de maneira que podemos quantificar o grau de sucesso que o animal consegue se ajustar ao meio. Visto que os animais aqui estudados apresentaram uma individualização da resposta comportamental frente ao EA, sugerimos uma análise individual quantificando graus de sucesso na adaptação aos desafios do EA. Assim, é possível destacar novas categorias de comportamentos que surgiram em cada animal nas condições IMEA e BAPOEA. No sujeito CARLOTA surgiu significativamente a expressão comportamental VOCALIZAÇÃO. No sujeito CHICO surgiu significativamente a expressão comportamental PLAY INTERATIVO, no sujeito BRUTUS surgiram significativamente DEMARCAÇÃO e VOCALIZAÇÃO que podem ser vistos na Tabela 6. Também podemos supor como um processo de adaptação o aumento ou redução significativa (variação comportamental) que ocorreu individualmente em todos os sujeitos conforme Tabela 6.

Como se observou a redução significativa dos níveis de cortisol nas condições IMEA e BAPOEA, podemos também supor que este aumento da diversidade comportamental, particular e diferenciada, relatada estar correlacionado a processos de adaptação e sucesso, visto que todos esses animais apresentaram uma redução do cortisol, indo ao encontro da literatura que aponta que níveis reduzidos de cortisol estão sempre relacionados a um nível de bem estar e privação de situações estressantes.

Comportamentos Anormais e níveis de cortisol se associaram em nossos dados. Os níveis de cortisol desde a alvorada até o crepúsculo apresentaram uma discreta elevação no decorrer do dia, com seus menores valores no início do dia, indicando um ritmo circadiano (Castro & Moreira, 2003). Porém estas variações não apresentaram diferença significativa com ANOVA, sugerindo que há uma estabilidade nos índices de cortisol no decorrer do dia.

Quando observamos a medida comportamental ANORMAL, que corresponde ao pacing ou ao ato de morder a grade, percebemos diferença significativa ocorrida

entre os períodos do dia. Sendo que os valores aumentam da alvorada ao meio dia e continuam a aumentar até o crepúsculo, com diferença significativa entre os períodos. É interessante observar a similaridade gráfica da Medida ANORMAL e dos níveis de Cortisol, porém sem significância estatística (Figura 11).

As Medidas Comportamentais observadas corroboraram a idéia de que os *Panthera onca* são animais de hábitos relacionados a pouca luz (Crandall, 1974), tendo sido observadas maior atividade, brincadeiras e ambulação no início e final do dia, quando comparados ao Meio dia. E conseqüentemente maior inatividade ao Meio dia (Figura 12).

Todos os sujeitos apresentaram alto índice de inatividade, sendo que alguns alcançaram mais de 80% de inatividade dos registros obtidos. O ambiente proporcionado ao animal em cativeiro é menos complexo do que o ambiente natural. Esta baixa complexidade é associada à alta previsibilidade das situações, o que gera uma condição tediosa e estressante para os indivíduos (Wiepkema & Koolhaas, 1993; Bassett & Buchanan-Smith, 2007). A aplicação de EA para animais nestas condições de sedentarismo pode promover-lhes aumento do bem-estar (Shepherdson, 1998).

O estresse causado pela previsibilidade, limitação e baixa complexidade de um recinto em um cativeiro pode ser associado a altos índices de cortisol (Contarteze, 2007; Rodrigues, 2009). Altos índices deste hormônio, em situações crônicas de estresse, pode ter efeito deletério no sistema nervoso de mamíferos (Concannon et al., 1989; Feldman & Nelson, 1996; Joca et al., 2003; Marcuzzo, 2006; Toniollo & Vicente, 1993). Portanto, ao se diminuir a inatividade de indivíduos sedentários, podemos também estar diminuindo a probabilidade de ocorrência de neuropatias, proporcionando-lhes qualidade de vida (Gonçalves et al. 2010; Schaeffer, 2009).

Isto porque a exposição a um ambiente enriquecido com oportunidades para interação social, exploração e atividade física aumenta a proliferação celular, a sobrevivência e o número de novos neurônios em animais experimentais. Além de melhorar o desempenho em tarefas de aprendizagem, o que têm mostrado correlação positiva com o processo de neurogênese no hipocampo em resposta a estímulos fisiológicos (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007; Schaeffer, 2009).

Por último, Schaeffer (2009) descreveu que diversos estudos recentes vêm demonstrando evidências de que a neurogênese pode estar ativa inclusive em sujeitos com doença de Alzheimer, acompanhado de outros autores, como Fischer

et al. (2007) que apontam o efeito de atividades de enriquecimento ambiental em animais, como o que ocorre em ratos transgênicos com acúmulo de proteína amilóide, que quando criados em condições de EA, diferentes daqueles que não passaram por EA, apresentam desempenho cognitivo próximo aos animais controle, mesmo possuindo atrofia e perda de neurônios.

Finalmente podemos concluir que o Enriquecimento Ambiental cognitivo e sensorial promove redução de cortisol, por conseguinte redução do estresse, e a promoção de diversidade comportamental nos animais diante dos desafios do EA, portanto, a melhora da qualidade de vida dos animais. Ademais, experimentos como este servem de subsídios como modelo animal para discussões sobre plasticidade cerebral, e para justificar e incentivar a construção de programas de reabilitação em saúde humana que envolvam Enriquecimento Ambiental, ou seja, propostas de desafios e estimulação cognitiva, sensorial e social dirigidas à pacientes com doenças degenerativas ou lesões cerebrais.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Baptista, R. I. A. A., da Silva, J. M., & Oliveira, M. A. B. (2009). Comportamento do Gato Mourisco (*Puma yagouaroundi*, E. Geoffroy, 1803) em Cativoiro. In *IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão*, Recife, PE. Anais da IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão.
- Bassett, L., & Buchanan-Smith, H. M. (2007). Effects of predictability on the welfare of captive animals. *Applied Animal Behaviour Science*, 102(3-4), 223-245.
- Biernaskie, J., & Corbett, D. (2001). Enriched rehabilitative training promoter improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *Journal of Neuroscience*, 21(14), 5272-5280.
- Bosso, P. L. (2011). Tipos de enriquecimento. Recuperado em 06 de junho de 2011, da Fundação Parque Zoológico de São Paulo : <http://www.zoologico.sp.gov.br/peca2.htm>
- Brake, W. G., Alves, S. E., Dunlop, J. C., Lee, S. J., Bulloch, D., Allen, P. B.; Greengard, P., & McEwen, B. S. (2001). Novel target sites for estrogen action in dorsal hippocampus: An examination of synaptic proteins. *Endocrinology*, 142, 1284-1289.
- Broom, D. M., & Molento, C. F. M. (2004) Bem-Estar Animal : Conceito e Questões relacionadas – Revisão. *Archives of Veterinary Science*, 9(2), 1-11.
- Breedlove, S. M., Rosenzweig, M. R., & Watson, N. V. (2007). Evolution of the Brain and behavior. In *Biological psychology: an introduction to behavioral, cognitive, and clinical neuroscience*. (Cap. 6)(5th ed.) Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Briones, T. L., Klintsova, A. Y., & Greenough, W. T. (2004). Stability of synaptic plasticity in the adult visual induced by complex environment exposure. *Brain Research*, 1018(1),130-135.
- Carlstead, K. (1996). Effects of Captivity on the Behavior of Wild Mammals. In D. G. Kleiman et al. *Wild mammals in captivity: principles and techniques*. (Cap. 31, pp. 317-333), Chicago: The university of Chicago Press Ltd.
- Carlstead, K.; Brown, J., & Seindsticker, S. (1993). Behavioral and adrenocortical responses to environmental changes in leopard cats (*Felis bengalensis*). *Zoo Biology*, 12, 321-332.
- Castro, L. S. (2009) *Influências do enriquecimento ambiental no comportamento e nível de cortisol em felídeos silvestres*. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal : Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.
- Castro, M., & MOREIRA, A. C. (2003). Análise Crítica do Cortisol Salivar na Avaliação do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, 47(4), 358-367.
- Celotti, S. (1997). *Guia para o Enriquecimento das Condições Ambientais*. Federação de Universidades para o bem estar dos animais (UFAW). Sociedade Zoófila Educativa (SOZED).

- Concannon, P. W., Butter, W. R., Hansel, W., Knigh, P. I., & Hamilton, J. M. (1978). Parturition and lactation in the bitch: serum progesterone, Cortisol and Prolactin. *Biology Reproduction*, 19, 1113-1118.
- Contarteze, R. V. L., Manchado, F. de B.; Gobatto, C. A., & de Mello, M. A. R. (2007). Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 13(3) 169-174.
- Crandall, L. S. (1974). *The Management of Wild Mammals in Captivity*. Chicago: University of Chicago Press Ltd.
- Cruz, A. P. de M., & Landeira- Fernandez, J. (2007) Por uma Psicologia baseada em um Cérebro em transformação. In Landeira-Fernandez, J., & Silva, M. T. (Orgs.) *Intersecções entre a Psicologia e Neurociências*. (Cap. 1. pp 1-15). Rio de Janeiro: Med Book Editora Científica Ltda.
- Culver, M.; Johnson, W. E., Pecon-Slattey, J., & O'Brien, S. J. (2000). Genomic Ancestry of the American Puma (*Puma concolor*). *The Journal of Heredity*, 91(3), 186-197.
- Darwin, C. (2004). *A origem das espécies*. Rio de Janeiro: Ediouro. (Trabalho original publicado em 1860).
- Da Silva, S. L., Coelho, D. S., & Alchieri, J. C. (2007). Plasticidade Cerebral, Meio Ambiente, Comportamento e Cognição: Bases Aliadas às Neurociências para o Estudo da Reabilitação. In Landeira-Fernandez, J., & Silva, M. T. (Orgs.) *Intersecções entre a Psicologia e Neurociências*. (Cap. 8. pp. 175-215). Rio de Janeiro: Med Book Editora Científica Ltda.
- De Rouck, M., Kitchener, A. C., Law, G., & Nelissen, M. (2005). A comparative study of the influence of social housing conditions on the behaviour of captive tigers (*Panthera tigris*). *Animal Welfare*. 14(3), 229-238.
- Dethier, U.G., & Stellar, E. (1988). *Comportamento Animal*. São Paulo: Editora Edgar Blücher Ltda.
- Di Marzo, V., Hill, M. P., Bisogno, T., Crossman, A. R., & Brotchie, J. M. (2000). Enhanced levels of endogenous cannabinoids in the globus pallidus are associated with a reduction in movement in an animal model of Parkinson's disease. *The FASEB Journal*, 14, 1432-1438.
- Dos Reis, F. G. (2009). *O estresse físico modula a mecânica de tecido pulmonar periférico, a expressão de citocinas e o estresse oxidativo em cobaias com inflamação alérgica crônica*. Tese de Doutorado em Ciências: Fisiopatologia Experimental, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Eisenberg, J. F. (1989). An introduction to the Carnivora. In Gittleman, J. L. *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*. (pp. 1-9). Ithaca, NY: Comstock Publishing Associates.
- Feldman, E. D., & Nelson, R. W. (1996). *Canine and feline endocrinology and reproduction*. (2nd ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.

- Fischer, A; Sananbenesi, F; Wang, X; Dobbin, M; Tsai, L. H. (2007) Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodeling, *Nature*, 447(10), 178-183.
- Fitch, W. M. (2000) Homology: a personal view on some of the problems. *Trends in Genetics*, 16, 227-231.
- Freitas, E. G., & Nishida, S. M. (2006) Métodos de Estudo do Comportamento Animal. . In Yamamoto, M. E., & Volpato, G. L. *Comportamento animal*. (Cap 3). Natal, RN: EDUFRN – Editora da UFRN.
- Geyer, M. A., & Markou, A. (2011). Animal Models of Psychiatric Disorders. Recuperado em 10 de janeiro de 2011, de Bach to Psychopharmacology – The Fourth Generation : <http://www.acnp.org/g4/GN401000076/Default.htm>
- Gittleman, J. L. (1989). *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*, Ithaca, NY: Comstock Publishing Associates.
- Gonçalves, M. A. B, Da Silva, S. L., Tavares, M. C. H., Grosmann, N. V., Cipreste, C. F., & Di Castro, P. H. G. (2010). Comportamento e bem-estar animal: o Enriquecimento Ambiental. In Andrade, A., Aandrade, M.C.R., Marinho, A. M., & Ferreira Filho, J. *Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não-humanos na Pesquisa Biomédica*. (Cap. 5). Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz.
- Gorman, M. L., & Trowbridge, B.J. (1989). The Role of Odor in the Social Lives of Carnivores. In Gittleman, J. L. *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*. (Cap. 2. pp. 57-88). Ithaca, NY: Comstock Publishing Associates.
- Greenough, W. T., West, R. W., & De Voogd, T. J. (1978). Sub-synaptic plate perforation: changes with age an experience in rats. *Science*. 202, 1906-1908.
- Ickes, B. R., Pham, T. M., Sanders, L. A., Albeck, D. S., Mohammed, A. H., & Granholm, A. C. (2000). Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Experimental Neurology*, 164(1), 45-52.
- Jericó, M. M. (1999). Antiinflamatórios Esteroidais. In Spinosa, H. de S., Górnaiak, S. L., & Bernardi, M. M. (1999). *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*. (2a ed.) (Cap. 22, p. 227-237). Rio de Janeiro: Editora guanabara Koogan S.A..
- Joca, S. R. L., Padovan, C. M., & Guimarães, F. S. (2003). Estresse, depressão e hipocampo – *Stress, depression and the hippocampus*. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 25, 46-51.
- Johansson, B., & Belichenko, P. (2002). Neuronal plasticity and dendritic spines: effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain. *Journal of Cerebral Blood flow and Metabolism*, 22, 89-96.
- Jong-Hoon K.; Auerbach, J. M.; Rodríguez-Gómez, J. A., Velasco, I.; Gavin D., Lumlsky, N., Sang-Hun L., Nguyen, J., Sánchez-Pernaute, R., Bankiewicz, K., & McKay, R. (2002). Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an Animal Model of Parkinson's disease. *Nature*, 418, 50-56.
- Kantowitz, B. H., Roediger III, H. L., & Elmes, D. G. (2006). *Psicologia Experimental – Psicologia para compreender a pesquisa em psicologia*. São Paulo: Thomsom Learning Edições.

- Kempermann, G., Kuhn, H. G., & Gage, F. H. (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 386, 493-495.
- Kolb, B., Gibb, R., & Gorny, G. (2003). Experience-dependent changes in dendritic arbor and spine density in neocortex vary qualitatively with age and sex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1(79), 1-10.
- Koob, G. F. (2009). Brain stress systems in the amygdala and addiction. *Brain research*, 39099, 4C:3,10, 1-15..
- Kretz, O., Fester, L., Wehrenberg, V., Zhou, L., Brauckmann, S., Zhao, S., Prange-Kiel, J., Naumann, T., Jarry, H., Frotscher, M., & Rune, G. M. (2004). Hippocampal synapses depend on hippocampal estrogen synthesis. *Journal of Neuroscience*, 24(26), 5913-5921.
- Leggio, M. G., Mandolesi, L., Federico, F., Spirito, F., Ricci, B., Gelfo, F., & Petrosini, L. (2005). Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behavioral Brain Research*, 163, 78-90.
- Laudat, M. H., Cerdas, S., Fournier, C., Guiban, D., Guilhaume, B., & Luton, J.P. (1988). Salivary Cortisol Measurement: A Practical Approach to Assess Pituitary-Adrenal Function. *JCEM*, 66, 343-348;
- Leite, M. R. P. (2000). *Relações entre a onça-pintada, onça-parda e moradores locais em três Unidades de Conservação da Floresta Atlântica do estado do Paraná, Brasil*. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais: Conservação da Natureza, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Lorenz, K.Z. (1975). A Evolução do Comportamento. In Freeman, W. H. *Psicobiologia: as bases biológicas do comportamento: textos do Scientific American*. (Aratanga, L. Trad.) (Cap. 5, pp. 37-48). Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora.
- Loxton, H. (1982). *Tudo sobre gatos – um guia mundial de 100 raças*, São Paulo, SP: Livraria Martins Fontes Editora Ltda.
- Marcuzzo, S. (2006). *Estudo sobre a densidade de espinhos dendríticos de neurônios da amígdala medial pósterio-dorsal de ratos em diferentes condições experimentais*. Dissertação de Mestrado em Neurociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Margis, R., Picon, P., Cosner, A. F., & Silveira, R. de O. (2003). Relação entre estressores, estresse e ansiedade. *Revista Psiquiatria RS*, 25(s1), 65-74.
- McEwen, B. S. (2006). Endocrine effects on the brain and their relationship to behavior. In Siegel, G., Alberts, R. W., Brady, S., & Price, D. (2006). *Basic Neurochemistry*. (pp. 843-858). Academic Press.
- Montanha, J. C., da Silva, S. L., & Boere, V. (2009). Comparison of salivary cortisol concentrations in Jaguars kept in captivity with differences in exposure to the public. *Ciência Rural*, Santa Maria, 39(6), 1745-1771.

- Moser, M. B., Trommald, M., Andersen, P. (1994). An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 91(26), 12673-12675.
- Nikolaev, E., Kaczmarek, L., Zhu, S.W., Winblad, B., & Mohammed, A. H. (2002). Environmental manipulation differentially alters *c-Fos* expression in amygdaloid nuclei following aversive conditioning. *Brain Research*, 64, 313-353.
- Nithianantharajah, J., Levis, H., & Murphy, M. (2004). Environmental enrichment results in cortical and subcortical changes in levels of synaptophysin and PSD-95 proteins. *Neurobiology of Learning and Memory*, 81, 200-210.
- No Extinction. *Quem somos*. Recuperado em 10 de janeiro de 2011, da NEX (No Extinction): <http://www.nex.org.br>
- Nogueira-Neto, P. (1984). *O Comportamento Animal e as Raízes do Comportamento Humano*, São Paulo: Nobel.
- Odberg, F. O. (1978). Abnormal Behaviorus: (stereotypies). In *Proceedings of the First World Congress of Ethology Applied to Zootechnics*. (pp. 475-80). Madrid.
- Olsson, M., Nikkahah, G., Bentlage, C., & Bjorklund, A. (1995). Forelim akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new stepping test. *Journal of Neuroscience*, 15, 3863-3875.
- Palk, H. H., Dienske, H. & Ribbens, L. G. (1977). Abnormal behavior in relation to cage size in rhesus monkeys. *Journal of Abnormal Psychology*, 86, 87-92.
- Pereira, L. B., de Almeida, A. R. V., & Soares, A. F. (2009). Enriquecimento Ambiental para animais que vivem em cativeiros. Recuperado em 09 de janeiro de 2011: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0763-2.pdf>
- Prado, M. A., Caramelli, P., Ferreira, S. T., Cammarota, M., & Izquierdo, I. (2007). Pensando o futuro: Ciências Biológicas – Envelhecimento e memória: foco na doença de Alzheimer. *Revista USP*, 75.
- Pratico, D., Uryu, K., Leight, S. Trojanoswki, J. Q., & Lee, V. M. Y. (2001). Increased Lipid Peroxidation Precedes Amyloid Plaque Formation in an Animal Model of Alzheimer Amyloidosis. *The Journal of Neuroscience*, 21(12), 4183-4187.
- Rabin, L. A. (2003). Maintaining behavioural diversity in captivity for conservation: Natural behavior management. *Animal Welfare*. 12(1), 85-94.
- Rampson, C., Tang, Y. P., Goodhouse, J., Shimizu, E., Kyin, M., & Tsien, J. Z. (2000). Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nature Neuroscience*, 3(3), 238-244.
- Renner, M. J., & Rosenzweig, M.R. (1986). Object interactions in juvenile rats (*Rattus norvegicus*): Effects of different experimental histories. *Journal of Comparative Psychology*, 100, 229-236.

- Rodini, D. Z. (2004). *Perfil analítico das progestinas fecais nas fases de puberdade e ciclicidade ovariana em Onça-Pintada (Panthera onca); gestação e lactação em Gato-Mourisco (Puma yagouaroundi)*. Tese de Doutorado em Reprodução animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Rodrigues, V., Toniollo, G. H., Lopes, P. R., Cardilli, D. J., & Oliveira, J. A. (2009). Teores séricos de cortisol de fêmeas caninas (*Canis familiaris* – Linnaeus, 1758) submetidas à cesariana. *Ciência Animal Brasileira*, 10(4), 1186-1190.
- Rosenzweig, M., & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: effects of training and experience of brain and Behavior. *Behavioural Brain Research*, 66, 31-47.
- Sandell, M. (1989). The Mating Tactics and Spacing Patterns of Solitary Carnivores. In Gittleman, J. L. *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*. (Cap. 6. pp. 164-182). Ithaca, NY: Comstock Publishing Associates.
- Schaeffer, E. L. (2010). Enriquecimento ambiental como estratégia para promover neurogênese da donça de Alzheimer: possível participação da fosfolipase A₂. *Rev Psiq Clín*, 37(2), 73-80.
- Selye H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, 138, 32.
- Shepherdson, D. J. (1998). Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In Shepherdson, D.J, Mellen, J. D., & Hutchins, M. *Second Nature: environmental enrichment for captive animals*. (01-12). Washington: Smithsonian Institution Press.
- Shors, T. J., Falduto, J., & Leuner, B. (2004). The opposite effects of stress on dendritic spines in male vs. Female rats are NMDA receptor-dependent. *European Journal of Neuroscience*, 19, 145-150.
- Silva, I.J.O., Pandorfi, H., & Piedade, S.M.S. (2008). Influência do sistema de alojamento no comportamento e bem-estar de matrizes suínas em gestação. *Revista Brasileira zootécnica*, 37(7).
- Silveira, L. (2004). *Ecologia comparada e conservação da onça-pintada (Panthera onca) e onça-parda (Puma concolor), no cerrado e pantanal*. Tese de Doutorado em Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília.
- Toniollo, G. H., & Vicente, W. R. R. (1993). *Manual de obstetrícia veterinária*, São Paulo: Varela.
- Umeda, T., Hiramatsu, R., Iwaoka, T., Shimada, T., Miura, F., & Sato, T. (1981). Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta*. 110, 245-253.
- Ungerstedt, U., & Arbuthnott, G. W. (1970). Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Research*, 24(3), 485-493.
- Vasconcellos, A. da S. (2009). *O estímulo ao forrageamento como fator de enriquecimento ambiental para lobos guarás: efeitos comportamentais e hormonais*. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Psicologia, Área de Concentração: Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

- Wiepkema, P. R., & Koolhaas, J. M. (1993). Stress and animal welfare. *Animal Welfare*, 2, 195-218.
- Wozencraft, W. C. (1989). The Phylogeny of the Recent Carnivora. In Gittleman, J. L. *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*. (Cap. 18. p. 495-535). Ithaca, NY: Comstock Publishing Associates.
- Yamamoto, M. E., & Volpato, G. L. (2006). *Comportamento Animal*. Natal, RN: EDUFRRN – Editora da UFRN.
- Young, R. J. (2003). *Environmental enrichment for captive animals*. Oxford: Blackwell Science.
- Yu-Yen I. P., Giza, L., & Houda, D. (2002). Effects of enriched environment and fluid percussion injury on dendritic arborization on this the cerebral cortex of the developing rat. *Journal of Neurotrauma*, 19(5), 67-74.

APÊNDICES

FORMULÁRIO DE ETOGRAMA DO PROJETO DE EXTENSÃO BICHOS VIVOS – ADEQUADO PARA FELÍDEOS DE CATIVEIRO

ANIMAL:

PESQUISADOR:

CLIMA:

ESPÉCIE:

DATA:

HORÁRIO:

CATEGORIAS	SOCIAL										TERRITORIAL		A N O R M A L	P L A Y	F I S I O L	A U T O C U I D	A T I V O	I N A T I V	O u t r o	N ã o V i s i v e l	O b s C Ó D
	Subcategoria	Display	Vocal	Parental	Sexual	Play	Agonist	Contato	Obs Mesm Espéc	Obs Out Espéc	Obs Visit	Obs Pesq									
01'																					
02'																					
03'																					
04'																					
05'																					
06'																					
07'																					
08'																					
09'																					
10'																					
11'																					
12'																					
13'																					
14'																					
15'																					
16'																					
17'																					
18'																					
19'																					
20'																					
21'																					
22'																					
23'																					
24'																					
25'																					
26'																					
27'																					
28'																					
29'																					
30'																					

Observações:



Brasília, 22 de fevereiro de 2011

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado “ Enriquecimento Ambiental: um modelo animal de estimulação cognitiva e sensorial em animais silvestres sedentários de cativeiro”, UnBDoc 13423/2011, sob responsabilidade do Prof. Sérgio Leme da Silva, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-FM) da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Prof. Dr. Carlos Eduardo Gaio V. dos Santos
Coordenador do CEUA-FM