



Instituto Federal Catarinense
Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal
Campus Araquari

JOÃO VITOR DE CAMPOS ROEDER

**INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO OPERANTE COM REFORÇO POSITIVO SOBRE O
COMPORTAMENTO DE ELEFANTES ASIÁTICOS (*Elephas maximus*) SOB CUIDADOS
HUMANOS**

Araquari

2024

JOÃO VITOR DE CAMPOS ROEDER

**INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO OPERANTE COM REFORÇO POSITIVO SOBRE O
COMPORTAMENTO DE ELEFANTES ASIÁTICOS (*Elephas maximus*) SOB CUIDADOS
HUMANOS**

Dissertação submetida ao Programa de Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari para a obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Professor Dr. Juliano Santos
Gueretz

Co-orientadoras: Prof.^a. Dr^a Elizabeth
Schwegler

Prof.^a. Dr^a Vanessa Peripolli

Araquari

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

R712i Roeder, João Vitor de Campos
Influência do Condicionamento Operante com Reforço
Positivo Sobre o Comportamento de Elefantes Asiáticos
(Elephas maximus) Sob Cuidados Humanos / João Vitor
de Campos Roeder; orientador Juliano Gueretz;
coorientadora Elizabeth Schwegler; coorientadora
Vanessa Peripolli. -- Araquari, 2024.
28 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Araquari, , Araquari, 2024.

Inclui referências.

1. Zoológico. 2. Bem-estar animal. 3. Mega
Vertebrados. 4. Condicionamento Operante. I. Gueretz,
Juliano, II. Schwegler, Elizabeth. III. Peripolli,
Vanessa. IV. Instituto Federal Catarinense. . V.
Título.

JOÃO VITOR DE CAMPOS ROEDER

**INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO OPERANTE COM REFORÇO
POSITIVO SOBRE O COMPORTAMENTO DE ELEFANTES ASIÁTICOS (*Elephas
maximus*) SOB CUIDADOS HUMANOS**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Produção em Sanidade Animal e aprovada em sua forma final pelo curso de Mestrado em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense – *Campus Araquari*.

Prof. Juliano Santos Gueretz, Dr. Orientador

Instituto Federal Catarinense - Araquari



Documento assinado digitalmente
JULIANO SANTOS GUERETZ
Data: 18/07/2024 13:18:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Ivan Bianchi, Dr.

Coordenador Mestrado Produção e Sanidade Animal Instituto Federal Catarinense



Documento assinado digitalmente
IVAN BIANCHI
Data: 18/07/2024 13:34:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Cristiane Kiyomi Miyaji Kolesnikovas, Dr.^a

Associação R3 Animal

Prof.^a Ana Carolina Gonçalves Dos Reis, Dr.^a

Instituto Federal Catarinense – *Campus Concórdia*

Araquari

2024

De Campos Roeder, João Vitor

Influência do Condicionamento Operante com Reforço Positivo Sobre o Comportamento de Elefantes Asiáticos (*Elephas maximus*) Sob Cuidados Humanos / João Vitor de Campos Roeder - 2024

Páginas 38.

Orientador: Juliano Gueretz

Co-orientadoras: Elizabeth Schwegler e Vanessa Peripolli

Dissertação (Mestrado Profissional) / Instituto Federal Catarinense, Pós-Graduação *strictu sensu* em Produção e Sanidade Animal.

1. Zoológico; 2. Bem-estar animal; 3. Mega vertebrados; 4. Condicionamento operante

João Vitor de Campos Roeder

**Influência do Condicionamento Operante com Reforço Positivo Sobre o
Comportamento de Elefantes Asiáticos (*Elephas maximus*) Sob Cuidados Humanos**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 28/06/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Juliano Santos Gueretz (Orientador)

Doutor em Ciência Animal pela Universidade do Estado de Santa Catarina

Instituto Federal Catarinense *Campus* Araquari

Prof.^a. Dr.^a. Ana Carolina Gonçalves Dos Reis

Doutora em Cirurgia Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita

Filho - FCAV Jaboticabal

Instituto Federal Catarinense *Campus* Concórdia

Dr.^a. Cristiane Kiyomi Miyaji Kolesnikovas

Doutora em Patologia Experimental e Comparada pela Universidade de São Paulo

Associação R3 Animal

Dedico a todos os animais. Obrigado por existirem

Agradecimentos

À minha família, principalmente meus pais por desde pequeno me levarem a zoológicos e me ensinar a importância de respeitar e amar os animais. Obrigado por me mostrarem esse mundo animal desde criança.

À Camila Floriani, minha esposa, que sempre me incentivou, apoiou e embarcou comigo em todas as minhas “loucuras” para ver bicho fosse em ZOO ou no meio do mato. Obrigado por tentar entender o que eu não consigo explicar sobre o quanto gosto de animais.

Ao parque Beto Carrero World por permitir a realização da pesquisa utilizando os animais dentro das suas dependências e em especial aos amigos do ZOO Beto Carrero. Sem vocês o projeto não teria sido concluído.

Ao meu orientador, Professor Juliano Gueretz e co-orientadoras Professora Elizabeth Schwegler e Vanessa Peripolli, por toda a paciência, incentivo, tutoria e por aceitarem o desafio do meu projeto.

Agradeço também à Dr^a Ana Carolina dos Reis e Dr^a Cristiane Kolesnikovas pelo interesse e por aceitarem formar a banca avaliadora. Com certeza suas considerações serão de grande valia para engrandecer esta dissertação.

Ao Instituto Federal Catarinense (IFC) e Laboratório Vetex pela disponibilidade e processamento das amostras

Por último e talvez as mais importantes, à Baby e Princess (*In memoriam*), minhas amigas elefantes. Foi um prazer inexplicável fazer parte da vida de vocês e vocês da minha por mais de 4 anos. Obrigado por tudo.

Resumo

DE CAMPOS ROEDER, João Vitor. **Influência do Condicionamento Operante com Reforço Positivo Sobre o Comportamento de Elefantes Asiáticos (*Elephas maximus*) Sob Cuidados Humanos**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2024.

A população de elefantes asiáticos (*Elephas maximus*) está em declínio devido à caça, degradação de seu habitat e da influência antrópica. Portanto, torna-se necessária a manutenção destes animais sob cuidados humanos, para fins de conservação. Os cuidados vão além de alimentação e habitat de qualidade, requerem manejo diário objetivando treinamento e aproximação do animal para avaliação e cuidados, principalmente com os pés, área crítica para sua saúde, cuidando assim de seu bem-estar. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do condicionamento operante com reforço positivo no bem-estar de dois elefantes asiáticos mediante análises comportamentais por etograma e variação da concentração de cortisol salivar em dois diferentes cenários, considerando como variáveis a realização ou não do condicionamento operante. O período de avaliação comportamental foi realizado, sempre com os dois elefantes, durante 17 dias sendo, 10 dias para avaliação do treinamento com reforço positivo e 7 dias para dias sem treinamento, totalizando 88 horas de avaliação para os dois animais. As colheitas de saliva foram realizadas durante o mesmo período de avaliação comportamental, totalizando 54 amostras. Após a colheita, as amostras foram identificadas e congeladas. Posteriormente, foram diluídas em álcool metílico 80% e, do sobrenadante foi realizada a dosagem de cortisol, utilizando o método de quimioluminescência. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas, usando o teste de Tukey ajustado ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Não foram observadas alterações significativas nos níveis de cortisol salivar nos dois cenários, tampouco variação entre os dois animais. Quanto ao etograma, ambos animais demonstraram maior atividade em dias com treinamento com reforço positivo, principalmente no período da tarde, após o treinamento. Observou-se maior quantidade de comportamentos positivos e naturais em dias com treinamento se comparados a dias sem treinamento. Com os resultados, conclui-se que o treinamento operante com reforço positivo não acarretou estresse fisiológico nos animais, além de estimulá-los a ficarem mais ativos e apresentar comportamentos naturais à espécie.

Palavras-chave: zoológico; bem-estar animal; mega vertebrados; treinamento operante

Abstract

DE CAMPOS ROEDER, João Vitor. **Influence of Operant Conditioning with Positive Reinforcement on the Behaviour of Asian Elephants (*Elephas maximus*) Under Human Care.** Dissertation (Master degree in Science) - Postgraduate Course in Animal Production and Health, Vice-Dean of Research, Postgraduate Studies and Innovation, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2024.

The population of Asian elephants (*Elephas maximus*) is in decline due to hunting, habitat degradation and human influence. Therefore, it is necessary to keep these animals under human care for conservation purposes. Care goes beyond quality food and habitat, it requires daily management aimed at training and approaching the animal for assessment and care, especially with their feet, a critical area to its health, thus taking care of its well-being. The objective of this study was to evaluate the influence of operant conditioning with positive reinforcement on the well-being of two Asian elephants through behavioral analysis using ethogram and variation in salivary cortisol concentration in two different scenarios, considering with variables the performance or not of operant conditioning. The behavioral evaluation period was carried out, always with both elephants, for 17 days, 10 days of evaluation was with positive reinforcement training and 7 days without training, totaling 88 hours of evaluation for both animals. Saliva collections were carried out during the same behavioral assessment period, totaling 54 samples. After collection, the samples were identified and frozen. Subsequently, they were diluted in 80% methyl alcohol and the supernatant was measured for cortisol using the chemiluminescence method. The results were subjected to analysis of variance and means were compared, using the Tukey test adjusted to a significance level of 5% ($p < 0.05$). No significant changes were observed in salivary cortisol levels in both scenarios, nor any variation between the two animals. As for the ethogram, both animals demonstrated greater activity on days with positive reinforcement training, especially in the afternoon, after training. A greater number of positive and natural behaviors were observed on days with positive reinforcement training compared to days without training. With these results, it is concluded that operant training with positive reinforcement did not cause physiological stress in the animals, in addition to encouraging them to become more active and exhibit behaviors natural to the species.

Keywords: zoo; animal wellness; mega vertebrates; operant training

Lista de Figuras

Figura 1	Portão de Treinamento do Zoológico do Parque Beto Carrero World, vista posterior (A) e vista frontal (B)	11
Figura 2	Exemplo de colheita de saliva durante o treinamento operante	14
Figura 3	Concentração de cortisol salivar avaliados nos três cenários pré-estabelecidos para cada elefante.....	16
Figura 4	Média diária de comportamentos positivos e negativos por elefante em dias com e sem treinamento operante	17
Figura 5	Média diária de comportamentos negativos por elefante no período pré/pós treinamento e antes/após 11 horas.....	18
Figura 6	Média diária de comportamentos positivos divididos por elefante no período pré/pós treinamento e antes/após 11 horas.....	19

Lista de Quadros

Quadro 1	Modelo de catalogação dos comportamentos observados nos elefantes durante três dias prévios ao início da avaliação do Etograma.....	12
Quadro 2	Modelo de etograma utilizado para avaliação comportamental individual dos elefantes.....	13
Quadro 3	Demonstração dos dois diferentes cenários avaliados e sua metodologia.....	13

Lista de Abreviaturas e Siglas

ALPZA	Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios
AZAB	Associação de Zoológicos e Aquários do Brasil
BIAZA	British and Irish Association of ZOOs and Aquariums
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
EAZA	European Association of ZOOs and Aquaria
IUCN	International Union for Conservation of Nature
LEDVET	Laboratório de Ensino e Diagnóstico em Medicina Veterinária

Lista de Símbolos

<	Menor que
%	Porcentagem
©	Copyright
Kg	quilograma
°C	Grau Celsius
M ²	Metro quadrado
mL	Mililitros
G	Grama
°	Graus
'	Minuto
“	Segundo

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	1
2	OBJETIVOS	6
2.1	Geral	6
2.2	Específicos	6
3	INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO OPERANTE COM REFORÇO POSITIVO SOBRE O COMPORTAMENTO DE ELEFANTES ASIÁTICOS (<i>Elephas maximus</i>) SOB CUIDADOS HUMANOS	7
3.1	Introdução	7
3.2	Material e Métodos	9
3.2.1	Animais e Instalações	9
3.2.2	Avaliação comportamental	11
3.2.3	Definição dos cenários e colheita da saliva para dosagem de cortisol.....	13
3.2.4	Análise do cortisol	15
3.2.5	Análise estatística	15
3.3	Resultados	16
3.4	Discussão	19
3.5	Conclusão	23
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
5	REFERÊNCIAS	26

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

Os elefantes pertencem à família Elephantidae, sendo a única remanescente da ordem Proboscidea. Fazem parte da grande linha evolutiva que converge aos ungulados ou mamíferos com cascos. Fósseis mostram o desenvolvimento para a condição de animais ungulados, mas os membros permaneceram primitivos e as unhas não evoluíram para cascos adequados. Esta linha da evolução desapareceu deixando como remanescentes os Sirênios (mamíferos aquáticos) e os elefantes (EAZA, 2020).

Pesquisas genéticas sugerem a presença de três espécies de elefantes no mundo, sendo duas de elefante africano (*Loxodonta africana* e *Loxodonta cyclotis*) e uma asiática (*Elephas maximus*). Existem ainda, variações genéticas oriundas destas três espécies, sendo chamadas de subespécies. Só o elefante asiático, por exemplo, possui treze subespécies reconhecidas, sendo o *E. M. indicus* no continente asiático, *E. m. maximus* no Sri-Lanka e *E. m. sumatranus* em Sumatra (IUCN, 2022). A subespécie indiana é a de maior distribuição geográfica (EAZA, 2020).

Atualmente, o elefante asiático está classificado na lista vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (*International Union for Conservation of Nature's* – IUCN) como ameaçado e o elefante africano classificado como vulnerável. Ambos enfrentam, como principais fatores da redução de sua população, a fragmentação do seu habitat, a pressão humana sobre as espécies com a expansão agrícola, confrontos, além da falta de recursos financeiros para a gestão da conservação das espécies (EAZA, 2020).

Estes animais possuem uma extensão muscular poderosa das narinas, denominada tromba, sendo um órgão primário de apreensão e sucção de líquidos e alimento. Pelo menos 70% do ar inspirado pelo animal é pela tromba, que também pode ser usada em ações de defesa e ataque. Em cada narina há um esfíncter muscular na junção da tromba com o crânio, que impedem que poeira e líquido adentrem os pulmões. O elefante asiático apresenta uma única projeção na ponta da tromba,

enquanto que o africano possui duas, que o possibilita pegar itens tão pequenos quanto um grão de milho (Fowler, 2014).

Os elefantes têm pés digitígrados modificados. Seus dedos ficam em posição semi-vertical, estando na face cranial e lateral de uma grande estrutura almofadada e fibroelástica (Fowler, 2014). A pata é altamente especializada para acomodar o peso do animal. A anatomia dos pés dos elefantes asiáticos e africanos é basicamente a mesma, diferenciando-se no número de unhas dos pés, sendo o asiático provido de cinco unhas nos membros torácicos e quatro nos pélvicos, enquanto o africano apresenta quatro nos torácicos e três nos pélvicos (Fowler, 2006).

A base do pé dos elefantes é coberta por uma sola cornificada, flexível e macia, denominada coxim, a qual simula o bulbo do casco dos bovinos. Ao contrário dos ungulados, nos elefantes as unhas não apoiam o peso do animal. Os cuidados com a sola, unhas e cutículas é um dos procedimentos mais comuns e necessários em animais sob cuidados humanos (Fowler, 2014). Em um estudo retrospectivo com 379 elefantes, 50% foram afetados por distúrbios nos pés. Elefantes africanos parecem ter menos problemas nos pés do que asiáticos, mas a razão é desconhecida (Fowler, 2006).

Elefantes são animais complexos, com os quais as pessoas se identificam e podem vir a criar uma conexão. Esta conexão se deve ao longo período de relacionamento com o homem e, provavelmente por esta ligação de longa data, existam críticas e controvérsias a respeito dos cuidados e manejo com a espécie em jardins zoológicos e mantenedouros (Fowler, 2006). Quase um terço da população de elefantes asiáticos reside sob cuidados humanos, principalmente em locais onde historicamente estes mamíferos eram usados para o trabalho. Atualmente estima-se um número aproximado de 9 mil elefantes africanos e asiáticos sob cuidados humanos, em aproximadamente 4 mil instituições de 125 países (Elephant Database, 2024).

O desafio em tratar infecções podais em elefantes está em prevenir a contaminação da ferida após a limpeza inicial, e isso é praticamente impossível, a não ser que o animal seja treinado para possibilitar o manejo do local (Fowler, 2014). O único método recomendado de manejo de elefantes em zoológicos é através de contato protegido, onde o manejo é realizado por meio de barreira física construída propositalmente para trabalhar com o animal. O treinamento é obtido por meio de técnicas de condicionamento com reforço positivo usando bastões-alvo e recompensas alimentares, posicionamento corporal e participação voluntária do animal (EAZA, 2020).

Os elefantes são neofóbicos, ou seja, podem apresentar medo e receio de novos objetos, situações e pessoas estranhas próximas a eles, aumentando seus níveis de estresse. As respostas variam de acordo com a personalidade individual. Muitas vezes a neofobia diminui com o tempo, à medida que o animal é exposto à nova situação e tem oportunidade de se familiarizar em seu próprio tempo, aprendendo a lidar da melhor maneira com os novos estímulos (EAZA, 2020).

Os zoológicos têm o desafio de projetar e promover um ambiente que atenda às necessidades espécie-específicas, diminuindo assim o estresse e preservando o bem-estar e saúde do animal. Este desafio é ainda maior para elefantes, pois além de seu bem-estar ser foco do público devido à sua popularidade, é um animal que demanda grandes exigências em sua manutenção como grande aporte de alimento, estrutura adequada de manejo, espaço amplo e recinto adequado levando-se em consideração o tipo de solo e pontos de água, sombra e banhos de areia, por exemplo. Seu manejo deve ser útil para conservar os animais dentro das instituições e suas práticas devem garantir segurança aos operadores e resultar em benefícios para o animal, não sendo permitidos métodos agressivos (BIAZA, 2010; Hambrecht et al. 2021).

Pensando no bem-estar de elefantes sob cuidados humanos, avaliar os níveis de estresse agudo e crônico nestes animais é desejável. Os níveis de cortisol têm sido

utilizados como parâmetro bioquímico para avaliação psicossomática nestes animais, com concentrações mais altas correlacionadas a níveis aumentados de estresse. Sua dosagem pode ser obtida via amostras sanguíneas, fezes e saliva (Dathe et al. 1992; Bechert et al. 2021).

Em uma situação de estresse, o hipotálamo é estimulado a produzir o hormônio liberador de corticotrofina. Este por sua vez, estimula a parte anterior da hipófise a liberar hormônio adrenocorticotrófico que, por sua vez, estimula a liberação dos glicocorticoides (cortisol/corticosterona). Estes, inibem o acúmulo de glicose e disponibilizam energia para as respostas de “luta ou fuga” do animal frente ao evento estressor. Simultaneamente, modelam sistemas imunológico, reprodutor e digestório, até que o agente estressor seja reduzido ou eliminado (Altino et al., 2018).

O cortisol pode ser produzido após exposição a um agente estressor ou por estímulos que ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal resultando em uma interrupção da homeostase da glicose, estando geralmente associado a problemas físicos, psicológicos e excitação, incluindo eventos sociais como agressão (Leeds et al., 2019). O aumento na concentração de glicocorticoides não é exclusivo de situações adversas. Um dos objetivos da técnica de enriquecimento ambiental, por exemplo, é a promoção do aumento de comportamento exploratório para diminuir a inatividade dos animais, havendo neste processo um incremento de glicocorticoides (Altino et al., 2018).

Por outro lado, deve-se considerar que a elevação dos níveis de cortisol pode estar associada ao incremento de taxas de comportamento anormais, como as estereotipias, sendo consideradas um achado clínico de estresse. É recomendado, portanto, coletar dados comportamentais em paralelo às determinações de metabólitos de glicocorticoides. Desta forma, a quantificação de comportamentos estereotipados e outros problemas indicativos de estresse provê uma medida complementar, para interpretação dos resultados após monitoramento não invasivo do estresse em animais silvestres (Altino et al., 2018).

Para a colheita sanguínea em mega vertebrados, seria necessária contenção, o que acarretaria uma situação negativa ao animal, afetando deste modo os resultados (Altino et al., 2018). Várias espécies, incluindo os elefantes, têm demonstrado que os níveis de glicocorticoides na saliva refletem de forma confiável os níveis encontrados no sangue, embora não se tenha informações sobre o tempo para a produção de cortisol salivar frente a estressores agudos em elefantes, Walker et al. (1982) observaram tempo inferior a dois minutos para alterações de cortisol no plasma e em seguida na saliva, corroborando Hambrecht et al. (2021) os quais afirmam em seu estudo que o cortisol salivar aumenta desde o início e atinge níveis máximos entre 10 a 50 minutos, dependendo da espécie alvo, iniciando a recuperação aos níveis basais em até 60 minutos. Em outros mamíferos, observou-se aumento do cortisol salivar com picos entre 10-50 minutos após o início de um agente estressor (Hambrecht et al., 2021). Devido à facilidade de implementação e natureza não invasiva, as observações comportamentais por etograma podem ser concomitantemente utilizadas junto às análises laboratoriais de cortisol salivar (Webb et al., 2020; Fernandes, 2021).

A alta capacidade cognitiva, a dificuldade em elaborar uma rotina dinâmica e a falta de técnicas seguras para realizar colheitas sanguíneas traz a necessidade do condicionamento operante com reforço positivo como um auxílio à necessidade da colheita de material biológico para elefantes sob cuidados humanos. Desta maneira, é possível realizar a avaliação da concentração de glicocorticoides presentes nas fezes, urina e saliva de maneira segura e sem gerar experiências negativas para o animal (Carlstead, 2019).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a influência do condicionamento operante com reforço positivo no bem-estar de elefantes asiáticos (*Elephas maximus*) sob cuidados humanos.

2.2 Específicos

Avaliar a influência do condicionamento operante com reforço positivo nos níveis de cortisol salivar em um cenário com realização do treinamento e outro sem a realização do treinamento operante.

Avaliar a influência do condicionamento operante com reforço positivo no comportamento dos animais, por meio do etograma, com e sem treinamento operante.

3 INFLUÊNCIA DO CONDICIONAMENTO OPERANTE COM REFORÇO POSITIVO SOBRE O COMPORTAMENTO DE ELEFANTES ASIÁTICOS (*Elephas maximus*) SOB CUIDADOS HUMANOS

Autores

João Vitor de Campos Roeder^{1,2}, , Kendhra Lindner Didoné³, Elizabeth Schwegler¹,
Vanessa Peripolli¹, Juliano Santos Guerez¹

¹ Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal. Instituto Federal Catarinense (IFC), Campus Araquari, Araquari, Santa Catarina, Brasil

² Zoológico Beto Carrero World, Penha, Santa Catarina, Brasil

³ Consultório Veterinário Amor Animal, Itajaí, Santa Catarina, Brasil

3.1 Introdução

Os elefantes pertencem à família Elephantidae, sendo a única remanescente da ordem Proboscidea. Pesquisas genéticas sugerem a presença de três espécies no mundo, sendo duas de elefante africano (*Loxodonta africana* e *Loxodonta cyclotis*) e uma asiática (*Elephas maximus*). Só o elefante asiático possui treze subespécies reconhecidas, sendo o *E. M. indicus* no continente asiático, *E. m. maximus* no Sri-Lanka e *E. m. sumatranus* em Sumatra. A subespécie indiana é a de maior distribuição geográfica (EAZA, 2020; IUCN, 2022).

O elefante asiático está classificado na lista vermelha da *International Union for Conservation of Nature's* - IUCN como ameaçado e o elefante africano como vulnerável. Ambos enfrentam como principais fatores da redução de sua população, a fragmentação do seu habitat devido à pressão humana, caça, além da falta de recursos financeiros para a gestão da conservação das espécies (EAZA, 2020).

Quase um terço da população de elefantes asiáticos reside sob cuidados humanos, principalmente em locais onde historicamente estes animais eram usados para o trabalho. Aproximadamente 9.000 espécimes estão alojados em zoológicos e circos pelo mundo (Elephant Database, 2024).

Os zoológicos têm o desafio de projetar e promover um ambiente que atenda às necessidades espécie-específicas, diminuindo assim o estresse e preservando o bem-estar e saúde. Este desafio é ainda maior para elefantes, pois além de seu bem-estar ser foco do público visitante devido à sua popularidade, é um animal que tem grandes exigências em sua manutenção (BIAZA, 2010; Hambrecht et al., 2021).

Pensando no bem-estar destes animais, avaliar os níveis de estresse agudo e crônico é desejável para identificar possíveis agentes estressores e determinar níveis de bem-estar. Os níveis de cortisol têm sido utilizados como um parâmetro bioquímico, com concentrações mais altas podendo ser correlacionadas a níveis aumentados de estresse. Sua dosagem pode ser obtida via amostras sanguíneas, fezes e saliva (Dathe et al., 1992; Bechert et al., 2021)

Várias espécies, incluindo os elefantes, têm demonstrado que os níveis de glicocorticoides na saliva refletem de forma confiável os níveis encontrados no sangue. Embora não se tenha informações sobre o tempo para a produção de cortisol salivar frente a estressores agudos em elefantes, Walker et al. (1982) observaram o tempo de 2 minutos para alterações de cortisol no plasma e em seguida na saliva, corroborando Hambrecht et al. (2021) os quais afirmam em seu estudo que o cortisol salivar aumenta desde o início e atinge níveis máximos entre 10 a 50 minutos, dependendo da espécie alvo.

Por outro lado, deve-se considerar que a elevação de cortisol pode estar associada ao aumento de taxas de comportamento anormais, como as estereotípias, sendo consideradas um achado clínico de estresse. É recomendado, portanto, coletar dados comportamentais em paralelo às determinações de metabólitos de glicocorticoides. Desta forma, a quantificação de comportamentos estereotipados e

outros problemas indicativos de estresse provê uma medida complementar, para interpretação dos resultados após monitoramento não invasivo do estresse em animais silvestres (Altino et al., 2018).

Por serem facilmente implementadas, de natureza não invasiva e sem necessidade de contenção do animal, as observações via etograma podem ser realizadas concomitantes a análises laboratoriais de cortisol salivar. O etograma é uma série de identificações de comportamentos com anotação de suas repetições após eventos específicos ou não (Webb et al., 2020; Fernandes, 2021).

A alta capacidade cognitiva dos elefantes, a dificuldade em elaborar uma rotina dinâmica para estes animais e a falta de técnicas seguras em realizar colheitas sanguíneas desta espécie, traz a necessidade do condicionamento operante com reforço positivo como alternativa à necessidade de colheita minimamente invasiva em animais mantidos em zoológico. Desta maneira, é possível realizar a avaliação da concentração de glicocorticoides presentes nas fezes, urina e saliva, de maneira segura e pouco estressante (Carlstead, 2019).

Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar a influência do condicionamento operante com reforço positivo, no bem-estar de elefantes asiáticos (*Elephas maximus*) sob cuidados humanos pela análise comportamental individual e mensuração de metabólitos salivares de glicocorticoides individuais.

3.2 Material e Métodos

O projeto, bem como os procedimentos realizados na pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal Catarinense *Campus* Araquari sob protocolo de número 415/2022.

3.2.1 Animais e Instalações

Foram utilizados dois elefantes asiáticos (*Elephas maximus*) com 31 (Baby) e 78 anos (Princess) de idade, sem parentesco e oriundas de uma instituição zoológica, o

ZOO Beto Carrero World, situado na cidade de Penha, Santa Catarina (latitude 26°46'10" Sul e a uma longitude 48°38'45" Oeste, estando a uma altitude de 20 metros). Estes dois exemplares fazem parte do pequeno plantel de elefantes asiáticos residentes no Brasil o qual totalizam 15 animais, sendo que 9 deles encontram-se em instituições zoológicas.

Os dois elefantes vivem no local há mais de 30 anos e fazem parte do programa de bem-estar animal da instituição, recebendo alimentação variada e de qualidade, em torno de 100 kg de alimento para cada uma por dia, bem como passam por programa de enriquecimento ambiental, e treinamento operante focado em medicina preventiva, realizando-se avaliação física e manejo das unhas diariamente. O recinto que abriga os dois exemplares fêmeas possui área total aproximada de 1353m², além de área fora da exibição (área de manejo) com aproximadamente 318m².

A instituição zoológica do parque Beto Carrero World é creditada pela Associação de Zoológicos e Aquários do Brasil (AZAB) bem como pela Associação Latino-Americana de Parques Zoológicos e Aquários (ALPZA), possuindo programa de bem-estar animal e equipe fixa qualificada para realizar o condicionamento operante em elefantes asiáticos. O treinamento com os animais do estudo seguiu estas diretrizes no que se refere ao acesso à boca do animal, olhos, orelhas, colheita sanguínea, palpação abdominal, inspeção da cauda e limpeza das unhas. O comando verbal foi, predominantemente, composto por uma ou duas palavras, como por exemplo “mão” e “outra mão”. Ambos animais passavam pelo mesmo treinamento e com os mesmos comandos.

Para isso, foram utilizadas as estruturas desenvolvidas especialmente para treinamento dos elefantes, sendo constituída de um portão de ferro (Figuras 1a e 1b) adaptado com aberturas laterais e uma câmara central, a qual proporciona ao animal poder colocar a cabeça dentro. A instituição possui equipe técnica capacitada para o treinamento, bem como local para avaliação de etograma de modo que o animal não possa visualizar o observador.



Figura 1. Portão de Treinamento do Zoológico do Parque Beto Carrero World, vista posterior (A) e vista frontal (B).

3.2.2 Avaliação comportamental

O resultado da realização do condicionamento operante positivo foi avaliado por meio do etograma individual de cada elefante. Baseando-se no fato de que o treinamento ocorria sempre às 11h, as avaliações comportamentais eram realizadas no período da manhã (9h30 às 11h) e à tarde (13h às 14h30) nos dias com treinamento. As observações em dias sem treinamento ocorriam pela manhã (10h15 às 11h30) e à tarde (13h às 13h45). Os elefantes foram identificados por suas características particulares (score corporal, conformação de corpo/cabeça e manchas na pele) e observado seu comportamento a cada minuto.

Para realizar a avaliação pelo etograma, foram observados, durante três dias, o comportamento dos animais nos períodos pré-determinados. Após o período de catalogação e descrição dos comportamentos (Quadro 1), iniciou-se a avaliação pelo etograma por meio de modelo próprio desenvolvido para cada elefante (Quadro 2), durante 17 dias, sendo 10 dias para avaliação com treinamento e 7 dias onde o animal

não passava por treinamento nem recebia outros estímulos. As avaliações totalizaram 102 horas sendo sempre a mesma pessoa avaliando o comportamento dos animais.

Para melhor entendimento e facilitar a avaliação, os comportamentos observados foram classificados em normal (biológico) à espécie, como por exemplo “forragear”, “alimentação”, “bufada”, “banho de terra” e em comportamentos indesejáveis e interpretados como algo negativo ao animal, como por exemplo “*pacings*”, “tentar abrir o portão” e “balançar-se”.

Quadro 1. Modelo de catalogação dos comportamentos observados nos elefantes durante três dias prévios ao início da avaliação do Etograma.

Animal:		Data: __/__/__	Avaliador:
	Comportamento	Descrição	
Positivo			
1	Forragear	Tatear/procurar algo no chão do recinto	
2	Locomoção	Andar pelo recinto	
3	Caçar algo	Ir atrás de algum animal/objeto específico	
4	Bufada	Expelir ar/água/areia pela tromba	
5	Alimentação	Ingerir alimento ofertado	
6	Manutenção	Permanecer imóvel sem nenhuma outra atividade	
7	Urinar/Defecar	Urinar e/ou defecar	
8	Banho de água/terra/feno	Despejar água/terra/feno pelo corpo de maneira voluntária	
9	Tromba na boca	Manter a tromba na boca por algum motivo	
10	Abanar orelha/cauda	Movimentar orelha/cauda de maneira normal	
11	Pegar objeto	Apreender objeto no recinto com a tromba	
12	Interação Positiva	Interagir com o outro exemplar de maneira harmoniosa	
13	Coçar-se	Friccionar a tromba ou corpo em algum local	
14	Carregar alimento	Transitar pelo recinto com alimento apreendido pela tromba	
Negativo			
15	<i>Pacing</i>	Andar em determinado local de maneira repetitiva	
16	Tentar abrir portão	Tentativa de abrir portão do recinto de exposição	
17	Balançar-se	Balançar a tromba e corpo lateralmente em movimento repetitivo	

Quadro 2. Modelo de etograma utilizado para avaliação comportamental individual dos elefantes.

ETOGRAMA				
Elefante:	Data: __/__/__	Treinamento: Sim () Não ()	Período: M () T ()	Avaliador:
Minuto	Comportamento	Observação		

3.2.3 Definição dos cenários e colheita da saliva para dosagem de cortisol

Foram definidos dois diferentes cenários para avaliação comportamental e dosagem de cortisol salivar, conforme os critérios descritos no quadro 3.

Quadro 3. Demonstração dos diferentes cenários avaliados e sua metodologia.

Cenário	Metodologia	Número de colheitas	Total
1 – Com Treinamento Operante: Pré-treinamento e pós-treinamento	Colheita 30 minutos antes do treinamento; Colheita 30 minutos após o treinamento;	10 dias	20
2 – Sem Treinamento Operante	Colheita 30 minutos após o horário rotineiro do treinamento	7 dias	7
Total (por elefante)			27

O treinamento com reforço positivo objetivando o manuseio de pontos específicos do animal, principalmente as mãos e pés, sempre foi realizado às 11h, com duração aproximada de 20 minutos de treino para cada elefante. Após o treinamento,

o primeiro animal a participar do treinamento, retornava para a área de exposição, dando espaço para o segundo animal iniciar o treinamento.

Para a colheita de saliva em todos os cenários, os animais foram chamados até o portão do recinto (não o de treinamento) e solicitado que abrissem a boca, de modo que o operador pudesse raspar a boca e língua do animal com uma espátula a fim de obter maior conteúdo e armazená-lo em tubo Falcon estéril (Figura 2). Após a colheita, as amostras foram identificadas com nome do animal, data e em qual cenário realizou-se a colheita, sendo imediatamente congelada a -25° e posteriormente enviada para processamento e análise.



Figura 2. Exemplo de colheita de saliva durante o treinamento operante.

3.2.4 Análise do cortisol

As amostras congeladas foram enviadas e processadas em uma primeira etapa no Laboratório de Ensino e Diagnóstico em Medicina Veterinária – LEDVET, do Instituto Federal Catarinense *Campus Araquari*, SC. Inicialmente as amostras de saliva foram pesadas e sua massa expressa de forma centesimal. Foi adicionado, num tubo de vidro com capacidade para 10mL, 5mL de álcool metílico na concentração de 80%. A mistura foi manualmente homogeneizada por um minuto e centrifugada em 1800 g por 30 minutos. Do sobrenadante foram retirados 3mL, os quais foram congelados a -25°C. Após processo de diluição as amostras foram enviadas para o laboratório VETEX, localizado em Florianópolis para a dosagem de cortisol. Antes de iniciar as avaliações oficiais para a pesquisa, realizou-se um piloto com 10 amostras para validação dos valores e calibração da máquina.

Esta segunda etapa constituiu no descongelamento das amostras e utilização do equipamento IMMULITE 2000© pelo método de quimiluminescência. Utilizou-se o kit VCO Veterinary Cortisol© para execução da dosagem, onde a amostra de saliva diluída permaneceu por cerca de 35 minutos em avaliação no equipamento para então concluir a reação hormonal.

3.2.5 Análise estatística

Os resultados das concentrações de cortisol salivar e da avaliação comportamental (etograma) foram testados quanto à normalidade da distribuição e homogeneidade dos resíduos, através dos testes de Shapiro Wilk e de Levene, respectivamente. As análises foram realizadas no programa Statistical Analysis System (SAS Inst. Inc., Cary, NC, versão 9,3) para avaliar o efeito do animal (Princess e Baby) e do cenário (pré-treinamento, pós-treinamento e sem treinamento) sobre a concentração salivar de cortisol e o comportamento dos elefantes. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas usando o teste de Tukey ajustado ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3.3 Resultados

Não houve efeito do animal (Princess e Baby) e dos cenários pré-estabelecidos (pré-treinamento, pós-treinamento e sem treinamento) sobre a concentração de cortisol salivar dos elefantes ($p < 0,05$) (Figura 3)

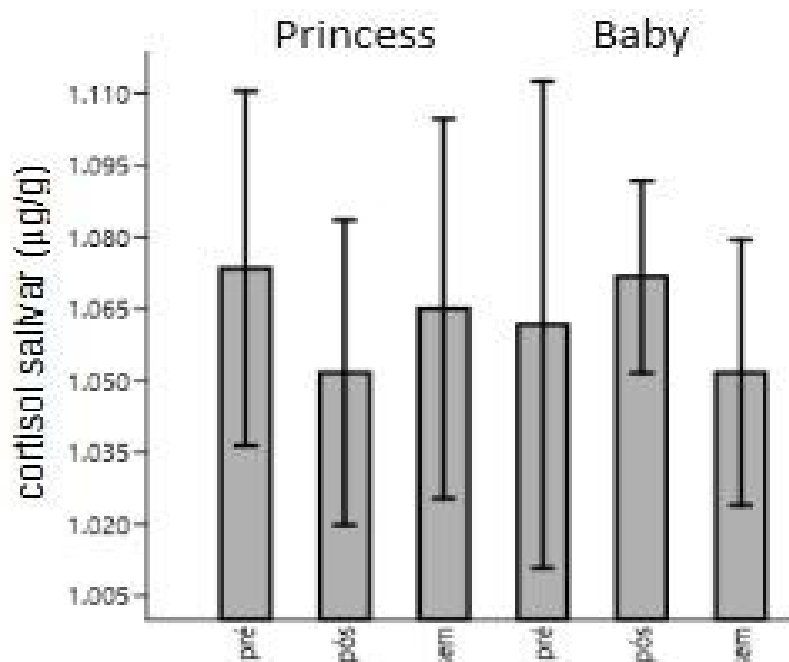


Figura 3. Concentrações de cortisol salivar avaliados nos três cenários pré-estabelecidos para cada elefante.

Em relação à análise de comportamento, ambos elefantes apresentaram alteração comportamental em dias com treinamento e sem treinamento. Um total de 4178 comportamentos foram observados nos dois elefantes em dias com treinamento, sendo 2159 comportamentos para a elefante mais jovem, Baby (animal 1) e 2019 comportamentos para a elefante mais velha, Princess (animal 2). Destes comportamentos, 74,5% e 84,7% respectivamente para o animal 1 e 2, foram interpretados como comportamentos naturais à espécie e consequentemente positivos (Figura 4).

Em dias sem treinamento operante com reforço positivo, observou-se declínio acentuado no número de comportamentos apresentados pelos animais, sendo um total de 1140 comportamentos para os dois elefantes ao longo dos dias de observação. Além da diminuição da atividade, observou-se declínio dos comportamentos naturais para 70,1% e 67% para o animal 1 e 2, respectivamente, além de aumento dos comportamentos indesejáveis para ambos sendo 29,5% e 33% para o animal 1 e 2, respectivamente (Figura 4) em suas médias diárias de comportamento.

Considerando a média diária de comportamentos positivos e negativos, observa-se 2,6 vezes mais comportamentos em dias de treinamento em comparação aos dias sem treinamento, sendo 74,5% e 84,7% comportamentos positivos para o animal 1 e 2, respectivamente (Figura 4).

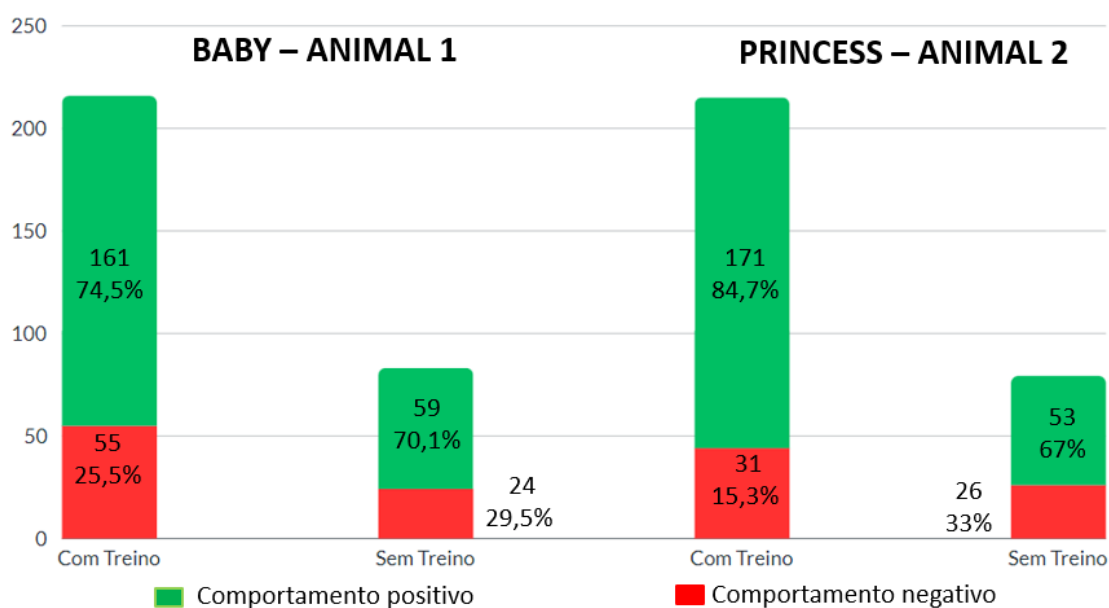


Figura 4. Média diária de comportamentos positivos e negativos por elefante em dias com e sem treinamento operante.

Apesar dos comportamentos indesejados terem sido observados em sua grande maioria nos dias com treinamento (Figura 5), 91,4% e 97% respectivamente para o

animal 1 (Baby) e animal 2 (Princess), as médias diárias negativas não superaram as positivas nos mesmos cenários. Ainda, os mesmos foram observados no período da manhã, antes do treinamento operante, sendo o comportamento negativo de “balançar a tromba” para os lados em movimentos repetitivos, o mais observado em ambos elefantes.

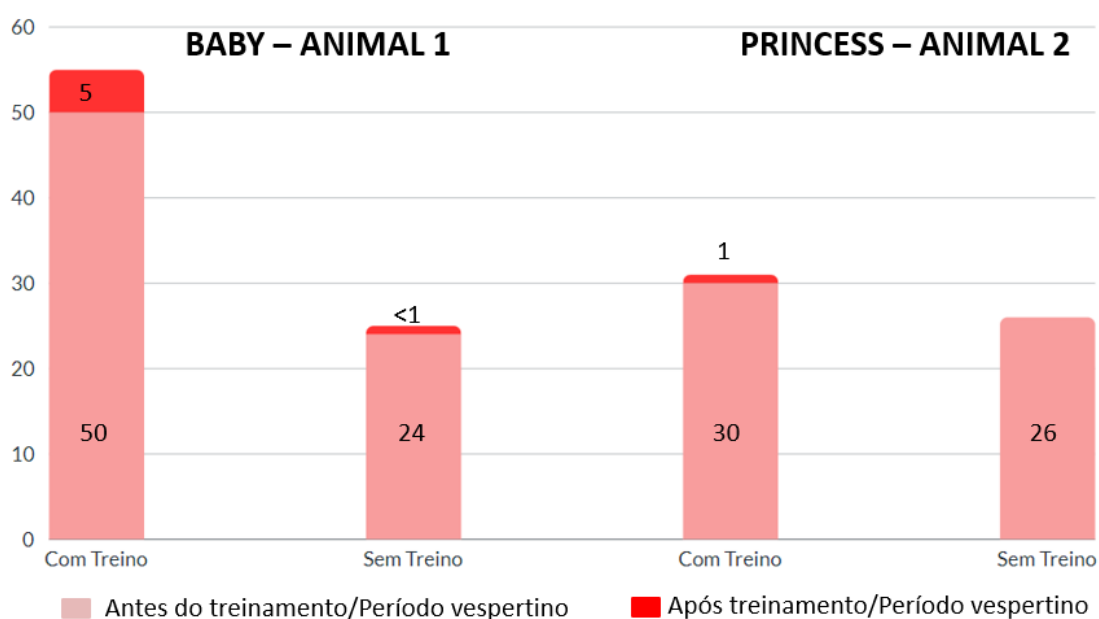


Figura 5. Média diária de comportamentos negativos por elefante no período pré/pós treinamento e antes/após 11 horas.

Além disso, a percentagem de comportamentos negativos em dias sem treinamento reduziu para ambos os animais, sendo estes comportamentos novamente observados em grande parte no período da manhã (97% e 100%) para o animal 1 e 2, respectivamente.

O maior número de comportamentos positivos foi observado em dias de treinamento e principalmente no período vespertino, após treinamento (Figura 6), com aumento de 100,6% e 92% na média de comportamentos diários positivos para o animal 1 e 2, respectivamente, em comparação com as médias de dias sem

treinamento. O comportamento positivo mais observado em ambos elefantes foi o de se alimentar, permanecendo o animal mais tempo se alimentando e/ou interessado no alimento.

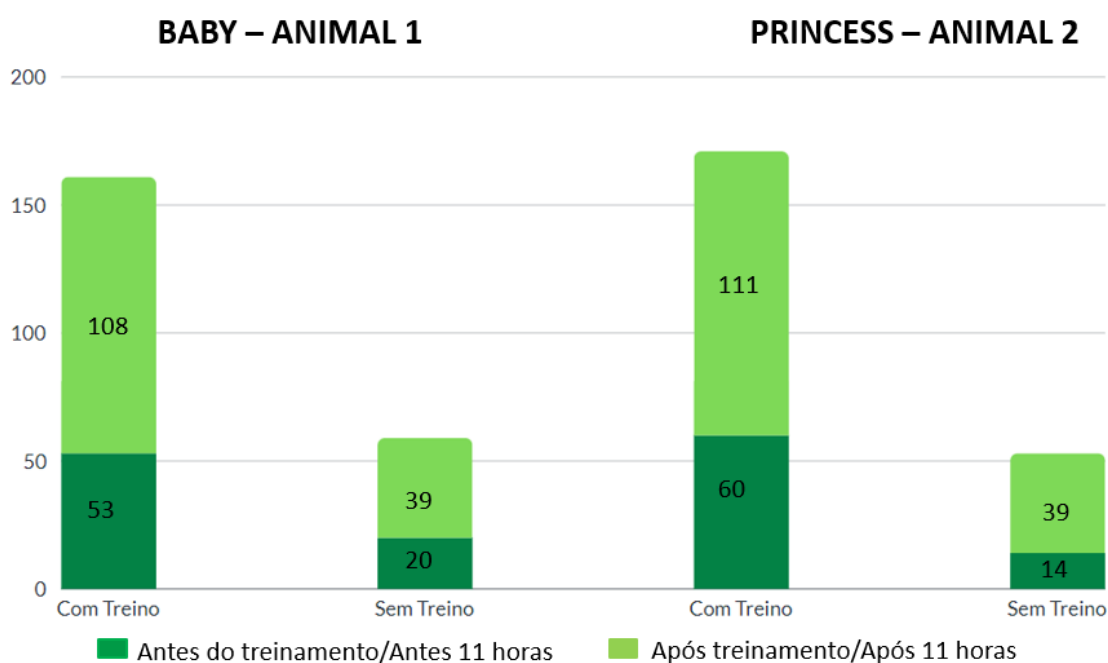


Figura 6. Média diária de comportamentos positivos divididos por elefante no período pré/pós treinamento e antes/após 11 horas.

3.4 Discussão

Apesar de elefantes serem neofóbicos (EAZA, 2020), ambos animais já estavam habituados com o treinamento operante, os técnicos que com estes atuaram passaram por capacitação de modo que, independentemente de quem realizasse o treinamento, os comandos e a atividade seriam sempre iguais. O treinamento operante com reforço positivo baseia-se em dar comandos ao animal e este, após realizá-los corretamente, recebe sua recompensa (reforço positivo), a qual podem ser frutas. O nome do comando e a maneira de acessar o animal podem variar entre as instituições devido a preferências individuais e estrutura disponível. No entanto, durante o congresso da

Associação de Zoológicos e Aquários do Brasil de 2014, foi realizado um nivelamento com todas as instituições zoológicas que possuíam elefantes, com o objetivo de determinar diretrizes básicas de treinamento operante a ser seguido por todas as instituições, resultando em um treinamento uniforme para todos os locais.

Como cada elefante possui sua personalidade e preferências, a avaliação comportamental se torna uma ferramenta importante para adicionar à avaliação dos níveis de cortisol. Descartou-se a avaliação de cortisol fecal pelo tempo de espera para possíveis alterações bem como a possibilidade de perda de material e incerteza acerca de qual animal a amostra pertenceria. Apesar de apresentar uma resposta rápida ao agente estressor (10 minutos), a colheita sanguínea não foi utilizada pois ambos animais não eram totalmente familiarizados ao procedimento. Durante as colheitas sanguíneas de rotina era possível observar comportamento de impaciência, principalmente do elefante mais jovem.

Outro fator limitante foi a necessidade de levar o animal até a área de treinamento para realizar a colheita, mesmo em dias sem treinamento. Este manejo poderia confundir-lo, podendo provocar frustração e aversão à atividade do treinamento. Apesar da colheita sanguínea apresentar valores de cortisol mais acurados em relação ao momento da colheita, provavelmente não refletiria o atual estado fisiológico do animal em relação ao treinamento com reforço positivo e sim em relação ao momento da colheita.

Elegeu-se então a saliva como material de colheita para dosagem por ser uma técnica indolor, pelo tempo de alteração salivar enquadrar-se dentro do intervalo de tempo proposto para as colheitas, não ser necessário levar o animal ao local de treinamento em dias sem treinamento e, pelo fato, dos animais já estarem ambientados com o toque e inspeção oral diária desenvolvida durante o treinamento operante com reforço positivo

Portanto a dosagem de cortisol salivar foi utilizada como ferramenta para verificar a influência do treinamento operante na fisiologia dos elefantes, não tendo como objetivo propor um perfil fisiológico de cortisol para a espécie.

Os níveis de cortisol dos animais não diferiram, considerando os três cenários previamente estabelecidos, tampouco foi observada diferença nos níveis de cortisol entre os animais. O treinamento com reforço positivo poderia ser qualificado como um modo de enriquecimento ambiental, uma vez que o animal é retirado de sua rotina, a fim de realizar uma atividade com recompensa positiva ao final. Esta mudança na rotina pode, fisiologicamente, provocar uma alteração em níveis de cortisol em determinados animais, diferentemente do observado com os elefantes do presente estudo.

O tipo de enriquecimento ou atividade deve variar e não deve ser realizado diariamente (Greco et al.,2016). No entanto, quando um enriquecimento passa a ser diário, o mesmo deixa de ser uma novidade e passa a fazer parte da rotina do animal, uma vez que o mesmo agora espera por este momento durante o dia. Como o treinamento com os elefantes foi realizado diariamente há mais de 5 anos, o mesmo passou a se tornar uma atividade rotineira dos animais, não sendo mais uma novidade e, conseqüentemente, não desencadeou resposta estressora relevante, o que pode ser observado na manutenção dos níveis de cortisol salivar, promovendo melhor qualidade de vida e bem-estar.

Ressalta-se, novamente, que o objetivo da dosagem de cortisol salivar não foi de propor um perfil fisiológico de cortisol para a espécie, mas sim verificar a influência do treinamento operante na fisiologia dos elefantes.

Apesar de não haver um tempo determinado conhecido e comprovado para se avaliar alterações de cortisol sérico em elefantes frente ao agente estressor, é sabido que em várias espécies, 10 minutos são suficientes para se observar a influência do agente. Tem sido observado em várias espécies, inclusive no elefante africano, que o cortisol salivar reflete os níveis séricos encontrados, podendo haver alterações dentro

de 10-50 minutos após o evento estressor, de acordo com a espécie (Hambrecht, et al. 2021) sendo seus valores semelhantes aos encontrados no plasma (Sheriff, 2011). Já nas fezes de elefantes, alterações de glicocorticoides podem ser mensuradas aproximadamente 2 dias após o evento estressor (Wasser, et al. 2000).

O etograma foi uma importante ferramenta para correlacionar e complementar a hipótese da influência benéfica do treinamento operante com reforço positivo no bem-estar em elefantes asiáticos. Apesar de não terem sido observadas alterações significativas nos níveis de cortisol nos cenários pré-estabelecidos, foi possível observar alterações comportamentais importantes em dias com e sem treinamento, antes e depois do treinamento.

Dos 17 comportamentos pré-estabelecidos, 14 foram interpretados como comportamentos naturais/positivos e 3 como indesejados/negativos (quadro 1) (Finch et al. 2020; Bansiddhi et al. 2020). Apesar dos comportamentos indesejados terem sido observados em sua grande maioria nos dias com treinamento (Figura 4), 91,4% e 97% respectivamente para a elefante mais jovem e mais velha, as médias diárias não superaram as médias de comportamentos positivos nos mesmos cenários. Ainda, os mesmos foram observados no período da manhã, antes do treinamento operante, sendo possivelmente explicado pela ansiedade gerada aos animais, uma vez que os mesmos podiam observar a movimentação no local de treinamento e, conseqüentemente, sabiam que participariam do treinamento operante.

A média diária de comportamentos positivos foi observada em maior quantidade em dias de treinamento e principalmente no período vespertino, após o treinamento (Figura 6), onde um aumento de 100,6% e 92% no número de comportamentos positivos foi contabilizado para o animal 1 e 2, respectivamente.

O aumento de expressão comportamental em dia de treinamento e principalmente após treinamento pode ser explicado pelo fato de a atividade de condicionamento operante ser benéfica tanto física quanto mentalmente para estes

animais, deixando-os mais ativos e os estimulando a apresentar comportamentos mais naturais nestes dias.

Tanto a colheita de saliva quanto a avaliação comportamental eram realizados no mesmo dia, sendo então o cortisol dosado referente ao mesmo dia de etograma. Tanto a colheita de saliva quanto a análise comportamental ocorreram entre os meses de julho e agosto. Este período maior foi devido a fatores externos como manutenção de recinto, impossibilidade climática, dentre outros, os quais impossibilitaram a realização da pesquisa em dias consecutivos.

Apesar do número de animais avaliados ter sido de dois exemplares, o número é expressivo, visto que existem apenas 15 elefantes asiáticos no Brasil e apenas 9 deles estão em instituições zoológicas, passando por treinamento operante. Logo, a avaliação de cortisol salivar e etograma comportamental das duas elefantes representou um estudo sobre 22% do atual plantel brasileiro de elefantes que realizam treinamento operante e de metade dos elefantes residentes no estado de Santa Catarina.

3.5 Conclusão

Apesar de o treinamento operante tirar o animal de sua atividade normal e promover novos estímulos, o mesmo já era considerado um evento rotineiro e, portanto, não houve alteração significativa nos valores de cortisol salivar para ambos elefantes, nos cenários pré-estabelecidos

O etograma apresentou mais comportamentos negativos antes do início do treinamento possivelmente devido à ansiedade dos animais pela expectativa do treinamento. O número de comportamentos positivos superou os de comportamentos negativos em todos os cenários, sendo observado em grande quantidade em dias de treinamento, após a atividade.

Portanto, o condicionamento operante com reforço positivo não causou estresse nos elefantes e os estimulou de maneira positiva a expressar mais os comportamentos

naturais da espécie, sendo uma importante ferramenta para o manejo, avaliação veterinária e consequente bem-estar destes animais.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de métodos não invasivos para o monitoramento de estresse e comportamento em animais de zoológico é uma importante ferramenta para proporcionar maior conhecimento sobre a espécie, interferindo com impactos mínimos ou irrelevantes e auxiliando a traçar novas estratégias e melhorias para manejo e bem-estar de animais mantidos sob cuidados humanos.

Apesar de não terem apresentado alterações significativas, os valores de cortisol salivar apresentaram-se como uma opção minimamente invasiva e relativamente de fácil colheita na espécie. Sugere-se considerar novas opções de colheita e dosagem de cortisol para comparação dos valores e corroboração de informação.

O etograma foi essencial para a corroboração da hipótese de que o treinamento operante com reforço positivo influencia de maneira positiva no bem-estar dos elefantes asiáticos, onde os mesmos apresentaram-se muito mais ativos em termos de expressão de comportamentos naturais em dias com treinamento. Por se tratarem de animais que vivem há anos em um mesmo local com uma mesma rotina, sugere-se ampliar a avaliação de etograma para outras instituições zoológicas, avaliando-se o comportamento individual e adotando-se critérios como sexo, idade e época de avaliação.

A presente pesquisa avaliou a influência do treinamento operante com reforço positivo em elefantes asiáticos (*Elephas maximus*) sob cuidados humanos, avaliados em cenários e horários específicos, seguindo manejo e protocolos uniformizados e recomendados para a espécie. Os resultados apontam que sob os cenários pré-estabelecidos, o treinamento operante com reforço positivo apresentou efeito benéfico e consequente aumento do bem-estar dos animais objeto de estudo.

5 REFERÊNCIAS

ALTINO, V.S.; NOGUEIRA-FILHO, S.L.G.; NOGUEIRA, S.S. **Monitoramento Não Invasivo do Estresse em Animais Silvestres Mantidos em Cativeiro**. *Revista Brasileira de Zootecias* 19(2): 114-128. 2018.

BANSIDDHI, P; BROWN, J.L.; THITARAM C. Welfare Assessment and Activities of Captive Elephants in Thailand. **Animals (Basel)**. 26;10(6):919, 2020

BRITISH & IRISH ASSOCIATION OF ZOOS & AQUARIUM - BIAZA. **Management Guidelines for the Welfare of ZOO Animals – Elephants**. 3 Ed. Londres: BIAZA, 310p, 2010.

CARLSTEAD, K., PARIS, S.; BROWN, J. L. Good Keeper-Elephant Relationship in North American ZOOS are Mutually Beneficial to Welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, 103-111, 2019.

DATHE, H. H.; KUCKELKORN, B.; MINNEMAN, D. Salivary Cortisol Assessment for Stress Detection in The Asian Elephant (*Elephas maximus*): A Pilot Study. **ZOO Biology**. 11: 285-289. 1992

EAZA. **EAZA Best Practice Guidelines for Elephants**. 2 Ed. Amsterdam, 214p, 2020.

FERNANDEZ, E.K.; UPCHURCH, B.; HAWKES, N.C. Public Feeding Interactions as Enrichment for Three ZOO-Housed Elephants. **Animals**, p. 1689, 2021.

FINCH, K.; SACH, F.; FITZPATRICK, M.; MASTERS, N.; ROWDEN, L.J. Longitudinal Improvements in Zoo-Housed Elephant Welfare: A Case Study at ZSL Whipsnade Zoo. **Animals**, p. 2029, 2020

FOWLER, M.E. Prosocidea: Elefantas. *In*: CUBAS., Z.S.; SILVA., J.C.R.; CATÃO-DIAS., J.L. **Tratado de Animais Selvagens** – 2 Ed. São Paulo: Rocca, p. 1085-1096, 2014.

GRECO, B.J.; MEEHAN, C.; MILLER, L. J.; SHEPHERDSON, D. J.; MORFELD, K. A.; ANDREWS, J., BAKER, A.M.; CARLSTEAD, K. Elephant Management in North American Zoos: Environmental Enrichment, Feeding, Exercise, and Training. **PLoS ONE**, 2016.

HAMBRECHT S.; OERKE, A.K.; HEISTERMANN, M.; HARTIG, J.; DIERKES, P.W. Effects of Positive Reinforcement training and Novel Object Exposure on Salivary Cortisol Levels Under Consideration of Individual Variation in Captive African Elephants (*Loxodonta africana*). **Animals**, 2021.

KORCHIA J.; FREEMAN K.P.; Validation study of canine serum cortisol measurement with the Immulite 2000 Xpi cortisol immunoassay. **J Vet Diagn Invest.**, p. 844-863, 2021.

LEEDS, A.; GOOD, J.; SCHOOK, M.W.; DENNIS, P.M.; STOINSKI, T.S.; WILLIS, M.A.; LUKAS, K.E. Evaluating Changes in Salivary Oxytocin and Cortisol Following Positive Reinforcement Training in Two Adult Male Western Lowland Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). **ZOO Biology**. p. 1-5, 2019.

LEHNHARDT, J. Husbandry. *In*: FOWLER, M.E.; MIKOTA, S. K. **Biology, Medicine and Surgery in Elephants** – 1 ed. Iowa: Blackwell, p. 45-56, 2006.

MEGAHED A.A.; JONES K.L.; BISINOTTO R.S.; CHEBEL R.C., GALVÃO K.N.; CHAN A.M.; BITTAR J.H.J. Validation of a fully automated chemiluminescent immunoassay for cattle serum and plasma progesterone measurement. **Front Vet Sci**. 2023

MICHELETTI, T.; BROWN, J. L.; WALKER, S. L. Monitoramento Hormonal Não Invasivo. *In*: CUBAS., Z.S.; SILVA., J.C.R.; CATÃO-DIAS., J.L. **Tratado de Animais Selvagens**. 2ª edição. São Paulo-SP: Editora Roca. 118, p. 2216-2217, 2014.

SCHULTE, B.A. Behavior and Social Life. *In*: FOWLER, M.E.; MIKOTA, S. K. **Biology, Medicine and Surgery in Elephants** – 1 ed. Iowa: Blackwell, p. 35-44, 2006.

SHERIFF, M.J.; DANTZER, B.; DELEHANTY, B.; PALME, R.; BOONSTRA, R. Measuring Stress in Wildlife: Techniques for Quantifying Glucocorticoids. **International Association for Ecology**, 869-887. 2001

WASSER, S. K.; HUNT, K. E.; BROWN, J. L.; COOPER, K.; CROCKETT, C. M.; BECHERT, U.; MILLSPAUGH, J. J.; LARSON, S.; MONFORT, S. L. A generalized fecal glucocorticoid assay for use in a diverse array of nondomestic mammalian and avian species. **General and Comparative Endocrinology**, 120, 260–275. 2000

WEBB, J.L.; CRAWLEY J.A.H.; SELTMANN, M.W.; LIEHRMANN, O.; HEMMINGS, N.; NYEIN, U.K.; AUNG, H.H.; HTUT, W.; LUMMAA, V.; LAHDENPERA, M. Evaluating the Reliability of Non-Specialist Observers in the Behavioural Assessment of Semi-Captive Asian Elephant Welfare. **Animals**, 2020.

WILLIAMS, C.; TIWARI, S.K.; GOSWAMI, V.R.; DE SILVA, S.; KUMAR, A.; BASKARAN, N.; YOGANAND, K.; MENON,V. *IUCN Red List of Threatened Species: *Elephas maximus**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/species/7140/45818198>>. Acessado em: 02 nov. 2022.

WWW.ELEPHANT.SE, Elephant encyclopedia – information and database. Elephant database, 1995. Disponível em < <https://www.elephant.se/>). Acessado em 10, jul. 2024.