OLÍVIA DE MENDONÇA-FURTADO

USO DE FERRAMENTAS COMO
ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PARA
MACACOS-PREGO (*Cebus apella*) CATIVOS

Dissertação apresentada ao
Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre
em Psicologia.

São Paulo
2006

OLÍVIA DE MENDONÇA-FURTADO

USO DE FERRAMENTAS COMO ENRIQUECIMENTO
AMBIENTAL PARA MACACOS-PREGO (*Cebus apella*)
CATIVOS

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Psicologia.

Área de Concentração: Psicologia Experimental

Orientador: Prof. Dr. Eduardo B. Ottoni

São Paulo
2006

USO DE FERRAMENTAS COMO ENRIQUECIMENTO
AMBIENTAL PARA MACACOS-PREGO (*Cebus apella*)
CATIVOS

OLÍVIA DE MENDONÇA-FURTADO

BANCA EXAMINADORA

Dissertação defendida e aprovada em: __/__/__

*Esta dissertação é dedicada
àqueles que nos dizem mais com
o olhar do que conseguimos dizer
com palavras, que nos instigam
com seus comportamentos, nos
brindam com sua beleza, e nos
maravilham com sua ternura: aos
animais.*

AGRADECIMENTOS

Ao Edu por tudo que já me ensinou, pela paciente orientação e pelo carinho implícito nisso.

Aos Professores Fernando José Leite Ribeiro e Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães pela atenção e por diversas sugestões relevantes não só no exame de qualificação, mas também em diversos outros momentos deste trabalho.

À Angélica pelas muitas dicas, ajudas, socorros, incentivos e afins durante toda a realização deste trabalho.

À Cristiane por estudar tão apaixonadamente o bem-estar de animais cativos e por dividir com todos esta paixão.

À Cynthia pela enorme atenção e paciência pelos caminhos da estatística.

À Priscila pela atenção e orientação me deu durante as extrações e por conduzir as dosagens de cortisol.

Ao professor Cláudio Alvarenga de Oliveira pela utilização do Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH/DRA/FMVZ/USP).

As Professoras Emma, Vera e Pat pelo carinho e incentivo ao longo deste trabalho.

Ao Pavão por possibilitar a tabulação dos dados e o feitiço dos gráficos, mas principalmente pela amizade.

Aos amigos de luta: Renata, Giselli, Leo, Tiago, Andressa, Érica, Darwin, Michelle, Camila, Juliana, Marco, Marcos, Bris, Máximo, Marie-Odile, Cláudia, Tati, Ghandi, Adriana, Cibele e Ana Elisa, por muitas discussões importantes sobre comportamento animal, mas principalmente por estarem por perto e compartilharem alegrias e tristezas.

Ao Zoológico de Guarulhos, seus biólogos e veterinários (Cláudia, Yara, Ricardo, Elisa, Cristiane e Valéria), com quem muito aprendi e que procuraram de diversas formas tornar esta pesquisa possível.

À todos os colegas do Zoológico de Guarulhos, em especial aos tratadores: Zé Kuhn, Zuza, Luís, Claudião, Ivan e Maquininha, sem os quais este trabalho seria impossível e com os quais este trabalho se tornou muito mais prazeroso.

Aos pregos, não por serem cativos, mas por serem tão cativantes.

Aos secretários do Departamento de Psicologia Experimental da USP pelo auxílio constante.

Ao Pepper pelos momentos de descontração entre um surto psicótico e outro e pela companhia integral.

Aos amigos com que aprendi mais do que o que está escrito aqui: Tar, Ti, Roger e Ciça.

À Lud 2 por me agüentar deprimida, estressada, triste, hiperativa, eufórica e etc...

Ao Diego por se interessar, por ajudar, por criticar, por estar presente, enfim, por tudo e mais um pouco.

À minha família: Alzira, Zé, Rafa, Gabi, Ícius, Marina, Linda, Pimentão, Sônia, Rica, Lino, Regina, Márcia, André, Maria Eduarda, e mais um monte de anexos! Pela compreensão (e também pelas reclamações) nos momentos que estive ausente e por tudo mais que sempre tive...

À Fapesp pela concessão da bolsa.

À todos os amigos pela força e pela amizade.

SUMÁRIO

RESUMO.....i

ABSTRACT.....ii

INTRODUÇÃO

Bem estar.....1

Estereotipias.....4

O estresse e sua fisiologia.....5

Enriquecimento ambiental.....7

O macaco-prego.....9

Uso de ferramentas.....11

OBJETIVOS.....12

MATERIAL E MÉTODOS

Sujeito e local de estudo.....14

Desenho experimental.....15

 Coleta de dados.....15

 Medidas.....15

 Condição controle.....17

 Condição com artefato.....17

Artefatos empregados.....	18
Coleta de fezes.....	18
Ferramenta pequena.....	19
Problemas de ordem prática encontrados durante a coleta de dados.....	21
Atrasos.....	21
Reposições erradas.....	22
Despareamento temporal de amostragens.....	22
Extração e Radioimunoensaio (RIE).....	23
Protocolo de extração.....	23
Quantificação hormonal.....	24
Validação do conjunto diagnóstico.....	25
Análise dos dados.....	25

RESULTADOS

Validação dos conjuntos diagnósticos.....	26
Controle de qualidade dos radioimunoensaios.....	27
Quantidade de interação com os artefatos.....	27
Frequência de comportamentos estereotipados (Boinski <i>et al</i> , 1999).....	31
Frequência de comportamentos potencialmente indicativos de estresse.....	33
Face contra grade.....	37
Perambular.....	40
Morder a si próprio.....	40
Coçar.....	41
“Display” sexual.....	42

Auto-catação.....	43
Manipular rabo.....	44
Níveis de corticosterona.....	45
Relação comportamentos X corticosterona.....	48
Ferramenta pequena.....	49

DISCUSSÃO

Quantidade de interações com os artefatos.....	50
Frequência de comportamentos estereotipados (Boinski <i>et al</i> , 1999).....	52
Frequência de comportamentos potencialmente indicativos de estresse.....	57
Análises individuais.....	57
Efeito cumulativo.....	58
Reação a um objeto estranho.....	58
Indicador de estresse.....	59
Frustração.....	60
Convivência social.....	61
Corticosterona.....	62
Correlação negativa.....	62
Estresse causado por evento externo.....	63
Ferramenta pequena.....	64

CONCLUSÃO.....	64
----------------	----

ANEXOS

Anexo 1 - Tabela obtida na análise de comportamentos diretamente relacionados com
cada um dos artefatos propostos.....70

Anexo 2 - Validação Fisiológica.....71

Anexo 3 - Experimento complementar.....72

BIBLIOGRAFIA.....74

Errata

Página	Item	Linha	Figura	Onde se lê	Leia-se
15	3.2.2.	3		“mensuração dos níveis de corticosterona fecal”	“mensuração dos níveis de metabólitos fecais de cortisol”
18	3.2.4.	10		“(no caso de dos artefatos tipo Caixa e Ferramenta)”	“(no caso dos artefatos do tipo Caixa e Ferramenta)”
18	3.2.6.	1		“para as análises de corticosterona fecal”	“para as análises de metabólitos fecais de cortisol”
23	3.4.1.	1		“As extrações de corticosterona das fezes”	“As extrações de metabólitos fecais de cortisol das fezes”
24	3.4.2.	9		“os valores finais de metabólitos de corticosterona foram corrigidos”	“os valores finais de metabólitos fecais de cortisol foram corrigidos”
25	3.5.	6		“(2) dose de corticosterona fecal”	“(2) dose de metabólitos fecais de cortisol”
26	3.5	6		“dados comportamentais e de corticosterona”	“dados comportamentais e de metabólitos fecais de cortisol”
26	4.1	2	2	“metabólitos de corticosterona”	“metabólitos fecais de cortisol”
28			3	“K”	“F”
29			4	“K”	“F”
30			6	“K”	“F”
45	4.6.	5 e 6		“quantidade de corticosterona” e “valores de corticosterona”	“níveis, quantidade e valores de metabólitos fecais de cortisol”
46			22	“corticosterona fecal”	“metabólitos fecais de cortisol”
47	4.6.	2 e 4	23	“corticosterona”	“metabólitos fecais de cortisol”
48	4.6. 4.7.	3 2, 4 e 9		“corticosterona fecal” ou “corticosterona”	“metabólitos fecais de cortisol”
49			24	“Quantidade de Corticosterona (ng/ml)”	“Quantidade de metabólitos fecais de cortisol (µg/g)”
51	5.1.	3		“nenhum dos destes apresentados”	“nenhum dos artefatos apresentados”

54	5.2.	15		“estímulos que façam diferença”	“estímulos que fazem diferença”
56	5.2.	6		“com o objetivo esclarecer se”	“com o objetivo de esclarecer se”
57	5.3	14		“(ver 6.3.1.2.).”	“(ver 5.3.1.2.).”
61	5.4.	7		“os sujeitos em alojamento conjunto poderiam executar tem uma possibilidade”	“os sujeitos em alojamento conjunto tem uma possibilidade”
62	5.5. 5.5.1.	2 8		“corticosterona fecal” ou “corticosterona”	“metabólitos fecais de cortisol”
63	5.5.1.	6		“um sujeito que não tem seus níveis de corticosteróides medidos”	“um sujeito que não tem os níveis deste corticosteróide medido”.
63	5.5.2.	3		“corticosterona”	“metabólitos fecais de cortisol”
63	5.5.2.	9		“níveis de corticosterona”	“níveis de cortisol”
65	6.	3		“níveis de corticosterona”	“metabólitos fecais de cortisol”
67	6.	9		“talvez se o caso”	“talvez seja o caso”

MENDONÇA-FURTADO, O. **Uso de ferramentas como enriquecimento ambiental para macacos-prego (*Cebus apella*) cativos**. 2006. 77 p. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Manter animais em cativeiro implica no dever ético de lhes proporcionar saúde física e psicológica. Procedimentos conhecidos como Enriquecimento Ambiental buscam elevar o bem-estar de animais cativos. Neste trabalho, três artefatos foram testados para avaliar sua eficácia como enriquecimento ambiental para macacos-prego (*Cebus apella*). Dois destes artefatos (Brinquedo e Caixa de forrageamento) já haviam sido testados anteriormente por Boinski *et al.* (1999). O terceiro artefato (Ferramenta) foi testado pela primeira vez e buscava proporcionar aos animais a possibilidade de executar um comportamento típico da espécie: a quebra de cocos. Usamos medidas comportamentais e de corticosterona fecal para medir os efeitos dos artefatos. Foram encontradas algumas diferenças significativas entre as condições experimentais (controles e com artefatos), e entre a frequência de interação com os artefatos, porém os resultados não nos possibilitam afirmar se algum dos artefatos seria um enriquecimento ambiental eficaz para macacos-prego cativos. Acreditamos que experimentos ainda devem ser feitos para elucidar os efeitos de fatores como: o ambiente externo ao recinto, os procedimentos de manutenção direcionados aos animais e a metodologia de aplicação dos artefatos, sobre o bem-estar de animais cativos.

MENDONÇA-FURTADO, O. **Tool use as environmental enrichment for captives capuchin monkeys (*Cebus apella*)**. 2006. 77 p. Master Thesis (Mestrado em Psicologia Experimental) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Keeping animals in captivity implies in an ethical duty of offering conditions that foster their physical and psychological health. Procedures known as Environmental Enrichment seek to enhance animals' life quality. Here we tested three stimuli efficiency as environmental enrichment for captive capuchin monkeys (*Cebus apella*). Two which had been previously tested (Toy and Box) by Boinski *et al.* (1999). The third one (Tool) was tested for the first time and aimed giving the animals the opportunity to perform a species-typical behavior: cracking open nuts. The stimuli had their effects measured by behavioral and fecal corticosterone sampling. Some statistical significant differences were found between experimental conditions (control and stimuli) and between the frequencies of interaction with the stimuli. The data, however, did not point to any of the tested stimuli as effective environmental enrichment for capuchin monkeys. We believe, therefore, that more research should be conducted in order to clarify the effects of factors such as the environment outside the cages, the maintenance procedures, and the stimulus presentation procedures, on the well-being of captive animals.

1. INTRODUÇÃO:

Enriquecimento ambiental, bem-estar animal e estresse envolvem aspectos técnicos, fisiológicos e comportamentais. Novak & Suomi (1988) propõem uma definição de bem-estar psicológico que inclui determinação de saúde física, comparação com o repertório comportamental típico da espécie, detecção de aflição e avaliação de respostas adaptativas.

As limitações para acessar o bem-estar são largamente reconhecidas (Barnett & Hemsworth, 1990). Investigações científicas mostram que muitas vezes o senso comum sobre o que os animais querem ou precisam para se sentirem bem está errado¹ (Novak & Suomi, 1988). Além disso, não há um consenso na maneira de se estudar e entender o bem-estar animal. Os pesquisadores discordam quanto ao que se deve chamar de sofrimento; quanto, quando e onde ele é aceitável, e como podemos medi-lo. Assim, pesquisas sobre bem-estar ainda se fazem necessárias.

Os temas mais relevantes para compreensão de trabalhos de enriquecimento e bem-estar animal serão brevemente tratados a seguir.

Bem-estar: Alguns acreditam que deveria ser definido um ponto a partir do qual se considere que o bem-estar do animal está comprometido (Dawkins, 1990; Mendl, 1991). Segundo tais pesquisadores, esta medida só poderia ser obtida experimentalmente, por dosagens de níveis de cortisol livre no sangue, por exemplo. Ainda segundo estes autores, pesquisas baseadas em observações comportamentais não fornecem dados suficientemente precisos, uma vez que sequer há consenso nas definições dos padrões de comportamento relevantes. Porém, o que poderia ser considerado o “nível basal” de

¹ Por exemplo, é senso comum que recintos maiores levam a um bem estar maior, porém pesquisas científicas não corroboram com essa visão, sendo inconclusivas até recentemente (Novak & Suomi, 1988).

cortisol de uma espécie, só pode ser verificado a partir de um extensivo trabalho que inclui a obtenção de matrizes biológicas (sangue, fezes ou urina) de diversos exemplares da espécie, de vida livre, em situações estressantes (encontro com um predador, disputa por alimento, etc.) e não estressantes (momentos em que o animal não teve de apresentar reações de luta ou fuga).

Barnett & Hemsworth (1990) lembram que o critério usado para acessar o bem-estar é baseado em “mudanças”, independentemente da medida usada (níveis de cortisol ou análises comportamentais). E ainda, que “mudanças” *per se* não indicam mudanças no bem-estar do animal, uma vez que o comportamento e a fisiologia do indivíduo estão sempre mudando em busca de homeostase, e nem por isso o bem-estar do animal esta continuamente mudando. Newberry (1995) complementa dizendo que, para ela, enriquecimento ambiental é uma melhora nas funções biológicas de animais cativos, resultantes de modificações em seus recintos. Segundo esta autora, evidências de melhora em funções biológicas seriam: aumento no sucesso reprodutivo ao longo da vida, “fitness” inclusivo aumentado e melhora na saúde do indivíduo. Trabalhos como o de Schapiro *et al* (1993), polemizam ainda mais a discussão ao sugerirem que dados comportamentais e de níveis de cortisol não são necessariamente correlacionados, deste modo processos de adaptação comportamentais e fisiológicos ocorreriam separadamente.

Outros pesquisadores (Kiley-Worthington, 1994; Singer, 1994; Broom, 1988a; Broom, 1988b; Shepherdson, 1998) acreditam que tanto a abordagem fisiológica (baseada em medidas de cortisol) quanto a abordagem observacional (baseada em medidas comportamentais) são necessárias para que se convença um público mais

amplo (incluindo as autoridades responsáveis) de que muitos animais cativos têm seu bem-estar comprometido.

Para Broom (1988b), o bem-estar de um indivíduo é um estado contínuo, que varia de muito bom a muito ruim, e que pode ser acessado precisamente. Para este autor, ao se definir um nível a partir do qual o ambiente será considerado impróprio para o animal, estamos tomando uma decisão inaceitável moralmente, uma vez que o bem-estar é um contínuo, não podendo ser definido em níveis. Além disso, o “nível” de bem-estar que as pessoas acham moralmente aceitável varia muito.

Acredita-se que estudos de preferência podem fornecer informações sobre condições que resultam num bem-estar adequado, porém, deve-se levar em consideração a existência de preferências individuais, que podem distorcer os dados (Broom, 1988b).

Kiley-Worthington (1994) apóia as pesquisas observacionais, pois, segundo ela, os animais indicam através de seu comportamento quando suas condições de cativeiro estão inapropriadas, apresentando comportamentos anormais, patológicos, neuróticos e estereotipados provocados por uma resposta estressante constante do animal ao meio. Broom (1988b) complementa ao dizer que o método para se reconhecer que algo está errado com a condição em que o animal vive é a medida de algumas anormalidades de produção, ou fisiologia, ou saúde, ou comportamento, ou várias destas, sendo necessário definir retrospectivamente, quais aspectos do ambiente cuja falta desencadeou o problema.

Devido a todas as controvérsias e divergências quanto aos métodos de aplicação de enriquecimentos ambientais, quanto aos métodos usados para medição de sua eficácia, e quanto aos indicadores de bem-estar, acreditamos que muitas pesquisas

ainda devem ser feitas para que fique claro o papel de cada método (seja de enriquecimento ambiental, seja de medição deste, seja de identificação de bem-estar), e se revele sua forma mais eficaz de aplicação. De modo que, mesmo sem consenso sobre a importância e a relevância de pesquisas observacionais acreditamos, que esta deva ser feita, para que se possa conhecer melhor seus benefícios e limitações e excluir ou aceitar com fundamentação experimental esta abordagem.

Estereotipias: A definição de “estereotipia” também apresenta dificuldades entre os especialistas, uma vez que é difícil determinar a partir de quando se deve dizer que um dado comportamento se tornou uma estereotipia. Aqui, adotaremos a definição de Dantzer (1986) e Manson (1991): estereotipias são padrões de comportamento repetitivos e invariantes em forma, sem objetivo ou função óbvios, que parecem ser restritos a animais em cativeiro ou humanos com doenças mentais.

Freqüentemente, estereotipias são associadas a aspectos sub-ótimos do ambiente, sejam eles passados ou presentes; assim, tais padrões comportamentais tem sido usados como indicadores de bem-estar (Manson, 1991; Dantzer, 1986).

São comportamentos considerados “normais” que dão origem a estereotipias, e isso é, geralmente, identificável pela aparência física do estereótipo² (Manson, 1991). Estereotipias causadas por um certo aspecto do meio podem ter seu desenvolvimento potencializado por outro aspecto, em geral frustrações, estresse ou falta de controle. Deste modo, fatores que não o estímulo inicial podem desencadear, prolongar ou aumentar a taxa de repetição de um estereótipo estabelecido (Manson, 1991).

² O comportamento de “caminhada” (*pacing*), por exemplo, pode ser considerado uma estereotipia se realizado repetidamente, sempre com um mesmo trajeto. Neste trabalho chamamos tal comportamento de *Perambular*.

Diferentes indivíduos podem apresentar estereótipos com diferentes graus de variação. Além disso, os estereótipos compreendem muitas diferenças entre si, sendo eles heterogêneos em forma e rigidez, organização temporal e estímulo desencadeador (Manson, 1991).

Manson (1991) acredita que é essencial compreender a estereotipia para melhorar as práticas de cativeiro, abolindo as causas e não apenas os sintomas de disfunções do sistema nervoso central causadas por ambientes sub-ótimos.

Pesquisadores como Barnett & Hemsworth (1990) acreditam que o uso de estereotipias como indicadores de estresse não é tão confiável quanto o uso de medidas de performance reprodutiva. Segundo estes autores, a performance reprodutiva é uma medida prática de “fitness”, num conceito amplo. Se respostas fisiológicas são de magnitude suficiente para afetar o crescimento, a reprodução ou a saúde, o “fitness” fica reduzido. Ainda de acordo com estes autores, mudanças na frequência de estereotipias indicam a atuação de um mecanismo de adaptação, porém, existem poucas evidências de que estes comportamentos estejam associados a uma redução no “fitness”. Vale lembrar que o uso de medidas de performance reprodutiva não é usualmente possível em zoológicos, já que muitas vezes busca-se evitar a reprodução, devido ao excesso de exemplares e a falta de espaço.

O estresse e sua fisiologia: As disfunções do sistema nervoso central relacionadas ao estresse tiveram seu estudo iniciado em 1936 por Hans Selye (Sapolsky, 1990). Selye estudava o efeito de certo extrato químico em ratos e encontrou mudanças significativas nos ratos que recebiam injeções de tal extrato: úlcera péptica, atrofia de tecidos do sistema imune e aumento das glândulas adrenais. Porém o grupo controle, que só recebia injeções de solução salina, também apresentava tais mudanças.

Baseando-se nisso, Selye propôs que os ratos estariam apresentando uma resposta fisiológica para eventos desagradáveis, as inúmeras injeções às quais ambos os grupos estavam submetidos.

Abandonado o estudo com o extrato químico, Selye passou a testar sua hipótese de que eventos desagradáveis causavam reações fisiológicas e para tanto submeteu ratos a ambientes que ele chamou de estressantes - muito frios ou muito quentes - ou expondo-os a patógenos, toxinas ou barulhos muito altos. Estes ratos apresentaram as mesmas mudanças que o primeiro grupo de ratos estudados, e assim começou o estudo da fisiologia do estresse.

A resposta do corpo ao estresse ambiental (resposta estressora) permite que o organismo resista a ameaças imediatas à sua homeostase. Mesmo sendo prejudicial se ativado cronicamente, poucos indivíduos poderiam viver muito tempo se seus corpos fossem incapazes de exibir tal resposta.

Um estímulo real (estressor físico) - ou a mera expectativa (estressor psicológico) de que este estímulo venha a ocorrer - são capazes de desencadear uma resposta estressora.

A resposta estressora é basicamente uma reação de “luta ou fuga”; por isso, a glicose que se encontra armazenada no corpo é mobilizada e o sangue é desviado de órgãos que não são necessários para atividades físicas (como pele e intestinos) para órgãos que são cruciais (coração, músculos esqueléticos e cérebro). O redirecionamento do fluxo sanguíneo é conseguido pela constrição de certas veias e a dilatação de outras, bem como pelo aumento do débito cardíaco. A cognição é aguçada e a percepção de dor entorpecida. Atividades fisiológicas que não apresentam benefício imediato como crescimento, reprodução, inflamação e digestão, também são inibidas.

A ativação crônica da resposta estressora pode prejudicar a saúde de várias maneiras: se a glicose é constantemente mobilizada ao invés de ser armazenada, o tecido saudável atrofia e há fadiga; em algum tempo as mudanças cardiovasculares promovem hipertensão, que pode danificar o coração, as veias e os rins; a função do sistema imune é diminuída, bem como a fertilidade (Sapolsky, 1990; para maiores detalhes, ver Boere, 2002).

Designaram-se “enriquecimento ambiental” as práticas que visavam diminuir os estímulos causadores de respostas estressoras e possibilitar a execução de comportamentos típicos da espécie de formas não estereotipadas.

Enriquecimento ambiental: Práticas de enriquecimento ambiental consistem em criar oportunidades, na medida certa, de isolamento e privacidade, de exploração e controle do ambiente, de prática de comportamentos típicos da espécie e ainda, de convivência social, sendo que estas oportunidades devem ser criadas de acordo com a necessidade de cada espécie. Estas práticas para animais cativos se subdividem em cinco categorias (Hare, 2000): *social* - onde espécies sociais são mantidas com co-específicos e espécies solitárias tem interações infreqüentes. Pode-se também misturar espécies não-humanas ou proporcionar interações de humanos com os animais em forma de brincadeiras, alimentação, sessões de treinamento, etc; *do ambiente físico* - o tamanho e a forma do recinto podem ser adaptados às necessidades de cada espécie, apresentando água e substrato apropriado, além de estruturas para escalada, caixas para ninho, poleiros, e tocas. A temperatura, umidade e insolação também podem ser adaptadas; *cognitivo* - proporcionar situações de aprendizado como alimentadores-quebra-cabeça, interação com seres humanos em forma de treinamentos, e exploração do ambiente; *sensorial* - estimular os sentidos com brinquedos que apresentem textura

e cheiros; recintos que tenham música de fundo e visão de atividades externas; *alimentar* - fornecer itens alimentares novos, geralmente não incluídos na dieta. Esconder a comida ou apresentá-la de forma diferenciada.

O enriquecimento ambiental é uma prática que tem se mostrado efetiva na redução de comportamentos estereotipados. Tal prática visa modificar o ambiente de modo a resultar em uma melhora da qualidade de vida dos animais, buscando satisfazendo as necessidades comportamentais típicas (Boere, 2001; Shepherdson, 1998). Apesar da crescente preocupação com bem-estar animal, métodos de enriquecimento ambiental tem sido pouco utilizados em laboratórios, criadouros conservacionistas e zoológicos, seja devido a dificuldades de alteração de rotinas de tratamento dos animais a um manejo mais trabalhoso que algumas vezes o enriquecimento impõe, seja pela falta de crença dos responsáveis nestas técnicas.

O enriquecimento ambiental pode diminuir o estresse e melhorar o bem-estar, aumentar a aceitação pública da criação, por adequar o manejo a padrões éticos aceitáveis, estimular o repertório comportamental normal, diminuir a mortalidade, incrementar a taxa reprodutiva e maximizar a relação custo/benefício em uma criação (Boere, 2001; Shepherdson, 1998; Anderson & Visalberghi, 1993; Hayes, 1990; Paquette & Prescott, 1988; Brent & Stone, 1996; Baker, 1997; Evans *et al*, 1989; Boinski *et al*, 1999, entre outros).

Cumprе ressaltar que um desenvolvimento neurológico completo é favorecido por condições de enriquecimento, sendo potencialmente capaz de influenciar a complexidade comportamental e de gerar respostas adaptativas, fisiológica e comportamentalmente, a eventos estressantes. Desta maneira, animais vivendo em ambientes enriquecidos são mais aptos a resolver problemas, enfrentar manipulações

de rotina, check-up clínicos, pesagem, contenção, reagrupamento social e relocação de gaiolas (Boere, 2001).

Procedimentos de enriquecimento, entretanto, devem ser cuidadosamente estudados antes de aplicados, para evitar o risco de danos tanto à saúde física do animal (Hahn *et al*, 2000) quanto à segurança de funcionários e do público (no caso de animais em exposição). Além disso, medidas devem ser feitas para avaliar a validade do modelo proposto, possibilitando sua reestruturação se inócuo (ou nocivo) ou sua difusão se benéfico.

Vale lembrar que, para uma boa prática de enriquecimento ambiental, é essencial que se conheça o comportamento do animal tanto no cativeiro como em seu ambiente natural, para que seja possível identificar estereotipias ou comportamentos associados a possíveis disfunções.

O macaco-prego: Apesar da recente alteração na classificação do gênero *Cebus* (as sub-espécies como *Cebus apella apella*, *C.a. xanthosternos*, *C.a. nigrinus*, *C.a. libidinosus*, etc... foram promovidas ao nível de espécie), continuamos a usar o termo *Cebus apella* para classificar nossos sujeitos por serem animais cativos, muitas vezes frutos de hibridações, sendo impossível determinar a qual espécie pertencem.

Estes animais, popularmente conhecidos como macacos-prego, são uma espécie de macaco do Novo Mundo que tem como característica um tufo de pêlos eretos no alto da cabeça, semelhante a um topete. São robustos, de porte médio, com cauda relativamente curta e semi-preênsil (Napier & Napier, 1967).

Os macacos-prego são animais diurnos, que descem ao chão para beber e em certas regiões para saquear plantações, mas ficando a maior parte do tempo no topo de pequenas árvores e no nível mais baixo de árvores mais altas. (Napier & Napier, 1967).

Os macacos do gênero *Cebus* podem ser encontrados nas Américas do Sul e Central. No extremo norte atingem Honduras, na latitude 15° N. Espalham-se em direção ao sul, ocupando grande parte das áreas de floresta, chegando à latitude 30° S. Em regiões montanhosas ocorrem em altitudes de até 2150 metros.

As espécies de *Cebus* são normalmente consideradas frugívoras-insetívoras, porém é possível dizer que sua dieta é generalista. Estes macacos consomem polpas suculentas de várias classes de frutos como Musáceas e Bignoniáceas, bem como de várias espécies de palmeiras; os alimentos de origem animal vão de formigas, térmitas e vespas a rãs, lagartixas (Brown & Colillas, 1983), aves (Ferreira *et al*, 2002) e pequenos mamíferos (Resende *et al*, 2003).

Assumpção (1983), estudando grupos de macacos-prego em três localidades do Estado de São Paulo, observou grupos pequenos, de quatro a cinco indivíduos, em média, com um macho para quatro fêmeas, porém também foram observados grupos com dois machos convivendo pacificamente. Outros trabalhos (Santini, 1983) citam grupos maiores de, em média, trinta indivíduos em outras localidades. M. Mannu (comunicação pessoal) relata grupos com mais de cinquenta integrantes na Serra da Capivara, nordeste brasileiro.

Os dados de Assumpção (1983) levam a crer que *Cebus apella* não é uma espécie extremamente territorial, uma vez que foram registradas ocorrências de dois grupos utilizando o mesmo sítio de caça.

Hoje em dia muitos destes macacos são apreendidos de contrabandistas ou criadores ilegais, e por não poderem ser reintroduzidos na natureza, acabam vivendo em zoológicos e criadouros conservacionistas. Ao formarem-se grupos artificiais, em

ambientes artificiais e sem qualquer enriquecimento ambiental, vários problemas surgem, principalmente brigas entre os animais que muitas vezes terminam em mutilações. Este problema freqüentemente é resolvido separando-se um dos animais, impedindo o convívio social tão comum e necessário para qualquer espécie de primata. Esta solução termina por gerar novas dificuldades, como a falta de espaço para manutenção dos macacos.

Uma das possibilidades que avaliamos no presente estudo é a de que um bom enriquecimento ambiental para estes animais seja a quebra de cocos com o uso de ferramentas. Tal hipótese decorre de ser esta uma atividade típica da espécie (ao menos em certos ambientes).

Uso de ferramentas: Estudos sobre uso espontâneo de ferramentas em primatas não-humanos vinham enfocando quase exclusivamente macacos do Velho Mundo ou pongídeos. Trabalhos como os de Ottoni & Mannu (2001), Frigaszy *et al* (2004), Moura & Lee (2004) e Mannu & Ottoni (2005) mostram que macacos-prego também são capazes de utilizar ferramentas espontaneamente em condições de semi-liberdade e na natureza. Um dos comportamentos mais conhecido em que há o uso de ferramentas é o uso de pedras, uma servindo de martelo, e outra de bigorna, para quebrar frutos encapsulados.

Fragaszy *et al* (op cit) observaram a quebra de cocos na caatinga brasileira. A causa proximal deste comportamento parecer ser a terrestrialidade, uma vez que, independentemente da disponibilidade de alimento, apenas em ambientes em que estes animais tem a oportunidade - ou a necessidade - de descer ao solo, é observado o uso de ferramentas (Visalberghi *et al*, 2004). Na caatinga, quase não temos animais

do porte do macaco-prego, o que sugere que a capacidade de acessar alimentos encapsulados tenha sido um fator importante na ocupação deste ambiente. No Parque Ecológico do Tietê (condição de semi-liberdade), por outro lado, existem inúmeras árvores frutíferas, e os macacos-prego recebem alimento diariamente. Porém, mesmo tendo comida disponível e de fácil acesso, os macacos deste parque podem ser observados quebrando cocos com pedras. Supomos, então, que ou esta é uma atividade prazerosa, em que os animais ficam envolvidos por longos períodos de tempo, ou o coco representa um suplemento alimentar, ou ambos.

Celli *et al* (2003) proporcionou a seis chimpanzés cativos a oportunidade de usar “ferramentas”, um comportamento típico da espécie. A idéia era que os animais pudessem simular o comportamento de “pesca-de-formigas”. Para tanto foram fornecidos 20 tipos diferentes de materiais (de colheres de plástico e canudos a barbantes e correntes), e uma garrafa de polietileno transparente cheia de mel foi presa externamente à grade do recinto. A apresentação da tarefa fez com que a complexidade do ambiente fosse aumentada, proporcionando maior estimulação cognitiva, aumentou as oportunidades de contato social e o nível de atividade dos sujeitos. Tais alterações no ambiente são desejáveis, e caracterizam um enriquecimento ambiental efetivo.

2. OBJETIVOS:

A pesquisa aqui reportada teve como objetivo comparar a eficácia de três tipos de artefatos como enriquecimento ambiental para macacos-prego cativos, e verificar a influência da convivência social tanto no bem-estar destes animais como no efeito sob os artefatos aplicados.

Os três procedimentos de enriquecimento propostos se basearam em Boinski *et al* (1999) e Ottoni & Mannu (2001). A intenção ao juntar idéias destes dois trabalhos era testar tanto artefatos que proporcionariam a exibição de comportamentos “típicos da espécie”, quanto artefatos mais artificiais, que são normalmente usados como enriquecimento ambiental.

Boinski *et al* (op. cit.) usaram um “joelho” de PVC (Brinquedo) e uma caixa de acrílico com cereal infantil e alfafa picada (Caixa de forrageamento) para enriquecer o recinto de macacos-prego. Seu trabalho mostra que a quantidade de comportamentos estereotipados exibidos pelos sujeitos, quando ambos os artefatos estavam presentes nos recintos, era bem menor do que quando apenas um dos artefatos era disponibilizado, sendo que quando só a caixa de forrageamento era disponibilizada, esta redução era maior do que quando só se colocava o brinquedo no recinto.

Ottoni & Mannu (2001) descrevem o uso de ferramentas (pedras servindo como martelos e bigornas para quebra de frutos encapsulados) por macacos-prego em semi-liberdade, e Frigaszy *et al* (2004), Moura & Lee (2004) e Mannu & Ottoni (2005) relatam tal comportamento em sujeitos desta espécie em vida livre. A quebra destes frutos está presente em diversas populações selvagens de macacos-prego, o que mostra que este é um comportamento típico da espécie (ao menos em certos ambientes), e não um comportamento apresentado somente em laboratório. É também um comportamento mais “normal”, em oposição aos dois outros enriquecimentos testados neste trabalho (brinquedo de PVC e caixa de forrageamento), que são mais “artificiais”. Além disso, a quebra de cocos une a atividade motora, que é estimulada no enriquecimento com brinquedo, com a atividade de forrageamento, que é estimulada no enriquecimento com a caixa.

Por todos estes motivos, nossa hipótese foi a de que o uso de ferramentas seria dentre os artefatos testados, o que proporcionaria maior bem-estar aos sujeitos.

3. MATERIAL E MÉTODOS:

3.1. Sujeitos e local de estudo:

Foram sujeitos experimentais desta pesquisa 11 macacos-prego (*Cebus apella*) do Zoológico de Guarulhos (Grande São Paulo). Os dados de sexo, procedência dos animais e condições de alojamento encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Sexo, procedência e condições de alojamento dos sujeitos.

Sujeitos	Sexo	Procedência	Alojamento	Recinto	Metragem
Baby	Fêmea	Cativeiro	Trio	Exposição	20m ²
Bravão	Macho	Cativeiro	Sozinho	Extra	4m ²
Linguinha	Macho	Cativeiro	Sozinho	Extra	4m ²
Júnior	Macho	Cativeiro	Sozinho	Extra	4m ²
Metralha	Macho	Cativeiro	Sozinho	Extra	4m ²
Tony	Macho	Desconhecida	Par 1	Extra	4m ²
Doidinha	Fêmea	Desconhecida	Par 1	Extra	4m ²
PC	Macho	Circo	Par 2	Extra	4m ²
Filhote	Macho	Cativeiro	Par 2	Extra	4m ²
Zecão	Macho	Criadouro ilegal	Trio	Exposição	20m ²
Treme-Treme	Fêmea	Desconhecida	Trio	Exposição	20m ²

3.2. Desenho experimental:

3.2.1. Coleta de dados: A coleta de dados no Zoológico de Guarulhos se estendeu de 27 de setembro de 2004 a 18 de maio de 2005. Foram feitas visitas pela pesquisadora três vezes por semana (as segundas, quartas e sextas-feiras), sempre na parte da manhã (das 8 às 13 horas).

3.2.2. Medidas: As medidas de bem-estar adotadas nesta pesquisa foram: (1) análise de dados comportamentais coletados em sessões de observação dos animais durante as visitas e (2) mensuração dos níveis de corticosterona fecal obtidos a partir de fezes recolhidas após cada dia de observação.

Para coleta dos dados comportamentais foi desenvolvido um etograma baseado em Boinski *et al* (1999) e completado através de observações dos sujeitos, anteriores ao início do experimento (Tabela 2). O método usado para amostragem comportamental foi o de Animal Focal com registros instantâneos. As sessões tinham duração de 5 ou 10 minutos e os comportamentos foram amostrados em intervalos de 30 segundos. No total, foram realizadas 253 horas de observação. Os comportamentos amostrados foram anotados em um caderno de campo, separados por dia, por sessão e por sujeito. Após a coleta os dados foram tabulados de modo que se obtivesse a frequência total de cada comportamento apresentado por sujeito por sessão de observação (para exemplo de uma destas tabelas ver Anexo 1).

Durante a fase experimental foram realizadas sessões de observação dos sujeitos em duas condições distintas: ambiente sem introdução de artefato (Controles) e ambiente com introdução de artefato.

Tabela 2 – Etograma.

Repouso	acordado, porém, inativo
Locomoção	movimentos diretos, aparentemente não repetitivos, normalmente andar ou escalar.
Observação	observar um outro sujeito ou atividades externas ao recinto
Alimentação regular	morder, lamber, procurar ou ingerir alimento regularmente oferecido ou beber água
Alimentação-caixa	morder, lamber, procurar ou ingerir tenébrios ou serragem provenientes do artefato “caixa”
Alimentação-ferramenta	morder, lamber, procurar ou ingerir coquinhos de <i>Syagrus sp.</i> oferecidos no artefato “ferramenta”
Manipulação-objeto	segurar, bater, transportar ou qualquer outro contato com qualquer objeto regularmente encontrado no recinto, bem como troncos e grades
Manipulação-caixa	bater, cheirar, lamber ou qualquer outro comportamento de contato com a caixa de acrílico ou a serragem presentes no artefato “caixa”
Manipulação-ferramenta	comportamentos de contato direto com os coquinhos ou pedras fornecidas no artefato “ferramenta”
Manipulação-brinquedo	comportamentos de contato direto com o tubo de PVC fornecido no artefato “brinquedo”
Auto-catação ★	sujeito se catando manualmente.
Catação	fazer ou receber catação
Ameaçar/Atacar ★	mostrar os dentes, atirar objetos, perseguir, entre outros
Brincadeira social	perseguições e toques entre sujeitos com fim de divertimento
Manter contato	tocar ou abraçar outro sujeito
Cópula	cópula ou tentativa de cópula com outro sujeito
Fugir	correr ou se esconder de outro sujeito
Sacudir grade	sacudir a grade do recinto
Morder a si próprio ★●	sujeito se mordendo
Girar a cabeça●	sujeito gira a cabeça 90°. olhando para cima
Manipular Rabo ●	perseguir, enrolar sobre o corpo ou puxar o rabo entre as pernas
Coçar	sujeito se coça
Display sexual ★	sujeito apresenta ereção e por vezes mostra os dentes
Face Contra Grade	sujeito força o rosto contra a grade do recinto para observar o exterior
Masturbação ★	manipulação ou outra estimulação das regiões genital e anal.
Perambular ★	andar ou correr repetitivamente pelo mesmo circuito, sem objetivo claro.
Manipulação de fezes●	comer ou por fezes na boca
Urina	urinar na própria mão e espalhar a urina recolhida pelo corpo
Pêlos●	arrancar os próprios pêlos
Cambiamento	não visível
Outros	comportamentos não relacionados as categorias anteriores, tais como: defecar, urinar, vocalizar, espirrar

Os comportamentos marcados com a estrela (★) são os definidos por Boinski *et al.* (1999) como anormais ou estereotipados. Já os marcados com a bola (●) estão sendo sugeridos neste trabalho.

3.2.3. Condição Controle: Cada um dos sujeitos era submetido a duas sessões de observação por dia, sendo que todos os sujeitos deveriam ser observados pelo menos uma vez antes que fosse realizada a segunda sessão de observação de qualquer um deles. A ordem de realização destas sessões era mudada todos os dias segundo um sistema de rodízio (o sujeito que havia sido observado primeiro no dia anterior deveria ser o último no dia seguinte e assim sucessivamente sem que a sequência dos sujeitos se alterasse).

3.2.4. Condição com artefato: Para que tivéssemos amostras comportamentais de três momentos distintos da interação dos macacos com os artefatos, nas condições em que havia introdução do artefato, nos realizávamos não duas, mas três sessões de observação, por dia, por sujeito. O tempo total de observação era o mesmo (vinte minutos por sujeito), porém, a duração das sessões era diferente. A primeira sessão de observação durava cinco minutos e era feita antes que qualquer artefato fosse repostado. A intenção era justamente amostrar o comportamento dos animais após um longo período desde a última reposição, que havia sido feita na manhã anterior. Após a realização da primeira sessão com todos os sujeitos, era feita a segunda sessão, esta sim, logo após a reposição dos artefatos, e com duração de dez minutos. Quando terminada a segunda rodada de sessões, a pesquisadora logo iniciava a terceira e última, novamente com duração de cinco minutos por sessão. O intuito era ter dados comportamentais dos sujeitos algumas horas após a reposição dos artefatos. Além disso, havia uma sequência a ser seguida nas sessões de observação quanto ao sujeito a ser observado primeiro naquele dia. O animal que fora o último na visita anterior seria o primeiro naquela visita, e assim sucessivamente.

A reposição dos artefatos Caixa (colocação de uma mistura de larvas de tenébrios e serragem na caixa de acrílico) e Ferramenta (fornecimento de 10 coquinhos) era feita logo antes de se iniciar a observação em cada um dos recintos. Isso porque a interação com estes artefatos era muito rápida, e se repuséssemos os artefatos em todos os recintos antes de começarmos as sessões de observação, perderíamos dados importantes como a frequência de interação dos animais com os objetos ou os comportamentos dirigidos a esses. Nos recintos com mais de um animal, os artefatos fornecidos eram tantos quantos fossem os sujeitos, mas antes do início de uma sessão de observação de um sujeito em alojamento conjunto, apenas um artefato recebia reposição (no caso de dos artefatos tipo Caixa e Ferramenta).

3.2.5. Artefatos empregados: Foram usados três artefatos: BRINQUEDO (joelho de PVC – Figura 1a), CAIXA (caixa de acrílico com serragem e larvas de tenébrios presa à grade do recinto – Figura 1b) e FERRAMENTA (pedras que servem de martelo e bigorna, mais cocos de *Syagrus sp.* – Figura 1c). Cada recinto recebeu cada um destes artefatos em ordem aleatória.

3.2.6. Coleta de fezes: Para as análises de corticosterona fecal, foram coletadas fezes nas manhãs seguintes às visitas da pesquisadora. Porém, em recintos com mais de um animal, constatamos não ser possível identificar quais fezes eram de qual animal. Macacos-prego não defecam em horário ou local específico. Assim, só seria possível saber que animal havia produzido aquelas fezes se o observássemos defecando. Sendo tal observação esporádica, não pudemos contar com ela para uma coleta regular das fezes. Além disso, a marcação das fezes através de corante administrado via alimento também não era possível uma vez que a comida era fornecida em um cocho comum. Desta maneira, apenas as fezes de quatro sujeitos mantidos individualmente

foram analisadas quanto à dosagem de metabólitos fecais de corticosteróides. Apesar disso, foram coletadas amostras de fezes de todos os recintos e estas estão sendo mantidas sob refrigeração, caso se façam úteis. Mesmo com um menor número amostral, os dados obtidos através da análise de corticosterona fecal puderam ser estatisticamente analisados.

Figura 1: Artefatos testados nesta pesquisa: a) BRINQUEDO: tubo de PVC com angulação de 90° b) CAIXA: caixa de acrílico com placa de alumínio para fixação na grade do recinto e uma mistura de serragem e larvas de tenébrios c) FERRAMENTA: paralelepípedo para ser usado como um martelo pelos macacos e frutos secos de *Syagrus sp.*

3.2.7. Ferramenta pequena: Tendo sido constatada a ausência de quebra de cocos por sete dos 11 sujeitos, decidimos testar a hipótese de que isto se devesse ao tamanho e ao peso da pedra inicialmente fornecida como martelo (um paralelepípedo) e que o fornecimento de uma pedra menor (seixo) poderia estimular a interação dos sujeitos com o artefato Ferramenta. Além disso, durante o experimento com a pedra-paralelepípedo, tivemos a impressão de que o som produzido pela quebra de cocos chamava a atenção dos sujeitos que estavam próximos, podendo até ter facilitado a

ocorrência de quebra em dois recintos dos três onde ela ocorreu. Para averiguar esta possibilidade, fornecemos “martelos” de seixos também para os macacos que haviam realizado quebra com a pedra-paralelepípedo, resolvendo, assim, dois problemas: haveria sons de quebra que poderiam chamar a atenção dos sujeitos não-quebradores para os “martelos” e cocos, e seria mantida a padronização no fornecimento de artefatos para fins de comparação entre sujeitos.

O desenho experimental foi, então, modificado para suportar este teste. Após as três rodadas de intervenção fizemos seis sessões de observação-controle, após as quais introduzimos a condição FERRAMENTA PEQUENA (com o martelo de seixo ao invés do paralelepípedo) nos recintos onde não tinha havido quebra (4, 7, 9 e Exposição). O artefato permaneceu nestes recintos por duas semanas, durante as quais foram feitas 6 sessões de observação. Durante a primeira semana não colocamos este artefato nos recintos onde houvera quebra para isolar a variável “som de quebra”; porém, no início da segunda semana, os recintos 5, 6 e 8 também receberam o artefato Ferramenta Pequena, e com ele permaneceram também por duas semanas. Após o fim desta condição, foram feitas as 12 sessões de observação pós-intervenção inicialmente previstas. A tabela 3 resume o desenho experimental utilizado.

[illegible]

sessões de observação com o artefato FERRAMENTA PEQUENA em todos os recintos

3.3.1. Atrasos: No início da coleta de dados ocorreram duas brigas entre os sujeitos. As conseqüências destas foram ferimentos suturados, realocação de animais e os 12 dias iniciais de observação descartados da amostra. Para que se cumprisse o desenho experimental previsto, mais 12 dias de coleta de dados foram feitos.

Outras dificuldades surgiram quando se deu início às intervenções (inserção de artefatos nos recintos). Os artefatos Caixa e Ferramenta deveriam ser repostos todos os dias. Tal reposição consistia em colocar uma mistura de larvas de tenébrios e serragem na caixa de acrílico – condição Caixa - e fornecer 10 coquinhos para os sujeitos sob a condição Ferramenta.

21

a cair dentro desta. Para a realização da condição Ferramenta, uma pedra (paralelepípedo) foi deixada no recinto durante toda a duração daquela intervenção. Os 10 coquinhos eram colocados através da grade. Já na condição Brinquedo, um “joelho” de PVC foi mantido no recinto por toda a duração daquela intervenção, não sendo necessária reposição de qualquer tipo. Desta maneira só foi necessária à ajuda de um tratador no início e no fim de cada uma das fases de intervenção, para colocação e retirada dos objetos nos recintos, e nos dias em que a experimentadora não ia ao Zoológico, quando os tratadores eram instruídos a fazer as reposições ao introduzirem a alimentação regular dos animais.

3.3.2. Reposições erradas: Por três vezes as reposições foram feitas em dias em que havia visita, antes da chegada da pesquisadora. Decidimos que deveria ser realizada nova reposição quando o animal fosse ser observado. Tal procedimento foi adotado para que os dados comportamentais ficassem mais homogêneos; ou seja, para que se pudesse registrar a interação dos sujeitos com os artefatos repostos no início da sessão.

3.3.3. Despareamento temporal de amostragens: Eventos esporádicos como realocação para reforma de recinto ou anestesia para marcação de animais impediram, por vezes, a observação de alguns sujeitos. Estes eram, então, observados na próxima visita. A coleta de dados se baseou no número de dias de coleta que deveriam ser realizados segundo o desenho experimental, e não no número de dias em que houve visita. Deste modo todos os sujeitos foram submetidos ao mesmo número de sessões de observação em cada uma das fases do experimento, independentemente do despareamento quanto à fase do experimento em que se encontrava cada sujeito.

3.4. Extração e Radioimunoensaio (RIE):

3.4.1. Protocolo de extração: As extrações de corticosterona das fezes e as dosagens hormonais subseqüentes foram realizadas no Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em São Paulo (LDH / FMVZ / USP).

O procedimento de extração usado foi Brown *et al* (1994), e consistia em adicionar 5ml de etanol (MERCK®) a 90% (90% de etanol: 10% de água destilada) a uma alíquota de 0,2g de fezes liofilizadas em aparelho giratório tipo speed vac (SPEED VAC SC110), por 24 horas. Um aparelho vortex (PHOENIX, MOD AT 56) era usado por 30 segundos a fim de garantir a homogeneização da amostra, que era em seguida fervida em banho-maria (QUIMIS) por 25 minutos, à 80°C. O etanol que evaporava durante este processo era constantemente repostado para que as amostras não ficassem secas, de modo que o volume ao final desta etapa era igual ao volume inicial. As amostras eram então centrifugadas por 15 minutos a 500g (QUIMIS). O sobrenadante era recuperado e o “pellet” resultante era ressuspendido em 5ml de etanol (90%), homogeneizado em aparelho vortex e recentrifugado. Desta vez o “pellet” era descartado e o sobrenadante era novamente recuperado e combinado com o anterior. Os dois sobrenadantes recuperados eram mantidos em banho-maria (LÁCTEA) acoplado a um fluxo de ar comprimido (MSI 5,2 ML/100), até que estivessem completamente secos, quando eram então redissolvidos em 1ml de metanol (P.A. MERCK®). Os tubos eram então colocados em aparelho multivortex (VWR Scientific products – VX 2500) por 5 minutos, acondicionados em eppendorfs e mantidos refrigerados (-20°C) até realização do radioimunoensaio.

3.4.2. Quantificação hormonal: As dosagens de metabólitos hormonais foram feitas com a utilização de conjuntos de diagnósticos comerciais ICN – duplo anticorpo, com I125 como elemento traçador. Após o procedimento de extração as amostras foram diluídas conforme necessário em tampão gelatina pH 7,00 [NaPO₄ (13,8g), NaCl (9,0g), azida sódica (1,0g), gelatina (1,0g) e água destilada (1000ml)], em proporções que variaram entre 1/10 e 1/500 e em seguida foi realizada a quantificação hormonal por RIE, em um contador de radiação Gama (Packard Cobra Auto-Gamma®), verificando o número de contagens por minuto (cpm). Os resultados foram obtidos em ng/ml (nanograma por mililitro). Os valores finais de metabólitos de corticosterona foram corrigidos para o peso e a diluição usados, através da fórmula abaixo, passando a ser expressos em µg/g (micrograma por grama de fezes liofilizadas).

$$\frac{C \times V_{fe} \times D \times [1 + (1 - R)]}{P_i}$$

C = concentração determinada em unidades (ng/ml)

V_{fe} = Volume obtido ao final da extração (ml)

D = diluição

P_i = Peso inicial das fezes liofilizadas (mg)

R = índice absoluto de recuperação

Para o cálculo exato do índice absoluto de recuperação (R), seria necessária a realização de um ensaio com cortisol marcado por Trício, no entanto, não dispúnhamos de tal substância. O valor de R foi então considerado como igual a 1 (um). Acreditamos, porém, que tal procedimento não prejudicou nossas análises, já que por diversas vezes

foram feitas recuperações de extrações com hormônio triciado no LDH / FMVZ / USP e as variações obtidas não foram significativas (percentuais entre 89% e 92%) (Viau, 2005).

3.4.3. Validação do conjunto diagnóstico: como o conjunto diagnóstico utilizado é produzido para dosagem de corticosterona em roedores de laboratório, se fez necessária a validação de seu uso para uma matriz diferente (extrato fecal de macacos-prego). Tal validação se deu por paralelismo: foram retiradas pequenas alíquotas de um conjunto de amostras (extratos fecais) escolhidas aleatoriamente. Através de uma série de diluições deste conjunto obtivemos uma curva que pôde ser comparada com a curva padrão do conjunto diagnóstico por meio de uma análise de regressão simples. Deste modo foi possível verificar se a matriz utilizada interferiu na ligação antígeno-anticorpo.

3.5. Análises dos dados:

As análises realizadas neste trabalho foram: (1) frequência de comportamentos estereotipados (usando a classificação apresentada por Boinski, ver Tabela 2) ao longo das diferentes condições (controles e testes com artefatos) às quais os animais foram submetidos; frequência de comportamentos que podem ser indicativos de estresse (classificação baseada na disfuncionalidade, ao menos aparente, do comportamento: ver Tabela 2) ao longo das diferentes condições; (2) dose de corticosterona fecal apresentada por quatro dos sujeitos (ver detalhes em Procedimento – Coleta de Fezes) ao longo de todo o experimento; (3) comparação entre os dados comportamentais e os dados hormonais; (4) avaliação da capacidade dos artefatos apresentados de eliciar maior quantidade de interação pelos sujeitos.

As análises estatísticas foram feitas com auxílio do software Statística 5.0, considerando-se o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Foi usado o teste ANOVA de

Medidas Repetidas, sendo cada dia de coleta uma medida, e as variáveis independentes: sexo; tipo de alojamento; realização ou não de quebra de coco e momento em que o artefato foi introduzido (primeiro, segundo, ou terceiro turno de intervenção). Este teste permite que cada sujeito seja seu próprio controle. Além disso, análises de correlação (Pearson) foram aplicadas para buscar as relações entre os dados comportamentais e de corticosterona.

4. RESULTADOS

4.1. Validação dos conjuntos diagnósticos

As curvas de diluição de metabólitos de corticosterona e do conjunto comercial apresentaram paralelismo, sendo $R^2=0,999$ (Figura 2). Tal resultado consiste numa validação experimental do método. No Anexo 2 estão apresentados resultados do que consideramos ser uma validação fisiológica.

Figura 2: Demonstração gráfica da validação do conjunto diagnóstico ICN para quantificação de metabólitos de corticosterona em extratos fecais de macacos-prego (*Cebus apella*). As linhas tracejadas mostram o intervalo de confiança de 95%.

4.2. Controle de qualidade dos radioimunoensaio

A média dos coeficientes de variação intra-ensaio foi 5,06%, sendo que os valores foram iguais ou menores que 11,71%. Os coeficientes de variação intra-ensaio altos tiveram média de 4,42%, sendo o maior valor obtido 7,63%. O coeficiente de variação inter-ensaio ficou abaixo de 2,91%. A sensibilidade média dos ensaios foi de 90,83% e a dose mínima detectada foi 1,69 ng/ml.

4.3. Quantidade de interações com os artefatos

Realizamos uma análise que buscou diferenciar os artefatos fornecidos como potenciais enriquecimentos ambientais quanto à quantidade de interações dos sujeitos com estes artefatos. Para tanto, selecionamos todas as sessões de observação, de todos os sujeitos, em que um dos artefatos estava presente no recinto (o artefato Ferramenta Pequena não foi incluído nesta análise), as dividimos em três grupos de acordo com o artefato fornecido (Brinquedo, Caixa ou Ferramenta), e excluimos as demais sessões; cada um destes grupos se subdividia nos seis dias em que houve observações, sendo cada um destes dias uma medida repetida; definimos como interações todos os comportamentos diretamente relacionados aos artefatos (ver Tabela 2), e excluimos todos os demais de nossa análise; somamos estes comportamentos de modo a obter uma matriz (Anexo 1) que apresentasse a frequência total de comportamentos de interação com os artefatos, por dia por sujeito.

Após realização do teste estatístico verificamos que a frequência de interações com o artefato Ferramenta é significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que as com o artefato Brinquedo. Já as quantidades de interações com o artefato Caixa apresentaram valores intermediários, não se diferenciando significativamente dos outros dois artefatos (Figura 3).

Os testes também mostraram que há variações significativas na frequência de interações com os artefatos entre os dias de amostragem, porém, como podemos perceber pelo gráfico da Figura 3, tal efeito não parece estar ligado a uma diminuição gradual das interações dos sujeitos com os artefatos ao longo dos dias do experimento (por habituação), ao menos para os artefatos Ferramenta e Caixa.

Figura 3: Soma das frequências de interações apresentadas por todos os sujeitos na sequência dos dias em que os artefatos estavam presentes (C= caixa; F= ferramenta; B= brinquedo).

A frequência de interações com os artefatos não variou significativamente (ANOVA Medidas Repetidas, $p > 0,05$) em função de sexo ou do tipo de alojamento (sozinho ou junto com outro(s) sujeito(s)). Ao examinar os gráficos com as médias das frequências de interação de machos e fêmeas com os artefatos (Figura 4), ou de animais mantidos juntos ou sozinhos (Figura 5) é de se estranhar o resultado do teste estatístico, porém deve-se ter em mente a grande variabilidade existente entre os indivíduos, que aumenta o desvio padrão da amostra, explicando os resultados obtidos.

Figura 4: Frequência média de interações com os artefatos, dividida em grupos de machos e fêmeas. As letras C, F e B representam os três artefatos introduzidos (Caixa, Ferramenta e Brinquedo).

Figura 5: Frequência média de interações com os artefatos, dividida em grupos de sujeitos alojados juntos ou sozinhos. As letras C, F e B representam os três artefatos introduzidos (Caixa, Ferramenta e Brinquedo).

A frequência de interações dos sujeitos com os artefatos está relacionada à realização (ou não) de quebra de cocos (Figura 6). Os macacos que realizaram quebra de cocos interagiram significativamente mais (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) com o artefato Ferramenta do que com qualquer outro artefato. Além disso, a frequência de interações destes sujeitos com o artefato Ferramenta foi significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) do que a frequência de interação de qualquer outro sujeito com qualquer outro artefato. Quanto aos outros artefatos, não há diferença significativa (ANOVA Medidas Repetidas, $p > 0,05$) entre a frequência de interações dos sujeitos que quebraram cocos e a dos que não o fizeram. Os sujeitos que não quebraram cocos não apresentam diferenças significativas (ANOVA Medidas Repetidas, $p > 0,05$) entre os artefatos quanto às frequências de interação.

Figura 6: Frequência média de interações com os artefatos, dividida em grupos de sujeitos que quebraram ou não os cocos de *Syagrus sp.* fornecidos juntamente na condição Ferramenta. As letras C, F e B representam os três artefatos introduzidos (Caixa, Ferramenta e Brinquedo).

4.4. Frequência de comportamentos estereotipados (classificação de Boinski et al, 1999)

Uma série de análises foram feitas a fim de verificar se a frequência de comportamentos estereotipados, seguindo a classificação de Boinski *et al.* (ver Tabela 2), variava de acordo com a condição experimental a qual o sujeito estava submetido, seu sexo, sua condição de alojamento (sozinho ou com outro(s) sujeito(s)) ou sua capacidade de quebrar cocos com auxílio de ferramentas. As somas de tais comportamentos foram organizadas de acordo com a ordem de ocorrência de cada uma das nove condições experimentais (Primeiro Controle, Primeiro Artefato, Segundo Controle, Segundo Artefato, Terceiro Controle, Terceiro Artefato, Quarto Controle, Ferramenta Pequena, Quinto Controle) – *análise temporal*, e de acordo com o artefato que estava presente no recinto, independentemente da ordem em que os artefatos foram apresentados para cada sujeito (Primeiro Controle, Caixa, Segundo Controle, Ferramenta, Terceiro Controle, Brinquedo, Quarto Controle, Ferramenta Pequena, Quinto Controle) – *análise por artefato*. Os valores obtidos foram transformados em frequências relativas, através da divisão pelo número de sessões realizadas em cada uma destas condições, e mantiveram-se separados por sujeito (de modo que cada animal foi seu próprio controle). Foram então realizadas análises individuais e coletivas - em que eram considerados os dados de todos os sujeitos da amostra. Na Figura 7 mostramos os resultados da análise coletiva-temporal.

Não detectamos diferenças significativas (ANOVA Medidas Repetidas, $p > 0,05$) entre as frequências obtidas em cada uma das condições, estivessem elas agrupadas temporalmente ou de acordo com o artefato. O sexo, o tipo de alojamento ou a

realização ou não de quebra de cocos também não influenciaram significativamente a frequência com que estes animais apresentaram comportamentos estereotipados.

Figura 7: Frequências médias de comportamentos estereotipados (segundo classificação de Boinski) de todos os sujeitos, ao longo do experimento. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, A1= Primeiro Artefato, C2= Segundo Controle, A2= Segundo Artefato, C3= Terceiro Controle, A3= Terceiro Artefato, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle).

Análises individuais foram feitas para verificar se algum dos sujeitos apresentava diferenças significativas entre as frequências de comportamentos estereotipados nas diferentes condições. Nestas análises o agrupamento dos dados se deu de acordo com a sequência em que o sujeito recebeu os artefatos.

A análise estatística detectou diferenças significativas, em apenas um sujeito (Lingüinha). As frequências de comportamentos estereotipados exibidos durante a presença do primeiro artefato (Caixa) e ao longo do segundo controle, foram significativamente maiores (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que os valores

apresentados nas condições: terceiro controle, brinquedo, ferramenta pequena e quinto controle. Os resultados desta análise encontram-se na Figura 8.

Figura 8: Frequências médias de comportamentos estereotipados (segundo classificação de Boinski) para o sujeito 3 (Linguinha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Os valores de C e C2 são significativamente (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) maiores que os valores de C3, B, FP e C5.

4.5. Frequência de comportamentos potencialmente indicativos de estresse

Propusemos que a classificação dos *comportamentos que são potencialmente indicativos de estresse* (CPIE) se basearia na disfuncionalidade, ao menos aparente, do comportamento (ver Tabela 2).

A análise temporal dos dados nos mostra que não existem diferenças entre todas as condições realizadas, mas existe diferença entre a frequência com que machos e fêmeas apresentam estes comportamentos (Figura 9). As fêmeas, durante a condição

Primeiro Artefato, apresentaram frequências significativamente maiores de CPIEs (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) do que os machos em qualquer outra condição. As análises realizadas com os dados agrupados de acordo com o artefato presente no recinto corroboram os resultados apresentados acima. Isso porque, apesar da ordem com que os artefatos foram apresentados a cada um dos sujeitos ter sido definida por sorteio, as três fêmeas da amostra receberam como primeiro artefato o mesmo artefato: Brinquedo. Podemos, então, dizer que a frequência dos comportamentos aqui analisados foi significativamente maior entre as fêmeas do que entre os machos, durante a presença do artefato Brinquedo. Tal valor também foi significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) do que os valores encontrados no Primeiro Controle, no Segundo Enriquecimento, no Terceiro Controle e na condição Ferramenta Pequena do grupo de fêmeas.

Frequência de Comportamentos Potencialmente Indicativos de Estresse
Análise Temporal e por Sexo

Figura 9: Frequências médias de comportamentos potencialmente indicativos de estresse, ao longo do experimento e separadas de acordo com o sexo dos sujeitos. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Os valores de E1 para as fêmeas foram significativamente maiores (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que todos os valores dos machos. Além disso, entre as fêmeas os valores de E1 são significativamente maiores (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que os de C1, E2, C3, E3 e FP.

Além das análises coletivas, realizamos análises individuais das frequências de CPIEs. Três dos sujeitos apresentaram alguma diferença significativa (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) entre as condições. O sujeito Zecão apresentou maior frequência de CPIEs na condição Caixa (Figura 10). A sujeita Treme-Treme apresentou maior frequência de CPIEs no Quarto Controle (Figura 11). A sujeita Doidinha apresentou maior frequência de CPIEs na condição Brinquedo (Figura 12). Note que os valores apresentados pelos três animais são de grandezas diferentes, e que provavelmente o resultado obtido na análise coletiva se deve ao fato da sujeita Doidinha apresentar valores muito altos de um dos comportamentos considerados nesta análise (ver item 5.5.7.).

Frequência de Comportamentos Potencialmente Indicativos de Estresse
Zecão

Figura 10: Frequências médias de comportamentos potencialmente indicativos de estresse para o sujeito 10 (Zecão). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, B= Brinquedo, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, C= Caixa, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). O valor de C foi significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p<0,05$) que os valores de B, C3, C4 e C5.

Frequência de Comportamentos Potencialmente Indicativos de Estresse
Treme-Treme

Figura 11: Frequências médias de comportamentos potencialmente indicativos de estresse para a sujeita 11 (Treme-Treme). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, B= Brinquedo, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, C= Caixa, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). O valor de C4 foi significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p<0,05$) que o valor de C1.

Frequência de Comportamentos Potencialmente Indicativos de Estresse
Doidinha

Figura 12: Frequências médias de comportamentos potencialmente indicativos de estresse para a sujeita 7 (Doidinha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, B= Brinquedo, C2= Segundo Controle, C= Caixa, C3= Terceiro Controle, F= Ferramenta, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). O valor de B foi significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que os valores de C1, C, F, C4, FP e C5. O valor de C2 foi significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que os valores de F e C4.

Tentando entender os efeitos individuais, desmembramos as classificações de comportamentos utilizadas anteriormente, e fizemos análises de um só comportamento por vez, tanto coletivas quanto individuais. Relataremos aqui apenas os resultados estatisticamente (teste ANOVA Medidas Repetidas) significativos.

4.5.1. Face Contra Grade: A análise coletiva da frequência com que os sujeitos realizaram o comportamento *Face Contra Grade* (forçando a face contra a grade do recinto para realizar a observação de evento externo) mostrou que tal comportamento foi realizado com maior frequência no Primeiro Controle quando em comparação com o Quarto Controle e a condição Ferramenta Pequena (Figura 13).

As análises individuais mostraram dois sujeitos com diferenças significativas (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) entre as frequências de *Face Contra Grade*. O sujeito Júnior apresentou valores maiores no Primeiro Controle (Figura 14). O sujeito Lingüinha apresentou valores maiores no Primeiro e no segundo controle, bem como na condição Ferramenta (Figura 15).

Figura 13: Frequências médias do comportamento *Face Contra Grade* de todos os sujeitos ao longo do tempo. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, A1= Primeiro Artefato, C2= Segundo Controle, A2= Segundo Artefato, C3= Terceiro Controle, A3= Terceiro Artefato, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C1 significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que C4 e FP.

Figura 14: Frequências médias do comportamento *Face Contra Grade* do sujeito 4 (Júnior). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, F= Ferramenta, C2= Segundo Controle, C= Caixa, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C1 significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que B, C4, FP e C5.

Figura 15: Frequências médias do comportamento *Face Contra Grade* do sujeito 3 (Linguinha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valores de C1, C2 e F significativamente maiores (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que C3 e FP.

4.5.2. Perambular: A análise coletiva do comportamento *Perambular* (andar pelo mesmo circuito sem objetivo claro) não mostrou diferenças significativas entre as condições. Nas análises individuais o sujeito *Linguinha* apresentou frequência significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) do comportamento *Perambular* na condição Caixa e no Segundo Controle, em relação às cinco condições finais (Figura 16).

Figura 16: Frequências médias do comportamento *Perambular* do sujeito 3 (*Linguinha*). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valores de C, C2 significativamente maiores (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que C3, B, C4, FP e C5.

4.5.3. Morder a Si Próprio: A análise coletiva dos dados agrupados de acordo com o artefato presente no recinto indicou a existência de uma diferença bem clara na frequência do comportamento *Morder a Si Próprio*, entre a condição Caixa (maior frequência) e todas as demais (Figura 17).

Frequência de *Morder a Si Próprio*
Análise Coletiva por Artefato

Figura 17: Frequências médias coletiva do comportamento *Morder a Si Próprio* de acordo com o artefato presente no recinto. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que C1, C2, C3, C4, C5, F, B e FP.

4.5.4. Coçar: Verificamos diferenças significativas (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) quanto ao comportamento *Coçar* apenas para um sujeito. O sujeito Lingüinha apresentou maior frequência deste comportamento no Quarto Controle quando em comparação com a condição Ferramenta Pequena (Figura 18).

Figura 18: Frequências médias do comportamento *Coçar* para o sujeito 3 (Linguinha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C4 significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que FP.

4.5.5. “*Display*” Sexual: Verificamos uma diferença significativa (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) na frequência do comportamento “*Display*” Sexual (ereção) ao realizarmos a análise coletiva com as condições agrupadas temporalmente. O Primeiro Controle apresentou valor maior que as demais condições (Figura 19).

Figura 19: Frequências médias coletivas do comportamento *Display Sexual* ao longo do tempo. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, A1= Primeiro Artefato, C2= Segundo Controle, A2= Segundo Artefato, C3= Terceiro Controle, A3= Terceiro Artefato, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C1 significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que todos os demais.

4.5.6. Auto-Catação: O sujeito Lingüinha foi o único a apresentar diferenças significativas (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) quanto à frequência do comportamento de *Auto-Catação* (realizar catação em si próprio) nas diferentes condições experimentais (Figura 20).

Figura 20: Frequências médias do comportamento de *Auto-Catação* para o sujeito 3 (Linguinha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, C= Caixa, C2= Segundo Controle, F= Ferramenta, C3= Terceiro Controle, B= Brinquedo, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C4 significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que C2, C3 e C5.

4.5.7. Manipular Rabo: Apenas a sujeita Doidinha apresentou diferenças significativas (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) quanto à frequência do comportamento *Manipular Rabo* (perseguir o rabo, enrolá-lo sobre o corpo ou puxá-lo entre as pernas) (Figura 21).

Figura 21: Frequências médias do comportamento *Manipular Rabo* para a sujeita 7 (Doidinha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, B= Brinquedo, C2= Segundo Controle, C= Caixa, C3= Terceiro Controle, F= Ferramenta, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de B significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que valores de C, C3, F, C4 e FP.

4.6. Níveis de corticosterona

A dosagem dos níveis de corticosterona fecal de quatro dos sujeitos (Bravão, Linguinha, Júnior e Metralha) ao longo do experimento nos possibilitou a realização de testes estatísticos entre os tratamentos. Em uma análise coletiva considerando todos os quatro sujeitos, não foi verificada diferença significativa (ANOVA Medidas Repetidas, $p > 0,05$) entre a quantidade de corticosterona nas diferentes condições. Decidimos, então, excluir um dos sujeitos da amostra, uma vez que os valores de corticosterona apresentados por este eram exorbitantemente maiores que os valores apresentados pelos demais animais (Figura 22). Após tal exclusão, a análise estatística mostrou

diferenças significativas entre o Segundo Controle (valores maiores) e as demais condições (Figura 23).

Figura 22: Perfil de corticosterona fecal por sujeito ao longo do experimento. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, A1= Primeiro Artefato, C2= Segundo Controle, A2= Segundo Artefato, C3= Terceiro Controle, A3= Terceiro Artefato, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Note como os valores do sujeito Júnior são muito maiores que os demais.

Figura 23: Perfil de corticosterona fecal de todos os sujeitos, exceto Júnior ao longo do experimento. As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, A1= Primeiro Artefato, C2= Segundo Controle, A2= Segundo Artefato, C3= Terceiro Controle, A3= Terceiro Artefato, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Valor de C2 significativamente maior (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) que todos os demais.

Quando excluímos os valores do sujeito Júnior de nossa análise, verificamos que os níveis de corticosterona dos demais sujeitos são maiores durante o Segundo Controle. Apesar da surpresa inicial que este resultado nos causou (uma condição controle no meio do experimento com valores altos de corticosterona não era esperada), ele pareceu ficar bastante compreensível quando verificamos que, neste mesmo período, dois de nossos sujeitos (que se encontravam num recinto próximo dos demais) foram contidos. O remanejamento destes dois animais se deu para que o recinto em que eles se encontravam fosse reformado (o chão estava lascado em alguns lugares). Os animais foram mantidos por algumas horas numa caixa de contenção e retornaram ao recinto no mesmo dia. O processo de captura envolveu vocalizações dos

animais e dos tratadores. Imaginamos que estas vocalizações possam estressar os animais que estão nos arredores, tendo sido, aparentemente, o contexto social o grande responsável pelo aumento observado nos níveis de corticosterona. Schapiro *et al* (1995) em seu trabalho com macacos rhesus, corrobora com esta idéia. Para limpeza das gaiolas os animais eram mantidos em caixas de contenção, e eram coagidos a entrar nas caixas com um puçá. Estes pesquisadores observaram que ver ou ouvir a aproximação de puçás e caixas de contenção ou os chamados de alerta de outros macacos levavam a um aumento na frequência do comportamento *Perambular* em sujeitos alojados sozinhos.

4.7. Relação comportamentos X corticosterona

Foram feitas análises de correlação entre os dados comportamentais e os valores médios de corticosterona em busca de embasamento para o uso de dados comportamentais em experimentos de enriquecimento ambiental. Buscamos correlacionar os níveis de corticosterona fecal com os comportamentos: *Face Contra Grade*, *Coçar*, *Perambular*, *Auto-Catação*, *Girar a Cabeça* e *Masturbação*, bem como com o agrupamento de comportamentos sugerido por Boinski, o agrupamento sugerido em nosso trabalho (CPIE) e com a quantidade de interação direcionadas a cada um dos artefatos introduzidos. Apenas uma destas análises apresentou resultados significativos: o sujeito Metralha teve os valores de corticosterona fecal e a frequência do comportamento *Perambular*, negativamente correlacionados (Pearson, $r = -0,81$) (Figura 24).

Figura 24: Correlação entre o perfil de corticosterona fecal ($\mu\text{g/g}$) e as frequências médias do comportamento *Perambular* para o sujeito 5 (Metralha). As letras representam as condições experimentais (C1= Primeiro Controle, A1= Primeiro Artefato, C2= Segundo Controle, A2= Segundo Artefato, C3= Terceiro Controle, A3= Terceiro Artefato, C4= Quarto Controle, FP= Ferramenta Pequena, C5= Quinto Controle). Note-se que a correlação é negativa.

4.8. Ferramenta pequena

Os sujeitos que já haviam quebrado cocos com paralelepípedos também usaram o seixo para este fim, porém a quebra parecia agora mais difícil, tomando mais tempo dos sujeitos, uma vez que não era mais possível contar com o peso da pedra para quebrar os cocos, sendo realmente necessário acertá-los apropriadamente e com força para quebrá-los. Já os sujeitos que não haviam quebrado cocos na ocasião em que introduzimos o paralelepípedo também não o fizeram quando fornecemos os seixos.

Esta total ausência de quebra de cocos por sete dos sujeitos nos possibilitou a realização de um experimento adicional sobre a reação de macacos-prego a imagens

de televisão e suas capacidades de “aprendizagem observacional” através de tais imagens. Tal experimento está pormenorizado no Anexo 3.

5. DISCUSSÃO

5.1. Quantidade de interações com os artefatos

Apesar de o artefato Ferramenta ter se distinguido, quanto à frequência de interações dos sujeitos, do artefato Brinquedo, devemos analisar os resultados como um todo. Seria um erro, por exemplo, definir o artefato Ferramenta como o maior eliciador de interações (dentre os três artefatos empregados) para todos os sujeitos da amostra estudada. Os testes estatísticos mostraram que há diferença significativa (ANOVA Medidas Repetidas, $p < 0,05$) quanto à interação com o artefato Ferramenta entre os grupos de sujeito que quebram ou não cocos (Figura 6).

A interação dos quatro sujeitos que realizaram quebra de cocos com o artefato Ferramenta foi significativamente maior do que a apresentada por sujeitos que não o fizeram. Além disso, a interação com este artefato foi maior do que a interação com os outros. Se considerarmos apenas esta análise, podemos dizer que o artefato Ferramenta é o mais indicado, dentre os três artefatos testados, para ser utilizado como enriquecimento ambiental para macacos-prego que quebram cocos, uma vez que estes indivíduos se mostraram efetivamente entretidos pelos objetos e pela atividade de quebra de cocos. Devemos, no entanto, lembrar que as análises dos dados comportamentais ou do hormônio corticosterona não apontam para qualquer um dos artefatos como capaz de reduzir comportamentos indesejados ou níveis hormonais elevados.

Para aqueles sujeitos que não quebraram cocos, o artefato Ferramenta não se mostrou especialmente atrativo, nem os outros dois artefatos testados. Estes resultados nos levam a acreditar que nenhum dos destes apresentados se mostrou especialmente interessante. Porém, pelo fato do artefato Ferramenta ter sido capaz de eliciar uma grande quantidade de interações em um subgrupo de nossa amostra, propomos um modo de testar mais a fundo os efeitos deste como enriquecimento ambiental. Os macacos “não-quebradores” seriam induzidos a uma aprendizagem socialmente viesada, através de exposição a macacos-prego proficientes na quebra de coco³. Se estes sujeitos se mostrassem capazes de aprender a quebrar cocos, poderíamos verificar se mesmo assim, após uma aprendizagem tardia e induzida, estes animais demonstram interesse por esta atividade e se a interação com o artefato Ferramenta produziria, nestes indivíduos, efeitos positivos como redução da taxa de comportamentos indesejados ou dos níveis de corticosteróides. Se os animais não demonstrarem interesse por este artefato, ou não se mostrarem capazes de aprender a usar ferramentas para quebrar cocos, novos artefatos precisariam ser propostos e testados a fim de se encontrar formas mais efetivas de enriquecimento adequadas para estes sujeitos.

Segundo T. Falótico (comunicação pessoal), entre os macacos-prego semi-livres do Parque Ecológico do Tietê há maior atividade de quebra de cocos por parte dos machos. Esta diferença entre sexos não foi encontrada entre os sujeitos do Zoológico de Guarulhos (Figura 4). Tal resultado pode ser devido ao nosso numero amostral

³ B. Resende (em preparação) observou que um macaco-prego que já chegou adulto no Parque Estadual do Tietê aprendeu a quebrar cocos observando, de longe, este comportamento em seus co-específicos. Tal relato nos leva a crer que não há uma idade crítica para aquisição deste comportamento.

reduzido, associado ao fato de nossos sujeitos terem procedências diversas, podendo vir ou não de grupos onde havia quebra de cocos.

5.2. Frequência de comportamentos estereotipados (classificação de Boinski *et al*, 1999)

Replicamos as análises realizadas por Boinski *et al* (1999), porém não encontramos resultados semelhantes aos obtidos por aqueles pesquisadores. Nossos sujeitos não apresentaram diferenças significativas entre nenhuma das condições experimentais, ou seja, a inserção dos artefatos no recinto não alterou a frequência com que nossos animais realizavam os comportamentos considerados, “estereotipados” por Boinski (op cit).

As diferenças entre nossos resultados e os de Boinski podem se dever a diversos fatores. Uma possibilidade é a de que nossos sujeitos não estivessem tão estressados. Aquela pesquisadora relata que seus sujeitos encontravam-se em gaiolas de 76x71x91cm, com laterais de metal sólido, sem contato visual entre si, com a frente da gaiola voltada para uma parede branca. A comida fornecida era simples: ração Purina® e dois pedaços de fruta por dia. Além disso, aqueles macacos haviam sido sujeitos de um estudo metabólico de eliminação de ferro pelo fígado dez meses antes do experimento. Apesar das condições precárias em que a maioria dos nossos macacos estava alojada, talvez as condições de alojamento de Boinski fossem ainda piores em termos de estimulação ambiental.

Os recintos de nossos sujeitos eram maiores (ver Tabela 1), apresentando ao menos três estratos: inferior (chão), médio (troncos) e superior (caixa de refúgio e grade superior). Apenas quatro de nossos animais estavam alojados sozinhos e sem contato visual com os demais; os outros sete sujeitos estavam alojados aos pares ou em um

trio. Todos os sujeitos tinham a frente de seu recinto voltada para alguma área aberta do Zoológico, onde era possível observar atividades de tratadores, do público, de animais não-cativos (em geral aves), assim como fenômenos naturais (vento, chuva, sol). A alimentação de nossos sujeitos não se baseava em ração, consistindo em uma variedade grande de frutas, legumes, raízes e produtos de origem animal (ovos e carne crua). Apesar de não possuímos um histórico de cada animal, sabemos que todos estavam no Zoológico a pelo menos dois anos e seis meses, seis nasceram lá, e cinco vieram de cativeiros não autorizados pelo IBAMA.

Acreditamos que diferenças nas condições de manutenção destes animais, como a possibilidade de visualizar parte das atividades do Zoológico, possam resultar em grande diferença em seu bem-estar, e tais diferenças podem ser o motivo para resultados diferentes em nossa pesquisa. Seguindo esta linha de raciocínio, supomos que a intensidade com que apresentávamos os artefatos possa ter sido insuficiente para nossos sujeitos. Por *intensidade de apresentação do artefato* entendemos a duração das condições experimentais, ou seja, o tempo que cada um dos artefatos ficou disponível para os sujeitos; o tempo que os artefatos Caixa e Ferramenta propiciavam de entretenimento para os sujeitos antes de se esgotarem (acabarem-se as larvas de tenébrios e os coquinhos, respectivamente) e a frequência com que fazíamos a reposição dos itens alimentares associados a estes artefatos. Embora uma exposição mais prolongada a um artefato implique em uma maior habituação a este, o interesse de nossos sujeitos pelos artefatos se manteve ao longo da disponibilização dos mesmos.

Estando os sujeitos de Boinski supostamente num ambiente mais empobrecido, a intensidade de apresentação dos artefatos teria sido suficiente para que fossem

notadas reduções significativas na quantidade de comportamentos anormais apresentados e nos níveis de cortisol daqueles animais (tal intensidade foi a mesma que usamos em nossa pesquisa). Outra medida que corrobora com a visão de que os sujeitos de Boinski estariam com o bem-estar mais comprometido do que os nossos é o fato de apresentarem comportamentos anormais em 54% das observações feitas nas Condições Controle, enquanto nossos sujeitos apresentam apenas 4,9% nestas mesmas condições. Devemos reiterar que apesar de apresentarem frequência menor de comportamentos anormais, provavelmente por estarem em condições de alojamento com mais estímulos ambientais que os sujeitos de Boinski, não acreditamos que nossos animais precisem menos de estímulos em seus recintos do que os animais daquela pesquisadora. A manutenção de animais cativos em parques zoológicos se explica devido a propósitos educacionais, recreativos e de pesquisa, mas implica no dever ético de proporcionar a estes animais ambientes adequados. Avaliar os artefatos propostos como enriquecimento ambiental é necessário para que possamos verificar se estamos proporcionando estímulos que façam diferença. Acreditamos que, em casos como os de nossos sujeitos, em que o ambiente externo é repleto de estímulos, os artefatos empregados precisarão, acima de tudo, representar uma *interferência consistente* no ambiente, ou seja, a intensidade de apresentação destes (tempo de permanência no recinto, taxa de reposição, etc..) precisará ser maior do que a intensidade de apresentação dos mesmos artefatos em um local onde o ambiente externo ao recinto é pobre em estímulos. Além disso, estes estímulos devem ser mais interessantes que os usados por Boinski, para que algum efeito positivo seja observado quanto ao bem-estar animal.

O estudo de Schapiro *et al* (1995) teve resultados semelhantes aos nossos. A idéia era comparar a resposta de macacos rhesus alojados em gaiolas num ambiente fechado (sala com luminosidade e temperatura controladas, e poucos estímulos sociais) – Grupo 1, com sujeitos alojados em gaiolas em um ambiente aberto (sujeito a variações de luz, temperatura e eventos ambientais, e muitos estímulos sociais) – Grupo 4 - a três tipos diferentes de enriquecimento ambiental. Estímulos físicos (brinquedos, poleiros, etc.) foram fornecidos por três meses, estímulos alimentares (dispositivos, comidas, etc.) por seis meses e estímulos sensoriais (imagens televisivas de primatas) por três meses. Os resultados mostram que os sujeitos do Grupo 1 passaram menos tempo bebendo água⁴ e se comportando anormalmente, e mais tempo brincando e usando os estímulos, do que os sujeitos do Grupo 4. Resumindo, os estímulos foram eficazes como enriquecimento ambiental, mas apenas para os macacos que tinham um ambiente externo pobre em estimulação. Estes dados levam a crer que a relevância e a atratividade dos estímulos inseridos nas gaiolas aumenta conforme a quantidade de estimulação externa à gaiola diminui, ou seja, para animais que dispõem de grande quantidade de estímulos externos à seus recintos, a relevância e a atratividade dos estímulos experimentalmente oferecidos no recinto são diminuídas. O inverso ocorre nos casos onde a estimulação externa é pequena.

Outra explicação que consideramos para a diferença entre nossos resultados e os de Boinski (1999) foi a inclusão de condições de controle entre as condições experimentais. O desenho experimental de Boinski apresenta apenas uma condição de controle, incluída randomicamente entre as três condições com artefatos. A inclusão

⁴ Este comportamento é muitas vezes realizado em quantidade anormal por primatas cativos

destes controles em nosso desenho experimental foi feita para eliminar a influência de uma condição sobre a seguinte, e impedir resultados devidos apenas à introdução consecutiva de artefatos. Supomos que os dados de Boinski podem se encontrar distorcidos pela apresentação consecutiva de artefatos.

A partir das nossas observações, poderíamos propor uma série de experimentos com o objetivo esclarecer se, e em que condições, os artefatos que propusemos atuam como enriquecimento ambiental. Os estudos propostos a seguir implicam em mudanças no desenho experimental (intensidade de apresentação: duração das condições experimentais, frequência com que fazíamos a reposição dos artefatos Caixa e Ferramenta, e o tempo até que os animais tivessem esgotados os itens repostos) e na escolha de outros artefatos para serem testados. Em um dos experimentos as condições com artefato deveriam ter uma duração maior do que a usada nesse estudo (duas semanas), para que pudéssemos verificar se o tempo que o artefato ficou no recinto no presente experimento foi demasiadamente curto. Em outro experimento, não colocaríamos condições de controle entre as condições com artefatos, para verificar se é a introdução consecutiva de uma variedade de artefatos ao longo do tempo que produz o efeito de diminuição nos níveis de cortisol e de comportamentos anormais observado no trabalho de Boinski *et al.* (1999). Poderíamos, ainda, aumentar a frequência de reposição dos artefatos mantendo a duração das condições com artefatos iguais às atuais (duas semanas), ou modificar os artefatos de modo que o tempo até o esgotamento de cada um deles fosse maior (por exemplo: acesso dificultado a Caixa de forrageamento ou mais coquinhos para serem quebrados na condição Ferramenta). Por fim, poderiam ser testados outros artefatos, que como o artefato Ferramenta, visassem proporcionar ao animal a possibilidade de executar

comportamentos similares aos exibidos na natureza. Verificaríamos, então, se estes novos artefatos são mais efetivos na redução dos indicadores comportamentais e fisiológicos de estresse do que os artefatos que testamos.

5.3. Frequência de comportamentos potencialmente indicativos de estresse

Nossa relação de possíveis indicadores comportamentais de estresse não se mostrou mais eficaz que a proposta por Boinski (op. cit.). A falta de um padrão, entre os sujeitos, nas mudanças significativas das frequências destes comportamentos impossibilita conclusões bem fundamentadas. Assim, não pudemos nos basear na frequência destes comportamentos para avaliar a eficácia, enquanto enriquecimentos ambientais, dos artefatos testados nesta pesquisa. Os dados, no entanto, apontaram para uma diferença significativa entre os sexos: a frequência com que os machos de nossa amostra exibiram estes comportamentos que acreditávamos ser indicativos de estresse foi significativamente menor do que a frequência com que as fêmeas apresentaram tais comportamentos na Condição Primeiro Artefato (Figura 9). Coincidentemente, as três fêmeas da amostra receberam o artefato Brinquedo primeiro (assim como dois dos machos). Poderíamos creditar, portanto, ao artefato Brinquedo, um aumento de estresse em fêmeas, porém achamos mais plausível a hipótese de que a introdução de qualquer objeto novo no recinto cause tal reação (ver 6.3.1.2.).

5.3.1. Análises individuais: Decidimos analisar isoladamente alguns comportamentos que pareciam estar mais relacionados à expressão de estresse nos sujeitos, entre eles os que Boinski havia classificado como estereotipados e os que nós prepusemos como potencialmente indicativos de estresse, além de outros que não estavam em nenhuma das análises prévias. A maioria destes comportamentos não era executada por todos os sujeitos da amostra. Acreditávamos que estas análises nos possibilitariam saber se

e qual comportamento e/ou sujeito estava viesando os resultados obtidos nas análises em que os grupos de comportamentos e de sujeitos eram considerados. Os resultados encontrados aplicam-se a um ou dois sujeitos, e parece não haver um padrão único de relação entre os comportamentos observados e as condições experimentais. Tais resultados corroboram a crescente tendência a se individualizar as práticas de enriquecimento, considerando que, muitas vezes, as estereotipias são individuais, dependendo principalmente do histórico de cada animal. O fato de estarmos trabalhando com uma espécie cognitivamente mais complexa também contribui para esta individualização dos sujeitos. Mas ainda assim, esperamos que sejam encontrados padrões gerais da espécie nas preferências e respostas a artefatos, que possam levar a práticas genéricas de enriquecimento ambiental para macacos-prego.

5.3.1.1. Efeito cumulativo: O comportamento *Face Contra Grade* (4.5.1.), por exemplo, teve sua frequência significativamente diminuída da condição Primeiro Controle para o Quarto Controle e a condição Ferramenta Pequena. Se verificarmos as análises individuais, entretanto, veremos que são apenas dois os sujeitos que apresentam diferenças significativas quanto à frequência deste comportamento naquelas condições. Ao menos para um destes sujeitos (Júnior) a diminuição na execução de *Face Contra Grade* parece estar ligada à duração do experimento, ou seja, para este sujeito, as quatro últimas condições experimentais - fossem elas controles ou não - foram as que apresentam os menores valores de *Face Contra Grade*. Mais uma vez, talvez, para nossos sujeitos, o período de permanência dos artefatos no recinto devesse ser maior para que houvesse uma redução significativa da frequência de estereotipias.

5.3.1.2. Reação a um objeto estranho: As análises dos dados referentes aos comportamentos *Perambular* (4.5.2.) e *Manipular Rabo* (4.5.7.) apresentaram

resultados semelhantes. Houve um aumento significativo na frequência destes comportamentos quando da inserção do primeiro artefato no recinto, tanto para o sujeito Lingüinha (*Perambular*) quanto para a sujeita Doidinha (*Manipular Rabo*). Apesar dos artefatos serem diferentes (Caixa para Lingüinha e Brinquedo para Doidinha), acreditamos que, cada qual do seu jeito, os dois sujeitos estavam demonstrando a mesma coisa: um estresse devido à introdução de um objeto estranho em seu recinto.

Esta mesma hipótese explicaria o resultado obtido na análise individual do sujeito Lingüinha para os comportamentos definidos por Boinski como estereotipados. Como Boinski coloca entre os comportamentos que considera estereotipados o comportamento *Perambular*, e o sujeito Lingüinha apresenta uma frequência alta deste comportamento, os resultados das duas análises – comportamentos estereotipados e comportamento *Perambular* – apresentam resultados semelhantes.

5.3.1.3. Indicador de estresse: Os resultados que obtivemos nas análises dos comportamentos *Morder a Si Próprio* e *Display Sexual* são os mais próximos do esperado de comportamentos indicadores de estresse quando há introdução de enriquecimento ambiental. . Isso por que a frequência destes comportamentos diminuiu significativamente (ANOVA medidas repetidas, $p < 0,05$) após as primeiras condições.

Através de uma análise temporal da frequência do comportamento *Display Sexual* (4.5.5.), por todos os sujeitos, verificamos que esta foi significativamente maior (ANOVA medidas repetidas, $p < 0,05$) na condição Primeiro Controle que nas demais condições. Porém como este é um resultado isolado, nada podemos afirmar a partir dele.

Na análise grupal, por artefato, da frequência de exibição do comportamento *Morder a Si Próprio* (4.5.3.) apresentou valores significativamente maior (ANOVA medidas repetidas, $p < 0,05$) durante a condição Caixa. Mas como análises de outros possíveis indicadores comportamentais de estresse não apontam o artefato Caixa como um desencadeador de estereotípias, acreditamos que o fato da frequência de *Morder a Si Próprio* ser maior nesta condição não pode ser encarado como evidência de que a Caixa seja um eliciador de comportamentos anormais, porém apresentamos adiante (5.3.1.4) uma hipótese para explicar o resultado observado.

5.3.1.4. Frustração: Outra possibilidade que também deve ser considerada na tentativa de explicar o resultado encontrado para o comportamento *Morder a Si Próprio* (o aumento da frequência média deste comportamento quando da introdução do artefato Caixa), é a de frustração. A impossibilidade de executar um comportamento para o qual se está altamente motivado pode levar o sujeito a um estado de frustração. Tal estado é considerado como um dos possíveis desencadeadores de comportamentos anormais. Neste caso, acreditamos que o esgotamento rápido das atividades ligadas ao artefato Caixa (forrageamento de larvas de tenébrio) seria o causador de frustração nos sujeitos. Para testar tal hipótese, poderíamos nos valer dos sujeitos que apresentaram tal padrão comportamental e submetê-los novamente ao evento que supomos ser frustrante. Repetindo-se o padrão de respostas comportamentais poderíamos, então, fornecer uma reposição constante para o artefato Caixa por algum tempo. Se após tal mudança, cessassem os comportamentos possivelmente anormais, teríamos fortes indícios de que o modo como estávamos usando o artefato originalmente era uma fonte de frustração para os animais.

5.4. Convivência Social

A condição de alojamento dos sujeitos não influenciou suas taxas de interação com os artefatos (Figura 5). Acreditamos que o nível de interesse que o artefato desperta no indivíduo seja um dos fatores decisivos para a influência ou não da condição de alojamento na interação dos sujeitos com os artefatos.

Se o interesse é pequeno ou inexistente, seria de se esperar que sujeitos em alojamento conjunto interagissem menos com o artefato que sujeitos alojados solitariamente. Isso porque, os sujeitos em alojamento conjunto poderiam executar tem uma possibilidade que falta aos alojados sozinhos que é a de executar atividades de cunho social. Trabalhos como o de Schapiro *et al* (1996) com macacos Rhesus, mostram que animais alojados em grupos interagem menos com artefatos inanimados introduzidos no recinto e sugerem que estes seriam mais eficazes se fornecidos a macacos alojados sozinhos.

Já se o interesse pelo artefato for grande, pode-se esperar que os sujeitos em alojamento conjunto interajam mais com ele do que os sujeitos alojados sozinhos. Isso por que quando um indivíduo do grupo supera a neofobia que sente de um objeto novo (neste caso o artefato) e toma a iniciativa de se aproximar dele, há em geral, uma redução da neofobia do grupo. Este fenômeno é conhecido como facilitação, e seria um dos motivos pelos quais acreditamos que sujeitos de alojamento conjunto interagiriam mais com um artefato interessante. O outro motivo seria o fato de um objeto aumentar seu valor quando manipulado por um membro do grupo (principalmente um macho adulto). Macacos-prego voltam mais sua atenção a objetos que estão despertando a atenção de outros e assim o objeto passa a ser mais “desejado”. Tal comportamento

também levaria a uma maior quantidade de interações por sujeitos em alojamento conjunto.

5.5. Corticosterona

5.5.1. Correlação negativa: A primeira coisa que nos chama atenção nos dados de níveis de corticosterona são os valores exorbitantes apresentados por um sujeito (Figura 22). Este sujeito (Júnior) quase não apresentou comportamentos que pareciam ser indicativos de estresse, se comportando de maneira muito semelhante à maioria dos sujeitos da amostra, mas foi o único sujeito a exibir o comportamento *Manipulação de Fezes*.

Outro resultado intrigante foi a correlação negativa encontrada entre o comportamento *Perambular* e a quantidade de corticosterona fecal para o sujeito Metralha (Figura 24). Se assumissemos que dados comportamentais e hormonais estão diretamente correlacionados, podíamos supor que o comportamento *Perambular* é executado devido a um aumento no estresse do animal, mas executá-lo faz com que o animal se acalme. No entanto, não é possível afirmar que um comportamento estereotipado esteja necessariamente correlacionado com os níveis de corticosteróides de um animal. Schapiro *et al* (1993) relata em seu estudo com macacos rhesus que suas medidas de cortisol plasmático e comportamento não são correlacionadas. Ele sugere que os processos de ajuste fisiológicos e comportamentais ocorram separadamente. Além disso, os estudos existentes não garantem que mudanças nos níveis de corticorticóides ou na frequência de comportamentos estereotipados reflitam necessariamente melhora no bem-estar (Barnett & Hemsworth, 1990). Observações pontuais nos níveis de corticosteróides não são capazes de explicar o que está acontecendo com o animal; mais uma vez, o importante é a escala temporal usada, já

que as análises de dados de hormônios ligados ao estresse se baseiam nos padrões de alterações sofridas nas taxas destes hormônios, associadas a eventos positivos ou negativos. Ou seja, é necessário um acompanhamento dos níveis de cortisol do sujeito e dos eventos que o cercam para se saber com mais precisão o que representa, para aquele sujeito, ter uma certa taxa de cortisol. Isso porque, se observamos um aumento nos níveis de cortisol, de um sujeito que não tem seus níveis de corticosteróides medidos com frequência, não poderemos dizer se o animal passou de um estado de estresse para um estado de bem-estar, se passou de um estado de bem-estar para um estado de estresse, ou se passou de um estado de tédio para um estado de bem-estar. Se tivermos um histórico dos níveis de cortisol deste animal, entretanto, ficará mais fácil dizer o que significa um aumento.

5.5.2. Estresse causado por evento externo: Além da diferença significativa nos níveis hormonais do Segundo Controle, não encontramos outras diferenças nos níveis de corticosterona dos sujeitos ao longo das demais condições experimentais. Schapiro *et al* (1993) mostra resultados semelhantes com macacos rhesus. Animais com enriquecimentos ambientais em suas gaiolas não baixaram seus níveis de cortisol plasmático em comparação com animais que não receberam tais estímulos. Observou-se somente uma diferença significativa entre sujeitos alojados em gaiolas mantidas em ambiente fechado e sujeitos alojados em gaiolas mantidas em ambientes abertos. Os primeiros apresentavam níveis de corticosterona mais altos que os segundos, mais uma vez apontando para a idéia de que o ambiente fora da gaiola é uma variável importante na resposta de estresse.

5.6. Ferramenta Pequena

Sete de nossos onze sujeitos não quebraram cocos. Pesquisas (Resende & Ottoni, 2002b) sugerem que a aquisição do comportamento de quebra seja socialmente viesada, ou seja, que existiriam aspectos socialmente mediados na aquisição deste comportamento. Apesar de não possuímos dados sobre a história de cada um de nossos sujeitos, imaginamos que a falta de oportunidades de observar macacos-prego “quebradores” de cocos e a falta de acesso a “martelos” e frutos encapsulados, seja o motivo pelo qual eles não apresentam tal comportamento.

6. CONCLUSÃO

A presente pesquisa indica que a quebra de cocos com uso de ferramentas pode ser um bom enriquecimento ambiental para macacos-prego cativos que tenham aprendido este comportamento. Mas mais do que isso, esta pesquisa nos mostra pontos fracos em uma metodologia comumente empregada em pesquisas de bem-estar animal e enriquecimento ambiental. Acreditamos que esta metodologia precisa urgentemente ser revista, mais pesquisada, questionada e finalmente, inovada.

A fase em que se encontram os estudos da área não nos permite afirmar que mudanças na frequência de comportamentos estereotipados e nos níveis hormonais de corticosteróides sejam bons indicadores de bem-estar. Não existe sequer concordância sobre o tipo de relação que se deve esperar entre estas duas variáveis. Mais pesquisas são necessárias para que possa fundamentar melhor conceitualmente as metodologias empregadas na avaliação de bem-estar.

Uma inovação que vem sendo incorporada a estudos de bem-estar e enriquecimento ambiental é a medida dos níveis de hormônios sexuais (principalmente

das fêmeas, para avaliação do ciclo ovariano). Imagina-se que o período do ciclo estral em que a fêmea se encontra poderia influenciar a exibição de estereotípias ou o nível de corticosterona apresentado. Os machos também poderiam ter seu comportamento e níveis hormonais alterados de acordo com o ciclo das fêmeas presentes. Medidas comportamentais ou hormonais realizadas por curtos períodos de tempo, entretanto, só tem se mostrado resultados em casos em que o bem-estar dos animais pesquisados está extremamente comprometido. Nossa pesquisa mostra que as relações entre dados comportamentais, hormonais e o bem-estar do animal, não são facilmente obtidas com o uso desta metodologia de curto prazo. Além disso, as análises devem buscar comparar os dados (comportamentais e hormonais) de cada indivíduo entre si. Cada sujeito deve ser seu próprio controle. Para tanto, a comparação deve ser feita entre os dados obtidos antes e depois da introdução do artefato testado, e não entre um indivíduo e outro.

Ao se criar um ambiente mais rico através da introdução de artefatos, deve-se ter em mente que a retirada ou o esgotamento deste artefato implica em impor ao animal um ambiente pobre, o que pode ser um fator para o desencadeamento de estereotípias. A reação do animal à espera pelo artefato pode ser mais maléfica do que os benefícios possivelmente criados pelos artefatos. Este comportamento indesejado do animal pode impossibilitar a medição de efeitos positivos que o artefato pode ter causado. Acreditamos que os artefatos testados devam ser uma interferência consistente no recinto do animal, e não constituírem um evento efêmero.

A ausência de um padrão geral de respostas aos artefatos mostra uma dificuldade para encontrar um enriquecimento ambiental eficiente. O fato de sujeitos quebradores de coco terem interagido mais com o artefato Ferramenta do que os

sujeitos não-quebradores⁵ reforça a idéia de que o histórico de vida de cada animal influencia suas idiossincrasias (desde o comportamento anormal que ele pode apresentar, até o tipo de artefato que mais vai lhe interessar). Porém, se formos capazes de encontrar artefatos capazes de propiciar melhor bem-estar para cada um dos sujeitos deste estudo, por exemplo, os profissionais que lidam com animais cativos teriam um ponto de partida para buscar os melhores procedimentos de enriquecimento ambiental para seus sujeitos.

Nos parece que um método adequado para definir quais artefatos são interessantes para uma espécie seria medir as escolhas entre artefatos de um número significativos de sujeitos. Empregando uma metodologia que meça o esforço que o animal está disposto a fazer (“preço” que ele está disposto a “pagar”) para conseguir algum benefício (ver outro coespecífico, receber uma comida diferente, etc.), poderíamos acessar qual tipo de intervenção é mais interessante para o sujeitos. Este “pagamento” pode ser feito de diversas formas, como por exemplo, pressões a uma barra ou restrição pós-escolha (ser impedido de fazer outra escolha por um certo período de tempo).

Uma avaliação que seria interessante fazer é se um ambiente com vários artefatos (ambiente 1) não é mais interessante que a introdução seqüencial destes mesmo vários artefatos (ambiente 2). No ambiente 1, estaríamos proporcionando ao animal a possibilidade de escolher a atividade que quer desempenhar - lhe dando controle sobre o ambiente, o que é definido por diversos autores como algo desejável e positivo em relação ao bem-estar. Já no ambiente 2, estaríamos reduzindo um possível

⁵ Lembrando que pode haver várias formas de interação com o artefato Ferramenta além da quebra de cocos. Um exemplo comum seria o comportamento de bater a pedra no substrato.

efeito de habituação do animal aos artefatos, uma vez que eles não estariam presentes todo o tempo o recinto. A criação do ambiente 1 resolveria a questão suscitada por este trabalho, da interferência consistente, que, teoricamente elimina possíveis comportamentos indesejáveis (gerados por frustrações decorrentes da introdução de curta duração e com possibilidades de interação pequena que nosso desenho experimental impôs) e também damos a este um maior controle sobre o ambiente. Nesta visão, o importante da técnica de enriquecimento ambiental não é apenas o artefato usado, mas também outras propriedades do ambiente que interferem em sua variabilidade/previsibilidade e complexidade. Talvez se o caso de pensar sobre estas propriedades em termos de um “nível ótimo de ativação” (que deve diferir de espécie para espécie). Entender como estas propriedades interferem no bem-estar de animais cativos pode ser um passo anterior ao originalmente proposto neste trabalho, mas que ainda não está totalmente claro.

Esta pesquisa procurava saber que características são desejáveis em um artefato para que ele represente de fato um enriquecimento ambiental. A partir de nossos resultados, nos parece que antes que mais perguntas como esta sejam feitas, precisamos elucidar outras questões. A interferência da metodologia de aplicação dos artefatos sobre os sujeitos (relevância do tempo de esgotamento dos artefatos; a frequência com que os artefatos são apresentados aos sujeitos; a necessidade da interferência consistente) é uma destas questões. Os métodos de medida de bem-estar e, portanto, de enriquecimento ambiental são outra. Os efeitos do ambiente externo e de procedimentos direcionados aos animais uma terceira.

Outra questão a ser seriamente considerada é o uso de zoológicos como local de pesquisa. Uma parceria que pode dar certo, mas que se não devidamente estabelecida

pode gerar problemas. Isso porque muitas vezes as pesquisas não são realizadas em colaboração, mas sim, numa relação unilateral em que o pesquisador é a única parte interessada nos frutos do trabalho. Neste caso o zoológico presta pequenos favores, mas não se compromete nem se interessa pela pesquisa. Neste tipo de relação, os funcionários da instituição não são envolvidos na pesquisa, mas muitas vezes servem, a contra-gosto, de mão-de-obra, podendo, desavisadamente, comprometer sua realização. Assim, o caminho parece ser o da co-responsabilidade entre pesquisadores e zoológicos. Neste caso, tanto instituição quanto pesquisador veriam a pesquisa como necessária, e ambos investiriam nela.

No mundo de hoje, onde não se enjaulam mais pigmeus, mas ainda se enjaulam leões e canários, pesquisas sobre bem-estar de animais silvestres são necessárias: esses animais já cativos demandam nossos mais estremados cuidados, nosso esforço de pesquisa em medicina animal e bem-estar, nossa compaixão. Os demais, ainda na natureza, demandam de nosso povo e governo mais respeito e a possibilidade de continuarem onde estão.

ANEXOS

Anexo 1 – Tabela obtida na análise de comportamentos diretamente relacionados com cada um dos artefatos propostos (C= caixa; F= ferramenta; B= brinquedo).

Animal	sexo (M=1; F=2)	alojamento (sozinho=1; junto=2)	quebra (sim=1; não=2)	momento C	momento F	Momento B	qtdd comps C						qtdd comps F						qtdd comps B					
							1o.	2o.	3o.	4o.	5o.	6o.	1o.	2o.	3o.	4o.	5o.	6o.	1o.	2o.	3o.	4o.	5o.	6o.
1	2	2	2	3	2	1	8	3	1	0	4	9	0	4	1	8	0	8	0	0	0	0	0	0
2	1	1	1	3	1	2	10	6	4	3	7	3	16	11	13	2	14	8	4	2	0	0	0	0
3	1	1	2	1	2	3	1	4	3	4	3	1	2	7	2	4	1	0	2	0	0	0	0	1
4	1	1	1	2	1	3	10	10	7	6	8	7	18	18	16	21	14	18	0	0	0	0	0	0
5	1	1	2	1	3	2	6	9	2	3	1	3	4	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0
6	1	2	2	2	3	1	14	8	8	3	7	8	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
7	2	2	2	2	3	1	0	0	0	0	0	0	1	5	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0
8	1	2	1	2	1	3	6	7	3	3	5	3	16	19	17	16	21	19	19	1	15	13	3	0
9	1	2	1	2	1	3	9	8	1	3	5	5	1	5	9	12	7	11	0	3	4	2	9	0
10	1	2	2	3	2	1	3	7	4	2	2	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	2	2	2	3	2	1	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anexo 2 – Validação Fisiológica

Devido um evento estressante (contenção de dois de nossos sujeitos por um longo período do dia), foi possível realizar uma validação fisiológica da metodologia usada. Em um intervalo de 18 dias antes da contenção, houve sete visitas ao zoológico, de modo que tínhamos sete amostras de fezes do recinto destes macacos. Foram colhidas as fezes presentes no recinto no dia da contenção e nos 20 dias subseqüentes a esta obtivemos mais sete amostras. Os sujeitos PC e Filhote estavam alojados juntos de modo que não tínhamos como identificar com precisão as fezes. O procedimento usado, então, foi recolher todas as fezes presentes no recinto no dia da visita e homogeneizá-las, de modo que os dois sujeitos foram, de acordo com sua dosagem de corticosterona, analisados como um só. O gráfico abaixo mostra claramente que houve um pico deste hormônio no dia em que se deu o evento. Os demais picos devem-se, provavelmente, a outros eventos estressantes que não puderam ser identificados pela pesquisadora.

Concentração de Corticosterona Fecal nas
Fezes Homogeneizadas de PC e Filhote

Anexo 3 - Experimento complementar

A não-ocorrência de quebra de cocos por sete sujeitos propiciou a realização de um experimento extra, não previsto no projeto inicial, que tinha como objetivos examinar a reação de macacos-prego a imagens de televisão e suas capacidades de “aprendizagem observacional” através de tais imagens. Este experimento se deu logo após a coleta de dados pós-intervenção e foi realizado apenas com dois sujeitos (Lingüinha e Metralha), por serem estes os únicos dois sujeitos que não haviam quebrado cocos e que estavam socialmente isolados.

Para a realização deste experimento foi desenvolvido um novo etograma, com ênfase nos comportamentos voltados para os “martelos”, os cocos ou para o novo aparato experimental: uma televisão e um vídeo-cassete, (sobre um carrinho) colocados junto à grade do recinto do sujeito. Foram produzidos dois filmes, com 30 minutos cada, com imagens de macacos-prego obtidas no PET. Em um deles só havia macacos parados, no outro se repetiam cenas de macacos-prego quebrando cocos. O filme com os macacos parados constituía a condição CONTROLE. O filme com as cenas de quebra de cocos foi utilizado na condição EXPERIMENTAL. A Tabela 3 mostra o tratamento aplicado em cada uma das nove sessões. Antes da exibição dos filmes eram colocados 10 cocos e 2 seixos no recinto. Estes eram retirados assim que o filme acabava. Durante a apresentação dos filmes os animais eram observados através do método Animal Focal com registros 0 ou 1 a cada 30 segundos. Este último experimento durou três semanas e foi completado em 18 de Maio de 2005.

É interessante notar que as reações dos sujeitos foram distintas tanto em intensidade quanto no seu desenvolvimento ao longo das condições apresentadas. O sujeito Lingüinha apresentou menor intensidade de interação com os objetos colocados no recinto (cocos e seixos) e menor frequência de observação da TV. Porém seu interesse pelo aparelho de televisão parece ter

se mantido estável durante todo o experimento, independentemente da apresentação ou não de imagens. Já o sujeito Metralha apresentou maior intensidade de interações com os objetos introduzidos no recinto e maior frequência de observação da TV na primeira condição. Ao longo do experimento, porém, a frequência com que o animal observava o aparelho de televisão (estivesse ele ligado ou não) diminuiu drasticamente, parecendo ser decorrente da novidade do estímulo.

Tabela 3: Tratamento aplicado em cada uma das sessões do experimento extra. Na 5ª. sessão o aparato foi colocado na frente do recinto do sujeito, porém nenhum filme foi apresentado. A 9ª. sessão consistia na observação do sujeito sem a presença do aparato.

SESSÃO	TRATAMENTO
1	controle
2	
3	experimental
4	
5	TV desligada
6	experimental
7	
8	
9	observação s/ TV

A falta de diferenciação na atenção à TV quando ligada ou desligada foi um resultado que contrariou nossas expectativas, uma vez que há estudos mostrando que algumas espécies de primatas não-humanos não apenas observam imagens em vídeo, como usam adequadamente informações recebidas por esta via na solução de problemas (Savage-Rumbaugh, 1994). Apesar deste resultado-piloto negativo, acreditamos que será interessante, oportunamente, realizar novos experimentos examinando a questão num ambiente mais controlado (sem estímulos que não a televisão e com uma luminosidade adequada para que os animais consigam enxergar as imagens da TV) e com mais sujeitos.

BIBLIOGRAFIA:

- ANDERSON, J. R. & VISALBERGHI, E. Reasons and risks associated with manipulating captive primates' social environments. *Animal Welfare*. V. 2, n. 1, p.3-15,1993.
- ASSUMPÇÃO, C. T. *An ecological study of primates of Southeastern Brazil with a reappraisal on Cebus apella races*. 1983. Tese (Doutorado Ecologia). Edinburgh University, 1983.
- BAKER, K. C. Straw and forage material ameliorate abnormal behaviors in adult chimpanzees. *Zoo Biology*, v. 16, p. 225-236, 1997.
- BARNETT, J.L. & HEMSWORTH, P. H. The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, v.25, p.177-187, 1990.
- BOERE, V. Environmental enrichment for neotropical primates in captivity. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 543-551, 2001.
- BOERE, V. *Efeitos do Estresse Psicossocial Crônico e do Enriquecimento Ambiental em Sagüis (Callithrix penicillata): Um Estudo Comportamental, Fisiológico e Farmacológico*. 2002. 238p. Tese (Doutorado Psicologia Experimental). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- BOINSKI, S.; SWING, S. P.; GROSS, T. S. & DAVIS, J. K. Environmental enrichment of brown capuchins (*Cebus apella*): Behavioral and plasma and fecal cortisol measures of effectiveness. *American Journal of Primatology*, v. 48, p. 49-68, 1999.
- BRENT, L. & STONE, A. M. Long-term use of televisions, balls, and mirrors as enrichment for paired and singly caged chimpanzees. *American Journal of Primatology*, v. 39, p. 139-145, 1996.
- BROOM, D. M. Needs, freedoms and the assessment of welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 19, n. 3-4, p. 384-386, 1988a.
- BROOM, D. M. The scientific Assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 20, n. 1-2, p.5-19, 1988b.
- BROWN, A. D. & COLILLAS, O. J. Ecologia de *Cebus apella*. In Anais do 1º. Congresso Brasileiro de Primatologia. Belo Horizonte, 1983.

- BROWN, J. L.; WASSER, S. K.; WILDT, D. E. & GRAHAM, L. H. Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. *Biology of Reproduction*, v.51, p.776-86, 1994.
- CELLI, M. L.; TOMONAGA, M.; UDONO, T.; TERAMOTO, M. & NAGANO, K. Tool use task as environmental enrichment for captive chimpanzees. *Applied Animal Behaviour Science*, v.81, p.171-182, 2003.
- DANTZER, R. Behavioral, physiological and functional aspects of stereotyped behavior: a review and re-interpretation. *Journal of Animal Science*, v. 62, p. 1776-1786, 1986.
- DAWKINS, M. S. From an animal's point of view: motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioural and brain science*, v. 13, n. 1, p. 1-60, 1990.
- EVANS, H. L., TAYLOR, J. D., ERNST, J. & GRAEFE, J. F. Methods to evaluate the wellbeing of laboratory primates: comparisons of macaques and tamarins. *Laboratory Animal Science*, v. 39, n. 4, p. 318-323, 1989.
- FERREIRA, R.; RESENDE, B. D.; MANNU, M.; OTTONI, E. B. & IZAR, P. Bird predation and prey-transfer in brown capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neotropical Primates*, v. 10, n. 2, p. 84-89, 2002.
- FRAGASZY, D.; IZAR, P.; VISALBERGHI, E.; OTTONI, E. B. & OLIVEIRA, M. G. de. Wild Capuchin Monkeys use anvils and stone pounding tools. *American Journal of Primatology*, v.64, p.359-366, 2004.
- HAHN, N. E., LAU, D., ECKERT, K. & MARKOWITZ, H. Environmental enrichment-related injury in a macaque (*Macaca fascicularis*): intestinal linear foreign body. *Comparative Medicine*, v. 50, n. 5, p. 556-558, 2000.
- HARE, V. J. Apostila do curso: enriquecimento ambiental. *V Encontro Internacional de Zoológicos*. Belo Horizonte, 2000.
- HAYES, S. L. Increasing foraging opportunities for a group of captive capuchin monkeys (*Cebus capucinus*). *Laboratory Animal Science*, v. 40, n. 5, p. 515-519, 1990.
- KILEY-WORTHINGTON, M. Behavioural restriction, animal welfare, and choice experiments. *Behavioural and brain science*, v. 17, n. 4, p. 748-749, 1994.
- MANNU, M., & OTTONI, E. B. Uso de ferramentas por dois grupos de macacos-prego (*Cebus apella*) na caatinga: dados preliminares. In: XI Congresso Brasileiro de

- Primatologia, Porto Alegre, RS. *Livro de Resumos do XI Congresso Brasileiro de Primatologia*, p. 45, 2005.
- MANSON, G. J. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour*, v. 41, n. 6, p. 1015-1037, 1991.
 - MENDL, M. Some problems with the concept of a cut-off point for determining when an animal's welfare is at risk. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 31, n. 1-2, p. 139-146, 1991.
 - MOURA, A. C. A. & LEE, P. C. Capuchin stone tool use in caatinga dry forest. *Science*, v.306, 2004.
 - NAPIER, J. R. & NAPIER, P. H. *A handbook of living primates*. Academic Press, New York, 1967.
 - NEWBERRY, R. C. Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behaviour Science*, v.44, p.229-243, 1995.
 - NOVAK, M. A. & SUOMI, S. J. Psychological well-being of primates in captivity. *American Psychologist*, v. 43, n. 10, p. 765-773, 1988.
 - OTTONI, E. B. & MANNU, M. Semifree-ranging tufted capuchins (*Cebus apella*) spontaneously use tools to crack open nuts. *International Journal of Primatology*, v. 22, n. 3, p. 347-358, 2001.
 - PAQUETTE, D. & PRESCOTT, J. Use of novel objects to enhance environments of captive chimpanzees. *Zoo Biology*, v. 7, p. 15-23, 1988.
 - RESENDE, B. D. & OTTONI, E. B. Brincadeira e aprendizagem do uso de ferramentas em macacos-prego (*Cebus apella*). *Estudos de Psicologia*, v.7, p.173-180, 2002b.
 - RESENDE, B. D.; GRECO, V. L. G.; OTTONI, E. B. & IZAR, P. Some observations on the predation of small mammals by tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neotropical Primates*, v.11, n.2, p.103-104, 2003.
 - SANTINI, M. E. L. Observações sobre o Comportamento social e reprodutivo do *Cebus apella* em cativeiro. In: *Anais do 1º. Congresso Brasileiro de Primatologia*. Belo Horizonte, 1983.
 - SAPOLSKY, R. M. Stress in the wild. *Scientific American*, v. 262, n. 1, p. 106-113, 1990
 - SAVAGE-RUMBAUGH, E. S. & LEWIN, R. Kanzi: the ape at the brink of the human mind. Georgia-EUA; John Wiley & Son, 1994.

- SCHAPIRO, S. J.; BLOOMSMITH, M. A.; KESSEL, A. L. & SHIVELY, C. A. Effects of enrichment and housing on cortisol response in juvenile rhesus monkeys. *Applied Animal Behaviour Science*, v.37, p.251-263, 1993.
- SCHAPIRO, S. J.; PORTER, L. M.; SUAREZ, S. A. & BLOOMSMITH, M. A. The behavior of singly-caged, yearling rhesus monkeys is affected by the environment outside of the cage. *Applied Animal Behaviour Science*, v.45, p.151-163, 1995.
- SCHAPIRO, S. J.; BLOOMSMITH, M. A.; PORTER, L. M. & SUAREZ, S. A. Enrichment effects on rhesus monkeys successively housed singly, in pairs, and in groups. *Applied Animal Behaviour Science*, v.48, p.159-172, 1996.
- SHEPHERDSON, D. J. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In: SHEPHERDSON, D. J., MELLEN, J. D. & HUTCHINS, M. (Eds.) *Second Nature: environmental enrichment for captive animals*. Washington: Smithsonian Institution Press, 1998. p. 01-12.
- SINGER, P. How to argue with egg producers. *Behavioral and Brain Science*, v. 17, n. 4, p. 749, 1994.
- VIAU, P., FELIPE, E. C. G. & OLIVEIRA, C. A. Quantificação de esteróides fecais de fêmeas de onça pintada (*Panthera onca*) mantidas em cativeiro: validação da técnica. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 42, n. 4, p.262-270, 2005.
- VISALBERGHI, E., FRAGASZY, D., IZAR, P., OTTONI, E. B. & GOMES, M. Wild capuchin monkeys use anvils and stone pounding tools. *Folia Primatologica*, v. 75, suppl 1, p.348, 2004.