



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Master Integrado Em medicina Veterinária

Artigo de revisão

AVALIAÇÃO DO BEM ESTAR FÍSICO E COMPORTAMENTAL DOS LOBOS EM CATIVEIRO

Cécile Virginie Dugand

Coimbra, Julho de 2024



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Master Integrado Em medicina Veterinária
Artigo de revisão

AVALIAÇÃO DO BEM ESTAR FÍSICO E COMPORTAMENTAL DOS LOBOS EM CATIVEIRO

Coimbra, Julho de 2024

Cécile Virginie Dugand

Constituição do Júri

Presidente do Júri

Professor Doutor Hugo Corte-Real Vilhena

Arguente

Professora Doutora Maria Carolina Rocha de
Medeiros Bento

Orientador Interno

Professora Doutora Myriam Kanoun-Boulé

Coorientador Interno

Mestre Ana Luísa Pereira

Orientador Externo

Doutora Véronique Luddeni



Dissertação de Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da Escola Universitária Vasco da Gama



Agradecimentos

À Doutora Véronique Luddeni, por toda a sua orientação ao longo deste período de estágio e pela partilha do seu conhecimento sobre os lobos.

À Silène e a toda a equipa do Parque Alpha, pelo enquadramento e a oportunidade de aprendizagem única.

Às Professoras Myriam Kanoun-Boulé e Ana Luisa Pereira, expresso os meus sinceros agradecimentos pelo seu ensino e orientação ao longo deste trabalho e ao longo de todo o meu percurso académico.

À equipa da EUVG, que se tornou uma verdadeira família para mim, o meu profundo agradecimento por todo o apoio.

À minha mãe, cuja confiança inabalável sempre me impulsionou. Obrigada «Grand-mère feuillage» ou «Mémé pas drôle» para ser sempre presente para mim.

Ao meu pai, pelo constante encorajamento e incentivo ao meu crescimento académico. Obrigada para os teus « Va bosser! » e o apoio contínuo.

Ao meu irmão Xavier, pela ajuda preciosa em anatomia e parasitas, e ao meu Jojo, que despertou a minha paixão pelo lobo.

À minha irmã Sarah, pela presença constante e apoio incondicional.

Ao meu avô Bernard, à minha prima Lola e suas duas princesas, à minha avó Monique, ao meus Nonno e Nonna, e à minha madrinha Nathalie, por todo o carinho e suporte.

À minha maravilhosa e vibrante família da Nova Caledónia, pelo seu amor incondicional e apoio contínuo.

À todos os meus amigos moselanos, a Ines (“Boubou”), a Lina («plum’s») e o Thibault, pela amizade e momentos compartilhados.

À nossa estrela Clement e sua família, por serem fãs dedicados dos *Canis lupus*.

À Mumu, Grazi e às StMartinoises Wannabe, pelo suporte e amizade inestimáveis.

À Moussette (Amélie, Marine, Leila, Chloé, Gaëlle), à Léa Mann, Arthur, e ao restante da minha família portuguesa, com quem compartilhei os 5 anos mais felizes da minha vida. Obrigada por fazerem “parte de mim”!

À minha afilhada Claire, para ser um exemplo de coragem e uma amiga de ouro, obrigada por tudo e o melhor para ti!

Ao Killian, meu companheiro constante e apoio desde o início desta jornada.

A todos aqueles que encontrei ao longo do caminho, que fortaleceram a minha vocação e que me motivaram a alcançar o sucesso, e a todos que, porventura, não mencionei diretamente, o meu sincero agradecimento por terem feito parte da minha aventura.

A Coimbra.

Um imenso obrigado.



Índice geral

RESUMO E PALAVRAS CHAVE.....	2
1.INTRODUÇÃO	4
2. MATERIAIS E MÉTODOS	5
3. REVISÃO DA LITERATURA SOBRE O BEM ESTAR ANIMAL	
3.1. Bem-estar animal: definições e conceitos-chave.....	6
3.2. Perspetivas históricas e evolução dos métodos de avaliação do bem-estar animal.....	7
3.3. A Pirâmide de Maslow: Definição e aplicação ao Bem-Estar de Animais em Cativeiro.....	8
4. REVISÃO DA LITERATURA SOBRE CANIS LÚPUS	
4.1. Comparação entre “Bem-Estar” e “Comportamento” dos Lobos em Cativeiro e em Estado Selvagem	9
4.2. O lobo em cativeiro: comportamentos e necessidades específicas	10
5. ANÁLISE DAS METODOLOGIAS EXISTENTES DE AVALIAÇÃO DO BEM ESTAR ANIMAL	
5.1. Grelhas de Referência	12
5.2. Etogramas.....	14
5.3. Métodos tradicionais.....	14
5.4. Sistemas de Monitorização Autónomos	15
5.5. Métodos biomoleculares	17
6. SÍNTESE DE DADOS E PERSPETIVAS.....	20
7. DISCUSSÃO E REFLEXÃO	21
8. CONCLUSÃO	24

Índice de figuras

Figura 1: Adaptação da pirâmide de Maslow para os animais, ilustrando os diferentes níveis de necessidades em termos de bem-estar animal. Adaptada de: Mellor, D. and Beausoleil, N. (2015) 'Caring for Wildlife: The World Zoo and Aquarium Animal Welfare Strategy'. Gland: WAZA Executive Office, página 8.

Figura 2: Exemplo duma parte da grelha de avaliação do BEA (versão 6_09_2023), usada para monitorar diversos indicadores baseados nos recursos (nutrição e ambiente) e nos animais (saúde física e comportamento). Adaptada de: *AFdPZ* (2023).

Lista de siglas, símbolos e abreviatura

AFdPZ – Associação Francesa dos Parcos Zoológicos

BEA - Bem-Estar Animal

FC - Frequência Cardíaca

GPS – Sistema de Georreferenciação

HPA – Hipotálamo-hipófise-adrenal

IgA - Imunoglobulina A

IRT - Termografia Infravermelha

RFID - Sistemas de Identificação por Radiofrequência

SAM - Sistema simpato-adreno-medular

SigA - Forma secretora da Imunoglobulina A

AVALIAÇÃO DO BEM-ESTAR FÍSICO E COMPORTAMENTAL DOS LOBOS EM CATIVEIRO (ARTIGO DE REVISÃO)

Cécile Virginie Dugand^a, Ana Luisa Pereira^a e Myriam Kanoun-Boulé^a

^a Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (cecile.dug@gmail.com)

^a Pereira, A. L., MsC, Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (ana.pereira@euvg.pt) - *PhD Student*

^a Kanoun-Boulé, M., PhD., Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (myriam.boule@euvg.pt)

RESUMO

À medida que a opinião pública dá cada vez mais consideração ao bem-estar animal (BEA) e que a questão da detenção de animais em cativeiro é debatida, os métodos de avaliação do BEA desempenham um papel fundamental na melhoria das condições de detenção desses animais em parques/zoos. É importante uma combinação de diferentes métodos de avaliação para se conseguir uma avaliação multidimensional do BEA. Para isso, é importante conhecer os métodos existentes e compreendê-los, a fim de otimizar sua utilização. Sendo o lobo (*Canis lupus*), uma espécie desafiante tanto ao nível das relações sociais como em termos de necessidades cognitivas e territoriais, a sua detenção em cativeiro torna-se complexa e requer uma abordagem minuciosa. Este trabalho de artigo de revisão visa explicar as necessidades específicas deste animal em cativeiro e listar os diferentes métodos de avaliação do BEA. Após uma revisão da literatura sobre o BEA, em geral, explicam-se as principais abordagens dos métodos de avaliação do BEA. Em seguida, apresenta-se uma revisão da literatura sobre os lobos em cativeiro para compreender melhor as suas necessidades específicas. Posteriormente, utilizando como referência trabalho sobre o quadro universal de BEA em zoológicos, analisam-se diversas práticas de gestão e tecnologias utilizadas para avaliar o bem-estar em lobos. Abordam-se os métodos tradicionais (colheita de sangue, exames físicos; complementares e comportamental), métodos baseados em monitorização autónoma (Sistema de Georreferenciação, Radiofrequências, Bioacústica) e métodos biomoleculares (Forma secretora da Imunoglobulina A, Cortisol fecal).

Os resultados indicam que uma avaliação aprofundada do BEA, combinada com práticas de gestão que incluem o enriquecimento ambiental, pode reduzir significativamente o stress e promover comportamentos naturais nos lobos em cativeiro. No entanto, a gestão desta espécie permanece complexa e controversa, exigindo uma adaptação contínua das estratégias de gestão para atender às necessidades específicas de cada indivíduo e garantir padrões de bem-estar animal.

PALAVRAS-CHAVE: Bem-estar animal, Cativeiro, Comportamento, Cortisol, Enriquecimento ambiental, Ética, Lobos

ABSTRACT

As public opinion increasingly considers animal welfare (AW) and the issue of keeping animals in captivity is debated, AW assessment methods play a crucial role in improving the conditions of these animals in parks and zoos. A combination of different assessment methods is essential to achieve a multidimensional evaluation of AW. To this end, it is important to know and understand the existing methods in order to optimize their use. The wolf (*Canis lupus*), being a challenging species both in terms of social relationships and cognitive and territorial needs, requires a meticulous approach when kept in captivity. This literature review aims to explain the specific needs of this species in captivity and to list the different AW assessment methods. After a review of the literature on AW in general, the main approaches to AW assessment methods are explained. Then, a review of the literature on captive wolves is presented to better understand their specific needs. Subsequently, using the work on the universal AW framework in zoos as a reference, various management practices and technologies used to assess welfare in wolves are analyzed. Traditional methods (blood sampling, physical examinations, complementary and behavioral examinations), autonomous monitoring methods (Georeferencing System, Radio Frequencies, Bioacoustics), and biomolecular methods (Secretary Form of Immunoglobulin A, Fecal Cortisol) are addressed.

The results indicate that an in-depth assessment of AW, combined with management practices that include environmental enrichment, can significantly reduce stress and promote natural behaviours in captive wolves. However, the management of this species remains complex and controversial, requiring continuous adaptation of management strategies to meet the specific needs of each individual and ensure animal welfare standards.

KEYWORDS: Animal Welfare, Behaviour, Captivity, Cortisol, Environmental Enrichment, Ethics, Wolves

1. INTRODUÇÃO

O bem-estar animal (BEA) é um conceito que se refere ao estado geral de um animal e engloba diferentes aspetos da sua vida. Foi proposta uma definição pela *World Organisation for Animal Health* (WOAH), que define o conceito de “bem-estar”, da seguinte forma: “Entende-se por bem-estar a maneira como um animal evolui nas condições que o rodeiam. O bem-estar de um animal é considerado satisfatório se os seguintes critérios forem atendidos: bom estado de saúde, conforto adequado, bom estado nutricional, segurança, possibilidade de expressão do comportamento natural, ausência de sofrimentos como dor, medo ou angústia.” (*World Organisation for Animal Health*, 2023).

O BEA tem-se tornado uma preocupação, e objeto de estudo. De facto, o interesse da ciência pelo bem-estar animal tem vindo a crescer nas últimas décadas, e desde 1990 observou-se um aumento no número de artigos científicos publicados sobre o tema. Estes artigos são publicados em várias revistas científicas como *Animal Welfare* (7,91% dos artigos) ou *Applied Animal Behaviour Science* (9,69% dos artigos), principalmente aplicados à produção animal (Berthomieu, 2017). Embora este número crescente de artigos tenha permitido melhorias do bem-estar dos animais nas explorações, existem poucos dados sobre a avaliação do bem-estar aplicada aos animais selvagens em cativeiro.

O BEA é um tema atual que gera regularmente debate, interessando não só aos cientistas, mas também à opinião pública, talvez como consequência de uma maior consciencialização sobre a qualidade de vida em animais em cativeiro (Mellor and Beausoleil, 2015). Embora os parques zoológicos tenham atualmente uma boa reputação junto do público em geral, este está cada vez mais sensível ao bem-estar dos animais em cativeiro. Hoje, animais que apresentam comportamentos anormais para a espécie atribuídos a condições de cativeiro questionáveis indignam a população.

Observamos que os animais mantidos em cativeiro desenvolvem comportamentos estereotipados (comportamentos realizados sempre com a mesma sequência, nas mesmas circunstâncias e sem objetivos) (Frézard, A. and Pape, 2003). Estes comportamentos anormais são possivelmente resultados de um enriquecimento ambiental pobre e a elevados índices de stress (Broom, 2006; Gunning, 2008). Desenvolver protocolos de avaliação do BEA é indispensável a fim de limitar o aparecimento desses comportamentos indesejáveis que são representativos de stress crónico e de mal-estar (Clegg *et al.*, 2015).

Os lobos (*Canis lupus*), devido à sua inteligência e às suas elevadas necessidades sociais e cognitivas, representam um real desafio para mantê-los em cativeiro em condições que respeitem o

seu bem-estar. São animais que vivem em grupos sociais, denominados de alcateias, com uma hierarquia muito vincada. Cada alcateia é formada por um casal reprodutor e pela sua descendência. Esta espécie caça em grupo, protege o território e partilha o cuidado pelas crias. Esta estrutura social aumenta a coesão e estabilidade da alcateia como um todo para além de ter um papel fundamental na sobrevivência dos membros individuais do grupo (Gauvin, 2013). Os lobos juvenis aprendem observando e interagindo com os membros mais velhos, o que permite a aquisição de competências necessárias, para a sua sobrevivência bem como a aprendizagem do funcionamento social da alcateia, das técnicas de caça e desenvolvimento intelectual. As estratégias de caça cooperativa entre os membros da alcateia também demonstram uma grande adaptabilidade e resiliência (Packard, 2012; Gauvin, 2013).

A complexidade da espécie torna a avaliação do BEA dos lobos em cativeiro um desafio. Os estudos sobre BEA têm tentado adotar uma abordagem multidimensional na sua avaliação, utilizando ferramentas de avaliação holísticas, ou seja, que consideram aspetos comportamentais, fisiológicos e ambientais. Estas ferramentas visam melhorar a qualidade de vida dos animais em cativeiro, mesmo que a sua manutenção nessas condições continue a ser um tema controverso (Whitham *et al.*, 2016). Por isso, este trabalho tem como objetivo analisar as diferentes metodologias usadas para avaliar o BEA em lobos em cativeiro. Pretende ainda explorar as necessidades específicas usadas para melhorar as condições de vida dos animais em cativeiro.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para realizar este estudo, foi realizada uma pesquisa bibliográfica sobre a avaliação do BEA em lobos em cativeiro que abrangesse a avaliação do bem-estar físico, comportamental e necessidades biológicas nestes animais. Foi feita a pesquisa bibliográfica com recursos a base de dados *online* da *Pubmed* e *Google Scholar*. Também foram consultados livros físicos especializados em comportamento animal e zoologia, em várias bibliotecas: biblioteca municipal de Nice, biblioteca municipal de Metz ou escola veterinária *VetAgro Sup*, em Lyon. Assim, para este trabalho foram relevantes quatro teses (três de doutoramento e uma de mestrado), 68 artigos científicos, seis livros físicos e quatro páginas web. Esta pesquisa bibliográfica foi realizada com as palavras-chaves: “Avaliação do bem-estar animal, Bem-estar animal, Cativeiro, Comportamento, Cortisol, Enriquecimento ambiental, Ética, Lobos”.

3. REVISÃO DA LITERATURA SOBRE O BEM-ESTAR ANIMAL

3.1. BEM-ESTAR ANIMAL: DEFINIÇÕES E CONCEITOS CHAVES

O BEA é um termo que abrange várias vertentes da vida de um ser vivo, nomeadamente a saúde física, mental e comportamental. Estes princípios derivam de conceitos filosóficos mais antigos, criados para os humanos e adaptados posteriormente aos animais. A título de exemplo, a ética animal trata das normas e valores adotados pelas sociedades de forma a regular interações com os animais. Isso inclui decisões sobre o que é moralmente aceitável ou inaceitável, nomeadamente em coleções de zoológicos e aquários (*American Humane*, 2021). Desta forma, os parques zoológicos têm uma responsabilidade ética no tratamento digno do bem-estar dos animais sob os seus cuidados. Para atingirem este objetivo, estas instituições são submetidas a certificações independentes e seguem normas baseadas em evidências científicas (Kagan *et al.*, 2015; Dudzinski *et al.*, 2024).

Os conceitos éticos adaptados aos animais, como por exemplo a deontologia, baseada em princípios que consideram certas ações como moralmente obrigatórias independentemente das consequências (Regan, 1983), permitem pôr em prática as noções de BEA, particularmente no contexto dos zoológicos. Isto implica satisfazer as necessidades básicas dos animais: nutrição, segurança, saúde, além de promover a sua qualidade de vida através de experiências enriquecedoras e positivas que geram conforto, prazer, interesse e confiança (Clegg, 2018). Espaços que não atendam a esses critérios podem ser qualificados como “subótimos”. Estes ambientes podem ser adequados a curto prazo, por exemplo, durante a introdução de um novo indivíduo numa alcateia, colocando-o inicialmente num ambiente mais pobre, como é frequentemente o caso dos recintos destinados a esse efeito. No entanto, a longo prazo, isto pode comprometer os programas de conservação (*Associação Mundial de Zoológicos e Aquários*, 2023). Os espaços subótimos podem ter impacto na saúde e no comportamento dos animais, que pode resultar em comportamentos estereotipados ou agressivos (Mason *et al.*, 2007), além de afetar a reprodução e hipotecar a sobrevivência da descendência (Asa *et al.*, 2011). Estes aspetos podem ter um efeito negativo junto dos visitantes dos zoológicos e diminuir a sensibilização e promoção da conservação que é a grande missão dos zoológicos (Fraser, 2009), para além de limitar colaborações internacionais essenciais (Berger, 2011). Os outros aspetos do bem-estar animal, como a saúde física, implicam ter animais livres de doenças. Neste sentido, é essencial um acompanhamento médico. A saúde psicológica é igualmente importante e pode ser promovida através de interações sociais equilibradas e oportunidades de desenvolvimento cognitivo, como por exemplo com o enriquecimento ambiental (Haque, 2006; Mason *et al.*, 2007).

3.2. PERSPETIVAS HISTÓRICAS E EVOLUÇÃO DOS MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO BEM-ESTAR ANIMAL

A história dos métodos de avaliação do BEA começou a ter atenção no século passado, na década de 60, quando foi formalmente introduzido o conceito de BEA.

A primeira abordagem sistemática e científica ao BEA foi elaborada no Relatório *Brambell* de 1965 que estabeleceu as “Cinco Liberdades” como um padrão de BEA (Brambell, 1965).

O início das avaliações foi baseado na observação do comportamento e no exame físico, hoje designado como “método tradicional”. Estes métodos incluem agora exames físicos, colheita de sangue, biópsias e o uso de procedimentos invasivos (Hill *et al.*, 2009). A causa de maior stress pode ser no momento da captura. De facto, existem métodos que permitem realizar ações médicas em animais selvagens sem a necessidade de sedação ou contenção, como é o caso com o *medical training*. A técnica de *medical training* visa ensinar comportamentos específicos para felicitar por exemplo, a pesagem, o transporte, as colheitas de sangue por diferentes vias, ou ainda colocar medicação dentro de pedaços de alimento (Savastano, 2011). Este *training* permite uma redução considerável do stress para os procedimentos médicos, habituando previamente os animais à manipulação, e assim reduzindo comportamentos agressivos (Wardzynski *et al.*, 2005). Estas práticas são muito importantes, pois permitem a detecção precoce de doenças, lesões ou perda de peso, aumentando a frequência de exames visuais gerais, e permitem realizar certos cuidados sem contenção física. Deve notar-se, no entanto, que o sucesso deste método depende do indivíduo e também da equipa que o realiza, podendo levar muito tempo para ser implementado.

Foi igualmente introduzido o conceito da etologia ao serviço do BEA nos anos 1960-1970. A abordagem etológica, como o uso de grelhas de avaliação, permite catalogar os diferentes comportamentos dos animais e estabelecer um acompanhamento individual e regular dos indivíduos pelos seus tratadores (Paul *et al.*, 2022). Este método permite obter uma evolução do BEA ao longo da vida do animal e pode ser útil para revelar problemas de saúde ou mesmo stress crónico (AFdPZ, 2010).

Nos anos 1980 e 1990, desenvolveu-se o uso de biomarcadores como os níveis de cortisol sérico, cortisol fecal, Imunoglobulina A secretora (SIgA) que permitem uma avaliação do stress fisiológico de forma não invasiva (Moberg, 1985; Sheriff *et al.*, 2011; Pifarré *et al.*, 2012; Valvez *et al.*, 2012).

Mais recentemente foram desenvolvidos sistemas de monitorização autónomos que fornecem dados objetivos e contínuos sobre os movimentos e interações dos animais, georeferenciação (GPS) e radiofrequência (RF) (Whitham *et al.*, 2016). A análise dos métodos

bioacústicos (rosnados, uivos, latidos), podem fornecer informação sobre os animais: comunicação, stress e reprodução (Whitham *et al.*, 2016).

A integração destes diferentes métodos permite uma avaliação holística e precisa do BEA, contribuindo assim para melhorar as práticas de manejo e tentar obter condições de vida ótimas para os animais em cativeiro.

3.3 A PIRÂMIDE DE MASLOW : DEFINIÇÃO E APLICAÇÃO DO BEM-ESTAR DE ANIMAIS EM CATIVEIRO

A pirâmide de *Maslow* é um conceito proposto pelo psicólogo *Abraham Maslow*, em 1943, que organiza as necessidades humanas em cinco níveis hierárquicos: fisiológicas, segurança, amor e pertença, estima e autorrealização. As necessidades básicas devem ser satisfeitas antes das mais complexas (Maslow, 1943). Embora tenha originalmente sido realizada para os seres humanos, a aplicação do modelo de *Maslow* aos animais em cativeiro pode ser relevante para entender e atender às suas necessidades mais complexas (Wahba *et al.*, 1976). A pirâmide de *Maslow* pode então ser aplicada ao bem-estar dos lobos em cativeiro através da hierarquia das suas necessidades.

As necessidades fisiológicas, como ar, água, comida, sono e abrigo, são primordiais (Maslow, 1943). Isso se alinha com as necessidades de cuidados veterinários, que envolvem uma boa higiene do habitat e uma alimentação de qualidade, assim como a ausência de doenças.

As necessidades de segurança focam-se na proteção contra ameaças e na saúde, implicando um habitat que minimize o stress e promova a saúde física dos lobos.

As necessidades sociais, que segundo a teoria aplicada aos humanos são frequentemente descritas como necessidades de “amor e pertença”, caracterizam-se com a importância das relações sociais intra-espécie, que são essenciais para o bem-estar psicológico dos lobos. Isto pode ser traduzido pela disponibilização de objetos e atividades estimulantes para favorecer as interações sociais e o interesse dos animais. Interações positivas, como a cooperação na caça, o cuidado parental e a manutenção das relações sociais através de comportamentos como *grooming* e brincadeiras, são fundamentais (Mech and Boitani, 2003).

A seguir, encontramos as necessidades de “estima”, mas para os animais, referimo-nos mais a “estimulação mental”, através de cuidados atentos e um ambiente enriquecido.

No topo da pirâmide, encontramos a “autorrealização”, ou seja, a possibilidade de escolhas, que aplicada aos lobos poderia significar a expressão máxima do seus comportamentos naturais em estado selvagem (Mech and Boitani, 2003). Os ambientes enriquecidos oferecem estas oportunidades

uma vez que promovem comportamentos naturais tais como acaça, a exploração e a construção de tocas (Mason *et al.*, 2007).

4. REVISÃO DA LITERATURA SOBRE *CANIS LUPUS* EM CATIVEIRO

4.1. COMPARAÇÃO ENTRE “BEM-ESTAR” E “COMPORTAMENTOS” DOS LOBOS EM CATIVEIRO E EM ESTADO SELVAGEM

A comparação entre o bem-estar e o comportamento dos lobos em cativeiro e de lobos em estado selvagem revela os impactos significativos que o ambiente tem sobre estes animais. No seu habitat natural, os lobos demonstram uma grande capacidade de adaptação que evidencia técnicas de caça sofisticadas, estruturas sociais complexas e uso extensivo de territórios vastos (Mech and Boitani, 2003). Essas características incluem estratégias de caça colaborativas onde cada indivíduo da alcateia tem um papel preciso, uma comunicação intraespécie eficaz e a exploração ativa de grandes áreas, fatores que são essenciais para a manutenção de sua saúde física e mental (Smith *et al.*, 2003). Estas dinâmicas naturais são difíceis de replicar em cativeiro.

De facto, os lobos em cativeiro têm limitações em termos espaciais e territoriais, o que pode condicionar a expressão de comportamentos naturais e influenciar de uma forma negativa o seu bem-estar (Jones *et al.*, 2011). As limitações de território podem limitar a expressão natural do comportamento dos lobos, condicionam o exercício físico e/ou impede a dispersão de indivíduos (Lopez, 1978; Maia *et al.*, 2012).

Durante o momento de caça, que pode estender-se por vários quilómetros, cada membro da alcateia conhece seu papel e age de maneira precisa (Meunier, 2011). Um ou mais lobos selecionam a presa com certos critérios como a idade do animal (geralmente os mais jovens ou mais velhos), as condições de saúde (animais fracos sendo presas mais acessíveis) e o comportamento (excluindo animais mais agressivos). A seguir, se necessário, os lobos dispersam o grupo de animais para isolar a presa a fim de maximizar o seu sucesso (Mech and Boitani, 2003). É importante notar que o tipo de presa varia com a subsespécie dos lobos, porque são animais que tendem a especializar-se num tipo de presa em particular. De facto, o regime alimentar do lobo adapta-se ao seu ambiente e à variabilidade das presas disponíveis no seu território. Encontramos por isso hábitos alimentares diferentes em função da localização das alcateias. O tamanho da alcateia está totalmente dependente da disponibilidade e especificidade das presas (Meunier, 2011).

A gestão do bem-estar dos lobos em cativeiro inspirou-se no estudo das populações de lobos selvagens, de forma a tentar mimetizar estas condições para os regimes de cativeiro e semi-cativeiro (Frézard and Pape, 2003; Kelly *et al.*, 2015). Estes programas incluem a oferta de presas ou objetos para caça, o arranjo do recinto para permitir comportamentos de exploração e a formação de hierarquias naturais. Por exemplo, muitas instituições seguem as diretrizes da *Association of zoos and aquariums* (AZA), mas existem outras também que adotam diferentes orientações. No entanto, estas diretrizes são apenas recomendações e não obrigações. Estudos comparativos entre lobos em cativeiro e selvagens revelam a importância fundamental do ambiente no bem-estar animal e destacam os desafios associados à reprodução de um ambiente que respeite as necessidades intrínsecas destes animais (Jones *et al.*, 2011).

4.2. O LOBO EM CATIVEIRO : COMPORTAMENTOS E NECESSIDADES ESPECÍFICAS

A bibliografia existente, oferece *insights* valiosos sobre boas práticas que contribuem para o bem-estar dos animais.

Por exemplo, recomenda-se que os recintos tenham áreas arborizadas, território com relevo e pontos de água. As recomendações em termos de espaço para os recintos dos lobos variam conforme os autores, mas parecem todas apontar na mesma direção: quanto maior for o recinto, melhores são as condições de bem-estar animal (*Dangerous Wild Animals*, 2004; Laidlaw, 2000). Os recintos devem permitir que os lobos possam atingir a sua velocidade máxima de corrida (25-30 km/hora), o que contribui para a manutenção de uma boa condição física (Sherratt-Ayerst, 2018). Frequentemente, encontra-se o valor de um acre, ou seja, cerca de 4047 m² por animal, e depois 0,5 acre por cada animal adicional, para incentivar a expressão de comportamentos naturais e minimizar os conflitos (*Mission:Wolf*, 2023).

As diretrizes mínimas da AZA recomendam um tamanho mínimo de cerca de 14 m² por lobo, com um aumento de 7 m² por animal adicional (AZA, 2012). No entanto, esses padrões são frequentemente discutidos e criticados pela comunidade científica e pela opinião pública, pois estas dimensões reduzidas dificilmente permitem a expressão de comportamentos naturais e evitam o surgimento de comportamentos estereotipados.

Um estudo intitulado "Gray Wolf: A Comparison of Husbandry and Housing Practices" foi realizado para avaliar e comparar as condições de detenção e cuidados dos lobos cinzentos em várias instalações na América do Norte. O estudo incluiu sete parques zoológicos e reservas faunísticas, e examinou, entre outras variáveis, o tamanho dos recintos dos lobos nestes diferentes parques. Os

recintos variavam de 1.590 m²/lobo para os menores e até 12.542 m²/lobo para os maiores e os animais dos estudos nunca apresentam comportamentos estereotipado (Laidlaw, 2000). Lembramos que as diretrizes da AZA para o tamanho dos recintos são geralmente recomendações e não como obrigações estritas. A nível legislativo, cada país ou mesmo cada região de um país pode ter diretrizes diferentes (AZA, 2012).

O enriquecimento ambiental é outro exemplo de prática eficaz. Recomenda-se a integração de elementos manipuláveis: esconderijos para alimentos, mudança de objetos para estimular o comportamento de exploração, reduzindo o risco de comportamentos estereotipados. (Orsini *et al.*, 2006).

O impacto da presença humana também é uma preocupação. Estudos comportamentais e avaliação de cortisol nas fezes do lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) mostraram que medidas de barreiras visuais e limitação do fluxo de visitantes pode reduzir significativamente o stress (Pifarré *et al.*, 2012). Por isso é sugestivo que esta espécie necessite de uma zona de fuga visual e uma área a que os visitantes não tenham acesso.

A estrutura social e a dinâmica do grupo são cruciais para o bem-estar dos lobos. Manter uma composição de grupo estável promove interações sociais saudáveis, reduz a agressão intraespécie e fomenta uma hierarquia social equilibrada (Sherratt-Ayerst, 2018). Uma hierarquia social equilibrada numa alcateia de lobos é uma estrutura social onde cada indivíduo conhece e aceita o seu lugar dentro da estrutura social. Isso envolve um casal reprodutor que toma as decisões principais, seguido por lobos beta/subordinados. O macho e a fêmea do casal reprodutor são os dois únicos indivíduos que se podem reproduzir dentro da alcateia (Maia, 2012). Uma hierarquia clara e estável minimiza conflitos, promove a cooperação e assegura que a alcateia funcione de maneira eficiente e harmoniosa. Em geral, na natureza, uma alcateia de lobos tem entre 4 e 8 membros, embora possa variar dependendo da disponibilidade de recursos e do ambiente (*Wolf Haven International*, 2021). Embora este trabalho não se concentre numa análise detalhada das diferentes teorias éticas, reconhece se que a maioria dos parques zoológicos seguem estas abordagens principais de forma a garantir o bem-estar dos animais (Clegg, 2018).

A gestão de grupos de lobos em cativeiro envolve diferentes abordagens, com vantagens e desvantagens. Dividir a alcateia em subgrupos pode ser uma solução eficaz para reduzir conflitos e facilitar o controle reprodutivo, além de permitir a monitorização mais detalhada de cada lobo (Mech, 1999a). Contudo, essa prática pode destabilizar a estrutura social natural dos lobos, o que pode causar stress devido à separação de laços sociais importantes, além de exigir mais espaço e recursos para os diferentes subgrupos. Outra estratégia utilizada é a separação de machos e fêmeas, que previne

acasalamentos indesejados e diminui as agressões relacionadas ao comportamento reprodutivo (Mech, 1999a). A desvantagem dessa prática é que pode interromper as interações sociais naturais entre os sexos, levando ao isolamento social e ao aumento do stress nos animais. Embora rara, pode-se considerar a eutanásia de crias para controlar a sobrepopulação. (Browning *et al.*, 2018). No entanto, essa medida é controversa e geralmente evitada devido às implicações éticas (Browning *et al.*, 2018). Por este motivo, pode ser interessante recorrer a métodos de controlo populacional (vasectomia dos machos e/ou ovariectomia das fêmeas) ou métodos contraceptivos com o uso de implantes hormonais.

5. ANÁLISE DAS LIMITAÇÕES DAS DIFERENTES METODOLOGIAS DE AVALIAÇÃO DO BEM-ESTAR ANIMAL

5.1. GRELHAS DE REFERÊNCIAS

As grelhas da *Associação Francesa dos Parques Zoológicos (AfdPZ)* foram criadas para avaliar o BEA em cativeiro, identificando problemas de BEA durante as avaliações de rotina, com o objetivo de identificar problemas e auxiliar na tomada de decisões relacionadas com a gestão de parques zoológicos e suas coleções de animais. São consideradas holísticas porque analisam múltiplas dimensões do bem-estar, incluindo aspectos físicos, psicológicos e sociais. Elas incluem critérios diversificados, como nutrição, saúde, comportamentos naturais e estímulos ambientais. A abordagem envolve observações diretas, indicadores específicos e a colaboração de equipas multidisciplinares de profissionais. Além disso, as grelhas são adaptáveis às necessidades específicas de cada espécie e promovem uma avaliação contínua, garantindo uma visão abrangente e integrada do bem-estar animal (AFdPZ, 2010).

A principal vantagem das grelhas reside na sua capacidade de fornecer um acompanhamento contínuo do BEA, permitindo identificar e priorizar intervenções necessárias para melhorar as condições de vida dos animais. O processo de avaliação é projetado para ser inclusivo, envolvendo diversos intervenientes (tratadores de animais, veterinários, biólogos) o que aumenta a precisão das avaliações. Embora essas abordagens se situem mais no campo da etologia, em comparação com outras metodologias, elas ainda permitem avaliar de forma eficaz o BEA.

As grelhas, como a do *anexo 2*, funcionam com um sistema de avaliação onde o avaliador (geralmente um membro da equipa de tratadores do parque em questão) atribui uma apreciação ou nota para critérios específicos e individuais. No final da avaliação dos diferentes fatores, uma nota e

apreciação global é dada ao animal, permitindo acompanhar a avaliação do BEA do indivíduo e, se necessário, adotar medidas para melhorar o seu bem-estar. Os animais ou grupos que obtiveram mais indicadores positivos provavelmente têm melhor qualidade de vida do que aqueles que obtiveram mais valores negativos (AFdPZ, 2010).

As avaliações são organizadas de maneira contínua para fornecer uma “imagem” o mais realista possível da qualidade de vida de um animal ao longo da sua vida. Um registo pontual por animal não é considerado suficiente para tirar conclusões pois este registo representa o estado de saúde num momento específico da vida do animal. Além disso, cada avaliação que revela um problema de bem-estar resulta numa proposta de melhoria. A disponibilidade de recursos humanos e o tempo necessário para implementar as soluções propostas determinam o calendário das avaliações (AFdPZ, 2010).

Por exemplo, a grelha de avaliação da *AFDPZ* inclui 5 valores e um espaço para comentários.

O avaliador deve indicar um único valor entre os cinco:

- "Sim": o critério está totalmente cumprido.
- "Um pouco": o critério está parcialmente cumprido e necessita de algumas melhorias.
- "Muito fraco": o critério está quase não cumprido e necessita de muitas melhorias.
- "Não sabe": o avaliador não tem o conhecimento necessário para responder (ex. cuidados veterinários).
- "Não aplicável": a marcar se o critério não se aplica à espécie em questão.

A coluna "Não" significa que o critério não está de todo cumprido.

A seção "Comentários" permite anotar qualquer observação ou precisão.

O último quadro totaliza as marcações de cada coluna, e uma secção “comentários” permite adicionar observações, precisões ou conclusões (sobre a ficha, o animal, o ambiente).

Uma limitação da utilização destas grelhas pode estar relacionada com a subjetividade inerente ao que é a avaliação do bem-estar animal, relacionada principalmente com a variação entre operadores/observadores. Além disso, a necessidade de uma ampla gama de formação, conhecimentos e experiência para preencher corretamente as grelhas pode representar um desafio, especialmente em locais com limitações de recursos humanos (AFdPZ, 2010).

5.2. ETOGRAMAS

A aplicação de etogramas, que são listas de comportamentos ou ações tipicamente executados pelos animais, é fundamental nos estudos de conservação, ajudando a entender o comportamento dos animais em contextos selvagens ou semi-selvagens. Eles são utilizados para monitorizar interações sociais, padrões de alimentação, atividades de descanso e outros comportamentos relevantes que indicam o estado de saúde e bem-estar dos animais (Mason *et al.*, 2007). Através da documentação minuciosa desses comportamentos, os etogramas oferecem insights sobre o estado de bem-estar ou stress dos animais (Altmann, 1974).

Apesar de serem ferramentas valiosas para documentar e analisar comportamentos animais, os etogramas têm algumas limitações. Criar um etograma completo é um processo trabalhoso e exige observações contínuas, o que pode ser bastante demorado (Altmann, 1974). A interpretação dos comportamentos pode variar entre observadores, o que pode levar a inconsistências nos dados recolhidos (Mason *et al.*, 2007). Além disso, os etogramas tendem a fornecer uma visão estática dos comportamentos, não capturando as variações dinâmicas ao longo do tempo. Comportamentos subtis ou raros podem ser difíceis de observar e registar com precisão (Altmann, 1974).

5.3. MÉTODOS TRADICIONAIS

O uso da tecnologia para monitorização menos invasiva pode permitir intervenções rápidas e direcionadas para uma melhor qualidade de vida (Broom, 2009; Staley *et al.*, 2018).

Métodos como a avaliação da frequência cardíaca permitem a avaliação de dados fisiológicos dos animais que podem fornecer importantes insights sobre a relação animal-ambiente (Whitham *et al.*, 2016). No entanto, a frequência cardíaca pode ser influenciada por diversos fatores externos, como temperatura ambiente e atividade física, o que pode dificultar a interpretação precisa dos resultados (Stewart *et al.*, 2005).

A utilização de Termografia Infravermelha (IRT) permite detetar alterações na temperatura corporal que podem estar relacionadas com doença ou stress. Esta tecnologia funciona capturando imagens térmicas da superfície do corpo dos animais (Whitham *et al.*, 2016). Áreas com inflamação ou quadros febris geram alterações nas imagens térmicas, devido ao aumento do fluxo sanguíneo e da atividade metabólica nessas regiões (Luzi *et al.*, 2013). Assim, é possível identificar pontos de calor que podem ser sugestivas de situações anormais (Whitham *et al.*, 2016). A validade dessas abordagens

está na integração com observações comportamentais detalhadas para uma compreensão completa do bem-estar dos lobos (Palme, 2012).

Observar animais que apresentam comportamentos de busca de recompensa pode também indicar um estado de bem-estar positivo. Tais comportamentos refletem diretamente o bem-estar dos animais, mostrando uma maior motivação para interagir positivamente com seu ambiente (Van der Harst *et al.*, 2007; Bethell, 2015). De facto, o equilíbrio entre experiências negativas e positivas é fundamental para o bem-estar animal, ressaltando a importância de promover ativamente experiências positivas para uma avaliação equilibrada do bem-estar (Harding *et al.*, 2004; Boissy *et al.*, 2007). O sistema de recompensa é cognitivamente modelado por experiências positivas e negativas, afetando a sua sensibilidade a futuras recompensas (Van der Harst *et al.*, 2007; Mendl *et al.*, 2009). Por exemplo, animais que passaram por situações stressantes podem apresentar uma sensibilidade aumentada às recompensas por exemplo ao momento do *medical training* demonstrada por um comportamento antecipatório mais acentuado ao esperar por uma recompensa. Avaliar essa sensibilidade pode oferecer insights valiosos sobre o estado emocional dos animais, ajudando a mitigar os efeitos do stress e melhorar o seu bem-estar (Van der Harst *et al.*, 2007; Bethell, 2015; Roelofs *et al.*, 2016).

5.4. SISTEMAS DE MONITORIZAÇÃO AUTÓNOMOS

Nas últimas décadas, foram desenvolvidos métodos de avaliação do BEA baseadas na utilização de sistemas de monitorização autónoma.

Os acelerómetros, por exemplo, são dispositivos que medem a atividade física (atividade e repouso). A quantificação ao nível da atividade dos animais, pode fornecer informação relevante sobre o seu bem-estar. Esta quantificação é crucial para o BEA. Mudanças nos padrões de atividade podem indicar stress, dor ou desconforto (Whitham *et al.*, 2016). Uma diminuição na atividade pode ser um sinal de letargia ou depressão, enquanto um aumento pode indicar agitação ou ansiedade. Comportamentos como letargia, diminuição de respostas a estímulos e redução na atividade física são frequentemente associados a condições médicas e/ou psicológicas, incluindo stress e dor (Aiello *et al.*, 2016).

A utilização de Georeferenciação (GPS) oferece uma perspetiva sobre padrões de movimento e a utilização do espaço pelos animais. É uma ferramenta muito utilizada em aves, especialmente para estudar padrões de migração, mas esta metodologia pode ser muito útil aplicada aos lobos em cativeiro (Whitham *et al.*, 2016). Embora os lobos em cativeiro tenham áreas menores para explorar,

o GPS pode monitorizar a atividade diária e identificar padrões de uso do recinto, ajudando a ajustar o manejo e, desta forma, melhorar o bem-estar animal (Cagnacci *et al.*, 2010).

Os sistemas de Identificação por Radiofrequência (RFID) são usados para monitorizar interações e acesso a recursos. Estes sistemas funcionam através da implantação de pequenos chips RFID nos animais, que emitem sinais de rádio. Antenas recetoras, estrategicamente colocadas no recinto, captam esses sinais, registando a localização e os movimentos dos animais. Isso permite uma monitorização contínua e detalhada das interações e do uso do espaço pelos animais, fornecendo dados valiosos sobre os seus comportamentos sociais e padrões de movimentação sem que haja perturbações no seu habitat (Ruiz-Garcia and Lunadei, 2011; Whitham *et al.*, 2016). No entanto, os sistemas RFID têm limitações. O custo dos leitores pode ser alto, especialmente se forem utilizados para cobrir uma área extensa. A precisão das leituras pode ser afetada por obstáculos físicos e interferências eletromagnéticas. Além disso, a durabilidade dos chips pode ser comprometida em ambientes difíceis e a manutenção contínua dos equipamentos requer investimento (Diana, 2021). Embora RFID forneça dados sobre localização, esta técnica não captura informações comportamentais ou fisiológicas, exigindo a integração com outras tecnologias para uma avaliação completa (Diana, 2021).

A Bioacústica (estudo das vocalizações) também pode revelar oportunidades na avaliação do bem-estar. Os uivos dos lobos, podem fornecer indicadores não invasivos do bem-estar animal, refletindo stress ou conforto (Whitham *et al.*, 2016). Em situações de stress, os uivos dos lobos geralmente apresentam maior frequência e variações na intensidade, indicando ansiedade ou desconforto (Teixeira *et al.*, 2019). Por outro lado, uivos associados ao conforto e à interação social tendem a ser mais consistentes e harmoniosos, refletindo um estado emocional positivo (Mech, 1999b). Analisando estas características acústicas é possível criar uma inferência sobre o nível de bem-estar dos lobos. A validade destas tecnologias depende da capacidade de obter dados representativos sem interferir com o comportamento natural dos animais. Para interpretar esses dados corretamente, é necessário um entendimento profundo dos padrões comportamentais específicos dos lobos a fim de distinguir entre atividades normais e indicativos de stress (Whitham *et al.*, 2016).

A utilização destes métodos permite uma análise da cronobiologia e dos padrões de atividade dos lobos revela que a organização temporal da vida, incluindo ritmos comportamentais e fisiológicos, que são cruciais para os animais (Berger, 2011). Estudar esses ritmos biológicos utilizando métodos não invasivos, como os descritos anteriormente, é essencial para obter uma compreensão detalhada das adaptações temporais específicas de cada espécie. No entanto, é necessário um conhecimento

profundo dessas adaptações para distinguir entre atividade normal e sinais de stress ou mal-estar (Berger, 2011).

5.5. MÉTODOS BIOMOLECULARES

Os métodos tradicionais e tecnológicos de avaliação do BEA podem ser complementados com medições de outros parâmetros.

O stress, que tem fortes impactos negativos no sistema imunológico (Staley *et al.*, 2018; Riggio *et al.*, 2019), pode ser avaliado pela detecção e quantificação de marcadores como o cortisol, permitindo assim interpretar o estado de stress do animal. O cortisol é um glucocorticóide que desempenha um papel central na resposta fisiológica ao stress. Os níveis de cortisol fecal são indicadores eficazes da exposição ao stress por períodos prolongados (Ojala *et al.*, 2021; De Andrés *et al.*, 2021). Durante situações de stress, a glândula adrenal aumenta a produção de cortisol sérico e este é, eventualmente, excretado nas fezes, permitindo uma estimativa do nível de stress de forma não invasiva (Sheriff *et al.*, 2011; Palme, 2012; Cerón *et al.*, 2022). O nível de cortisol também aumenta em situação de exercício físico quando existe uma ameaça à homeostase e a necessidade de uma elevada demanda de energia. Vai haver libertação de cortisol que, por sua vez, vai aumentar a disponibilidade de glucose no sangue, mobiliza os ácidos gordos dos tecidos adiposos e ajuda na reparação de tecidos (Bouassida *et al.*, 2003).

Do ponto de vista técnico, este método é viável em parques devido à facilidade de colheita de fezes, especialmente onde os animais estão alojados em abrigos individuais (Pifarré, *et al.*, 2012). A utilização de técnicas não invasivas para estas determinações oferece a vantagem de se obter dados sem provocar stress adicional nos animais (Agoramoorthy, and Harrison, 2002; Valvez, *et al.*, 2012). Este método pode ser especialmente útil para avaliar o impacto de mudanças no ambiente ou na estrutura social dos lobos que afetam diretamente o seu bem-estar, permitindo intervenções rápidas baseadas em evidência para melhorar as suas condições ambientais.

Este método foi utilizado em três zoológicos no México para determinar se o número de visitantes tinha uma incidência nos níveis de cortisol nas fezes dos lobos e, portanto, por extensão, no seu stress. Este estudo mostra que nos dias de maior afluência (principalmente aos domingos e sábados), o nível de cortisol era muito mais elevado comparado aos dias de menor afluência (Pifarré *et al.*, 2012). Esses resultados mostram uma correlação entre o aumento do cortisol e, portanto, do stress quando os visitantes eram mais numerosos, o que ilustra que mesmo para lobos nascidos e criados em cativeiro, o número de visitantes impacta o seu nível de stress e, portanto, o seu bem-estar.

Este exemplo ilustra o interesse de utilizar este método para medir o stress dos lobos em cativeiro, a fim de tomar medidas para melhorar sua situação, por exemplo neste caso, instalando mais áreas fora da vista dos visitantes ou limitando o número de visitantes por dia.

Esta avaliação apresenta limitações, nomeadamente o facto de refletir apenas o stress crónico e não o stress agudo. Além disso, diversos fatores externos, como a dieta, o ritmo circadiano e a presença de parasitas gastrointestinais podem afetar as concentrações de cortisol, dificultando a interpretação objetiva dos dados (Sheriff *et al.*, 2011). Por outro lado, níveis elevados de cortisol podem também ser resultado de uma resposta normal ao exercício físico. Isso significa que, ao interpretar os dados de cortisol, é importante considerar o contexto em que foram recolhidos, para distinguir entre uma reação fisiológica de um sinal de stress crónico (Sands *et al.*, 2004). Outra limitação evidente é a variabilidade individual: diferentes animais excretam variadas taxas de cortisol exigindo a colheita de várias amostras do mesmo indivíduo a fim de determinar um valor de referência individual (Sheriff *et al.*, 2011). O processamento e análise destas amostras requerem equipamentos de laboratório específicos e conhecimento técnico o que implica custos avultados o que pode constituir um obstáculo à sua utilização em rotina.

A medição da Imunoglobulina A (IgA), especialmente na sua forma secretora (SlgA), em amostras como fezes ou saliva, é uma outra técnica relativamente recente para avaliar o bem-estar animal. As concentrações de SlgA refletem a interação entre o sistema imunológico e a resposta ao stress, e medidas com outros biomarcadores (hormonas dos eixos HPA (hipotálamo-hipófise-adrenal) e SAM (sistema simpato-adreno-medular)). A SlgA permite determinar se a experiência emocional de um animal é positiva ou negativa. Está demonstrado que, a longo prazo, os níveis de SlgA tendem a ser mais elevados nos animais que apresentam um melhor estado de bem-estar. A concentração de SlgA pode estar aumentada em resposta a um pico de stress, aumentando temporariamente as concentrações de SlgA (Staley, 2018). Em contrapartida, as condições de stress crónico suprimem as concentrações de SlgA devido à exposição repetida aos produtos do eixo HPA. O aumento nos níveis de SlgA em condições de bem-estar e de stress agudo pode parecer contraditórios, mas isso é explicado pelas diferentes dinâmicas da resposta imunológica ao stress. De facto, num estado de bem-estar, os níveis de SlgA aumentam de maneira sustentada porque num ambiente positivo, interações sociais enriquecedoras e atividades agradáveis estimulam o sistema imunológico de forma contínua, indicando um estado de saúde ótimo. Por outro lado, em caso de stress agudo, os níveis de SlgA aumentam temporariamente em resposta ao stress imediato para reforçar rapidamente as defesas imunológicas das mucosas, oferecendo uma proteção rápida contra infecções potenciais. É importante notar que a resposta da SlgA aos estímulos pode variar dependendo se o animal já está sob stress

crónico ou da natureza positiva ou negativa do estímulo (REF). Por exemplo, foi realizado um estudo num refúgio de gatos que, à chegada, foram classificados como ansiosos/frustrados ou calmos/contentes, com base nos comportamentos observados. Foi notado, após análises, que as concentrações de SIgA fecal dos gatos “frustrados” eram mais baixas do que as dos gatos “calmos/contentes”. Assim, os estudos sobre a concentração de SIgA dos animais em abrigos indicam que os animais que apresentam comportamentos coerentes com um estado de bem-estar têm concentrações de SIgA mais elevadas do que aqueles que apresentam comportamentos indicativos de forte ansiedade ou patologias, e portanto, sem bem-estar (Graham *et al.*, 1988; Gourkow *et al.*, 2014b). O que é ainda mais interessante é que, nesta mesma experiência, os gatos ansiosos submetidos a carícias regulares mostraram uma melhoria nos comportamentos e nos parâmetros de saúde, com concentrações de SIgA fecal aumentadas. Esta experiência demonstra o potencial do método para medir a avaliação do stress de um animal à chegada ou durante uma mudança significativa.

Estas medições podem também ser realizadas no contexto de uma mudança de local de vida de um animal (de um recinto a outro ou mesmo uma mudança de parque), como foi feito para examinar a resposta dos ratos a um novo tipo de gaiola. Nesta experiência, foi observado que, após um aumento inicial, as concentrações de SIgA fecal se estabilizaram aproximadamente quatro semanas após a introdução na nova gaiola, sugerindo que os ratos se tinham adaptado ao novo ambiente (Bundgaard *et al.*, 2012). Num outro estudo, com porcos colocados num novo recinto, foi possível determinar, observando uma diminuição constante de SIgA, que era sugestivo que o novo habitat era um fator de stress crónico (Eriksson *et al.*, 2004; Royo *et al.*, 2005).

Com base nestas experiências, compreendemos que os níveis de concentração de SIgA podem ser utilizados para determinar como as mudanças ambientais impactam a função imunológica, induzindo ou um stress crónico, ou favorecendo um estado de bem-estar positivo. Este método pode também ser utilizado para avaliar o stress social dos animais a fim de determinar se os lobos se sentem bem dentro da hierarquia de sua alcateia, e até mesmo, no futuro, ajudar a determinar o posto social de um indivíduo dentro do seu grupo (Staley *et al.*, 2018). No entanto, interpretar as variações de SIgA pode ser desafiador, pois essas variações dependem de vários fatores, como o tipo e a duração do estímulo. Além disso, existem limitações técnicas na coleta e análise das amostras de saliva e fezes, que exigem procedimentos rigorosos para evitar contaminação ou degradação. No caso da saliva, o método de coleta é invasivo, constituindo um fator adicional de stress no animal.

6. SÍNTESE DE DADOS E PERSPECTIVAS

Os métodos de avaliação do BEA variam consideravelmente, tanto em termos de abordagem como de precisão. Ferramentas desenvolvidas por organizações como a *AFdPZ* e o *Wild Planet Trust* oferecem um quadro sistemático para analisar as condições de vida, focando em critérios como nutrição, alojamento, saúde e comportamentos naturais. Estas ferramentas combinam observações diretas com indicadores específicos de cada espécie, proporcionando uma abordagem abrangente. No entanto, estas metodologias enfrentam desafios, especialmente devido à subjetividade e a dificuldade em avaliar os aspetos psicológicos dos animais.

Os dados recolhidos destacam a importância do design dos recintos, do enriquecimento ambiental e das interações sociais para melhorar a qualidade de vida dos lobos em cativeiro. São essenciais recintos projetados que mimetizem o ambiente natural dos lobos e que ofereçam espaço para exploração e atividade física. É importante a presença de áreas de refúgio permitam aos animais ter privacidade e descanso, elementos cruciais para seu bem-estar psicológico (Kelly *et al.*, 2015). O enriquecimento ambiental e a socialização são fundamentais para estimular comportamentos naturais e reduzir comportamentos estereotipados. São recomendados, para melhorar o bem-estar, cercados espaçosos e tentativas de protocolos de enriquecimento alimentar, que incentivam a busca e exploração (Gunning, 2008, *The UK Wolf Conservation Trust*, 2018;).

Medidas como a limitação do número de visitantes, a instalação de barreiras visuais e a educação do público sobre comportamento respeitoso são eficazes para reduzir o impacto negativo da presença humana (Pifarré *et al.*, 2012).

Os métodos tradicionais para avaliar a saúde dos animais que incluem exames físicos ou exames complementares podem causar um stress adicional nos animais devido à necessidade de captura. Por isso, pode ser interessante implementar técnicas como o *medical training* para evitar problemas de contenção e diminuir o stress durante procedimentos.

A integração de tecnologias avançadas e a pesquisa comportamental aprofundada são áreas promissoras para futuras melhorias na gestão do bem-estar dos lobos em cativeiro. Por exemplo, biomarcadores como metabolitos das hormonas de stress, tais como os glucocorticoides ou o SigA, podem constituir indicadores importantes uma vez que podem ser obtidos a partir de amostras fecais recolhidas de forma não invasiva,. Tais indicadores possibilitam uma avaliação mais precisa do bem-estar dos animais, especialmente em parques zoológicos onde a recolha de fezes é viável e menos

stressante (Palme, 2012). Paralelamente, tecnologias como acelerómetros, GPS e sistemas de identificação por radiofrequência, proporcionam dados objetivos que complementam as observações diretas, reduzindo a subjetividade na avaliação do BEA (Whitham *et al.*, 2016).

7. DISCUSSÃO E REFLEXÃO

Avaliar o bem-estar dos lobos em cativeiro é um desafio complexo que exige uma compreensão detalhada dos comportamentos naturais e das adaptações necessárias a um ambiente confinado. O primeiro grande desafio é a multidimensionalidade do bem-estar animal, que abrange aspectos físicos, emocionais, comportamentais e fisiológicos. A natureza selvagem dos lobos e sua estrutura social complexa aumentam a necessidade de estratégias específicas para garantir seu bem-estar (*The UK Wolf Conservation Trust*, 2018). Lobos em estado selvagem demonstram comportamentos evoluídos, como caça e territorialidade. Em cativeiro, estes comportamentos podem ser limitados ou modificados, exigindo uma interpretação especializada (Borrego *et al.*, 2013).

A vida em cativeiro, mesmo sendo cuidadosamente gerida, limita a capacidade dos lobos de expressar comportamentos inatos, considerados indicadores essenciais do seu bem-estar (Mech and Boitani, 2003). Distinguir entre comportamentos naturais e aqueles induzidos pelo cativeiro é igualmente complicado, pois o cativeiro desses animais é frequentemente a causa de comportamentos estereotipados. As estereotipias estão associadas a alteração de bem-estar, mas o grau de estereotipias a partir do qual se pode considerar que o bem-estar do animal está realmente alterado não está definido (Berthomieu, 2017). Alguns autores consideram alarmante o facto de o animal passar mais de 10% do seu tempo em comportamentos estereotipados, enquanto, para outros autores, a diminuição do bem-estar é inaceitável se os comportamentos estereotipados afetarem mais de 5% da população (Mason, 1991).

Deve-se ter ainda em conta a variabilidade individual. Cada indivíduo possui características únicas que influenciam o seu bem-estar em cativeiro, exigindo avaliações individualizadas. Isto requer tempo, recursos e conhecimentos de forma a interpretar corretamente os resultados (Staley *et al.*, 2018). Além disso, conforme referido anteriormente, os métodos de avaliação do bem-estar, embora inovadores, apresentam as suas limitações. Tecnologias avançadas e métodos não invasivos, como a medição de cortisol, permitem monitorizar o bem-estar, mas podem não espelhar todas as nuances dos estados emocionais e comportamentais dos lobos (Whitham *et al.*, 2016). Embora estes indicadores forneçam informações úteis, eles podem ser insuficientes. Por exemplo, níveis elevados

de cortisol podem indicar stress, mas também uma reação normal ao exercício físico (Sands *et al.*, 2004).

A extrapolação dos resultados é uma preocupação, pois muitos estudos focam em populações específicas e condições particulares de cativeiro, o que pode limitar a aplicabilidade dos resultados a outros contextos (Riggio *et al.*, 2019). Por exemplo, um dos elementos que também falta nos estudos sobre o bem-estar dos animais em cativeiro é a questão da gestão dos animais idosos e o seu bem-estar. De facto, como o conhecimento sobre o bem-estar dos animais em cativeiro se apoia sobretudo em estudos aplicados à produção animal, existem poucos dados na gestão dos animais idosos.

Os estudos sobre a gestão dos animais selvagens em cativeiro também são criticados por seu viés antropogênico, focando-se na estrutura social dos grupos, no ambiente visual, no tamanho do recinto e na influência dos visitantes, mas muito pouco no papel do clima, ou ainda no ambiente dos animais do ponto de vista olfativo, auditivo e eletromagnético. É, portanto, necessário fazer esforços para considerar o ambiente do ponto de vista do animal (Melfi, 2009).

As implicações éticas de manter lobos em cativeiro são significativas. É fundamental avaliar se estas práticas realmente beneficiam os lobos ou se apenas justificam o seu cativeiro para fins de conservação, educação ou investigação (Wolfensohn *et al.*, 2018). De facto, atribuem-se hoje quatro grandes funções aos zoológicos: entretenimento, educação, investigação e conservação. O entretenimento pode ser amplamente discutido, pois pode-se questionar a legitimidade de justificar a captura de tais animais para esses fins. Desde a Antiguidade, os homens colecionavam animais exóticos para seu prazer e, ainda hoje, as pessoas vão ao zoo principalmente para se divertir (Berthomineu, 2017). Pode-se questionar se outros meios, como documentários ou animações, não seriam suficientes para entreter o público interessado em fauna selvagem. A educação é um aspecto mais facilmente justificável, pois parece mais legítima. De facto, os zoológicos implementam "a promoção na educação e sensibilização do público sobre a conservação da diversidade biológica, fornecendo informações sobre as espécies expostas e seus habitats naturais" (Münterfering, 1999). Esta educação dirige-se a gerações mais jovens, curiosas e que têm uma real necessidade de conhecimento sobre este tema. Em algumas situações de conflitos homem-animal, estes locais podem contribuir para a educação e sensibilização dos adultos como é o caso do parque do Mercantour, em França, onde os lobos geram grandes debates e se tornam questões políticas. No entanto, alguns pontos podem levar-nos a questionar se a mensagem é corretamente transmitida e, portanto, se os zoológicos cumprem o seu papel. Quanto à educação das crianças, alguns pontos podem levar-nos a questionar se a mensagem é corretamente transmitida e, portanto, se os zoológicos cumprem o seu papel. De facto, Kellert mostrou que as crianças que visitam zoológicos têm os piores resultados em testes sobre animais selvagens (Kellert, 1984) e

que as informações e sensibilização realizadas nas estruturas não influenciam de forma positiva a atitude das crianças em relação à fauna selvagem (Morgan and Gramann, 1989). No entanto, a transmissão de conhecimentos e a sensibilização poderiam ser melhoradas através de outros tipos de atividades pedagógicas, como as alimentações pedagógicas, pois, como mostraram Morgan e Gramann, a mensagem passa melhor se houver uma interação entre o homem e o animal (Morgan and Gramann, 1989). Além dos seus papéis de entretenimento e educativos, os zos desempenham um papel crucial na conservação. Em 2002, a *União Internacional para a Conservação da Natureza* (UICN) reconheceu oficialmente os zos como parceiros na conservação da natureza (AFdPZ, 2010). As exigências de medidas a implementar, seja de investigação, educação ou detenção, têm como objetivo final contribuir para a conservação das espécies (Berthomieux, 2017).

As considerações éticas e práticas são cruciais para a melhoria do bem-estar dos lobos em cativeiro. A justificação para manter lobos em cativeiro deve ser constantemente avaliada à luz dos avanços científicos e das mudanças sociais, garantindo que esta prática seja eticamente defensável (*The UK Wolf Conservation Trust*, 2018). Respeitar a autonomia dos lobos, oferecendo-lhes escolhas no seu quotidiano, é um princípio ético fundamental. Isso implica criar ambientes enriquecidos e variados que permitam aos lobos exercer algum grau de controle sobre o seu ambiente (Clegg, 2018). A formação contínua dos profissionais de cuidados e a sensibilização do público quanto às necessidades dos lobos são fundamentais para apoiar esforços de promoção do bem-estar animal. Educar sobre a importância do bem-estar animal e compartilhar melhores práticas pode reforçar o compromisso com cuidados éticos e responsáveis (Mech and Boitani, 2003).

Pesquisas futuras poderiam beneficiar de abordagens multidisciplinares que integrem etologia, medicina veterinária, psicologia animal e tecnologia, permitindo um entendimento mais completo do bem-estar (Whitham *et al.*, 2016). Estudos longitudinais são cruciais para observar os efeitos a longo prazo das práticas de gestão e identificar fatores que contribuem para um bem-estar duradouro (Whitham *et al.*, 2016).

A melhoria do bem-estar dos lobos em cativeiro exige uma abordagem abrangente que integre considerações éticas profundas e práticas de gestão informadas. Colocando o bem-estar dos lobos no centro das preocupações, é possível navegar no complexo cenário do cativeiro com compaixão e respeito por esses animais, oferecendo-lhes uma vida tão enriquecedora e natural quanto possível dentro das limitações do ambiente controlado.

8. CONCLUSÃO

A questão do BEA é hoje um assunto atual que ressoa frequentemente na opinião pública sob a forma de debate, sendo cada vez mais numerosos os defensores da causa animal. Têm-se desenvolvido muitos estudos na área da avaliação do BEA em animais domésticos nas últimas décadas. No entanto, carecem de estudos que avaliem o BEA dos animais selvagens em cativeiro, por espécie.

O caso emblemático dos lobos, que atraem uma atenção particular por serem animais muito complexos com um funcionamento social desenvolvido, também se torna uma questão política em alguns países onde os conflitos entre predadores e pastores estão no centro do debate. A questão do Lobo em cativeiro gera debate, pois é difícil conceber que condições de cativeiro possam proporcionar bem-estar para estes animais sociais que necessitam de uma grande área territorial.

É necessário desenvolver protocolos precisos e fundamentados para a avaliação do seu bem-estar a fim de melhorar as suas condições de vida em cativeiro. Após a revisão das diferentes metodologias e práticas relacionadas ao bem-estar dos lobos em cativeiro, algumas conclusões-chave podem ser destacadas.

Primeiramente, é essencial adotar uma abordagem holística para compreender completamente o bem-estar dos animais. Os diferentes métodos estudados neste trabalho devem ser analisados pelas instituições para determinar quais podem ser aplicados, tentando combiná-los ao máximo para ter uma avaliação o mais completa possível. É também importante lembrar as limitações de cada método para evitar erros de interpretação.

Para concluir, é essencial que os esforços de avaliação do bem-estar animal para esta espécie sejam harmonizados e melhorados, tendo em conta os avanços científicos e os retornos de experiência das instituições. Isso garantiria uma qualidade de vida digna aos lobos, respeitando sua natureza complexa e suas necessidades específicas, enquanto se continua a questionar a legitimidade do cativeiro e se adapta esta à demografia da espécie.

9. ANEXOS

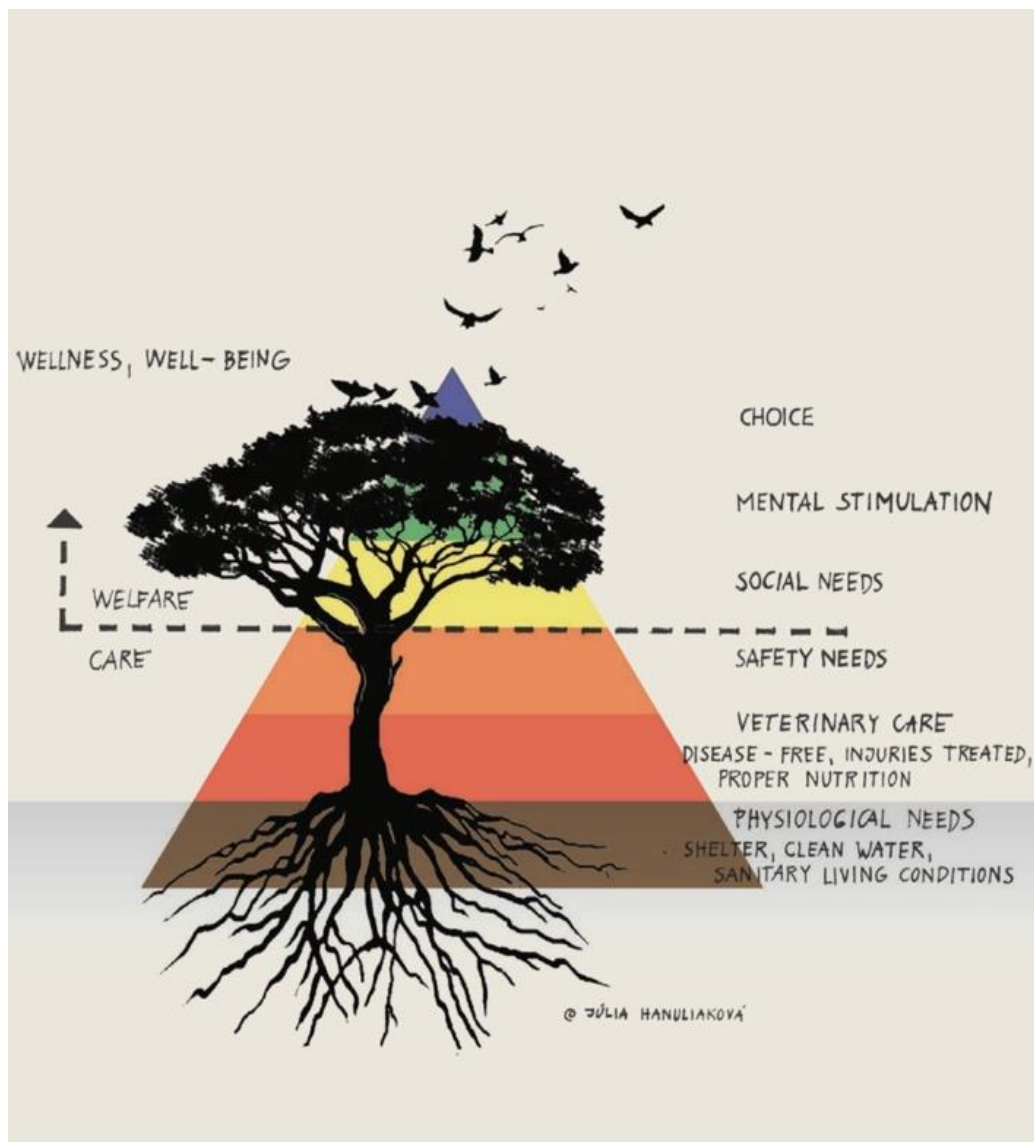


Figura 1 - Adaptação da pirâmide de *Maslow* para os animais, ilustrando os diferentes níveis de necessidades em termos de bem-estar animal. *Adaptada de: Mellor and Beausoleil, (2015).*

Saúde do animal	Sim	Parcialmente	Não	Desconhecido / não observado	N/A	Comentários / Dados
O animal parece estar em boa condição física ?						
As necessidades nutricionais do animal estão satisfeitas?						
A dieta oferecida é adequada ao animal (em termos de quantidade, composição e diversidade) ?						
A forma de apresentar a alimentação e a água é adequada à espécie? Considerando a quantidade, apresentação e horário de distribuição.						
O animal está livre de lesões / danos físicos?						
O animal está livre de doenças? Por favor, especifique (ex. condição aguda, crônica)						
O animal tem acesso a cuidados de saúde preventivos e de emergência?						

Classificações

- **Sim** : evidência de que o bem-estar dos animais é plenamente respeitado
- **Parcialmente** : evidência de que o bem-estar dos animais é parcialmente respeitado
- **Não** : evidência de que o bem-estar dos animais não é atualmente respeitado
- **Desconhecido / não observado** : não há provas suficientes para fornecer uma classificação
- **N/A** : Não aplicável

Dados / comentários : Informações que foram consideradas na classificação.

Figura 2 – Exemplo duma parte da grelha de avaliação do BEA usada para monitorar diversos indicadores baseados nos recursos (nutrição e ambiente) e nos animais (saúde física e comportamento). *Adaptada de: AFdPZ (2023).*

10. BIBLIOGRAFIA

Association of Zoos and Aquariums (AZA). (2012) 'Animal Care Manuals. Large Canid (*Canidae*) Care Manual. Available at :

https://assets.speakcdn.com/assets/2332/large_canid_care_manual_2012r.pdf

AFdPZ (French Association of Zoological Parks). (2010) 'Guide to Using the Animal Welfare Monitoring Grid'. Internal document, unpublished.

Agoramoorthy, G., and Harrison, B. (2002) 'Ethics and animal welfare evaluations in southeast asian zoos: A case study of thailand', *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 5(1), 113. https://doi.org/10.1207/S15327604JAWS0501_1

Aiello, S. E. *et al.* (2016) 'The Merck veterinary manual' (Eleventh edition), Merck & Co., Inc. ISBN 978-0-911910-61-2.

Altmann, J. (1974) 'Observational study of behavior : Sampling methods,' *Behaviour*, 49(34), 227266. <https://doi.org/10.1163/156853974x00534>

American Humane. (2021) 'Zoos and Aquariums - American Humane'. Available at: <https://www.americanhumane.org/position-statements/zoos-and-aquariums/>

Asa, C. S., *et al.* (2011) 'Can conservation-breeding programmes be improved by incorporating mate choice?', *International Zoo Yearbook*, 45(1), 203212. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2010.00123.x>

Berger, A. (2011) 'Activity patterns, chronobiology and the assessment of stress and welfare in zoo and wild animals: STRESS ASSESSMENT BY APPLIED CHRONOBIOLOGY', *International Zoo Yearbook*, 45(1), 8090. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2010.00121.x>

Berthomieu, L. (2017) 'Contribution à l'étude du bien-être des girafes en captivité'. Doctoral thesis, Veterinary Medicine, National Veterinary School of Toulouse – ENVT, 182 pages. Available at: https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04541803v1/file/Berthomieu_25312.pdf

Bethell, E.J. (2015) 'A "How-To" Guide for Designing Judgement Bias Studies to Assess Captive Animal Welfare', *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 18(Sup. 1), pp.S18-S42. ISSN 1532-7604. <http://dx.doi.org/10.1080/10888705.2015.1075833>

Boissy, A. *et al.* (2007) 'Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare', *Physiology & Behavior*, 92(3), 375397. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.003>

Bouassida, A. *et al.* (2003) 'Cinétique du cortisol et de l'hormone de croissance plasmatiques lors de deux épreuves sous-maximales avec et sans récupération', *Science & Sports*, 18(1), 20-22. [https://doi.org/10.1016/s0765-1597\(02\)00055-2](https://doi.org/10.1016/s0765-1597(02)00055-2)

Borrego, P., *et al.* (2013) 'Enriquecimiento ambiental en lobo ibérico (*Canis lupus signatus*)', Master's Thesis in Ethology, University of Córdoba. Available at: <https://zoo.cordoba.es/wp-content/uploads/2021/05/TFM-Lobo-iberico.pdf>

Brambell, F.W.R. (1965) 'Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems', Her Majesty's Stationery Office, London. Available at: <https://edepot.wur.nl/134379>

Broom, D.M. (2006) 'Le bien-être animal. Strasbourg: Editions du Conseil de l'Europe', 296p. ISBN: 92-871-6015-5.

Broom, D.M. (2009) 'Measuring Zoo animal welfare', *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 12(3), 273-275. <http://dx.doi.org/10.1002/zoo.20276>

Browning, H. *et al.* (2018) 'No room at the zoo: Management euthanasia and animal welfare', *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 31(4), 483498. <https://doi.org/10.1007/s10806-018-9741-8>

Cagnacci, F. *et al.* (2010) 'Animal ecology meets GPS-based radiotelemetry: A perfect storm of opportunities and challenges. Philosophical Transactions of the Royal Society B', *Biological Sciences*, 365(1550), 21572162. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0107>

Cerón, J. J. *et al.* (2022) 'Basics for the potential use of saliva to evaluate stress, inflammation, immune system, and redox homeostasis in pigs', *BMC Veterinary Research*, 18(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03176-w>

Clegg, I. *et al.* (2015) 'C-Well: The development of a welfare assessment index for captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)', *Animal Welfare*, 24(3), pp. 267–282. <https://doi.org/10.7120/09627286.24.3.267>

Clegg, I.L.K. (2018) 'Cognitive Bias in Zoo Animals: An Optimistic Outlook for Welfare Assessment', *Animals*, 8(7), p. 104. <https://doi.org/10.3390/ani8070104>.

Dangerous Wild Animals (Northern Ireland) Order. (2004) 'Guidance on the keeping of wolves and wolf-dog hybrids', Environment & Heritage Service, Northern Ireland, pp.3-9.

De Andrés, P. J. *et al.* (2021) 'Non-invasive determination of annual fecal cortisol, androstenedione, and testosterone variations in a herd of male asian elephants (*Elephas maximus*) and their relation to some climatic variables', *Animals*, 11(9), 2723. <https://doi.org/10.3390/ani11092723>

Diana, A. (2021) 'A Systematic Review of the Use of Technology to Monitor Welfare in Zoo Animals : Is There Space for Improvement ?', *Animals*, 11(11), 3048. <https://doi.org/10.3390/ani11113048>

Dudzinski, K. M. *et al.* (2024) 'Zoo and aquarium animal welfare, ethics, and behavior', *Animals*, 14(11), 1552. <https://doi.org/10.3390/ani14111552>

Fraser, D. (2009) 'Assessing animal welfare: different philosophies, different scientific approaches', *Zoo Biology*, 28(6), pp. 507–518. <https://doi.org/10.1002/zoo.20253>.

Frézard, A. and Pape, G.L. (2003) 'Contribution to the welfare of captive wolves (*Canis lupus lupus*): A behavioral comparison of six wolf packs', *Zoo Biology*, 22(1), pp. 33–44. <http://dx.doi.org/10.1002/zoo.10070>

Gauvin, A.S., (2013), 'Organisation d'une meute de Louis (Canis lupus lupus) captives au Parc alpha: impact d'un changement de couple reproducteur', Doctor of Veterinary Medicine thesis publicly presented before the Faculty of Medicine of Créteil. Available at : https://domlibs.fr/faune_flore/docs/ESP_loup_gris_organisation_meute_Gauvin_2013.pdf

Gunning, J. (2008) 'Welfare in captive carnivores: what can studies tell us about captive wolf management?', Department of Biological Sciences, University of Plymouth. BIOL 3001: Literature review. Available at: <https://ukwct.org.uk/files/dissertations/Gunning-LiteratureReview.pdf>

Haque, A. (2006) 'Distressed animal behaviors and some recommendations for improvements at the kuala lumpur zoo, malaysia', Journal of Applied Animal Welfare Science, 9(4), 333335. https://doi.org/10.1207/s15327604jaws0904_8

Harding, E.J. *et al.* (2004) 'Cognitive bias and affective state', Nature Review, 427(6972), pp.312. <https://doi.org/10.1038/427312a>

Hill, S.P. *et al.* (2009) 'Measuring zoo animal welfare: theory and practice', Zoo Biology, 28(6), pp. 531–544. <https://doi.org/10.1002/zoo.20276>.

Kagan, R. *et al.* (2015) 'A universal animal welfare framework for zoos', Journal of Applied Animal Welfare Science, 18(sup1), S1-S10. <https://doi.org/10.1080/10888705.2015.1075830>

Kelly, R.L. *et al.* (2015) 'Enrichment Strategies for Captive Wolves: A Critical Review', Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 46(4), pp.798-808.

Kellert, S. (1984) 'Urban American perceptions of animals and the natural environment'. Urban Ecology, 8, n°3, 209-228. [https://doi.org/10.1016/0304-4009\(84\)90036-6](https://doi.org/10.1016/0304-4009(84)90036-6)

Laidlaw, R. (2000) 'GRAY WOLF: a comparison of husbandry and housing practices', Zoocheck Canada Inc. World Society for the Protection of Animals Ontario Zoo Working Group. Available at: <http://www.zoocheck.com/wp-content/uploads/2015/06/Wolfreport.pdf>

Lopez, B.H. (1978) Of Wolves and Men. London: J.M. Dent & Sons, Ltd. 309p. EAN-9780684163222.

Maia, A.P. *et al.* (2012) 'Wolves : Biology, Behavior, and Conservation', Nova Science Publishers. 210p. ISBN-10 1621009165

Maslow, A. H. (1943) 'A theory of human motivation', *Psychological Review*, 50(4), 370396. <https://doi.org/10.1037/h0054346>

Maslow, À. H. (1992) 'Motivation and Personality', Dans Cambridge University Press eBooks. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511527937>

Mason, G., *et al.* (2007) 'Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour?', *Applied Animal Behaviour Science*, 102(34), 163188. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.041>

Mech, L. D. (1999a) 'Alpha status, dominance, and division of labor in wolf packs', *Canadian Journal of Zoology*, 77(8), 11961203. <https://doi.org/10.1139/z99-099>

Mech, L.D. (1999b) 'Howling by wolves: The role of vocal communication in wolf behavior', *Canadian Journal Of Zoology*, 77(8), 11961203. <https://doi.org/10.1139/z99-099>

Mech, L.D., and Boitani, L. (2003) 'Wolves: Behavior, Ecology, and Conservation', University of Chicago Press Chicago, Illinois, and London, United Kingdom, 448 pp. ISBN ISBN 0-226-51696-2. [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2004\)085%3C0815:BR%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2004)085%3C0815:BR%3E2.0.CO;2)

Melfi, V.A. (2009) 'There are big gaps in our knowledge, and thus approach, to zoo animal welfare: A case for evidence-based zoo animal management', *Zoo Biology*, vol. 28, no. 6, pp. 574-588. <https://doi.org/10.1002/zoo.20288>

Mellor, D., and Beausoleil, N. (2015) 'Extending the 'Five Domains' model for animal welfare assessment to incorporate positive welfare states', *Animal Welfare*, 24(3), 241253. <https://doi.org/10.7120/09627286.24.3.241>

Mendl, M. *et al.* (2009) 'Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms', *Applied Animal Behaviour Science*, 118(3–4), pp. 161–181. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.02.023>

Meunier, A. (2011) 'L'alimentation des loups (*Canis lupus*) en captivité – exemple du parc alpha (Mercantour)', Doctor of Veterinary Medicine thesis publicly presented before the National Veterinary School of Toulouse - ENVT. Available at : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04554863/document>

Mission:Wolf. (2023) 'Wolf and Wolf-Dog Care'. [online] Available at: <https://missionwolf.org/wolf-and-wolfdog-care>:

Moberg, G.P. (1985) 'Biological response to stress: key to assessment of animal well-being?', In: Moberg, G.P. (Ed.), *Animal Stress*. Springer, New York, pp. 27-49.

Morgan, J. and Gramann, J. (1989) 'Predicting effectiveness of wildlife education programs: A study of students' attitudes and knowledge toward snakes'. *Wildlife Society Bulletin*, 17, n°4, 501-509.

Available at:

<https://www.researchgate.net/publication/282061301> *Predicting effectiveness of wildlife education programs a study of students' attitudes and knowledge toward snakes*

Münterfering, F. (1999). Directive 1999/22/CE du conseil du 29 mars 1999 relative à la détention d'animaux sauvages dans un environnement zoologique. (JOCE n° L 94 du 9 avril 1999, p. 24.). *Revue Européenne de Droit de l'Environnement*, 3, n°4, 479–482.

Ojala, E. A., *et al.* (2021) 'Faecal cortisol metabolites as an indicator of adrenocortical activity in farmed blue foxes', *Animals*, 11(9), 2631. <https://doi.org/10.3390/ani11092631>

Orsini, H. *et al.* (2006) 'Fisiopatologia do stress em animais selvagens em cativeiro e suas implicações no comportamento e bem-estar animal', *Rev Inst Ciênc Saúde*, 24(1):7-13. Available at: https://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/2020/12/V25_N1_2006_p7-14.pdf

Packard, J.M., (2012) 'Wolf behavior: reproductive, social and intelligent', Texas University Campus Libraries. Available at:

https://www.researchgate.net/publication/241277382_Wolf_behavior_reproductive_social_and_intelligent

Palme, R. (2012) 'Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals'. *Animal Welfare* , Volume 21 , Issue 3: Selected papers from the 5th International Workshop on the Assessment of Animal Welfare at Farm and Group Level , August 2012 , pp. 331 – 337. <https://doi.org/10.7120/09627286.21.3.331>

Paul, E.S. *et al.* (2022) 'Assessing animal welfare: a triangulation of preference, judgement bias and other candidate welfare indicators', *Animal Behaviour*, 186, pp. 151–177. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2022.02.003>

Pifarré, M. *et al.* (2012) 'The effect of zoo visitors on the behaviour and faecal cortisol of the Mexican wolf (*Canis lupus baileyi*)', *Applied Animal Behaviour Science*, 136(1), pp. 57–62.: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.11.015>

Regan, T. (1983) 'The Case for Animal Rights', Berkeley: University of California Press. 429p.

Riggio, G. *et al.* (2019) 'Feeding Enrichment in a Captive Pack of European Wolves (*Canis Lupus Lupus*): Assessing the Effects on Welfare and on a Zoo's Recreational, Educational and Conservational Role', *Animals*, 9(6), p. 331. <https://doi.org/10.3390/ani9060331>

Roelofs, S. *et al.* (2016) 'Making decisions under ambiguity : Judgment bias tasks for assessing emotional state in animals', *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00119>

Ruiz-Garcia, L., and Lunadei, L. (2011) 'The role of RFID in agriculture : Applications, limitations and challenges. *Computers And Electronics In Agriculture*', 79(1), 4250. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2011.08.010>

Sands, J. *et al.* (2004) 'Social dominance, aggression and faecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*', *Animal Behaviour*, 67(3), 387396. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2003.03.019>

Savastano, G. (2003) 'The Development of an Operant Conditioning Training Program for New World Primates at the Bronx Zoo', *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 6:3, 247-26. http://dx.doi.org/10.1207/S15327604JAWS0603_09

Sheriff, M. J. *et al.* (2011) 'Measuring stress in wildlife: Techniques for quantifying glucocorticoids'. *Oecologia*, 166(4), 869887. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1943-y>

Sherratt-Ayerst, S., (2018) 'The effects of the enclosure and management on the behaviour of captive wolves (*Canis lupus*)'. Available at: <https://ukwct.org.uk/files/dissertations/sherratt.pdf>

Smith, D. W., *et al.* (2003) 'Yellowstone after Wolves', *BioScience/Bioscience*, 53(4), 330. [http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0330:YAW\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0330:YAW]2.0.CO;2)

Staley, M. *et al.* (2018) 'Linking stress and immunity: Immunoglobulin A as a non-invasive physiological biomarker in animal welfare studies', *Hormones and Behavior*, 102, pp. 55–68. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.04.011>

Stewart, M. *et al.* (2005) 'Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare', *Animal Welfare*, 14(4), 319325. <https://doi.org/10.1017/S096272860002964X>

Teixeira, D. *et al.* (2018) 'Bioacoustic monitoring of animal vocal behavior for conservation', *Conservation Science and Practice*, 2019;e72. <https://doi.org/10.1111/csp2.72>

The UK Wolf Conservation Trust. (2018) 'Keeping Captive Wolves Busy: Environmental Enrichment at the Trust'. Available at: <https://ukwct.org.uk/files/enrichment.pdf>

Van Der Harst, J. *et al.* (2007) 'Tools to measure and improve animal welfare: reward-related behaviour', *Animal Welfare*, 16(S1), pp. 67–73. <https://doi.org/10.1017/S0962728600031742>

Wahba, M. A. *et al.* (1976) 'Maslow reconsidered : A review of research on the need hierarchy theory', *Organizational Behavior and Human Performance*, 15(2), 212240. [https://doi.org/10.1016/0030-5073\(76\)90038-6](https://doi.org/10.1016/0030-5073(76)90038-6)

Wardzynski, C. *et al.* (2005) 'Medical monitoring of mammals in zoological parks: physical, chemical, and psychological restraint methods'. *Le Point Vétérinaire*, (254), pp.46-51.

Whitham, J. *et al.* (2016) 'Using technology to monitor and improve zoo animal welfare', *Animal Welfare*, 25(4), pp. 395–409. <https://doi.org/10.7120/09627286.25.4.395>

Wolf Haven International. (2021) 'Hierarchical structure in wolf packs', Website. Available at: <https://wolfhaven.org>

Wolfensohn, S. *et al.* (2018) 'Assessment of Welfare in Zoo Animals: Towards Optimum Quality of Life', *Animals*, 8(7), p. 110. <https://doi.org/10.3390/ani8070110>