

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
MESTRADO EM ZOOLOGIA

ROSELI APARECIDA SILVERIO

EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NAS RESPOSTAS
ADRENOCORTICAL E COMPORTAMENTAL DE ONÇAS-PINTADAS (*PANTHERA*
ONCA) EM CATIVEIRO

CURITIBA, 2015.

ROSELI APARECIDA SILVERIO

EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NAS RESPOSTAS
ADRENOCORTICAL E COMPORTAMENTAL DE ONÇAS-PINTADAS (*PANTHERA*
ONCA) EM CATIVEIRO

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Zoologia, no curso de Pós-graduação em Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Nei Moreira

CURITIBA, 2015.

S587 Silverio, Roseli Aparecida

Efeito do enriquecimento ambiental nas respostas adrenocortical e comportamental de onças-pintadas (*Panthera onca*) em cativeiro / Roseli Aparecida Silverio – Curitiba, 2015.

64 f.: il. color.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Zoologia, da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do título em Mestre em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Nei Moreira



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação Zoologia



TERMO DE APROVAÇÃO

Roseli Aparecida Silvério

**“Efeito do enriquecimento ambiental nas respostas
adrenocortical e comportamental de onças-pintadas
(*Panthera onca*) em cativeiro”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zoologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Comissão Examinadora:

Professor Dr. Nei Moreira
Orientador

Dr. Rogério Ribas Lange – UFPR
Membro Externo

Professor Dr. Emýgdio Leite de Araújo Monteiro-Filho - UFPR
Membro Interno

Curitiba, 30 de julho de 2015.

Programa de Pós-Graduação em Zoologia/UFPR
Setor de Ciências Biológicas - Departamento de Zoologia
Caixa Postal 19020 - CEP 81531-980 - Curitiba - Paraná
Telefone/FAX +55 (0**41) 3361-1641

"Olhe no fundo dos olhos de um animal e, por um momento, troque de lugar com ele. A vida dele se tornará tão preciosa quanto a sua e você se tornará tão vulnerável quanto ele"

Ochoa, P.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia (PPGZoo) por me possibilitar a execução da pesquisa.

Ao Professor Nei Moreira pela orientação durante a realização deste estudo e por me propiciar a oportunidade de aprender sobre monitoramento fisiológico não invasivo.

Ao Professor Emygdio Leite de Araújo Monteiro-Filho que me possibilitou ter o conhecimento necessário sobre comportamento animal e enriquecimento ambiental para a realização desta pesquisa.

À Professora Marta Luciane Fischer pelas oportunidades de co-orientação às quais contribuíram para enriquecer meu conhecimento sobre bem-estar e comportamento animal.

À banca avaliadora pelas contribuições ao trabalho.

Aos meus colegas do PPGZoo. Em especial às minhas amigas Fabiana Silveira e Maura Cristófani Martins pelo apoio ao longo do curso.

À equipe do Zoológico Municipal de Curitiba por permitir a realização do estudo. Principalmente ao Sr. Antônio Medeiros pela ajuda na execução da etapa de enriquecimento ambiental.

À Eliane Maria Stroparo e à Lígia Eliane Setenareski por me concederem a licença para a realização do experimento.

À Priscila Viau Furtado pela orientação no processamento, extração e enzimoimunoensaio das amostras fecais.

Aos meus colegas de trabalho da Biblioteca de Ciência e Tecnologia pelo apoio e compreensão.

Aos amigos, especialmente à Daniela de Fátima Machado pelo auxílio nas traduções e à Emília de Oliveira Noronha pela ajuda, sob chuva ou sol, na execução de parte do experimento.

Aos meus familiares, por compreender o distanciamento, a ansiedade e a irritação, principalmente na etapa final do curso. Especialmente à Rosa Francisca Silverio, minha mãe, e ao Jean Carlos Della Giustina, meu noivo, pelo incentivo, apoio emocional e suporte financeiro.

RESUMO

O cativeiro é uma ferramenta auxiliar para a conservação das espécies ameaçadas. Porém, seus efeitos negativos são reconhecidos na literatura e há consenso de que as limitações impostas pelo cativeiro podem levar a estresse e a comportamentos estereotipados especialmente em espécies que ocupam grandes áreas territoriais. O enriquecimento ambiental (EA) visa ampliar a complexidade do cativeiro levando à expressão de comportamentos naturais e à redução do estresse. A efetividade do EA pode ser avaliada através da observação da variação comportamental durante as etapas, antes, durante e após o EA, e posterior comparação. Ademais, é possível realizar o monitoramento fisiológico dos animais durante estas etapas através da mensuração de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG). Este estudo foi desenvolvido no Zoológico de Curitiba/PR com quatro indivíduos de *Panthera onca* e ocorreu em três etapas: Pré-enriquecimento, Enriquecimento e Pós-enriquecimento. Este estudo teve como objetivo averiguar a influência do EA sobre o comportamento dos animais e constatar a ocorrência de possíveis alterações na concentração de MFG durante o experimento. O estudo ocorreu entre 12/06 a 25/09/14, a partir do qual obtivemos 300 horas de dados comportamentais e 318 amostras fecais. As frequências das categorias comportamentais assim como as concentrações médias de MFG obtidas durante as etapas foram comparadas através do Teste qui-quadrado e ANOVA, respectivamente, com o auxílio do programa *Bioestat* 5.0, considerando $p=0,05$. A análise estatística demonstrou que para três animais a frequência comportamental apresentada foi diferente entre as etapas assim como a concentração média de MFG. Ao longo da etapa de EA verificamos que a concentração média de MFG foi mais alta do que a apresentada na etapa anterior, apesar da redução de comportamentos relacionados ao estresse. Contudo, observamos que na maior parte das amostras coletadas após o EA, a concentração de MFG foi menor do que antes da aplicação do EA. Constatamos que o EA promoveu a expressão de comportamentos naturais e reduziu comportamentos estereotipados. Concluímos que as técnicas utilizadas para avaliar o EA foram eficientes e atuaram de maneira complementar. Pois, através da observação comportamental constatamos que durante o EA houve redução de comportamentos estereotipados e através da coleta diária de amostras fecais verificamos que, geralmente, após o EA a concentração de MFG foi menor do que antes da aplicação do EA. Diante disso, concluímos que o enriquecimento ambiental é uma estratégia que contribui para melhorar a qualidade de vida dos animais mantidos em cativeiro.

Palavras-chave: onça-pintada, enriquecimento ambiental, monitoramento não invasivo, comportamento, glicocorticoides fecais.

ABSTRACT

The captivity is an auxiliary tool for the conservation of endangered species. However, the negative effects of captivity are recognized in the literature and there is a agreement that the limitations imposed by captive environment can lead to stress and stereotypical behaviors especially in species that hold extensive territorial areas. Environmental enrichment (EE) seeks to increase the complexity of captivity leading to expression of natural behavior and stress reduction. The EE effectiveness can be evaluated through comparison of behavioral change through steps before, during and after EE. Furthermore, it is possible to perform the animals physiological tracking during these phases by measuring fecal glucocorticoids metabolites (FGM). This study was developed in Curitiba Zoo / PR / Brazil with four jaguar (*Panthera onca*) and has occurred in three stages: Pre-enrichment, Enrichment and Post-enrichment. This study aims to verify the influence of EE on the behavior of animals and observe the occurrence of possible changes in the concentration of FGM throughout the experiment. The survey took place between June 12 and September 25, 2014, from which we got 300 hours of behavioral data and 318 fecal samples. The behavioral categories frequencies as well as the average concentrations of FGM achieved through the steps were respectively compared using the Chi-square test and ANOVA, with the support of Bioestat 5.0 software, considering $p = 0.05$. Statistical analysis showed that three animals presented different behavioral frequency between steps as well as the mean concentration of FGM. Throughout the EE phase we found that the average concentration of FGM was higher than the one presented in the previous stage, despite the reduction of behaviors related to stress. Nevertheless, we observed that in the majority of samples collected after the EA concentration of FGM was smaller than before the application of EA. We observed that most of the samples collected after the EE, concentration of FGM was smaller than before the application of EE. It was verified that EE has promoted the expression of natural behavior and reduced stereotypical behaviors. We concluded that the techniques used to evaluate the EE were efficient and worked a complementary way. Therefore through the behavioral observation we found that during the EA there was a reduction in the EA stereotyped behavior and over the daily collection of fecal samples we verified that generally after the EA the concentration of FGM was smaller than before the application of EA. Given this, we conclude that environmental enrichment is a strategy that helps to improve the quality of life of the animals kept in captivity.

Keywords: jaguar, environmental enrichment, noninvasive monitoring, behavior, fecal glucocorticoids.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
1.1.	BIOLOGIA E ESTADO DE CONSERVAÇÃO DA ONÇA-PINTADA	10
1.2.	ESTRESSE, HORMÔNIOS RELACIONADOS E COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO	12
1.3.	ZOOLÓGICOS, BEM-ESTAR OU QUALIDADE DE VIDA DE ANIMAIS CATIVOS E O PAPEL DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL	14
1.4.	MONITORAMENTO NÃO INVASIVO ATRAVÉS DE AMOSTRAS FECALIS	17
2	OBJETIVOS	19
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1	ÁREA DE ESTUDO.....	20
3.2	ANIMAIS E MANEJO	20
3.3	PROCEDIMENTOS.....	24
3.3.1	Obtenção de dados comportamentais	24
3.3.2	Aplicação do Enriquecimento Ambiental.....	27
3.3.3	Coleta das amostras fecais	29
3.3.4	Processamento das amostras fecais, extração e análise hormonal	30
4	RESULTADOS	32
4.1.	DESENVOLVIMENTO DO CATÁLOGO COMPORTAMENTAL.....	32
4.2.	EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO COMPORTAMENTO DAS ONÇAS-PINTADAS	34
4.3.	EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS DE GLICOCORTICOIDES PRESENTES NAS FEZES DE ONÇAS-PINTADAS.....	44
4.4.	ASPECTO DA VISITAÇÃO DURANTE A EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO .	49
5	DISCUSSÃO.....	51

6	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS	61
	ANEXO	64

1 INTRODUÇÃO

A família Felidae é composta por 41 espécies (WILSON; REEDER, 2014), entre as quais são encontrados animais que variam entre 1kg (*Felis nigripes*) até mais de 325 kg (*Panthera tigris altaica*). Na natureza, a maioria das espécies de felídeos é solitária. Apenas leões (*Panthera leo*) e, em alguns casos, guepardos (*Acinonyx jubatus*) e o gato doméstico (*Felis catus*) podem ser gregários e cooperativos (MACDONALD; LOVERIDGE, 2010).

Aspectos naturais dos felídeos, como o hábito carnívoro, exigência de grandes áreas com ambientes preservados para satisfazer suas exigências de alimento e de população mínima viável, e a baixa densidade de suas populações, torna-os vulneráveis a qualquer alteração que possa influenciar de maneira drástica sua área de vida (VIDOLIN, 2004).

Devido a isso, muitas espécies de felídeos estão classificadas como ameaçadas e várias são vistas como criticamente em perigo de extinção (IUCN, 2015). Sendo a degradação de habitats e os conflitos com o homem os principais fatores responsáveis pelo declínio de muitas espécies (NOWELL; JACKSON, 1996; VIDOLIN, 2004).

Tendo em vista os problemas populacionais, uma alternativa para a conservação de espécies ameaçadas é a reprodução em cativeiro, onde indivíduos são manejados com o intuito de manter o máximo de variabilidade genética da espécie (MOREIRA, 2007).

Entretanto, o cativeiro impõe aos animais selvagens condições muito diferentes daquelas encontradas em ambientes naturais (CAMPOS *et al.*, 2005). A manutenção de animais em zoológicos pode prejudicá-los, ao impedir a liberdade de movimento e de associação, frustrando muitos de seus comportamentos naturais, deixando-os, na melhor das hipóteses, entediados e, na pior, seriamente neuróticos, o que resulta em comportamentos estereotipados como o *pacing* (andar estereotipado) e a automutilação (TUYL, 2008). Diante disso, o enriquecimento ambiental atua aumentando a possibilidade de o animal cativo demonstrar o comportamento típico da espécie, melhorando sua qualidade de vida ao identificar e

fornecer os estímulos necessários para o seu bem-estar psicológico e fisiológico (SGAI, 2007).

A efetividade do enriquecimento ambiental pode ser verificada através das variações comportamentais que ocorrem durante a sua aplicação. Estas alterações podem ser qualificadas e quantificadas através de observações comportamentais (WELLS; EGLI, 2004; VAN METTER *et al.*, 2008).

Soma-se a isto o monitoramento endócrino que, por meio da mensuração de metabólitos esteroides urinários e fecais, tem se mostrado uma alternativa viável no estudo da fisiologia reprodutiva e do estresse em diversas espécies de aves e mamíferos, dentre esses os felídeos (PEREIRA, 2007). Nestes animais os metabólitos de esteroides fecais são excretados quase que exclusivamente nas fezes, o que resulta em alta correlação entre os níveis fecais e sanguíneos (MOREIRA, 2007).

As amostras fecais podem ser obtidas sem estressar o animal, pois não necessitam da manipulação do mesmo. A mensuração de glicocorticoides fecais vem se destacando como uma maneira de avaliar o estresse, sendo importante no manejo da vida selvagem, na biologia da conservação e na ecologia comportamental (MÖSTL; PALM, 2002).

Tendo em vista este panorama, este estudo tem por objetivo avaliar os efeitos promovidos pelo enriquecimento ambiental aplicado no manejo de onças-pintadas cativas através da observação comportamental e da análise das dosagens de metabólitos de glicocorticoides presentes nas fezes dos animais.

1.1. BIOLOGIA E ESTADO DE CONSERVAÇÃO DA ONÇA-PINTADA

A onça-pintada (*Panthera onca*; Linnaeus, 1758) é o maior felídeo das Américas e o único representante atual do gênero *Panthera* no continente. Embora semelhante ao leopardo (*Panthera pardus*), o seu corpo é mais robusto, musculoso e compacto, com comprimento variando entre 1,10 a 2,41 m e massa entre 35 a 158 kg (SEYMOUR, 1989).

O padrão de coloração varia do amarelo-claro ao castanho-ocreáceo, o corpo é completamente revestido por manchas negras que formam rosetas de tamanhos variados, mas, geralmente, grandes e com um ou mais pontos negros no seu interior (SEYMOUR, 1989). Entretanto, indivíduos melânicos são bastante comuns e em algumas áreas eles chegam a ser mais abundantes do que o padrão pintado (GREEN, 1991). Por seu tamanho e coloração difere de todas as outras espécies de felídeos neotropicais (OLIVEIRA; CASSARO, 1999).

Terrestre, com atividade tanto noturna quanto diurna, tem dieta extremamente variada, sendo constituída predominantemente por mamíferos de grande porte e répteis (OLIVEIRA; CASSARO, 1999), tendo mais de 85 espécies-presa relatadas em sua dieta (SEYMOUR, 1989).

Possui hábito predominantemente solitário, ocorrendo interação entre machos e fêmeas principalmente durante o período de acasalamento. A gestação varia de 90 a 111 dias, podendo nascer de um a quatro filhotes, com média de dois filhotes por gestação. Os filhotes permanecem com a mãe por aproximadamente um ano e meio a dois anos. A maturidade sexual é atingida entre dois a dois anos e meio pelas fêmeas e entre três a quatro anos pelos machos (SEYMOUR, 1989).

Historicamente, a distribuição da onça-pintada estendia-se do sudoeste dos Estados Unidos até o sudeste da Argentina (SEYMOUR, 1989). Em função da conversão de habitats e da caça, a espécie perdeu mais de 50% de sua distribuição original (SANDERSON *et al.*, 2002). Considerada praticamente extinta na América do Norte, na década de 1960 observações mostraram que indivíduos do norte do México estariam recolonizando o sul dos Estados Unidos (BROWN; LOPEZ GONZALEZ¹, 2001, *apud* MACHADO *et al.*, 2008).

Ocorria originalmente por todo o Brasil, distribuindo-se da região norte até o leste do Estado do Maranhão, partes do Brasil central, Pantanal e em algumas áreas isoladas das regiões sul e sudeste. Seu habitat inclui áreas de vegetação densa, com suprimento de água e presas abundantes, incluindo florestas tropicais e subtropicais, Cerrado, Caatinga e Pantanal (OLIVEIRA; CASSARO, 1999).

¹ BROWN, D. E.; LOPEZ GONZALEZ, C. A., **Borderland jaguars: tigres de la frontera**. Salt Lake City: University of Utah Press, 175p., 2001.

Em 2002 foi estimado que a *P. onca* ocupava aproximadamente 46% de sua distribuição original (SANDERSON *et al.*, 2002), sendo que a mesma foi extinta em dois dos 21 países em que ocorria historicamente – Uruguai e El Salvador (CASO *et al.*, 2008). Considerando sua distribuição na América do Sul, estima-se que a espécie ocupe menos de 62% dos ambientes de sua área original, sendo a destruição de habitat e a matança para controle da predação do gado os principais fatores de mortalidade e diminuição de suas populações (VIDOLIN, 2004).

No Brasil, a *Panthera onca* é vista como ameaçada de extinção (MACHADO *et al.*, 2008), globalmente é classificada como quase ameaçada (IUCN, 2015).

1.2. ESTRESSE, HORMÔNIOS RELACIONADOS E COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO

Quando os órgãos sensoriais de um vertebrado percebem um estímulo de perigo, por exemplo, o organismo inicia uma série de respostas comportamentais e fisiológicas, coordenadas em conjunto pelos sistemas endócrino e nervoso, chamadas de respostas de “fuga ou luta” (MOYSES; SCHULTE, 2010) ou, na terminologia mais atual, resposta SAM, abreviatura para sistema nervoso autônomo simpático e medula adrenal (FRASER, 2012).

A ação da medula da glândula adrenal complementa o funcionamento do sistema nervoso simpático. Enquanto este último libera noradrenalina, que regula localmente a atividade de tecidos-alvo, as células da medula adrenal liberam adrenalina na corrente sanguínea, que atuará promovendo no organismo as mesmas alterações ativadas pelo sistema nervoso simpático (FRASER, 2012), como aumento da glicose sanguínea, das frequências cardíaca e respiratória e redistribuição do fluxo sanguíneo (MOYSES; SCHULTE, 2010).

Além do sistema SAM, foi verificado que há outro sistema no organismo envolvido na resposta a desafios. Devido a esta resposta envolver o hipotálamo, a glândula pituitária e o córtex da adrenal o mesmo é conhecido por sistema HPA. Neste, o hipotálamo atua produzindo o hormônio liberador de corticotropina (CRH), que faz com que a adeno-hipófise libere o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na

corrente sanguínea, este último estimula o córtex da adrenal a liberar glicocorticoides (FRASER, 2012).

Os glicocorticoides (cortisol, cortisona e corticosterona), também chamados de hormônios do estresse, atuam aumentando a produção de glicose, a quebra de proteínas e de ácidos graxos e regulam o sistema imune e as respostas inflamatórias dos organismos (MOYSES; SCHULTE, 2010).

A atividade do sistema HPA, na maioria das vezes, aparentemente prepara o organismo para responder a um desafio, através do aumento da glicose sanguínea e a redução da liberação de hormônios sexuais e de crescimento, o que resulta na redução do armazenamento de energia e aumento de sua liberação e, em longo prazo, na interrupção do crescimento e da reprodução, mantendo assim os recursos corporais disponíveis para o uso (FRASER, 2012).

O estado de estresse pode ser definido como uma reação inespecífica do organismo a qualquer demanda sobre ele (FRASER, 2012). Um nível mínimo de estresse é essencial para a existência normal do organismo (“eustresse”) diferentemente da resposta exacerbada que leva a níveis potencialmente prejudiciais (“distresse”), resultando em estados patológicos, como o aumento do córtex das adrenais, atrofia do timo e dos tecidos linfoides e úlceras no aparelho digestório (BRADSHAW, 2007).

Então, como um mecanismo fisiológico, o estresse por si não é ruim. Durante curtos períodos os glicocorticoides melhoram as condições físicas do indivíduo através da mobilização de energia. Entretanto, o estresse crônico pode prejudicar o organismo devido à imunossupressão. Além disso, diminui o sucesso reprodutivo e há indicativos de que o estresse possa estar relacionado a estereotípias (MÖSTL; PALME, 2002).

Estereotípia é um comportamento repetitivo, invariável e que não tem objetivo ou função óbvia. É um comportamento que o animal parece ter dificuldade em interromper e que pode ser previsível tanto em tempo quanto em local de exibição e que, apesar de estar parcialmente relacionado a estímulos externos, em longo prazo, pode tornar-se independente do que o instigou originalmente. A

presença de comportamento estereotipado é um indicativo de ambiente inadequado e que o animal enfrenta problemas de bem-estar (MANSON, 1991).

1.3. ZOOLOGICOS, BEM-ESTAR OU QUALIDADE DE VIDA DE ANIMAIS CATIVOS E O PAPEL DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

Manter animais em cativeiro é um hábito antigo. A primeira coleção particular de animais exóticos é datada no Egito, em torno de 3000 a.C.. Estas coleções eram mantidas pelo significado religioso de algumas espécies e pela força e poder que a posse de animais exóticos simbolizava (SANS, 2008).

Ainda no Egito, o Rei Ptolomeu I, estabeleceu no Porto de Alexandria o que provavelmente foi o primeiro zoológico público. O hábito de expor animais exóticos ocorreu entre os imperadores chineses e romanos e mais tarde entre os reis europeus. Esta prática persistiu entre os nobres até o Século XVIII, quando se formaram os primeiros zoológicos na Europa: Viena em 1752, Paris em 1793 e Londres em 1826 (COSTA, 2004).

No Brasil, as primeiras coleções tomaram forma no Museu Emílio Goeldi, em Belém do Pará, em 1882, e depois no Rio de Janeiro, Curitiba, São Paulo e outras cidades, mais intensamente a partir dos anos 1970 (FIORAVANTI, 2011).

Entre o Século XIX e início do Século XX os zoológicos eram concebidos e construídos para expor os animais ao público humano com objetivo de diverti-lo. Nessa concepção, os animais eram exibidos em verdadeiras celas, construídas por de grades de ferro e concreto, sem a mínima preocupação com sua qualidade de vida. Ao longo do tempo, em vários países, esta postura foi abandonada e as antigas celas deram lugar a recintos que visam reproduzir o habitat de cada espécie (ARAGÃO, 2006).

Apesar de seu objetivo inicial, como local de exposição de animais exóticos e lazer humano, atualmente, os zoológicos têm outras finalidades como garantir a reprodução de espécies em perigo de extinção, permitir o estudo científico de

animais, proporcionar ao público a oportunidade de conhecer diversas espécies, além do desenvolvimento de projetos de educação ambiental (SOUZA *et al.*, 2007).

Diante disso, aumentou a preocupação com o bem-estar e com a qualidade de vida dos animais mantidos em cativeiro. Bem-estar pode ser definido como o estado de um organismo em relação às suas tentativas de se adaptar ao ambiente. Desta forma está relacionado à característica de um indivíduo em um dado momento (BROOM; MOLENTO, 2004).

Para se atingir condições adequadas de bem-estar ou qualidade de vida, alguns parâmetros são imprescindíveis, tais como uma dieta balanceada e água *ad libitum*, condições adequadas de temperatura ambiental, umidade, iluminação e ausência de barulho. Com base em considerações ecológicas, deve-se analisar a relação presa/predador, arquitetura espacial, relação com os coespecíficos (espaço social, superpopulação, isolamento), presença de ninhos e o recinto deve possuir áreas com vegetação, pois as plantas possibilitam pontos de fuga e criam um ambiente mais agradável para o animal (SILVA *et al.*, 2008).

Além disso, devem ser levadas em conta as adaptações que os animais possuem. Estas são características, desenvolvidas ao longo da evolução, que os permitem lidar com desafios, explorar oportunidades, sobreviver e reproduzir com sucesso. Para manter os animais de modo apropriado, um dos desafios é compreender a variedade de condições sob as quais eles estão adaptados a viver, o que em alguns casos é problemático visto que algumas espécies estão adaptadas a características muito específicas de dietas e de condições ambientais, as quais dificilmente podem ser efetivamente simuladas em cativeiro (FRASER, 2012).

Muitos esforços para melhorar o bem-estar animal em zoológicos são baseados em permitir que os animais vivam de uma maneira corresponda melhor suas adaptações (FRASER, 2012). Uma estratégia que contribui para isso é o enriquecimento ambiental.

O enriquecimento ambiental é um processo utilizado para melhorar o ambiente de zoológicos e o cuidado com os animais cativos levando em conta sua biologia comportamental e sua história natural (YOUNG, 2003).

Este método consiste na tomada de medidas que modificam o ambiente físico ou social, melhorando a qualidade de vida dos animais cativos, proporcionando condições para o desempenho de suas necessidades comportamentais (KHOSHEN, 2013).

Os principais tipos de enriquecimento são: Social (contato direto, ou não, com animais da mesma espécie ou de outra); Ocupacional (prática de exercícios ou de jogos como quebra-cabeça); Físico (alterações no tamanho ou estrutura do recinto ou acessórios deste); Sensorial (uso de estímulos visuais, auditivos, olfativos e/ou táteis) e Alimentar (mudanças na forma de disponibilizar o alimento como frequência, apresentação, variedade, novidades, petiscos, etc.) (YOUNG, 2003).

O uso adequado do enriquecimento ambiental deve considerar a ecologia do animal estudado, para atingir o objetivo de tornar o ambiente cativo mais interessante, visando a proporcionar ao indivíduo maiores possibilidades de exploração do recinto e assim reduzir o tempo que este gasta com comportamentos estereotipados (GUILHERME; VIDAL, 2008), aumentar a taxa de reprodução, estimular o comportamento natural e melhorar a taxa de sobrevivência em programas de soltura (CELOTTI, 2001).

O enriquecimento também melhora a experiência durante as visitas ao zoológico, não apenas por permitir observar felídeos ativos (MARGULIS *et al.*, 2003), mas também porque os visitantes aprendem mais sobre os animais ao vê-los num contexto mais próximo do natural, expressando comportamentos que seriam observados na natureza (JONES *et al.*, 2005).

Além disso, foi verificado que o enriquecimento ambiental atua no sistema nervoso promovendo a angiogênese no hipocampo e no córtex pré-frontal, o que pode contribuir para neutralizar efeitos promovidos pela presença de glicocorticoides (EKSTRAND *et al.* 2008).

1.4. MONITORAMENTO NÃO INVASIVO ATRAVÉS DE AMOSTRAS FECALIS

Vários hormônios estão envolvidos na resposta ao estresse (adrenocorticotrófico, glicocorticoides, catecolaminas, prolactina, etc.). Contudo, a forma de coleta da amostra é crucial para a acurácia dos resultados, pois processos que envolvam a manipulação ou a contenção do animal podem comprometê-la. Devido a isso, amostras fecais oferecem a vantagem de ser coletadas facilmente sem causar estresse ao animal (MÖSTL; PALME, 2002).

Em comparação aos métodos tradicionais, a análise de esteroides fecais apresenta várias vantagens, a mais óbvia é que, por ser uma técnica não invasiva, não introduz variáveis que podem afetar os resultados, visto que não há necessidade de contenção dos animais para a coleta e com isso aumenta-se a confiabilidade dos resultados pela ausência de estresse (SCHWAZENBERGER, 2007).

A concentração de metabólitos de cortisol fecal remete à produção da espécie em um intervalo específico de tempo. Para a detecção de picos curtos é necessária coleta frequente de amostras, sem as quais os picos de metabólitos podem não ser detectados. Além disso, como os metabólitos de cortisol podem ser degradados por enzimas bacterianas, logo após a defecação, as amostras devem ser resfriadas imediatamente ou as enzimas devem ser inativadas por aquecimento ou secagem (MÖSTL; PALME, 2002).

O ensaio imunoenzimático (EIA) é uma técnica que permite medidas quantitativas diretas da interação antígeno-anticorpo através da atividade enzimática sobre um substrato. Esta técnica tem substituído o radioensaio devido à comparável sensibilidade, estabilidade dos reagentes, possibilidade de utilização em grande variedade de sistemas de detecção, sem as exigências que existem no manuseio de radioisótopos. O EIA pode ser classificado como homogêneo ou heterogêneo, respectivamente, segundo a ocorrência ou não de alteração da atividade enzimática como parte da interação imunológica (VAZ *et al.*, 2012).

No caso do EIA heterogêneo, como a atividade enzimática não é alterada, é necessário separar os reagentes marcados (conjugados) que se ligam à fase sólida daqueles não ligados através de lavagens. Frequentemente são utilizados dois ou mais componentes, o substrato propriamente dito e o cromógeno, o qual sofre alteração de cor devido à ação da enzima sobre o substrato resultando um produto detectável (VAZ *et al.*, 2012).

Dentre o EIA heterogêneo, o mais comumente utilizado é o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Este se baseia na imobilização de um dos componentes na fase sólida e na utilização de um conjugado ligado a uma enzima. A alteração de cor é monitorada visualmente ou por espectrofotômetro, permitindo determinar a relação entre a intensidade da cor e a quantidade daquilo que está sendo analisado na amostra. O ELISA apresenta elevada sensibilidade e especificidade; rapidez e baixo custo das análises; objetividade nos resultados e possibilidade de adaptação a diferentes graus de automação (VAZ *et al.*, 2012).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do enriquecimento ambiental (EA) aplicado a felídeos cativos por meio da observação comportamental e das dosagens de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar um catálogo comportamental dos indivíduos estudados;
- Investigar a influência do EA sobre o comportamento dos animais;
- Constatar a ocorrência de alterações na concentração de metabólitos fecais de glicocorticoides durante a aplicação do EA.
- Correlacionar a alterações comportamentais com as oscilações nos MFG.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

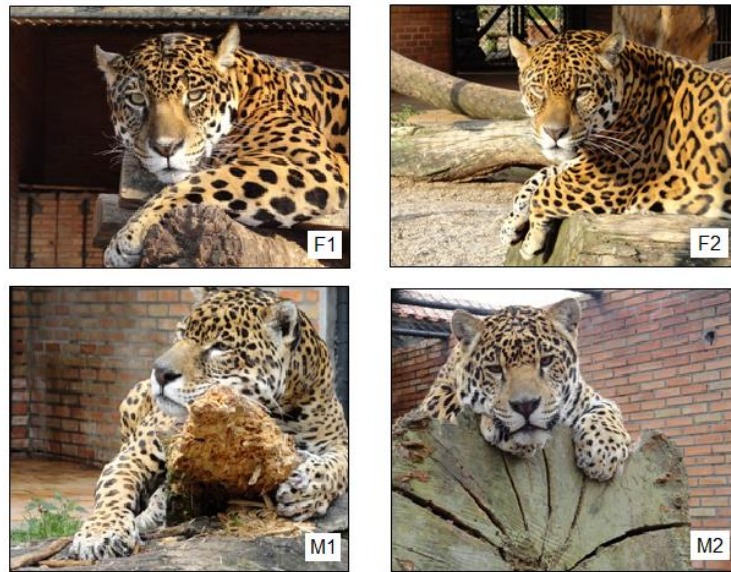
O Parque Municipal do Iguaçu foi implantado a partir de 1976, na região sudeste de Curitiba, para preservar os fundos de Vale do Rio Iguaçu, o mais importante do Estado do Paraná. Tem 14 km de extensão, uma largura média de 571 m e uma área de aproximadamente 569.000 m². Possui diversos setores, incluindo o Zoológico e bosques que preservam a vegetação típica das várzeas, capões de pinheiros e mata nativa (CURITIBA, 2011).

O Zoológico Municipal de Curitiba (ZMC) foi inaugurado em 1982, e ocupa 530.000 m² do Parque Municipal do Iguaçu. Foi criado com o intuito de acolher os grandes animais (até então confinados no Passeio Público, localizado no centro da cidade), propiciar condições de reprodução para os animais nativos e ainda servir de habitat para as aves migratórias (CURITIBA, 2011). O Zoológico está aberto à visitação de terça-feira a domingo das 9 às 17 horas.

3.2 ANIMAIS E MANEJO

Para a realização deste estudo foram analisados quatro exemplares de onça-pintada cativos no Zoológico Municipal de Curitiba/PR, dois machos e duas fêmeas, de idades variadas (Figura 1; Tabela 1).

Figura 1- Onças-pintadas cativas no Zoo de Curitiba.



Onde: F1= Angelica; F2 = Maya; M1 = Apolo; e M2 = Ares

Fonte: (AUTORA, 2015).

Tabela 1- Informações sobre sexo, procedência, idade e localização das onças-pintadas mantidas no Zoológico Municipal de Curitiba.

Nome	Sexo	Referência	Procedência	Idade (anos)	Recinto
Angélica	Fêmea	F1	Cativeiro	22 ¹	01
Apolo	Macho	M1	Cativeiro	22 ¹	02
Maya	Fêmea	F2	Cativeiro	07	03
Ares	Macho	M2	Cativeiro	04	04

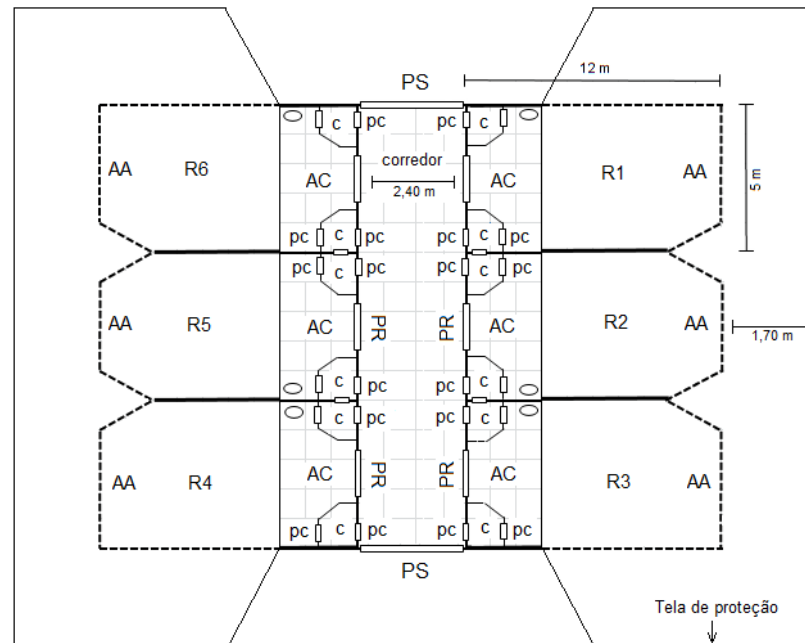
¹ Idade estimada.

Fonte: (AUTORA, 2015).

No Setor de Felídeos há seis recintos. Os recintos centrais (R2 e R5) são separados dos outros por paredes de tijolos, as quais não permitem o contato entre os animais, exceto pela parte anterior que é revestida por tela (aproximadamente um terço da área aberta) e pela parte posterior de cada recinto onde há um portão de tela (PT) o que permite o contato visual e olfativo entre os animais. Já os que ficam

nas esquinas (R1, R3, R4 e R6) tem um dos lados feito de tela o que permite maior visão do entorno (Figura 2).

Figura 2 - Representação esquemática dos recintos e distribuição espacial das onças-pintadas no setor de exposição do Zoológico Municipal de Curitiba/PR.

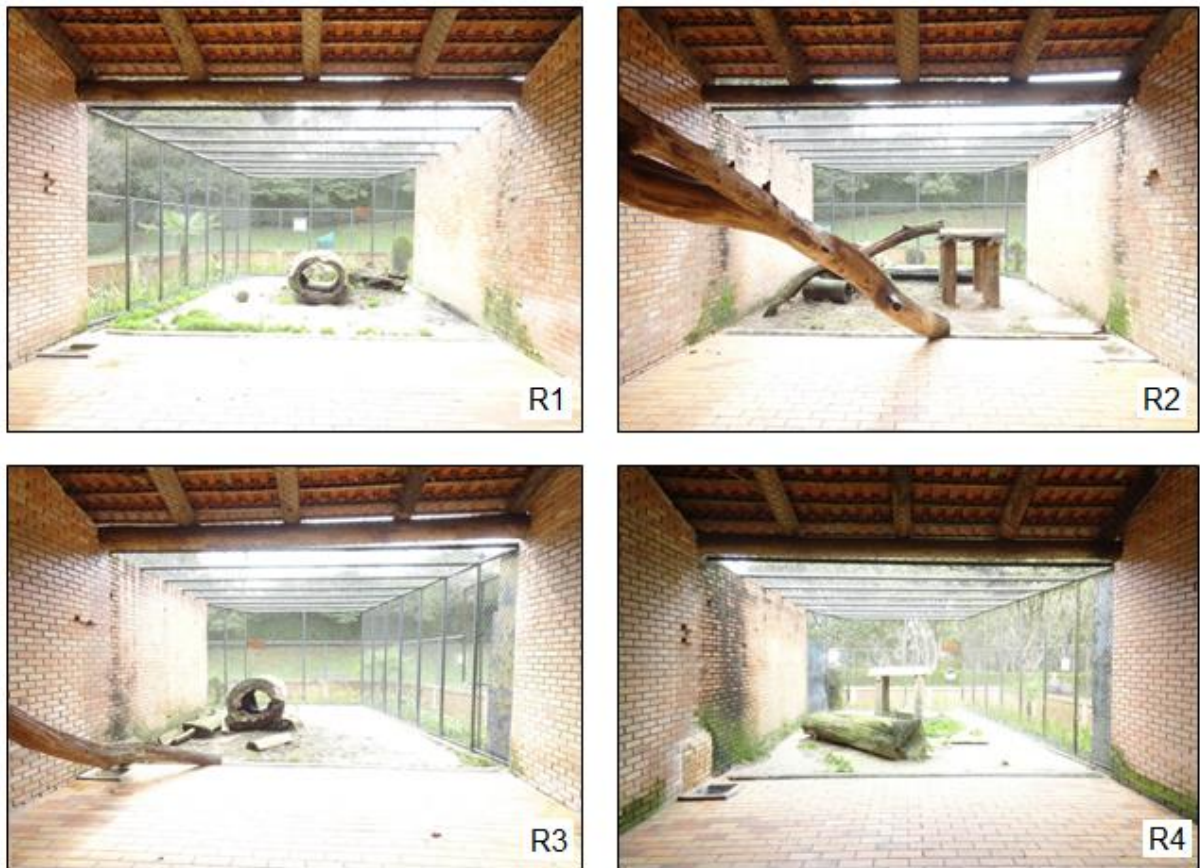


Onde: R1 = Recinto 01, Angelica (F1); R2 = Recinto 02, Apolo (M1); R3 = Recinto 03, Maya (F2) e R4 = Recinto 04, Ares (M2); R5 = *Puma concolor* (fêmea); R6 = *P. concolor* (macho); e PS = portão de acesso ao setor; AC = área coberta; AA = área aberta; c = cambiamento; PR: portão de acesso ao recinto; pc = porta de acesso ao cambiamento.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Os quatro exemplares são mantidos separadamente em recintos com área de 60 m² (Figura 2 e 3). Aproximadamente um terço de cada recinto é composto por uma área coberta (AC), localizada na parte posterior, que é cimentada e coberta por telhas, na qual há duas áreas que servem para o manejo dos animais (cambiamento = C). Os dois terços restantes correspondem a uma área aberta, com a parte superior de tela, tendo alguns troncos, terra, areia e algumas gramíneas, que cresceram naturalmente, como substrato.

Figura 3 - Recintos e distribuição espacial das onças-pintadas no setor de exposição do Zoológico Municipal de Curitiba/PR.



Onde: R1 = Recinto 01, Angelica (F1); R2 = Recinto 02, Apolo (M1); R3 = Recinto 03, Maya (F2) e R4 = Recinto 04, Ares (M2).

Fonte: (AUTORA, 2015).

Os animais estudados não apresentaram sinais clínicos de doença ou parasitismo e não houve intervenção dos médicos veterinários durante a execução deste estudo.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas desta Universidade (Anexo).

3.3. PROCEDIMENTOS

3.3.1 Obtenção de dados comportamentais

O estudo foi desenvolvido utilizando o comportamento dos animais como uma ferramenta para avaliar a qualidade do enriquecimento ambiental aplicado. Na primeira fase ocorreu a etapa de habituação para qualificar os comportamentos expressados pelos animais ao longo do dia.

Durante a etapa de habituação (Tabela 2) ocorreu o delineamento do estudo e a elaboração do catálogo comportamental que serviu como base para as etapas posteriores. Ao longo deste período foi realizada uma análise preliminar do repertório comportamental, observando as seguintes categorias: *Alimentação; Exploração; Interação social; Manutenção; Marcação; Repouso; Reprodução e Estereotipias*. O método de amostragem foi *ad libitum* e ocorreu por 30 dias abrangendo, manhã e tarde, das 07 às 17 horas.

Após a habituação houve a quantificação dos comportamentos para se contabilizar por quanto tempo cada comportamento era executado. Esta fase ocorreu de acordo com as etapas antes, durante e após a aplicação do enriquecimento ambiental. Descritas a seguir e resumidas na Tabela 2:

Pré-enriquecimento (PRE) – Consistiu de observação naturalística, não ocorrendo nenhuma intervenção por parte do observador. Ocorreu entre 12/06 a 16/07/2014.

Enriquecimento ambiental (EA) – Os dados foram obtidos através da pesquisa experimental, ao longo da qual se esperou verificar se a aplicação do enriquecimento ambiental e a variação dos elementos utilizados produziram respostas comportamentais distintas. Foi desenvolvida entre 17/07 a 22/08/2014.

Todos os animais receberam os mesmos itens de enriquecimento ambiental, com o objetivo de verificar variações comportamentais individuais em resposta ao item aplicado.

Pós-enriquecimento (POS) – Período de observação naturalística, sem intervenções. Para verificar a efetividade do enriquecimento ambiental. Ocorreu entre 23/08 a 25/09/2014.

A amostragem do comportamento ocorreu através da observação direta utilizando a técnica do animal-focal por meio do registro contínuo.

A observação direta ocorreu em seções de 15 minutos alternando as observações entre os animais, os quais eram escolhidos aleatoriamente, durante quatro horas diárias, entre as 06h45min às 17h, durante sete dias por semana. A cada hora de observação se fazia uma pausa e nessa eram registrados dados de temperatura do ar (°C), umidade relativa (%) e ruídos (dB), para isso utilizamos um termohigrômetro (Akso – AK28) e um decibelímetro (Akso – AK814).

Tabela 2 - Descrição das etapas do experimento realizado com onças-pintadas no Zoológico Municipal de Curitiba/PR.

ETAPA	PARA QUE?	COMO?	DURAÇÃO
Habituação	Habituar os animais ao observador; Delinear o estudo; Elaborar catálogo comportamental; Qualificar o comportamento dos animais.	- Amostragem <i>ad libitum</i> .	30horas/animal: distribuídas em uma hora/recinto: 11/05 a 11/06/2015.
Pré-enriquecimento	Quantificar a rotina dos animais.	- Amostragem do animal focal; - Coletas de amostras fecais diárias.	15 horas/animal: distribuídas em 30 minutos/recinto: 12/06 a 16/07/2014
Enriquecimento	Quantificar e qualificar o comportamento dos animais na presença do enriquecimento ambiental; Estimular o forrageio, marcação e a expressão de outros comportamentos próprios da espécie.	- Amostragem do animal focal; - Coletas de amostras fecais diárias	15 horas/animal: distribuídas em uma hora/recinto: 17/07 a 22/08/2014. Aplicado em dias alternados.
Pós-enriquecimento	Quantificar a rotina dos animais; Verificar a efetividade do período de enriquecimento.	- Amostragem do animal focal; - Coletas de amostras fecais diárias	15 horas/animal: distribuídas em 30 minutos/recinto: 23/08 a 25/09/2014.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Os dados comportamentais obtidos foram transformados em frequência e estas foram analisadas através do teste Qui-quadrado utilizando o programa Bioestat 5.0. Consideramos valores estatisticamente significativos aqueles que apresentassem o valor de P menor ou igual a 0,05.

Devido a necessidade de se analisar os dados hormonais de cada indivíduo separadamente, optou-se também por realizar a análise comportamental de maneira individual.

Em razão da baixa taxa de ocorrência optou-se por agrupar comportamentos relacionados à alimentação, manutenção, interação social e à reprodução na categoria Outros.

3.3.2 Aplicação do Enriquecimento Ambiental

O enriquecimento ambiental foi disponibilizado aos animais em dias e horários alternados, seguindo um cronograma. Os itens utilizados para enriquecimento estão descritos na Tabela 3 (exemplos na figura 4).

Tabela 3 - Itens utilizados como enriquecimento ambiental para onças-pintadas cativas no Zoológico de Curitiba/PR.

Enriquecimento Alimentar	
Estratégias	<ul style="list-style-type: none"> • Alimento escondido – alimento dividido em pedaços e distribuído no recinto coberto com feno. • Caixa surpresa – caixa de papelão recheada com feno e vários pedaços de carne (figura 4 A) • Alimento no tronco – alimento em pedaços escondido em tronco oco junto com feno (figura 4 B) • Melancia recheada – fruta sem a polpa recheada com pedaços de carne e feno fechando a abertura (figura 4 C). • Alimento no pneu – alimento em pedaços escondido em pneu de lona (sem aramado) junto com feno (figura 4 D). • Alimento suspenso – alimento (costela bovina) suspenso no recinto com o auxílio de corda. • Frango caipira – animal abatido contendo penas e vísceras (figura 4 E).
Enriquecimento Olfativo	
Estratégias	<ul style="list-style-type: none"> • Camomila romana (<i>Anthemis nobilis</i>) • Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) • Laranja-doce (<i>Cytrus cinensis</i> vr. <i>dulcis</i>) • Lavanda (<i>Lavandula officinalis</i>) • Limão (<i>Citrus limonum</i>) • Rosa (<i>Rosa damascena</i>) • Sândalo (<i>Amyris balsamifera</i>) • Ylang ylang (<i>Cananga odorata</i>)

Fonte: (AUTORA, 2015).

Figura 4 - Exemplos de enriquecimento alimentar utilizados com onças-pintadas no Zoológico Municipal de Curitiba/PR.



Onde: A = Caixa surpresa; B = Alimento no tronco; C = Melancia recheada; D = Alimento no pneu e E = Frango caipira.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Durante as etapas de pré e pós-enriquecimento os animais eram alimentados dentro da área de manejo entre as nove e 10 h da manhã durante a limpeza dos recintos. Eles foram alimentados alternadamente com carne bovina, frango ou porquinhos-da-índia.

Ao longo da aplicação do enriquecimento alimentar alteramos a rotina de alimentação, não mantendo mais os animais presos no manejo e utilizando técnicas, descritas na tabela 3.

Para enriquecimento olfativo utilizamos óleos essenciais em diluição de 1 ml de óleo para 10 ml de álcool de cereais. Os itens relacionados ao enriquecimento olfativo (EO) foram disponibilizados utilizando discos de madeira contendo diversos poços onde foi colocado o óleo essencial diluído. Desta forma conseguimos evitar que os animais entrassem em contato direto com o óleo essencial utilizado (Figura 5).

Figura 5 - Discos de madeira utilizados para aplicação do enriquecimento olfativo.



Fonte: (AUTORA, 2015).

Durante o enriquecimento olfativo, cada animal recebeu três discos de madeira contendo o óleo selecionado. Estes discos eram distribuídos no recinto e retirados apenas no dia seguinte durante a limpeza do mesmo. Cada disco foi utilizado apenas uma vez durante o experimento.

3.3.3 Coleta das amostras fecais

Para o monitoramento não invasivo dos metabólitos de glicocorticoides foram realizadas coletas diárias das fezes dos animais. Estas ocorreram entre as nove e às dez horas da manhã, durante a limpeza dos recintos.

Os animais defecavam geralmente apenas uma vez ao dia, em geral no período da manhã. Contudo, para se garantir a qualidade da amostra, diariamente foi realizada uma vistoria nos recintos após as 17h e às 6h45min da manhã seguinte, para se assegurar de que a coleta corresponderia ao bolo fecal mais recente produzido pelo animal.

Cada bolo fecal coletado passou por uma triagem antes de ser homogeneizado. Nesse procedimento foram retirados itens que poderiam comprometer a acurácia da análise, como tufo de pelos, material vegetal e fragmentos de ossos (Figura 6). As características de cada bolo fecal foram anotadas em uma ficha de coleta. Após a triagem foi retirada uma alíquota do bolo

fecal a qual foi armazenada em saco plástico e acondicionada em *freezer* a -20°C para posterior análise.

Figura 6 - Itens descartados durante a triagem dos bolos fecais.



Onde: A = Bolo de material vegetal;
B = Tufo de pelo; C = Fragmentos de ossos.

Fonte: (AUTORA, 2015).

As amostras congeladas foram transportadas em caixa térmica contendo gelo seco para o Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH) da Universidade de São Paulo (USP) onde foram analisadas.

3.3.4 Processamento das amostras fecais, extração e análise hormonal

Uma alíquota de cada amostra ainda congelada foi transferida para tubos de polipropileno de 12x75 mm (4,5 ml) e então armazenada em *freezer* a -30°C durante 24 horas. Após isso as amostras foram transferidas para um liofilizador para secagem.

Em tubos de ensaio de 15 ml contendo 0,25 g de fezes secas foram adicionados 5 ml de metanol a 80%, adaptado de (PALME, 2005). Após 15 minutos no Vórtex (2300 rpm) e 15 minutos na centrífuga (3500 rpm) foi transferido 1ml do sobrenadante para tubos de ensaio (15 ml). O conteúdo dos tubos foi evaporado em fluxo de ar comprimido. Após a evaporação completa o conteúdo dos tubos foi

ressuspendido em metanol P.A. e agitado em Vórtex por cinco minutos (2500 rpm). A solução resultante foi armazenada em eppendorf (1,5 ml) e mantida em *freezer* a -20° C.

As amostras foram analisadas em duplicata através de ensaio imunoenzimático (EIA). Para este procedimento distribuímos 100µl do anticorpo (Cortisol 4866) diluído em solução tampão carbonato-bicarbonato (1/6000) em microplacas de poliestireno, exceto o primeiro poço. As microplacas foram seladas com acetato e incubadas por 16h a 4° C. Após o período de incubação, foram realizadas três sessões de lavagem (300µl/poço).

Em seguida, conforme a folha de trabalho, pipetamos nas placas 50µl do hormônio conjugado a enzima *horseradish peroxidase* (HRP); 50µl da curva-padrão; 50µl do extrato fecal e 50µl do pool amostral, cada um com 50µl da solução tampão de EIA. As placas foram incubadas por 2h a 20° C. Após a reação de competição as placas foram lavadas.

Logo após adicionamos nas placas 100µl de tetrametilbenzadina (TMB), e depois de 5-10 minutos, acrescentamos 100µl de ácido sulfúrico. Por fim, cada placa foi colocada em uma leitora de ELISA. Os dados de densidade óptica foram analisados através do programa Beckman Couter.

Devido ao número de amostras coletadas ser diferente entre os animais a análise estatística foi feita individualmente. As concentrações médias de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG), obtidas através do ensaio imunoenzimático, foram analisadas através do teste ANOVA e em caso de significância estatística foi aplicado o teste t para se verificar qual, ou quais, etapas apresentavam concentrações médias de MFG diferentes. A análise estatística foi realizada através do programa Bioestat 5.0 ($p=0,05$).

A equipe do ZMC nos cedeu os dados sobre a visita ao zoológico entre os dias 10/06 a 28/09. Estes dados foram analisados através do teste ANOVA para se verificar se havia diferença estatística entre os dias de visita. Em seguida foi aplicado o teste t para se verificar qual ou quais médias eram estatisticamente relevantes.

4 RESULTADOS

4.1. DESENVOLVIMENTO DO CATÁLOGO COMPORTAMENTAL

Durante o período de observação (300 horas) foram descritos 47 atos comportamentais relacionados em oito categorias (Alimentação, Manutenção, Exploração, Locomoção, Interação social, Reprodução, Marcação, Repouso e Estereotipias). Este catálogo serviu como base para o desenvolvimento das etapas subsequentes e foi complementado ao longo das mesmas (Tabela 4).

Tabela 4 - Catálogo comportamental das onças-pintadas no Zoológico Municipal de Curitiba/PR

Categoria comportamental	Ato comportamental	Descrição
Alimentação	Depenar*	Retirar a plumagem do frango antes de se alimentar.
	Beber	Ingerir água.
	Comer	Consumir substâncias orgânicas.
	Ingerir planta	Comer plantas presentes no recinto.
	Transportar*	Conduzir o alimento de um lugar para o outro.
	Caçar	Perseguir pássaros que estão em seu recinto.
Manutenção	Bocejar	Abrir involuntariamente a boca, primeiro inspirando e depois expirando prolongadamente o ar.
	Coçar	Friccionar parte do corpo utilizando as garras, dentes ou estruturas do recinto.
	Espantar inseto	Afastar insetos através de tremores do dorso e/ou movimentos de chicote da cauda em direção ao dorso e/ou movimentos das orelhas. Em alguns casos o animal espanta os insetos tentando mordê-los.
	Espirrar	Expiração de ar violenta e ruidosa pelo nariz e pela boca.
	Espreguiçar	Alongar o corpo ou parte dele estirando os músculos.
	Autolimpeza	Realizar a manutenção do pelo através da remoção de sujeira, água ou fluídos corporais deste, com o auxílio direto da língua ou desta em conjunto com os membros torácicos.
	Vomitar	Expelir substâncias orgânicas, digeridas ou não, vindas do estômago pela boca.
	Arfar	Permanecer parado ofegando com a boca aberta.
	Esfregar dorso*	Farejar o solo e após se deitar, rolar esfregando a região do dorso.
Exploração	Alerta	Interromper uma atividade e concentrar sua atenção em algo no ambiente. Direcionando-se olhos e aurículas em direção a um estímulo visual, sonoro e/ou olfativo (olfativo considerado em farejar).
	Brincar	Entreter-se sozinho em atividades que estão normalmente

		relacionadas ao treinamento de atividades.
	Farejar	Aspirar odores do ambiente. O animal pode se direcionar a fonte do odor ou apenas farejar o ar. Nota-se, em alguns momentos, a movimentação das narinas e movimentos de fole do tórax; em alguns casos o animal pode levantar o queixo e inspirar o ar vigorosamente.
	Reação de <i>Flehmen</i>	O animal fica com a boca aberta, ergue o lábio superior e expõe a ponta da língua enquanto inspira.
	Lamber	Passar a língua em um substrato não relacionado à alimentação ou à limpeza.
	Morder*	Cravar os dentes e despedaçar item não alimentar.
	Tatear*	Tocar objetos com as patas dianteiras.
Locomoção	Andar	Deslocar-se por meio de passos.
	Correr	Deslocar-se com rapidez.
	Saltar	Deslocar-se entre diferentes níveis, ou não, através de pulos.
Marcação	Arranhar	Raspar as garras no substrato.
	Defecar	Farejar o ambiente a procura de um local específico e expelir excrementos.
	Esfregar face	Friccionar a lateral da face e/ou queixo em um objeto.
	Urinar	Farejar o ambiente em busca de um local específico e expelir urina.
Repouso	Deitar	Ficar estendido horizontalmente no substrato, com membros torácicos e pélvicos relaxados e/ou flexionados, mas, mantendo os olhos abertos sem estar vigilante.
	Acomodar	Alterar a postura sem se deslocar.
	Dormir	Ficar estendido horizontalmente no substrato, com os membros torácicos e pélvicos relaxados e/ou flexionados com os olhos fechados.
	Sentar	O animal não vigilante mantém os membros torácicos estirados e s pélvicos flexionados, ou levemente relaxados, enquanto que a parte posterior do corpo fica apoiada no substrato.
Interação social	Acariciar	Esfregar a lateral da face em coespecífico.
	Submissão	Deitar expondo o abdome para coespecífico ou não.
	Avançar	Investir contra coespecífico ou não.
	Fugir	Afastar-se rapidamente diante de uma situação que aparentemente ofereça risco.
	Lúdico	Desenvolver atividades, com outro indivíduo, coespecífico ou não, que funcionem como treinamento para situações que podem ocorrer na rotina do animal.
	Vocalização	Emitir sons com as cordas vocais (ex.: sibilar, rosar, cuspir, esturrar).
Reprodução	Exibir genitália	A fêmea direciona sua parte posterior para o macho com a cauda erguida mostrando a vulva.
	Masturbar	A fêmea monta em um tronco e inicia uma série de movimentos de vai-e-vem com o quadril; finaliza o comportamento com vocalização e corrida (expressado apenas por F1).
	Rolar	Virar-se de um lado para o outro, em decúbito dorsal, tendo como base o eixo longitudinal do corpo.
Estereotípias	Andar em círculos	Locomover-se de um ponto e retorna a ele repetidamente através de uma rota curta e invariável.
	<i>Pacing</i>	Andar de um lado para o outro repetidamente seguindo um padrão.

<i>Pacing</i> associado a giro	O animal anda de um lado para o outro repetidamente e então tomba o lado direito no solo e realiza um giro da esquerda para a direita (expressado apenas por F2).
Repetir trajeto	Andar repetidamente por uma rota invariável.
Sugar a cauda	O animal insere a ponta da cauda na boca e a suga (expressado apenas em M1).

* Exibidos durante a etapa de enriquecimento ambiental.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Observamos algumas peculiaridades no comportamento dos animais. A Fêmea 2 se mostrou mais intolerante a estímulos como a presença de veículos automotivos e visitantes, apresentando, respectivamente, o comportamento de fugir, e de avançar, além de vocalizações como rosnar, sibilar e cuspir. Já entre os machos verificamos a emissão de esturros, a qual aumentou conforme o número de visitantes, e visualizamos tentativas de marcação por urina de um no território do outro.

4.2 EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO COMPORTAMENTO DAS ONÇAS-PINTADAS

Para a fêmea 1 (F1) a comparação entre as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=37,164$; g.l.= 8; $p<0,0001$) demonstrou que estas possuíam frequências comportamentais estatisticamente diferentes. A comparação entre as etapas aos pares concluiu que o pré-enriquecimento e enriquecimento ambiental ($\chi^2=19,127$; g.l.= 4; $p=0,0007$) e enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=29,397$; g.l. = 4; $p<0,0001$) apresentaram diferença estatística (Tabela 5) para ambas, isso se deve às categorias repouso e outros. Para F1 as etapas de pré-enriquecimento e pós-enriquecimento não apresentaram diferença estatística ($\chi^2=6,091$; g.l.= 4; $p=0,1924$).

Tabela 5 - Frequência comportamental em resposta ao enriquecimento ambiental da onça-pintada Fêmea 1 mantida no Zoológico Municipal de Curitiba/PR

Categoria comportamental	Resposta comportamental (%)			Valor de p		
	PRE	EA	POS	PRE-EA	EA-POS	PRE-POS
Exploração	18,71	30,29	17,29	0,1307	0,0819	0,9442
Locomoção	29,06	22,86	15,79	0,4705	0,3289	0,0669
Repouso	39,56 ^a	19,71 ^{b, a}	53,42 ^b	0,0143 *	0,0001 *	0,1823
Estereotípias	2,70	0,54	3,16	0,7499	0,6619	0,8921
Outros	9,97 ^a	26,60 ^{b, a}	10,34 ^b	0,0097 *	0,0120 *	0,8888

Onde: a e b correspondem a valores de frequência estatisticamente diferentes; e * simboliza valor de p significativo.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Para a fêmea 2 (F2) a comparação entre as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=14,957$; g.l.= 8; $p=0,0600$) demonstrou não haver diferença entre as frequências comportamentais apresentadas durante as mesmas. Contudo as etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento ambiental ($\chi^2=11,956$; g.l.= 4; $p=0,0177$) e enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=10,001$; g.l.= 4; $p=0,0404$) apresentaram diferença estatística (Tabela 6) e para ambas isso se deve à categoria repouso. Para F2 as etapas de pré-enriquecimento e pós-enriquecimento não apresentaram diferença estatística ($\chi^2=1,774$; g.l.= 4; $p=0,7773$).

Tabela 6 - Frequência comportamental em resposta ao enriquecimento ambiental da onça-pintada Fêmea 2 mantida no Zoológico Municipal de Curitiba/PR

Categoria comportamental	Resposta comportamental			Valor de p		
	PRE	EA	POS	PRE-EA	EA-POS	PRE-POS
Exploração	24,33	29,86	28,70	0,5383	0,9833	0,6435
Locomoção	18,73	24,52	16,87	0,4664	0,3013	0,8854
Repouso	32,29 ^a	14,13 ^{b, a}	31,91 ^b	0,0118 [*]	0,0134 [*]	0,9383
Estereotípias	19,16	17,85	14,21	0,9594	0,6410	0,4941
Outros	5,49	13,63	8,32	0,1025	0,3576	0,6224

Onde: a e b correspondem a valores de frequência estatisticamente diferentes; e * simboliza valor de p significativo.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Para o macho 1 (M1) a comparação entre as categorias analisadas nas etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=39,653$; g.l.= 8; $p<0,0001$) considerou as frequências encontradas diferentes. Pré-enriquecimento e pós-enriquecimento ($\chi^2=24,435$; g.l.= 4; $p<0,0001$) apresentaram variação nas categorias repouso e estereotípias enquanto que as etapas de enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=22,541$; g.l.= 4; $p=0,0002$) apresentaram diferença estatística nas categorias repouso e outros (Tabela 7). Contudo para ambas isso se deve à categoria repouso. Para M1 as etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento ambiental não apresentaram diferença estatística ($\chi^2=6,810$; g.l.= 4; $p=0,1463$).

Tabela 7 - Frequência comportamental em resposta ao enriquecimento ambiental da onça-pintada Macho 1 mantido no Zoológico Municipal de Curitiba/PR

Categoria comportamental	Resposta comportamental (%)			Valor de p		
	PRE	EA	POS	PRE-EA	EA-POS	PRE-POS
Exploração	11,14	18,55	12,83	0,2394	0,3995	0,8879
Locomoção	17,31	15,88	9,66	0,9405	0,3016	0,2004

Repouso	19,08 ^a	19,41 ^a	50,20 ^{b, b}	0,9140	0,0004 *	0,0003 *
Estereotípias	40,17 ^a	26,04	19,50 ^b	0,1066	0,4117	0,0109 *
Outros	12,31	20,12 ^a	7,81 ^b	0,2318	0,0323 *	0,4352

Onde: a e b correspondem a valores de frequência estatisticamente diferentes; e * simboliza valor de p significativo.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Para o macho 2 (M2) a comparação entre as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento ($\chi^2=47,039$; g.l.= 8; $p<0,0001$) demonstrou que entre as frequências comportamentais apresentadas havia diferença significativa. Para as etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento ambiental ($\chi^2=23,017$; g.l.= 4; $p=0,0001$) as categorias significativas foram estereotípias e outros enquanto que para as etapas de pré-enriquecimento e pós-enriquecimento ($\chi^2=15,917$; g.l.= 4; $p=0,0031$) as frequências foram diferentes para as categorias repouso e estereotípias. Por fim, as etapas de enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento também apresentaram diferença estatística ($\chi^2=23,935$; g.l.= 4; $p<0,0001$) a qual está relacionada às categorias repouso e outros (Tabela 8)

Tabela 8 - Frequência comportamental em resposta ao enriquecimento ambiental da onça-pintada Macho 2 mantido no Zoológico Municipal de Curitiba/PR

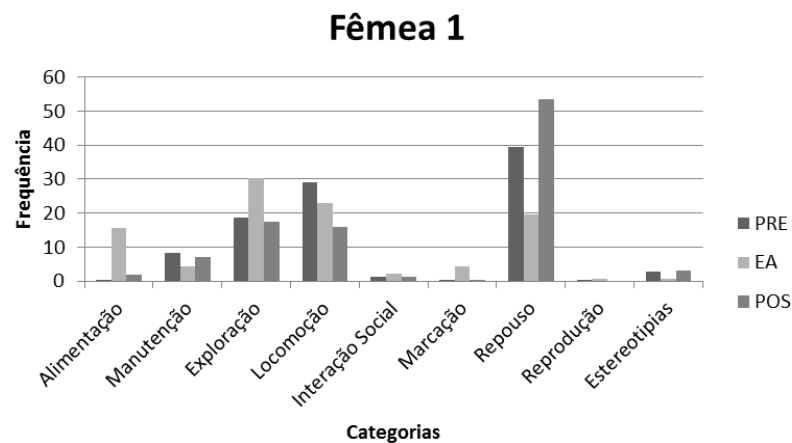
Categoria comportamental	Resposta comportamental (%)			Valor de p		
	PRE	EA	POS	PRE-EA	EA-POS	PRE-POS
Exploração	23,82	35,71	25,28	0,1581	0,2272	0,9477
Locomoção	7,75	8,95	5,01	0,9610	0,4314	0,6262
Repouso	34,72 ^a	22,14 ^a	53,93 ^{b, b}	0,1246	0,0004 *	0,0531 *
Estereotípias	28,67 ^{a, a}	11,48 ^b	8,64 ^b	0,0106 *	0,6817	0,0018 *
Outros	5,03 ^a	21,72 ^{b, a}	7,15 ^b	0,0024 *	0,0116 *	0,7483

Onde: a e b correspondem a valores de frequência estatisticamente diferentes; e * simboliza valor de p significativo.

Fonte: (AUTORA, 2015).

Para a fêmea 1 (F1) (Figura 7) durante o período de enriquecimento ambiental houve predominância de comportamentos voltados à alimentação (PRE=0,16%; EA=15,59%; POS=1,80%), exploração (PRE=18,71%; EA=30,29%; POS=17,29%) e marcação (PRE=0,12%; EA=4,18%; POS=0,26%). O animal apresentou a redução de comportamentos de manutenção (PRE=8,16%; EA=4,23%; POS=7,11%) e repouso (PRE=39,56%; EA=19,71%; POS=53,42%). Além disso, houve menor expressão de comportamento estereotipado (PRE=2,70%; EA=0,54%; POS=3,16%).

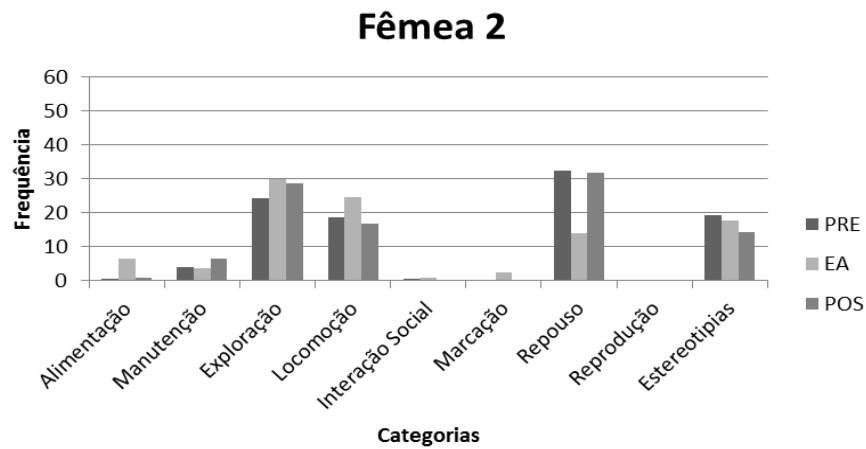
Figura 7 - Frequências comportamentais da Fêmea 1 durante as etapas de pré-enriquecimento (PRE), enriquecimento ambiental (EA) e pós-enriquecimento (POS).



Fonte: (AUTORA, 2015).

Para a fêmea 2 (F2) (Figura 8) durante o período de enriquecimento ambiental houve predominância de comportamentos voltados à alimentação (PRE=0,65%; EA=6,47%; POS=1,04%), exploração (PRE=24,33%; EA=29,86%; POS=28,70%) e marcação (PRE=0,36%; EA=2,52%; POS=0,34%). O animal apresentou a redução de comportamentos de manutenção (PRE=3,19%; EA=3,61%; POS=6,62%) e repouso (PRE=32,29%; EA=14,13%; POS=31,91%). Além disso, houve uma menor expressão de comportamento estereotipado que persistiu durante a etapa de pós-enriquecimento (PRE=19,16%; EA=17,85%; POS=14,21%).

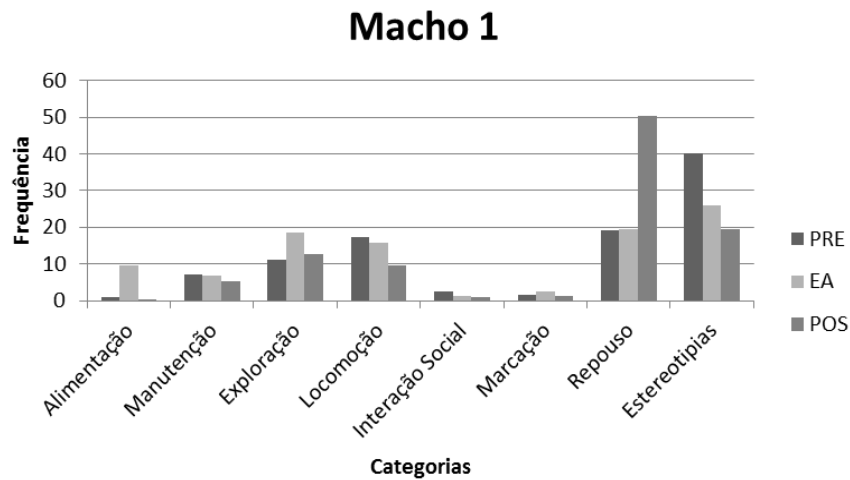
Figura 8 - Frequências comportamentais da Fêmea 2 durante as etapas de pré-enriquecimento (PRE), enriquecimento ambiental (EA) e pós-enriquecimento (POS).



Fonte: (AUTORA, 2015).

Para o macho 1 (M1) (Figura 9) durante o período de enriquecimento ambiental houve predominância de comportamentos voltados à alimentação (PRE=0,86%; EA=9,59%; POS=0,50%), exploração (PRE=11,14%; EA=18,55%; POS=12,83%), marcação (PRE=1,63%; EA=2,46%; POS=1,16%) e repouso, sendo que o aumento desta última se estendeu ao pós-enriquecimento (PRE=19,08%; EA=19,41%; POS=50,20%). O animal apresentou a redução de comportamentos de manutenção (PRE=7,20%; EA=6,71%; POS=5,14%) e menor expressão de comportamento estereotipado a qual persistiu durante o pós-enriquecimento (PRE=40,17%; EA=26,04%; POS=19,50%).

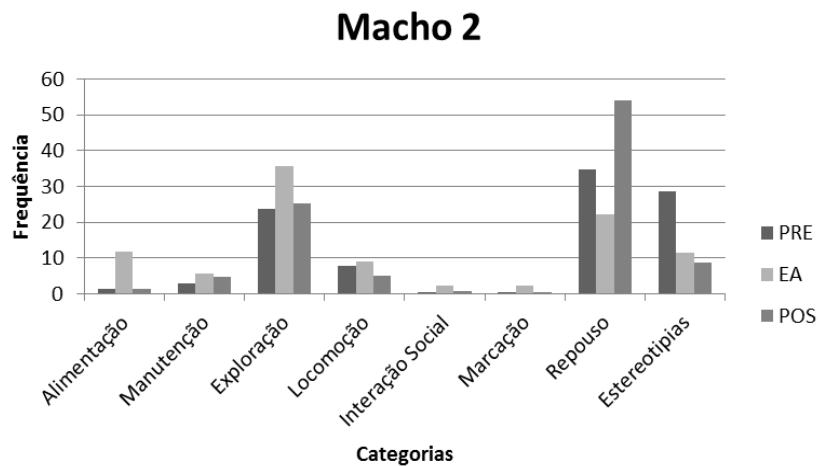
Figura 9 - Frequências comportamentais do Macho 1 durante as etapas de pré-enriquecimento (PRE), enriquecimento ambiental (EA) e pós-enriquecimento (POS).



Fonte: (AUTORA, 2015).

Para o macho 2 (M2) (Figura 10) durante o período de enriquecimento ambiental houve predominância de comportamentos voltados à alimentação (PRE=1,39%; EA=11,77%; POS=1,19%), exploração (PRE=23,82%; EA=35,71%; POS=25,28%), marcação (PRE=0,33%; EA=2,15%; POS=0,40%) e manutenção (PRE=2,95%; EA=5,54%; POS=4,81%). O animal apresentou a redução de comportamentos de repouso (PRE=34,72%; EA=22,14%; POS=53,93%). Além disso, houve menor expressão de comportamento estereotipado a qual persistiu durante a etapa de pós-enriquecimento (PRE=28,67%; EA=11,48%; POS=8,64%).

Figura 10 - Frequências comportamentais do Macho 2 durante as etapas de pré-enriquecimento (PRE), enriquecimento ambiental (EA) e pós-enriquecimento (POS).



Fonte: (AUTORA, 2015).

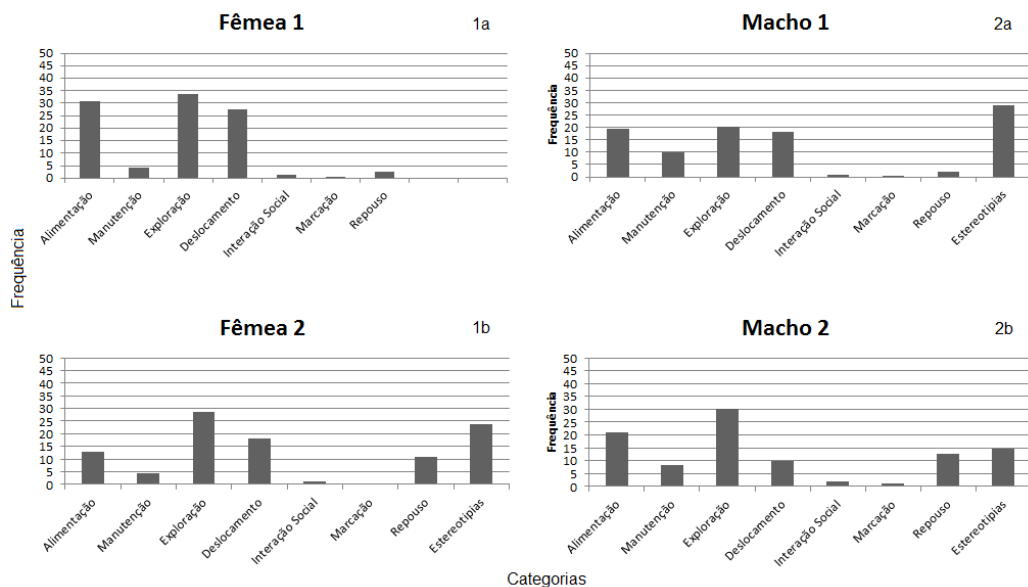
Durante o período de enriquecimento alimentar fêmea 1 (F1) (Figura 11, 1a) exibiu mais comportamentos relacionados à alimentação (PRE=0,16%; EA=30,60%; POS=1,80%) e exploração (PRE=18,71%; EA=33,51%; POS=17,29%). Além de despender menos tempo com repouso (PRE=39,56%; EA=2,68%; POS=53,42%) e estereotípias (PRE=2,70%; EA=0%; POS=3,16%).

A fêmea 2 (F2) (Figura 11, 1b) exibiu mais comportamentos relacionados à alimentação (PRE=0,65%; EA=13,07%; POS=1,04%) e despendeu menos tempo com repouso (PRE=32,29%; EA=10,80%; POS=31,91%). Contudo, este animal expressou mais comportamento estereotipado (PRE=19,16%; EA=23,81%; POS=14,21%).

O macho 1 (M1) (Figura 11, 2a) exibiu mais comportamentos relacionados à alimentação (PRE=0,86%; EA=19,61%; POS=0,50%) e exploração (PRE=11,14%; EA=20,09%; POS=12,83%). Além de despender menos tempo com repouso (PRE=19,08%; EA=10,08%; POS=50,20%) e estereotípias o que, para este comportamento, persistiu durante o pós-enriquecimento (PRE=40,17%; EA=23,81%; POS=19,50%).

O macho 2 (M2) (Figura 11, 2b) exibiu mais comportamentos relacionados à alimentação (PRE=1,39%; EA=20,91%; POS=1,19%), exploração (PRE=23,82%; EA=30,32%; POS=25,28%), deslocamento (PRE=7,75%; EA=9,83%; POS=5,01%) e marcação (PRE=0,33%; EA=1,08%; POS=0,40%). Além de despender menos tempo com repouso (PRE=34,72%; EA=12,85%; POS=53,93%) e estereotipias o que, no caso deste último, persistiu durante o pós-enriquecimento (PRE=28,67%; EA=14,70%; POS=8,64%).

Figura 11 - Frequência comportamental das onças-pintadas durante a aplicação do enriquecimento alimentar.



Fonte: (AUTORA, 2015).

Durante o período de enriquecimento olfativo a fêmea 1 (F1) (Figura 12, 1a) exibiu mais comportamentos relacionados à alimentação (PRE=0,16%; EA=7,64%; POS=1,80%), marcação (PRE=0,12%; EA=7,64%; POS=0,26%) e exploração (PRE=18,71%; EA=27,47%; POS=17,29%). Além de despender menos tempo com repouso (PRE=39,56%; EA=34,06%; POS=53,42%) e estereotipias (PRE=2,70%; EA=1,02%; POS=3,16%).

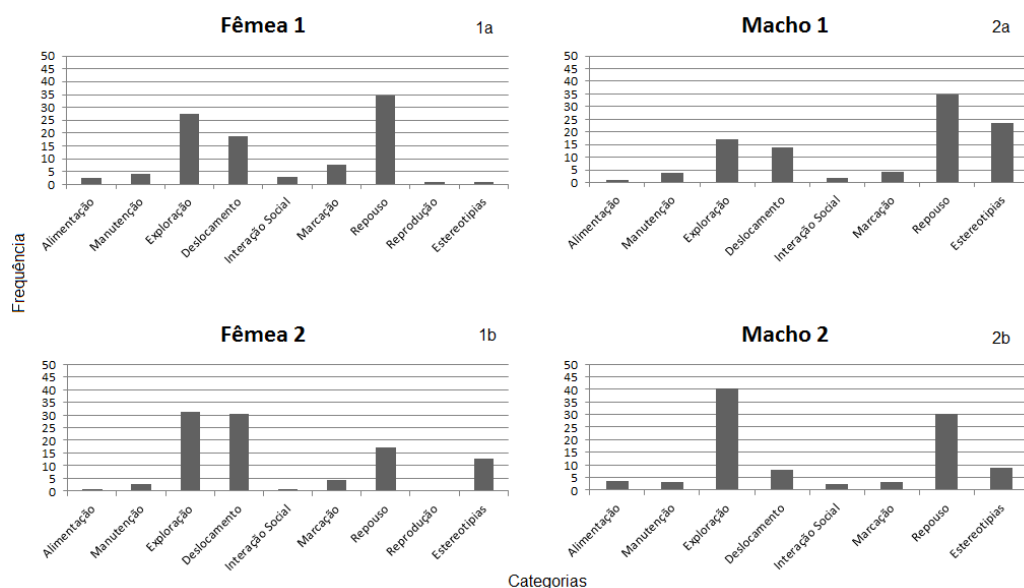
A fêmea 2 (F2) (Figura 12, 1b) exibiu mais comportamentos relacionados à alimentação (PRE=0,65%; EA=0,70%; POS=1,04%), marcação (PRE=0,36%;

EA=4,47%; POS=0,34%), exploração (PRE=24,33%; EA=31,09%; POS=28,70%) e deslocamento (PRE=18,73%; EA=30,28%; POS=16,87%). Além disso, despendeu menos tempo com repouso (PRE=32,29%; EA=17,05%; POS=31,91%) e com comportamento estereotipado (PRE=19,16%; EA=12,64%; POS=14,21%).

O macho 1 (M1) (Figura 12, 2a) exibiu mais comportamentos relacionados à marcação (PRE=1,63%; EA=4,09%; POS=1,16%), exploração (PRE=11,14%; EA=17,20%; POS=12,83%) e repouso, quando comparado ao pré-enriquecimento, (PRE=19,08%; EA=34,69%; POS=50,20%). Além disso, despendeu menos tempo com estereotípias, quando comparado ao pré-enriquecimento, visto que este comportamento teve sua frequência ainda mais reduzida durante o pós-enriquecimento (PRE=40,17%; EA=23,55%; POS=19,50%).

O macho 2 (M2) (Figura 12, 2b) exibiu mais comportamentos relacionados à marcação (PRE=0,33%; EA=3,09%; POS=0,40%), exploração (PRE=23,82%; EA=40,43%; POS=25,28%) e deslocamento (PRE=7,75%; EA=8,18%; POS=5,01%). Além de despende menos tempo com estereotípias, quando comparado ao pré-enriquecimento, o que persistiu durante o pós-enriquecimento (PRE=28,67%; EA=8,66%; POS=8,64%).

Figura 12 - Frequência comportamental das onças-pintadas durante a aplicação do enriquecimento olfativo.

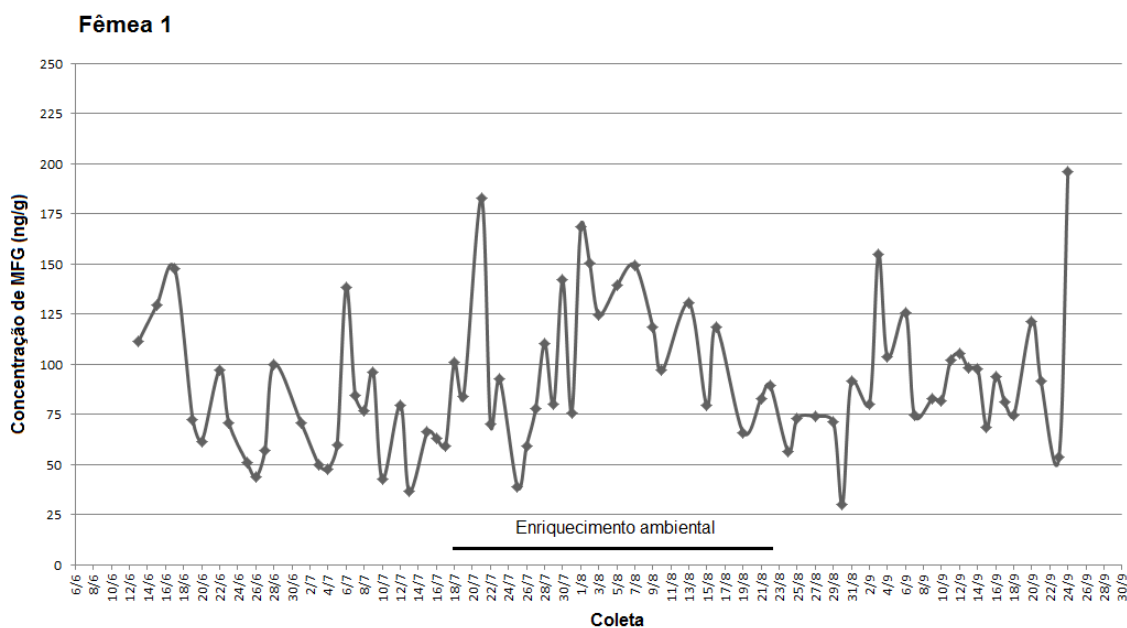


Fonte: (AUTORA, 2015).

4.3. EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS DE GLICOCORTICOIDES PRESENTES NAS FEZES DE ONÇAS-PINTADAS

Para a fêmea 1 (F1) obtivemos 75 amostras ao longo das etapas, sendo 25 para cada uma delas (Figura 13). A concentração média (\pm desvio-padrão) de metabólitos fecais de glicocorticoides encontrada nas etapas foi de 76,56 ng/g ($dp = \pm 30,20$ ng/g) durante o pré-enriquecimento, 105,18 ng/g ($dp = \pm 36,25$ ng/g) no enriquecimento ambiental e 91,38 ng/g ($dp = \pm 33,29$ ng/g) no pós-enriquecimento (Tabela 9; Figura 17, 1a). Houve diferença nas concentrações médias de MFG apresentadas durante as etapas ($F=4,6081$; $p=0,0130$). Contudo apenas as etapas de pré e de enriquecimento ambiental apresentaram médias estatisticamente diferentes ($t=3,0352$; $p=0,0033$).

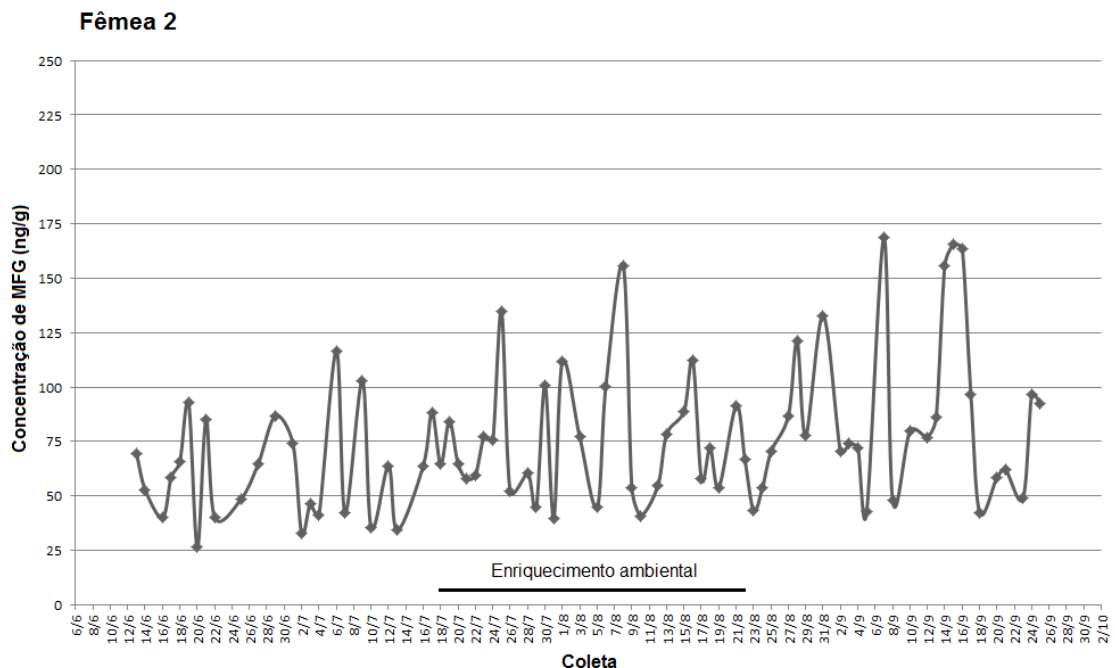
Figura 13 - Perfil da concentração de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG) da Fêmea 1 ao longo do experimento.



Fonte: (AUTORA, 2015).

Para a fêmea 2 (F2) obtivemos 79 amostras ao longo das etapas, 24 durante o pré-enriquecimento, 29 no enriquecimento ambiental e 26 no pós-enriquecimento (Figura 14). A concentração média de metabólitos fecais de glicocorticoides encontrada nas etapas foi de 61,37, 75,06 e 87,88 ng/g ($dp_{PRE}= 24,31$ ng/g; $dp_{EA}= 30,19$ ng/g; $dp_{POS}= 41,39$ ng/g), respectivamente (Tabela 9; Figura 17, 1b). Houve diferença nas concentrações médias de MFG apresentadas durante as etapas ($F=4,4326$; $p=0,0149$). Contudo apenas as etapas de pré e de pós-enriquecimento apresentaram médias estatisticamente diferentes ($t=2,9774$; $p=0,0039$).

Figura 14 - Perfil da concentração de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG) da Fêmea 2 ao longo do experimento.

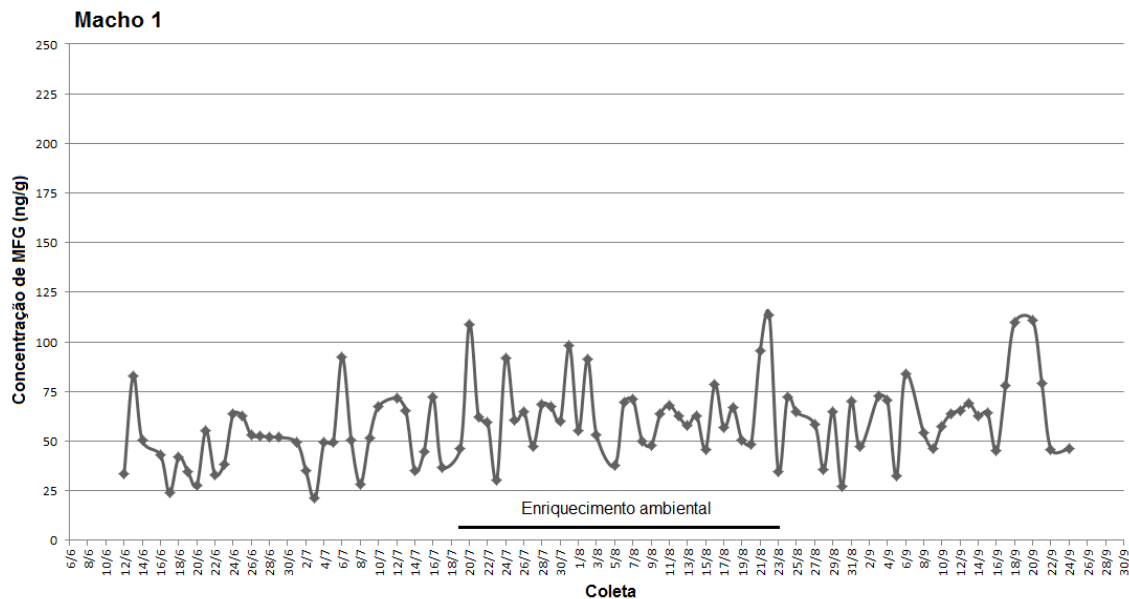


Fonte: (AUTORA, 2015).

Para o macho 1 (M1) obtivemos 95 amostras ao longo das etapas, 32 durante o pré-enriquecimento, 35 no enriquecimento ambiental e 28 no pós-enriquecimento (Figura 15). A concentração média de metabólitos fecais de glicocorticoides encontrada nas etapas foi de 49,10, 64,23 e 63,08 ng/g ($dp_{PRE}= 16,97$ ng/g; $dp_{EA}= 17,00$ ng/g; $dp_{POS}= 19,54$ ng/g), respectivamente (Tabela 9; Figura 17, 2a). Houve diferença nas concentrações médias de MFG apresentadas durante as etapas ($F=6,4338$; $p=0,0028$). Para M1 as etapas de pré e de enriquecimento

ambiental apresentaram médias estatisticamente diferentes ($t=3,2871$; $p=0,0014$) assim como as etapas de pré e de pós-enriquecimento ($t=2,8720$; $p=0,0050$).

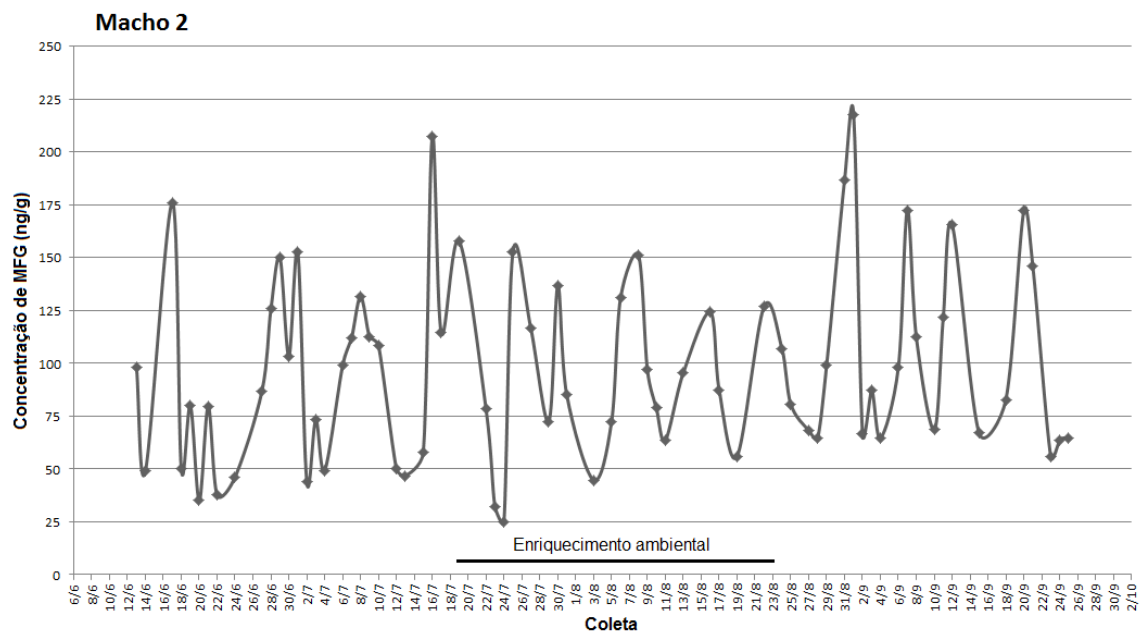
Figura 15 - Perfil da concentração de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG) do Macho 1 ao longo do experimento.



Fonte: (AUTORA, 2015).

Para o macho 2 (M2) obtivemos 69 amostras ao longo das etapas, 26 durante o pré-enriquecimento, 21 no enriquecimento ambiental e 22 no pós-enriquecimento (Figura 16). A concentração média de metabólitos fecais de glicocorticoides encontrada nas etapas foi de 90,93, 94,56 e 105,79 ng/g ($dp_{PRE}=46,07$ ng/g; $dp_{EA}=39,59$ ng/g; $dp_{POS}=48,87$ ng/g), respectivamente (Tabela 9; Figura 17, 2b). Não houve diferença nas concentrações médias de MFG apresentadas durante as etapas de pré-enriquecimento, de enriquecimento ambiental e de pós-enriquecimento ($F=0,6819$; $p=0,5137$).

Figura 16 - Perfil da concentração de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG) do Macho 2 ao longo do experimento.



Fonte: (AUTORA, 2015).

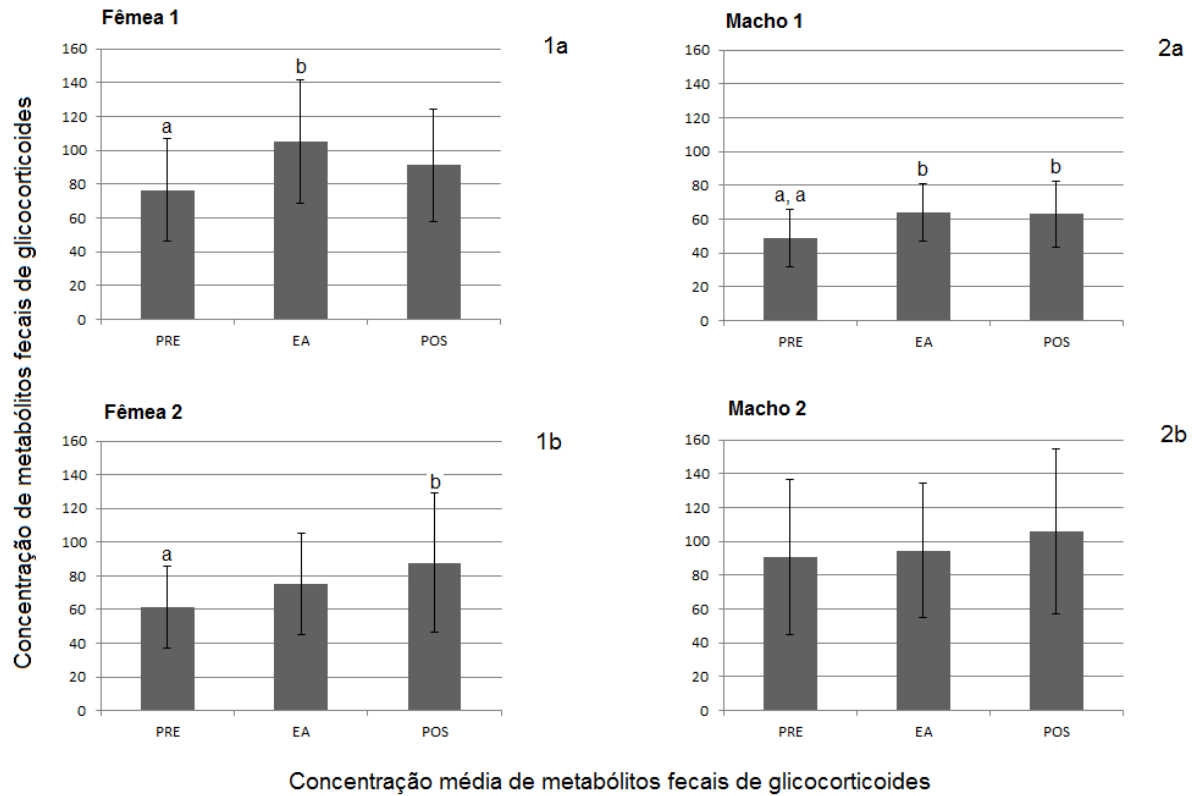
Tabela 9 - Médias e desvios-padrão das concentrações de metabólitos fecais de glicocorticoides de onças-pintadas mantidas no Zoológico Municipal de Curitiba/PR

Concentração média de MFG e desvio-padrão			
Animal	Pré-enriquecimento	Enriquecimento	Pós-enriquecimento
Fêmea 1	76,56 ^a ± 30,20	105,18 ^b ± 36,25	91,38 ± 33,29
Fêmea 2	61,37 ^a ± 24,31	75,06 ± 30,19	87,88 ^b ± 41,39
Macho 1	49,10 ^{a,a} ± 16,97	64,23 ^b ± 17,00	63,08 ^b ± 19,54
Macho 2	90,93 ± 46,07	94,56 ± 39,59	105,79 ± 48,87

Obs.: a, b e c correspondem à médias estatisticamente diferentes.

Fonte: (AUTORA, 2015).

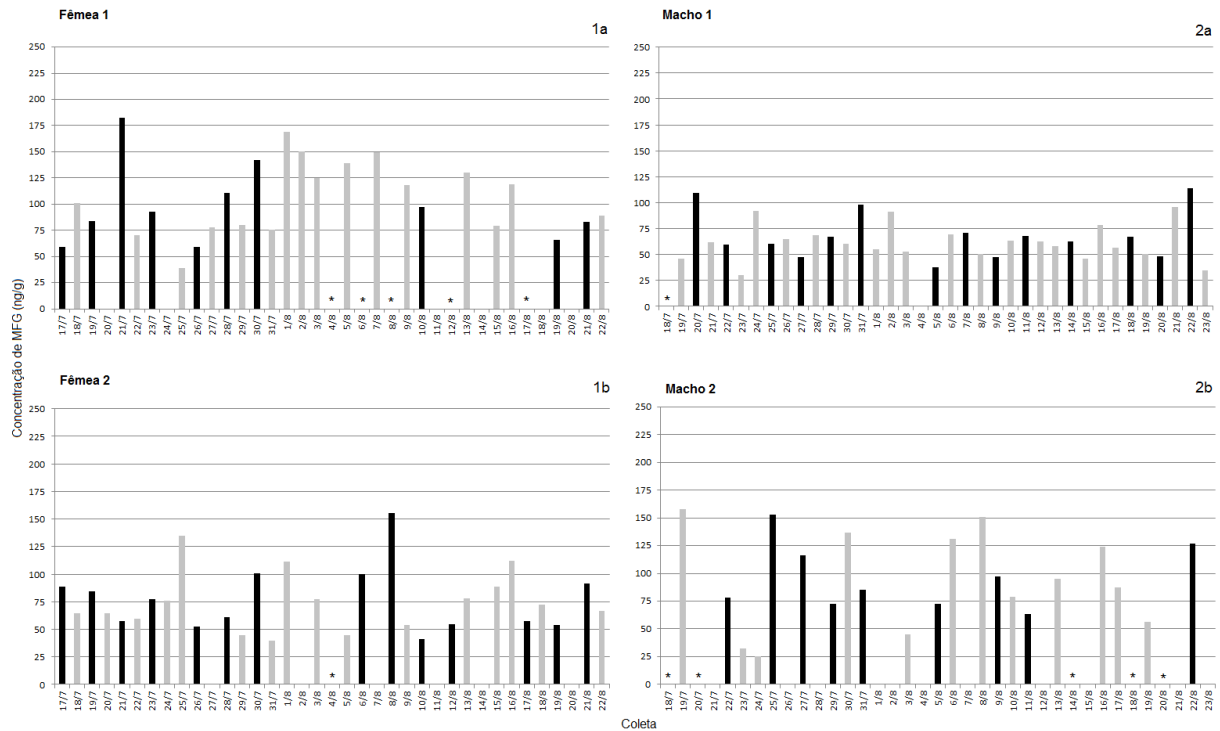
Figura 17 - Concentrações médias e desvios-padrão dos metabólitos fecais de glicocorticoides de onças-pintadas mantidas no Zoológico Municipal de Curitiba/PR. Onde a e b correspondem a valores estatisticamente diferentes.



Fonte: (AUTORA, 2015).

Apesar da etapa de enriquecimento ambiental apresentar concentrações mais altas de MFG do que aquelas presentes durante a etapa de pré-enriquecimento, ao analisarmos as amostras diárias coletadas antes e após a prática do enriquecimento, pudemos observar que geralmente os níveis de MFG diminuíam após as atividades serem realizadas (Figura 18).

Figura 18 - Perfil de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG) apresentado por onças-pintadas mantidas no Zoológico Municipal de Curitiba/PR durante a etapa de enriquecimento ambiental. As barras em preto e os asteriscos correspondem aos dias onde o enriquecimento ambiental foi aplicado.



Fonte: (AUTORA, 2015).

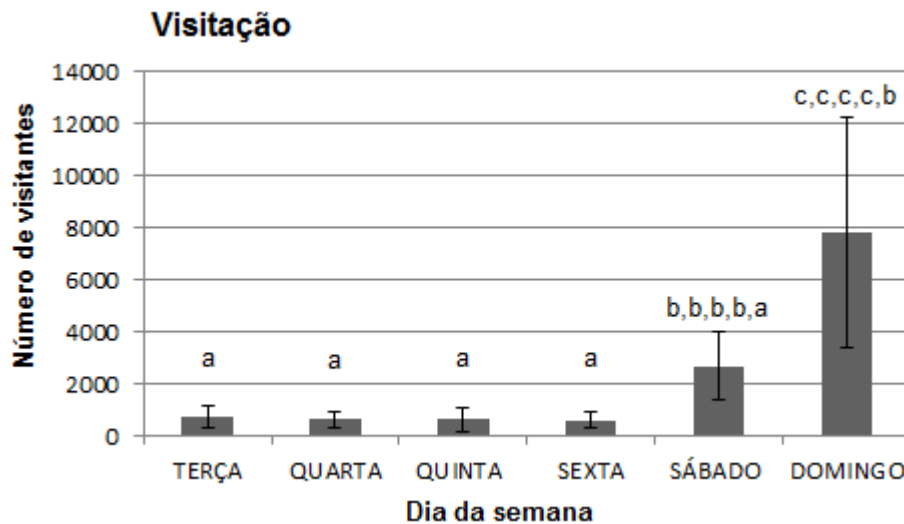
A diferença observada na quantidade de amostras obtida entre os animais está relacionada a não defecação no caso das fêmeas e à destruição dos bolos fecais pelo animal no caso do macho M2. O coeficiente de variação intra-ensaio foi inferior a 5% e inter-ensaio foi de 12%.

4.4. ASPECTO DA VISITAÇÃO DURANTE A EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

O Zoológico Municipal de Curitiba não recebe visitação durante as segundas-feiras. O número de visitantes ao longo do experimento variou entre 80 e 14137 pessoas, apresentados em uma quinta-feira e em um domingo, respectivamente.

A média de visitantes apresentada entre as terças-feiras e os domingos foram estatisticamente diferentes ($F=34,79$; $p<0,0001$). Foram estatisticamente diferentes as médias apresentadas entre a terça-feira e sábado ($t=2,90$; $p=0,0046$), terça-feira e domingo ($t=10,35$; $p<0,001$), quarta-feira e sábado ($t=3,03$; $p=0,0032$), quarta-feira e domingo ($t=10,47$; $p<0,001$), quinta-feira e domingo ($t=2,91$; $p=0,0045$), quinta-feira e domingo ($t=10,35$; $p<0,001$), sexta-feira e sábado ($t=2,93$; $p=0,0042$), sexta-feira e domingo ($t=10,38$; $p<0,001$) entre o sábado e domingo ($t=7,45$; $p<0,001$). Não houve diferença estatística entre os dias da semana (Figura 19).

Figura 19 - Média e desvio-padrão da visitação no Zoológico Municipal de Curitiba durante a execução do estudo. Onde a, b e c representam valores estatisticamente diferentes.



Fonte: (AUTORA, 2015).

5 DISCUSSÃO

Neste estudo verificamos que a aplicação do enriquecimento ambiental do tipo alimentar e olfativo proporcionou um aumento de comportamentos naturais e contribuiu para a diminuição de comportamentos estereotipados.

Ao longo da aplicação do enriquecimento alimentar alteramos a rotina de alimentação, modificando o horário e o local de alimentação. Além disso, variamos a forma de disponibilização do alimento utilizando estratégias que contribuíram para prolongar o tempo dispendido com comportamentos naturais relacionados ao forrageio.

Szokalski *et al.* (2012) destacaram a importância das técnicas de enriquecimento alimentar para tigres (*Panthera tigris*). Estes reforçam que o enriquecimento deve estimular comportamentos naturais e tentar replicar sempre que possível a alimentação na natureza. Isso deve ser promovido através do uso de novos itens alimentares, mudanças na rotina de alimentação, assim como o uso de brinquedos e objetos que estimulem comportamentos de caça.

Verificamos que, durante a aplicação do enriquecimento alimentar, os animais apresentaram aumento de comportamentos relacionados à alimentação e exploração do recinto e, além disso, diminuição de comportamentos estereotipados (exceto em F2).

Bashaw *et al.* (2003) utilizaram peixes vivos e ossos como enriquecimento alimentar para tigres-de-Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*) e leões-africanos (*P. leo*) e McPhee (2002) disponibilizou carcaças para leopardos-indianos (*P. pardus fusca*), leopardos-das-neves (*P. uncia*) e leões africanos. Assim, como em nosso estudo, ambos constataram que o enriquecimento alimentar foi eficiente para diminuir comportamentos estereotipados e aumentar comportamentos relacionados à alimentação.

Como no Zoológico Municipal de Curitiba não há o fornecimento de presas vivas aos felídeos, o uso do enriquecimento alimentar é uma boa alternativa para satisfazer o comportamento relacionado ao forrageio e melhorar a qualidade de vida dos animais ali mantidos.

Para compensar a falta do oferecimento de presas vivas no cativeiro, e em consequência disso, menor gasto de energia relacionada à caça, Szokalski *et al.* (2012) sugeriram o uso de presas artificiais, animais de papelão e sacos de estopa pendurados em árvores por cordas. Visando estimular o comportamento de caça, durante o enriquecimento alimentar ofertamos o alimento aos animais de maneira que eles tivessem que explorar seu recinto para obtê-lo. Além disso, o alimento foi disponibilizado, por exemplo, dentro de estruturas como melancia, distribuído pelo recinto ou pendurado por corda e, também, disponibilizamos frango abatido contendo vísceras e penas. Estas estratégias contribuíram para retardar o acesso ao alimento e manter os animais entretidos procurando pela comida, alimentando-se ou brincando com o invólucro utilizado.

Os animais estudados eram mantidos em recintos de aproximadamente 60m². Na área não coberta, que corresponde a aproximadamente dois terços do recinto, havia terra, areia, gramíneas e troncos. Com intuito de promover inovações nos recintos, optamos por utilizar itens para enriquecimento olfativo. O uso de óleos essenciais atuou estimulando a exploração do recinto e a marcação de território e contribuiu para que os animais se mantivessem ocupados com comportamentos próprios da espécie. Diante disso, o enriquecimento olfativo foi uma medida simples que se mostrou eficiente em inovar o ambiente sem praticamente nenhum esforço.

No ambiente natural, felídeos passam muito tempo patrulhando e marcando seus territórios. Como na maioria dos cativeiros os animais sempre ocupam os mesmos recintos há uma limitação na marcação e no comportamento territorial, uma vez que há pouca mudança olfativa no ambiente. Com o intuito de minimizar isso, zoológicos têm aplicado diversos cheiros como enriquecimento ambiental (SZOKALSKI *et al.*, 2012).

O uso do enriquecimento olfativo é uma forma relativamente simples de introduzir novidades ao ambiente cativo. Resende *et al.* (2011) testaram o uso de canela, a qual se mostrou eficiente em diminuir estereotípias em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*). E o uso de noz-moscada (*Myristica fragrans*), erva-de-gato-verdadeira (*Nepeta cataria*) e o cheiro de codorna (*Coturnix coturnix*) contribuíram para que gatos-de-patas-negras (*Felis nigripes*) cativos apresentassem

aumento de comportamentos de exploração e diminuição de comportamentos de repouso (WELLS; EGLI, 2004).

Em geral, ao longo da aplicação do enriquecimento ambiental, além do aumento da expressão de comportamentos naturais, verificamos uma menor incidência de comportamentos estereotipados.

Além disso, constatamos que o comportamento estereotipado foi exibido em menor frequência pelas fêmeas do que pelos machos, respectivamente, 10,93 e 34,42% durante o pré-enriquecimento. Provavelmente isto se deva ao fato de que na natureza os machos tenham territórios maiores do que os das fêmeas para patrulhar (MIRANDA; JOHN, 2010) e, que devido a isso, desloquem-se mais do que estas ao longo do dia (CRAWSHAW; QUILEY, 1991).

Talvez, em um ambiente pequeno e com poucos estímulos, uma maneira de satisfazer a necessidade de patrulha de território seja exibindo algum tipo de comportamento alternativo como o andar estereotipado, ou *pacing*. Há consenso de que as limitações do ambiente cativo podem levar à ocorrência de comportamentos estereotipados em muitas espécies, particularmente naquelas que na natureza ocupam grandes áreas territoriais, pois estas tendem a ser mais propensas a problemas de bem-estar (MASON *et al.*, 2007). Em nosso estudo verificamos que este comportamento em alguns casos chegou a 40% do comportamento observado antes da aplicação do enriquecimento ambiental.

Ao longo da aplicação do enriquecimento os animais permaneceram mais ativos e explorando mais seus recintos. Com isso pudemos constatar um aumento do interesse dos visitantes em relação a eles. As pessoas passaram a observá-los e a fazer perguntas sobre eles ao invés de atirar objetos e/ou gritar para acordá-los.

Um estudo realizado por Margulis *et al.* (2003) comparou o interesse dos visitantes em função da atividade dos felídeos estimulada através da utilização do enriquecimento ambiental. Eles verificaram que, quanto maior a atividade dos animais, maior o número de visitantes e mais longo o período de visita. Como muitas espécies de felídeos são noturnas e, portanto, passam grande parte do dia em repouso, esta prática contribui para aumentar o interesse dos visitantes ao observar animais ativos.

Programas de enriquecimento ambiental não apenas geram melhores condições para os animais, mas tornam a observação mais interessante para os visitantes, pois estes têm uma percepção positiva sobre eles, vendo-os mais “felizes”, o que contribui para aumentar sua empatia sobre os animais e seu apoio na conservação das espécies (FERNANDEZ *et al.*, 2009).

Além da expressão comportamental analisamos o perfil de metabólitos fecais de glicocorticoides (MFG) ao longo do experimento. Isso nos possibilitou ter uma visão do aspecto fisiológico dos animais antes, durante e após a aplicação do enriquecimento ambiental. Exceto por M2 os demais animais apresentaram médias de MFG diferentes em ao menos uma etapa do experimento. Isto é, foi possível constatar que houve repercussão das atividades promovidas não apenas no comportamento dos animais, mas também na fisiologia desses.

Graham e Brown (1996) verificaram através da estimulação com injeções de ACTH que as concentrações de cortisol em gatos domésticos aumentavam significativamente 24h após o estímulo das adrenais. Em nosso estudo aplicamos o enriquecimento ambiental em dias alternados, esta pausa de 24h, nos permitiu verificar a concentração de MFG no dia antes e no dia após a aplicação do item escolhido.

Acreditamos que não pudemos constatar a variação hormonal no animal M2 devido a muitas lacunas na coleta do mesmo, especialmente após a aplicação do enriquecimento ambiental. Visto que o cortisol tem uma variação diária e pulsátil ao longo do dia para a maioria dos mamíferos, o monitoramento de esteroides fecais entre 12-24h é apropriado para avaliar a atividade adrenal longitudinal em felídeos (WIELEBNOWSKI *et al.*, 2002). Nossos dados reforçam a necessidade de se realizar coletas diárias regulares para a verificação adequada do perfil de MFG durante a aplicação do enriquecimento ambiental. Assim pode-se observar adequadamente o aspecto hormonal antes, durante e após as atividades de enriquecimento.

Ainda em relação aos níveis de MFG verificou-se que para todos os animais houve um aumento durante o período de enriquecimento ambiental quando este foi comparado ao período de pré-enriquecimento. A alteração hormonal era esperada

visto que promovemos mudanças na rotina dos animais e havíamos observado alterações no comportamento dos animais, como por exemplo, aumento da exploração e diminuição de comportamentos estereotipados.

Zaragoza *et al.* (2011) verificaram a mesma situação estudando chimpanzés (*Pan troglodytes*) e gorilas (*Gorilla gorilla gorilla*) mantidos em cativeiro. Apesar do aumento do comportamento de exploração e a diminuição do comportamento estereotipado, durante o enriquecimento ambiental houve aumento dos níveis de metabólitos fecais de glicocorticoides, assim como verificado nas onças-pintadas estudadas. Visto que o mecanismo fisiológico em si é o mesmo entre as espécies, podemos observar que, apesar de o aumento nos níveis de glicocorticoides frequentemente estar relacionado ao estresse, nestes casos verificamos que isso provavelmente está relacionado às mudanças promovidas pelo enriquecimento ambiental e com base na diminuição de comportamentos estereotipados houve melhora na qualidade de vida dos animais.

No ambiente natural os animais passam por situações de estresse, como a busca por alimento e por parceiros, fuga de predadores e disputas por território (TUYL, 2008). Diante de um ambiente dinâmico os organismos se adaptam através de alterações fisiológicas, morfológicas e comportamentais (MÖSTL; PALME, 2002).

Acreditamos que a novidade proporcionada pelo enriquecimento ambiental resultou na ativação do eixo hipófise-pituitária-adrenal (HPA) como aconteceria na natureza em resposta a eventos cotidianos. Como esta ativação é inespecífica e pode ocorrer tanto em situações positivas quanto negativas.

O eixo HPA é altamente sensível às novidades no ambiente e atua ativando as adrenais resultando na secreção de glicocorticoides. Entretanto, o mecanismo fisiológico por si só, isto é, o aumento de glicocorticoides, em resposta às mais diversas situações, é normal e esperado. Contudo, se isso implicará ou não em prejuízo, está relacionado à concentração, duração e frequência deste aumento (FRASER, 2012). No caso do nosso estudo, além de acompanhar a oscilação hormonal e verificar que não houve a persistência de altos níveis de MFG observamos que o padrão comportamental foi alterado positivamente com o aumento de comportamentos naturais.

Constatamos em todos os animais que, geralmente, após a aplicação do enriquecimento ambiental a concentração de metabólitos fecais de glicocorticoides foi menor do que a obtida na amostra coletada antes do enriquecimento.

Observamos que, devido ao aumento de sua atividade, os animais acabaram chamando mais atenção do público frequentador do zoológico. Isso levou a formação de aglomerações persistentes diante dos recintos daqueles animais que estavam sendo estudados. Como o enriquecimento foi disponibilizado aos animais em dias alternados não podemos descartar que aqueles que não estavam recebendo o enriquecimento ambiental tenham se incomodado com a presença dos visitantes.

Silva (2011) verificou que exemplares de onça-pintada produziram diferentes e significativas concentrações de cortisol salivar em períodos sem visitação e com visitação. Além disso, este autor constatou que a concentração de cortisol nos animais aumentava conforme o número de visitantes.

Diante disso, não podemos excluir a influência da visitação na oscilação das concentrações de metabólitos fecais de glicocorticoides ao longo do experimento. De fato, observamos que as concentrações de MFG apresentadas nas amostras coletadas aos domingos e/ou segundas-feiras foram geralmente mais altas do que as demais.

Ademais, nos surpreendeu o fato de F1 apresentar concentrações médias de metabólitos fecais de glicocorticoides altas apesar de exibir a menor expressão de comportamentos estereotipados diferentemente do que foi verificado por Wielebnowski *et al.* (2002) ao estudar panteras-nebulosas (*Neofelis nebulosa*) em cativeiro, neste caso os animais que expressavam mais comportamentos estereotipados também apresentavam níveis mais altos de MFG o que pode sugerir uma repercussão fisiológica diferente entre as espécies diante de eventos que resultem em comportamentos de estresse.

Ainda sobre a fêmea F1, verificamos que este animal teve concentrações mais altas de MFG do que a fêmea F2. Em relação à expressão comportamental, F1 apresentou menor expressão de comportamento estereotipado, enquanto que em F2 a incidência desse comportamento foi mais alta.

Evolutivamente diversos organismos podem adotar estratégias comportamentais distintas para lidar com o estresse. A seleção natural mantém um equilíbrio entre diferentes traços de personalidade preservando genes para alta agressão (falcões) e baixa agressão (pombas) dentro de uma população. A existência desses tipos de personalidade é comum no reino animal, não só entre os machos e as fêmeas, mas também dentro de espécies do mesmo gênero. Falcões e pombas diferem fisiologicamente e essas diferenças estão associadas com as respectivas estratégias comportamentais (KORTE, 2005).

Por exemplo, falcões preferencialmente adotam a resposta de “fuga ou luta” ao estabelecer um novo território ou a defender um território já consolidado, enquanto que animais com o perfil pomba são mais cautelosos e exibem o comportamento de congelar/esconder em resposta às ameaças. Assim, os processos adaptativos que mantêm ativamente a estabilidade fisiológica dependem do tipo de personalidade e as respostas associadas ao estresse (KORTE, 2005).

Com base na observação comportamental desses animais, simplificarmente, definiríamos F1 como um animal mais tolerante, visto que ela, aparentemente, não se incomodou com a presença de visitantes e com os funcionários do zoológico e, diante de uma situação de risco, ela rapidamente se escondia, até que a aparente ameaça passasse. F1 se encaixaria no perfil pomba.

Já F2 seria definido com um animal mais intolerante e arredo, pois ela exibiu mais comportamentos como avançar, fugir, sibilar e rosar em relação a visitantes e a funcionários do zoológico, exceto pelo tratador regular. Além disso, F2 apresentou recorrentemente comportamento de fuga e/ou comportamento estereotipado diante de veículos automotivos. F2 se adequaria ao perfil falcão.

Falcões exibem a resposta de “fuga ou luta”. Esta é caracterizada pela ativação do eixo que envolve o sistema simpático e a medula adrenal (SAM) (KORTE, 2005), nesse, terminações nervosas liberam noradrenalina nas fendas sinápticas o que estimulará a medula adrenal a liberar adrenalina no sangue.

Por outro lado, o comportamento de congelar/esconder exibido pelo perfil pomba é caracterizado pela ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (KORTE, 2005), no qual o hipotálamo produz localmente o fator de liberação de

corticotropinas que, por sua vez, estimula a glândula pituitária a liberar o hormônio adrenocorticotrópico na corrente sanguínea, o que, por fim, estimula o córtex das adrenais a liberar glicocorticoides.

Entre os machos, verificamos que os maiores valores médios de metabólitos fecais de glicocorticoides foram apresentados pelo macho jovem (M2). Enquanto que o macho idoso (M1) apresentou os menores valores médios. Diferentemente do que observamos nas fêmeas, não constatamos diferenças significativas entre o comportamento dos machos a ponto de classificá-los em perfis diferentes.

Na verdade, apesar dos altos níveis de comportamentos estereotipados, ambos se apresentaram tolerantes diante de funcionários do zoológico (mesmo em relação aos médicos veterinários), da visitação e de veículos automotivos.

Diante disso, a diferença observada, isto é, o macho jovem (M2) apresentando médias mais altas de MFG do que aquelas apresentadas pelo macho idoso (M1) pode estar relacionada à diferença de idade que há entre os animais ou pela presença constante de outro macho.

A proximidade forçada de indivíduos da mesma espécie pode exacerbar a atividade do eixo HPA e, conseqüentemente, aumentar a produção de glicocorticoides. Um estudo realizado com esquilos-vermelhos, os quais são animais não sociais e territoriais, constatou que a simulação do aumento de densidade populacional, promovida através da reprodução de vocalizações territoriais, promoveu um aumento significativo nos metabólitos fecais de glicocorticoides (CREEL *et al.*, 2013).

O macho M2 está com quatro anos e já atingiu a maturidade sexual. No ambiente natural ele já teria saído do território materno e estabelecido seu próprio território, formado por dezenas de quilômetros quadrados, onde esporadicamente encontraria outro macho.

No Zoológico ele está mantido em 60 m² a poucos metros de outro macho residente. Observamos diversas vezes que quando um emitia esturros em seguida o outro também emitia. Este tipo de vocalização contribui para reforçar a posse de um território. Além disso, visualizamos ambos os animais expelindo jatos de urina próximo ao recinto do rival.

Podemos supor que a diferença observada no comportamento e nas concentrações de MFG presentes nas fêmeas possa estar relacionada a perfis comportamentais e fisiológicos distintos. E entre os machos, e talvez também entre as fêmeas, a diferença entre as médias de metabólitos fecais de glicocorticoides possa estar relacionada à presença constante de animais da mesma espécie e sexo.

Diante disso, fatores como visitação, estímulos (positivos ou não), perfil comportamental e proximidade de indivíduos co-específicos, ou não, do mesmo sexo, entre outros, podem repercutir no aspecto fisiológico dos animais e devem ser considerados para se atingir a acurácia na interpretação dos resultados obtidos.

6 CONCLUSÃO

O enriquecimento ambiental atuou promovendo a expressão de comportamentos naturais e reduzindo comportamentos estereotipados em onças-pintadas mantidas em cativeiro.

Ambos os tipos de enriquecimento utilizados se mostraram eficientes, porém, no tocante ao custo-benefício, concluímos que o enriquecimento olfativo é uma alternativa eficiente para se proporcionar alterações imediatas em recintos de animais mantidos em cativeiro, pois envolve pouco esforço e baixo ou nenhum custo financeiro.

A análise das amostras fecais foi eficiente para acompanhar a variação dos níveis de metabólitos de glicocorticoides durante as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento ambiental e pós-enriquecimento e a coleta diária das amostras fecais contribuiu para acompanhar a variação hormonal antes e após a aplicação do enriquecimento.

Durante a etapa de enriquecimento ambiental constatamos aumento dos metabólitos fecais de glicocorticoides assim como maior exibição de comportamentos naturais. Além disso, observamos diminuição de comportamentos estereotipados.

A observação comportamental atuou complementando a análise hormonal. Pois, apesar do aumento dos níveis de metabólitos fecais de glicocorticoides durante a etapa de enriquecimento ambiental, através da avaliação do comportamento concluímos que o enriquecimento atuou reduzindo comportamentos relacionados ao estresse.

Além disso, a coleta diária nos possibilitou verificar que geralmente as amostras coletadas após a aplicação do enriquecimento ambiental apresentaram menores concentrações de metabólitos fecais de glicocorticoides quando comparadas àquelas coletadas antes do enriquecimento.

Por fim, concluímos que o enriquecimento ambiental é uma estratégia que contribui para melhorar a qualidade de vida dos animais mantidos em cativeiro.

REFERÊNCIAS

ARAGÃO, M J. **Civilização animal: A etologia numa perspectiva evolutiva e antropológica**. Pelotas: USEB, 2006.

BASHAW, M. J. *et al.* To hunt or not to hunt? A feeding enrichment experiment with captive large felids. **Zoo Biology** v. 22, p. 189-198, 2003.

CAMPOS, B. *et al.* Padrão de atividade de onças pintadas (*Panthera onca* – Linnaeus, 1758) mantidas em cativeiro – Manejo e comportamento. **Revista de Etologia**, v. 7 (2), p. 75-77, 2005.

CELOTTI, S. **Guia para o enriquecimento das condições ambientais de cativeiro**. England: Universities Federation for Animal Welfare, 2001.

COSTA, G de O. Educação ambiental – Experiências dos Zoológicos Brasileiros. **Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 13, pp. 140-150, 2004.

CURITIBA. **Zoológico e Passeio Público**. Disponível em: <http://www.curitiba.pr.gov.br/conteudo/zoologico-e-p-publico-zoologico-e-passeio-publico-smma/331>. Acesso em: 10 ago. 2015.

CRAWSHAW, JR. P. G.; QUIGLEY, H. B. Jaguar spacing, activity and habitat use in a seasonally flooded environment in Brazil. **Journal of Zoology**, v. 223, p. 357-370, 1991.

CREEL, S. *et al.* The ecology of stress: effects of the social environment. **Functional Ecology**, v. 27, p. 66-80, 2013.

EKSTRAND, J.; HELLSTEN, J.; TINGSTRÖM, A. Environmental enrichment, exercise and corticosterone affect endothelial cell proliferation in adult rat hippocampus and prefrontal cortex. **Neuroscience Letters**, v. 442, p. 203-207, 2008.

FERNANDEZ, E. J. *et al.* Animal–visitor interactions in the modern zoo: Conflicts and interventions. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 120, p. 1-8, 2009.

FIORAVANTI, C. Menos bichos, mais pesquisa: Os zoológicos reveem seu papel na conservação da vida silvestre. **Pesquisa FAPESP**, v.181, p. 16-23, mar. 2011

FRASER, D. **Compreendendo o bem-estar animal: a ciência no seu contexto cultural**. Londrina: EDUEL, 2012.

GRAHAM, L. H.; BROWN, J. L. Cortisol metabolism in the domestic cat and implications for non-invasive monitoring of adrenocortical function in endangered felids. **Zoo Biology**, v. 15, p. 71-82, 1996.

IUCN. **The IUCN red list of threatened species**. Version 2015.1. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 04 maio 2015.

KORTE, S. M.; *et al.* The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, p. 3-38, 2005.

MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte: v. 2, Fundação Biodiversitas, 2008. v. 2.

MANSON, G. J. Stereotypies: a critical review. **Animal behavior**, v. 41, p. 1015-1031, 1991.

MARGULIS, S. W.; HOYOS, C.; ANDERSON, M. Effect of felid activity on zoo visitor interest. **Zoo Biology**, v. 22, p. 587-599, 2003.

MCPHEE, M. E. Intact carcasses as enrichment for large felids: effects on on- and off-exhibit behaviors. **Zoo Biology**, v. 21, p. 37-47, 2002.

MIRANDA, E. E. DE; JOHN, L. **Jaguar: o Rei das Américas**. São Paulo: Metalivros, 2010.

MOREIRA, N. Reprodução e estresse em felídeos silvestres. **Revista brasileira de reprodução animal**, v. 31, n.3, p. 333-338, jul./set, 2007.

MÖSTL, E. & PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 67-74, 2002.

NOWELL, K.; JACKSON, P. **Wild cats: Status survey and conservation action plan**. IUCN/SSC, Gland, Switzerland, 1996.

OLIVEIRA, T. DE G.; CASSARO, K. **Guia de identificação de felinos brasileiros**, 2. ed., [S.l.]: Sociedade de Zoológicos do Brasil, 1999.

PALME, R. Measuring fecal steroids: Guidelines for practical application. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1046, p. 75-80, 2005.

PEREIRA, R. J. G. **Métodos não-invasivos para análises hormonais aplicadas ao estudo de ecologia e etologia**. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, *Suplemento especial*, p. 71-76, 2007.

RESENDE, L. DE S.; GOMES, P. K. C.; ANDRIOLO, A.; GENARO, G.; REMY, G. L.; RAMOS, A. V. D. Influence of cinnamon and catnip on the stereotypical pacing of oncilla cats (*Leopardus tigrinus*) in captivity. **Journal Applied Animal Welfare Science**, 14, n.3, p. 247-254, 2011.

SANDERSON, E. W. *et al.* Planning to save a species: the jaguar as a model. **Conservation Biology**, v. 16, n.1, p. 58-71, 2002.

SANS, E C de O. **Enriquecimento ambiental no Zoológico Municipal de Curitiba/PR**. Monografia (Zootecnia) Curitiba, UFPR, 2008.

SEYMOUR, K. L. *Panthera onca*. **Mammalian Species**, v. 340, p. 1-9, 1989.

SGAI, M. G. F. **Avaliação da influencia das técnicas de enriquecimento ambiental nos parâmetros endócrinos e comportamentais de *Callitrix penicillata* (sagüi-de-tufos-pretos) mantidos em estabilidade social e isolados**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SILVA, R. O. **Enriquecimento ambiental cognitivo e sensorial para onças-pintadas (*Panthera onca*) sedentárias em cativeiro induzindo redução de níveis de cortisol promovendo bem-estar**. Dissertação (Mestrado em Ciências do Comportamento). Universidade de Brasília, DF, 2011.

SOUZA; CARVALHO, D S; SINZATO, D M S. Humanos no zoológico: a reação dos visitantes mediante os recintos animais do Zoológico Municipal de Volta Redonda/RJ. **Anais ...Congresso de Ecologia do Brasil**, 8, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG.

SZOKALSKI, M. S.; LITCHFIELD, C. A.; FOSTER, W. K. Enrichment for captive tigers (*Panthera tigris*): Current knowledge and future directions. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, p. 1-9, 2012.

TRIGO, T. C. *et al.* Molecular data reveal complex hybridization and a cryptic species of Neotropical wild cat. **Current Biology**, v. 23-24, p. 2528-2533, dez. 2013.

TUYL, C. V. **Zoos and animal welfare**. GALE, Cengage learning, 2008.

VAN METTER, J. E; HARRIGER, M. D.; BOLEN, R. H. Environmental enrichment utilizing stimulus objects for African lions (*Panthera leo leo*) and Sumatran tigers (*Panthera tigris sumatrae*). **BIOS**, v.79, n.1, p. 7-16, 2008.

VIDOLIN, G. P. **Aspectos bio-ecológicos de *Puma concolor*, *Leopardus pardalis* e felídeos de pequeno porte**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2004.

WELLS, D. L.; EGLI, J. M. The influence of olfactory enrichment on the behaviour of captive black-footed cats, *Felis nigripes*. **Applied Animal Behaviour Science** v. 85, p. 107-109, 2004.

WIELEBNOWSKI, N. C. *et al.* Noninvasive assessment of adrenal activity associated with husbandry and behavioral factors in the North American clouded leopard population. **Zoo Biology**, v. 21, p. 77-98, 2002.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal Species of the World**. Disponível em: <http://www.vertebrates.si.edu/msw/mswcfapp/msw/taxon_browser.cfm?msw_id=10639&CFID=5351008&CFTOKEN=91603902&jsessionid=d8307b0a03f403e98cf17818c377f677c104>. Acesso em: 15 mar. 2014.

YOUNG, R. J. **Environmental enrichment for captive animals.** Universities Federation for animal welfare (UFAW), 2003.

ZARAGOZA, F. *et al.* Influence of environmental enrichment in captive chimpanzés (*Pan troglodytes spp.*) and gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*): Behavior and faecal cortisol levels. **Revista Científica**, FCV-LUZ, v. 21, n.5, p. 447-456, 2011.

ANEXO – Termo de aprovação do projeto pelo o Comitê de Ética.



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)



Nº 757

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento da CEUA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno da CEUA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEUA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

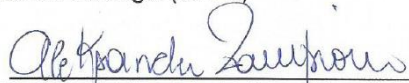
PROCESSO: 23075.047837/2013-77

APROVADO: 13/02/2014 – R.O. 01/2014

TÍTULO: Avaliação do enriquecimento ambiental aplicado a felídeos selvagens através de métodos não invasivos

AUTORES: Nei Moreira, Roseli Aparecida Silverio

DEPARTAMENTO: Programa de Pós-Graduação em Zoologia (UFPR)


Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio
/ Coordenador da CEUA