



# UNIVERSITÀ DI PARMA

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE**

*Corso di Laurea Magistrale a Ciclo Unico in Medicina Veterinaria*

**VALUTAZIONE DEL BENESSERE NEI LEMURI MANTENUTI IN STRUTTURE  
ZOOLOGICHE TRAMITE LA MISURAZIONE DELLO STRESS**

**WELFARE ASSESSMENT WITH STRESS EVALUATION IN LEMURS BRED IN  
ZOOS**

**Relatore:**

*Prof. Francesco DI IANNI*

**Laureando:**

Antonia Franca PARRINELLO

**ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022**



## ABSTRACT

I lemuri sono primati a rischio di estinzione molto rappresentati nei giardini zoologici, strutture che si sono ampiamente modificate nel corso del tempo; in origine erano luoghi ricreativi, mentre negli ultimi anni svolgono un ruolo fondamentale nell'educazione del pubblico sulla natura e sugli animali e nei programmi di riproduzione. Oggi sono molte le leggi, i programmi e le direttive che tutelano gli animali che vivono in cattività, rispettando le caratteristiche delle diverse specie. L'obiettivo di questa tesi è analizzare gli aspetti connessi al benessere animale nei giardini zoologici, quali sono i metodi di valutazione del benessere e del livello di stress, quali sono le cause di stress nei lemuri ai fini di garantire a questi animali elevati livelli di benessere in cattività.

Lemurs are endangered primates highly represented in zoos. The aspect of these structures has changed: once they were recreational places, now they play an important role in people's education concerning nature and animals and in reproduction programmes. Nowadays there are several laws, programmes and directives to protect captive animals, they respect the different characteristics of the species. The aim of this thesis is to analyze the aspects linked to animal welfare in zoos, the methods to assess welfare and stress, which are the causes of stress in lemurs, to guarantee the highest level of welfare in captivity.

# INDICE

ABSTRACT .....	2
INTRODUZIONE.....	5
TASSONOMIA E ORIGINE DEI LEMURI.....	7
RIPRODUZIONE .....	9
ORGANI GENITALI E CICLO ESTRALE.....	9
ATTIVITA' RIPRODUTTIVA DEI LEMURI .....	10
LEGISLAZIONE .....	12
LO STRESS .....	21
RISPOSTA ALLO STRESS .....	21
ANATOMIA DELLA GHIANDOLA ADRENALE .....	22
FISIOLOGIA DELL'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-ADRENALE.....	23
EFFETTI NEGATIVI CAUSATI DALLO STRESS CRONICO .....	24
BENESSERE ANIMALE .....	27
FONTI DI STRESS IN CATTIVITA' .....	34
ARRICCHIMENTO AMBIENTALE.....	34
SUONI.....	34
ILLUMINAZIONE .....	35

ODORI .....	35
TEMPERATURA .....	36
SUBSTRATI.....	36
CONFINAMENTO E CONTROLLO SULL' AMBIENTE .....	37
SPAZI RISTRETTI.....	37
ASSENZA DI SPAZI IN CUI RIFUGIARSI .....	38
VICINANZA FORZATA CON GLI UMANI.....	38
GESTIONE E ROUTINE .....	38
ALIMENTAZIONE RISTRETTA E OPPORTUNITÀ DI CERCARE IL CIBO .....	39
GRUPPI SOCIALI ANOMALI.....	39
ARRICCHIMENTO AMBIENTALE.....	39
ANALISI DEI METABOLITI DEI CORTICOSTEROIDI .....	41
VALUTAZIONE DELLO STRESS NEI LEMURI .....	45
VALUTAZIONI COMPORTAMENTALI .....	45
RAPPORTO TRA GLI ANIMALI E I VISITATORI.....	46
FATTORI STRESSANTI E LIVELLI DI GLUCOCORTICOIDI NEI LEMURI .....	49
CONCLUSIONE.....	56
BIBLIOGRAFIA.....	59

## INTRODUZIONE

I lemuri sono primati endemici del Madagascar e di alcune zone dell’Africa, del Sud Est asiatico e delle Filippine. (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Physical Characteristics, 2021) (Encyclopaedia Britannica, 2022) Sono animali poliestrali stagionali, la cui stagione riproduttiva coincide all’incirca con quella primaverile. (Glatston, 1979) Sono specie ad alto rischio di estinzione, inserite nelle liste rosse IUCN. (www.iucn.org, 2020) I lemuri sono animali ben rappresentati all’interno dei giardini zoologici. Per le specie in pericolo sono attivi programmi di riproduzione e di conservazione in situ ed ex situ. (WAZA, Building a Future for Wildlife - The World Zoo and Aquarium Conservation strategy, 2005)

Nel corso degli anni è cambiato il ruolo dei giardini zoologici e anche il ruolo che questi rivestono nell’opinione pubblica: se in origine avevano funzione espositiva e ricreativa, negli ultimi anni il crescente interesse per la conservazione degli animali e degli habitat naturali e la sensibilizzazione della popolazione a questioni etiche come il benessere degli animali ospitati configurano i giardini zoologici come strutture in prima linea nei programmi di conservazione e nell’educazione dei visitatori. (Ministero della transizione ecologica, s.d.) (Unione europea, 2015)

Per la tutela degli animali da zoo sono in vigore diverse leggi, che ne regolamentano ogni aspetto della vita in cattività, dal commercio alla conservazione della biodiversità al benessere. (Regolamento (CE) N. 338/97 del Consiglio relativo alla protezione di specie della flora e della fauna selvatiche mediante il controllo del loro commercio, 1996) (Direttiva 92/43/CEE del Consiglio relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche, 1992) (Ministero della transizione ecologica, s.d.)

Per gli animali che vivono in cattività è fondamentale garantire un buon livello di benessere e un basso livello di stress cronico, a cui essi possono essere soggetti in modo variabile in base alle condizioni di vita nelle strutture in cui sono ospitati. Infatti, è noto che elevati livelli di stress per tempi prolungati hanno effetti dannosi sulla salute degli animali. (Bo-chen Yao, 2019) (Meng L. B., 2018) (Wang C., 2018) (Holbein W. W., 2018) (Lezama-Martinez D., 2017) (Ishigaki S., 2018) (Egidi M. S. F., 2019) (Dickens M. J., 2013) (Mason G. , 2010) È dunque importante

trovare dei metodi di valutazione del benessere e dello stress, ma poiché si tratta di animali selvatici è fondamentale utilizzare dei metodi non invasivi di prelievo di substrati, le cui analisi siano attendibili. (Cook et al, 2002) (Cook N. , 2012)

In questa tesi sono analizzati i vari fattori che possono essere causa di stress nei lemuri in cattività e l'impatto che hanno nella loro vita. Sono inoltre presi in considerazione vari metodi per la valutazione dello stress e le azioni da intraprendere per garantire un elevato livello di benessere, sia per ragioni etiche che per garantire un buon livello di adattamento alla vita in cattività, fondamentale per i programmi di conservazione.

# TASSONOMIA E ORIGINE DEI LEMURI

DOMINIO: Eukaryota

REGNO: Animalia

PHYLUM: Chordata

CLASSE: Mammalia

ORDINE: Primates

SOTTORDINE: Prosimiae

INFRAORDINE: Lemuriformes

FAMIGLIA: Lemuridae

Esistono 5 generi di lemuri: *Haplemur* e *Prolemur*, la cui dieta consiste soprattutto in bambù, *Lemur*, *Varecia* ed *Eulemur*, che si nutrono prevalentemente di frutta. Sono descritte più di 100 specie, alcune di queste estinte.

I lemuri sono mammiferi endemici del Madagascar e di alcune zone dell'Africa, del Sud Est asiatico e delle Filippine.

Filogenicamente la divergenza dei lemuri dai lorisiformi risale a 66,9-84,4 milioni di anni fa.

I lemuri ancestrali erano presenti in Madagascar circa 50-80 milioni di anni fa. La successiva separazione dell'isola dal resto dei territori africani, la sua topografia e il suo ambiente sono alla base della grande diversità di lemuri presenti. La maggior parte delle specie, infatti, si evolse in Madagascar a partire dall'eocene. Dall'arrivo dell'uomo sull'isola, circa 2000 anni fa, si sono estinte circa 14-17 specie.



E' noto anche che più di 50 milioni di anni fa i loro progenitori erano diffusi anche in Nord America e in Europa e che scomparvero circa 34 milioni di anni fa.

Sono primati dotati di pollice opponibile, con una buona manualità. Si muovono anche durante il giorno, ma sembrano essere soprattutto animali notturni, sia per le loro abitudini che per la conformazione degli occhi.

Hanno un folto mantello e una lunga coda. La loro lunghezza complessiva varia dai 9 ai 70 cm. La lunghezza della coda spesso supera quella del corpo, essa permette ai lemuri di bilanciarsi meglio sugli alberi. (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Physical Characteristics, 2021)

L'alimentazione varia in base alla specie, la maggior parte di nutre di frutta e foglie, alcuni anche di insetti, uova di uccelli o piccole prede. Sono monogastrici, le fermentazioni dei vegetali avvengono nel cieco. Formula dentaria: 2/2, 1/1, 3/3, 3/3.

Vivono in gruppi formati da vari esemplari (anche più di 10) sia maschi che femmine. Sono animali gregari. Il sesso femminile è quello dominante, la società è matriarcale con una gerarchia molto rigorosa. (Encyclopaedia Britannica, 2022) (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Taxonomy & History, 2021) (Mittermeier, 2010)

In riferimento soprattutto al *Lemur catta*, in natura vivono in gruppi composti da 5 a 27 esemplari con un rapporto maschi/femmine di 1:1. (Jolly, 1966) Gli animali più strettamente imparentati sono meno aggressivi tra loro rispetto a quelli che non presentano stretti legami di parentela. I gruppi sono dominati dalle femmine adulte. (Sauther, 1999)

Non sono dotati di grandi capacità visive, ma di un eccellente senso dell'olfatto. Presentano diverse ghiandole che usano per marcare il territorio. (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Physical Characteristics, 2021) Alcuni sono notturni, altri, come il *Lemur catta*, svolgono le loro attività (spostamenti, ricerca di cibo, interazioni) soprattutto durante il giorno. La maggior parte delle specie, però, vede meglio in condizioni di scarsa illuminazione. (Encyclopaedia Britannica, 2022) (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Behavior & Ecology, 2021)

# RIPRODUZIONE

## ORGANI GENITALI E CICLO ESTRALE

La femmina presenta 2 ovaie, 2 tube uterine, l'utero, la cervice, la vagina.

Per quanto riguarda i genitali esterni, il maschio presenta il pene e i testicoli, la femmina la vulva, con annessi ghiandole.

In particolare, prendendo come riferimento la specie *Lemur catta*, il maschio e la femmina presentano le stesse dimensioni (monomorfismo), sebbene il maschio pesi di più. I genitali esterni presentano il classico dimorfismo sessuale, ma la femmina ha un clitoride molto sviluppato e pendulo, con diametro e lunghezza simili al pene del maschio. Inoltre, analogamente al maschio, vi è la presenza di spine e papille. Si parla di “mascolinizzazione” della femmina, che in alcuni casi presenta anche atteggiamenti tipici del sesso maschile, come una spiccata aggressività; sembra che vi sia una correlazione tra questi aspetti e la dominanza sociale della femmina nella gerarchia dei lemuri. (Christine M. Drea, 2008) Sembra inoltre esserci una correlazione tra l'aggressività sociale e l'assetto ormonale femminile, con un probabile ruolo chiave degli ormoni sessuali, soprattutto degli androgeni, (in particolare  $17\beta$ -estradiolo e  $\Delta^4$  androstenedione), sebbene esso non sia perfettamente chiarito, soprattutto in età prenatale. (Drea, 2007) L'uretra attraversa il corpo del clitoride e presenta lo sbocco sul suo apice. Caudalmente ad essa è presente la vagina, che in alcuni periodi dell'anno presenta una membrana imperforata. (Christine M. Drea, 2008)

La distanza ano-genitale è maggiore nel maschio, che presenta anche una conformazione del glande tipica, più sviluppato rispetto al glande del clitoride. L'uretra femminile è più corta con meato uretrale più ampio. Nel maschio è presente il muscolo elevatore del pene. Entrambi i sessi presentano un corpo cavernoso abbastanza sviluppato, nella femmina invece è assente il corpo spongioso.

Durante la stagione riproduttiva i testicoli aumentano di volume e le grandi labbra vulvari assumono una pigmentazione scura.

Nel maschio non sembra esserci una correlazione diretta tra sviluppo e dimensioni del pene e stimolazione ormonale da parte dei testicoli, in quanto non vi sono differenze statisticamente significative tra le dimensioni del pene di lemuri interi e di lemuri orchiettomizzati. (Christine M. Drea, 2008)

Si nota una variazione ciclica delle dimensioni dei testicoli durante l'anno, con evidenza ed entità variabile in base alla specie e al soggetto considerato. Il volume maggiore è raggiunto durante la stagione riproduttiva, che coincide con quella della femmina. Il volume minore, invece, si nota durante il periodo non fertile, coincidente con l'anaestro della femmina. In alcuni casi, il volume maggiore è circa il doppio di quello minore. Esami istologici rendono evidente l'assenza di spermatogenesi durante questa fase. I soggetti con i testicoli più piccoli non sono necessariamente infertili, tuttavia spesso non si accoppiano. (Glatston, 1979)

Nella femmina di *Microcebius murinus* la vagina è imperforata, tranne durante l'estro e il parto. Durante il proestro la vulva si presenta rossa e gonfia (durata: 3-14 giorni). Successivamente sia il gonfiore che il rossore si riducono, fino a che la vulva assume di nuovo il suo aspetto originario. L'orifizio vaginale si rende evidente quando il gonfiore vulvare è massimo. L'ovulazione di solito avviene 2-3 giorni dopo l'apertura della vagina, con la vulva già chiara, anche se la femmina è recettiva al maschio e spesso si accoppia nel primo giorno di apertura vaginale. La vagina rimane aperta per circa 2-6 giorni. Segue un periodo di interestro di circa 50 giorni. (Glatston, 1979)

## ATTIVITA' RIPRODUTTIVA DEI LEMURI

Sono animali poliestrali stagionali. In Madagascar la stagione riproduttiva va da settembre a marzo. L'attività riproduttiva inizia con il fotoperiodo crescente. Vi è anche una correlazione tra fotoperiodo, peso corporeo e attività endocrina: il peso aumenta nella stagione non fertile e cala in quella riproduttiva, che coincide anche con il periodo di maggiore attività fisica ed endocrina. (Glatston, 1979)

Per il *Lemur catta* la stagione riproduttiva coincide col mese di Aprile nell'emisfero boreale. La gravidanza dura dai 134 ai 144 giorni con una fertilità del 75-84%. In genere le femmine si riproducono ogni anno. La femmina è sessualmente matura a 2 anni e si accoppia fino a quando è anziana. (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Reproduction & Development, 2021) (Mittermeier, 2010)

E' elevata la competizione tra maschi a scopi riproduttivi. Si infliggono graffi e morsi provocando anche notevoli ferite.

In genere non sono monogami, le femmine si possono accoppiare anche con più maschi in successione, anche di tribù vicine. La probabilità di accoppiarsi non è legata al rango sociale, anche i maschi di rango inferiore sono dei buoni candidati all'accoppiamento.

Le femmine sono recettive per un periodo variabile, in genere molto breve. La femmina di *Lemur catta* è recettiva per circa 36 h, durante le quali deve avvenire la copula. Gli esemplari maschi rivali spesso interrompono l'accoppiamento, per cui per una copula completa sono necessari più tentativi. La coppia interessata in genere si sposta per cercare un luogo tranquillo ed evitare interferenze.

I parti avvengono nella stagione primaverile-estiva, in particolare nel mese di Agosto per *Lemur catta*. In genere partoriscono un cucciolo all'anno, talvolta 2, rari i parti trigemellari. La femmina ha 4 mammelle ma solo 2 sono funzionali. (San Diego Zoo Wildlife Alliance, Ring-tailed Lemur (*Lemur catta*) Fact Sheet: Reproduction & Development, 2021)

La placentazione è di tipo epiteliochoriale. Per il *Microcebius murinus*, la gravidanza ha la durata di circa 60 giorni. I parti avvengono qualche ora dopo l'alba. Nelle ore antecedenti al parto la femmina si presenta molto irrequieta. Le cure parentali avvengono nel nido e vi è una diretta correlazione tra il tempo speso nelle cure parentali e la buona attitudine materna. I piccoli nascono con poco pelo e gli occhi chiusi. All'età di 2 mesi sono indipendenti, si riproducono nella successiva stagione riproduttiva. (Glatston, 1979)

## LEGISLAZIONE

Circa il 31% delle specie di lemuri in Madagascar è classificata ad alto rischio di estinzione, inserita nelle liste rosse IUCN. L'IUCN (International Union for the Conservation of Nature) ha l'obiettivo di "influenzare, incoraggiare e assistere le società in tutto il mondo a conservare l'integrità e diversità della natura e di assicurare che ogni utilizzo delle risorse naturali sia equo ed ecologicamente sostenibile". La IUCN conta oggi oltre 1000 membri tra Stati, agenzie governative, agenzie non governative e organizzazioni internazionali. Il mantenimento e l'aggiornamento periodico Lista Rossa IUCN delle Specie Minacciate è l'attività più influente condotta dalla Species Survival Commission della IUCN. Attiva da 50 anni, la Lista Rossa IUCN è il più completo inventario del rischio di estinzione delle specie a livello globale. (www.iucn.org, 2020) Per le specie a rischio, dunque, risulta fondamentale l'attività dei programmi di conservazione.

Il CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of wild fauna and flora) è una convenzione firmata a Washington nel 1975 che regola il commercio e il trasporto di alcune specie animali e vegetali. La Convenzione ha pubblicato alcuni elenchi tra i quali quello delle specie per cui è vietato il commercio e quello in cui sono riportate le specie che è possibile commercializzare sotto il monitoraggio degli organismi internazionali di controllo preposti allo scopo. In questo secondo caso, per commercializzare, lavorare e trasportare specie e prodotti ottenuti, è necessario procurarsi un certificato CITES, che è una vera e propria licenza internazionale. In Italia gli organismi preposti al controllo sono il CFS (Corpo Forestale dello Stato), gli uffici doganali e i corpi di polizia. L'acquisto, la vendita e la detenzione di esemplari protetti da questa convenzione, di loro parti (avorio, ossa, pelli, pellicce, ecc.) o di prodotti ottenuti da essi è un reato internazionale punibile in tutti gli Stati firmatari della Convenzione. (AERODOGANA customs clearance SRL, 2022)

I giardini zoologici sono definiti come "aree attrezzate in cui sono tenuti, ed esposti al pubblico, animali selvatici, o comunque rari, per lo più in cattività". (Treccani, s.d.).

Le varie funzioni dei giardini zoologici si sono evolute nel corso del tempo. La parola "zoo" nacque a metà del XIX secolo come abbreviazione di giardino zoologico. Le origini del giardino zoologico o ménagerie risalgono al 3500 a.C., a Ieracompoli in Egitto. Tuttavia, è soltanto in epoca contemporanea che il concetto di giardino zoologico e il suo ruolo nella società sono stati oggetto

di un dibattito che ne ha trasformato la finalità. Nell'antichità la custodia di animali esotici, esclusivamente in collezioni private, aveva un valore simbolico come rappresentazione del potere e della ricchezza. L'espansione ellenica, intorno al terzo secolo a.C., ha portato all'interesse per la natura come scienza e allo studio degli animali, circostanza che ha portato a uno studio e una classificazione più approfonditi delle specie. Ciò ha condotto alla creazione ad Alessandria della prima "ménagerie" aperta al pubblico. Un altro punto di riferimento importante per i giardini zoologici è stata la scoperta delle Americhe nel 1492, con la grande varietà di nuove specie che essa ha comportato. Il fiorente commercio internazionale del XVII secolo ha contribuito a sostenere tale interesse per le nuove specie e ha determinato un significativo aumento del numero di giardini zoologici. Durante il XVIII e il XIX secolo si è registrato in Europa lo sviluppo di numerosi giardini zoologici moderni nel contesto del quale è stata attribuita un'importanza crescente allo studio del comportamento animale e della natura in generale. L'associazione di animali e piante con l'obiettivo di creare un habitat più naturale per ciascuna specie ha dato origine al concetto di giardino zoologico ed è stato lo zoo di Londra, a Regent's Park, a definire in maniera più chiara l'importanza educativa e scientifica di tali centri mettendone in secondo piano l'attrattiva come centro di esposizione. A metà del XIX secolo è stato concesso al pubblico l'accesso allo zoo di Londra, esempio che ha iniziato a essere seguito dai giardini zoologici di tutta Europa, circostanza che ha consentito al pubblico di entrare in contatto con nuove specie. In ragione del numero estremamente elevato di specie minacciate all'inizio del XX secolo, è stata registrata un'attenzione maggiore nei confronti della necessità di proteggere e salvaguardare la biodiversità del pianeta. Tale preoccupazione si è intensificata con la crescente influenza delle organizzazioni ambientaliste durante gli anni '70 del XX secolo, epoca in cui sono state mosse le prime critiche ai giardini zoologici e ne è stato messo in discussione il concetto. Il concetto di giardino zoologico come luogo puramente destinato all'esposizione di specie ha iniziato a mutare spostandosi verso la considerazione delle esigenze e del benessere degli animali. È soltanto di recente, però, che le funzioni dei giardini zoologici sono diventate soggette a normative. Una crescente consapevolezza sociale e la comprensione della necessità di proteggere gli animali selvatici e i loro habitat, associata alla preoccupazione per il benessere degli animali, hanno portato a un cambiamento fondamentale del ruolo che ci si attende dai giardini zoologici moderni. Il loro potenziale in qualità di centri di conservazione ed istruzione è importante dato l'ampio coinvolgimento del pubblico e la capacità di influenzare gli atteggiamenti e di contribuire alla conservazione e alla protezione della biodiversità attraverso progetti in situ ed ex situ che essi possono avere. Nel 1993 l'Unione internazionale dei direttori di giardini zoologici (l'attuale WAZA), in collaborazione con CBSG, IUCN e WWF, ha pubblicato il documento "The World Strategy for Conservation in Zoos and

Aquaria" che ha costituito la prima strategia di questo tipo contenente una descrizione degli obiettivi e delle pratiche comuni che i giardini zoologici dovrebbero seguire ai fini della conservazione. In tale documento è stata sottolineata l'evoluzione dei giardini zoologici che sono passati dall'essere luoghi con funzione ricreativa a svolgere il ruolo di moderni centri di conservazione, dove vengono intrapresi programmi di istruzione, ricerca e allevamento in cattività e reintroduzione. (Unione europea, 2015)

Il regolamento CE 338/97 ha come obiettivo quello di “proteggere le specie della fauna e della flora selvatiche nonché assicurare la loro conservazione controllandone il commercio”. L'introduzione di nuove specie deve rispettare i criteri imposti dallo stesso decreto, ossia non avere “effetti negativi sullo stato di conservazione della specie o sull'estensione del territorio occupato dalla popolazione della specie interessata”, gli esemplari devono essere accompagnati da relativa documentazione e licenza, prova documentale che gli esemplari sono stati ottenuti nell'osservanza della legislazione sulla protezione della relativa specie, deve esservi un habitat apposito dove ospitare l'animale. In generale, il decreto regola trasporto, import ed export degli animali, istituisce un gruppo di consulenza scientifica composto dai rappresentanti delle autorità scientifiche di ogni Stato membro e presieduto dal rappresentante della Commissione, a sua volta assistita da un comitato composto dai rappresentanti degli Stati membri. Esaminano qualunque questione inerente al suddetto regolamento. (Regolamento (CE) N. 338/97 del Consiglio relativo alla protezione di specie della flora e della fauna selvatiche mediante il controllo del loro commercio, 1996)

La Direttiva 92/43/CEE del Consiglio ha lo scopo di “contribuire a salvaguardare la biodiversità mediante la conservazione degli habitat naturali, nonché della flora e della fauna selvatiche nel territorio europeo degli Stati membri al quale si applica il trattato. Le misure adottate sono intese ad assicurare il mantenimento o il ripristino, in uno stato di conservazione soddisfacente, degli habitat naturali e delle specie di fauna e flora selvatiche di interesse comunitario. Le misure tengono conto delle esigenze economiche, sociali e culturali, nonché delle particolarità regionali e locali”. Infatti, secondo l'articolo 12 “Gli Stati membri adottano i provvedimenti necessari atti ad istituire un regime di rigorosa tutela delle specie animali nella loro area di ripartizione naturale, con il divieto di: qualsiasi forma di cattura o uccisione deliberata di esemplari di tali specie nell'ambiente naturale; perturbare deliberatamente tali specie, segnatamente durante il periodo di riproduzione, di allevamento, di ibernazione e di migrazione; distruggere o raccogliere deliberatamente le uova nell'ambiente naturale; deterioramento o

distruzione dei siti di riproduzione o delle aree di riposo. Per dette specie gli Stati membri vietano il possesso, il trasporto, la commercializzazione ovvero lo scambio e l'offerta a scopi commerciali o di scambio di esemplari presi dall'ambiente naturale, salvo quelli legalmente raccolti prima della messa in applicazione della presente direttiva". (Direttiva 92/43/CEE del Consiglio relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche, 1992)

Nel 1992 l'Unione europea dà vita al "programma LIFE", dedicato all'ambiente, che ha l'obiettivo generale di contribuire all'implementazione, all'aggiornamento e allo sviluppo della politica e legislazione ambientale dell'Unione Europea, attraverso il cofinanziamento di progetti di valore e rilevanza comunitari. Dal 1992 si sono succedute diverse programmazioni LIFE, che hanno consentito il cofinanziamento di più di 4000 progetti, fino al più recente LIFE 2014-2020, basato sul Regolamento UE n. 1293/2013, che istituisce il Programma per l'ambiente e l'azione per il clima e ha come obiettivi:

- contribuire al passaggio verso un'economia più efficiente in termini di risorse, con minori emissioni di carbonio e resiliente ai cambiamenti climatici;
- concorrere alla protezione e al miglioramento dell'ambiente, così come all'interruzione e inversione del processo di perdita di biodiversità, anche attraverso il sostegno alla Rete Natura 2000 e il contrasto al degrado degli ecosistemi;
- migliorare lo sviluppo, l'attuazione e l'applicazione della politica e della legislazione ambientale e climatica dell'Unione Europea;
- promuovere l'integrazione e la diffusione degli obiettivi ambientali e climatici nelle altre politiche e nella pratica nel settore pubblico e privato;
- sostenere maggiormente la governance ambientale e in materia di clima a tutti i livelli;
- cooperare all'attuazione del settimo Programma d'azione per l'ambiente "Vivere bene entro i limiti del nostro pianeta". (Regione Emilia-Romagna, 2018) Nell'ambito legislativo in materia di giardini zoologici, la direttiva zoo 22/1999 CE, tra le fondamentali, ha lo scopo di promuovere la conservazione della Fauna selvatica, potenziando il ruolo dei Giardini Zoologici riguardo alla conservazione ed alla biodiversità. L'Italia ha attuato la direttiva Zoo emanando il Decreto Legislativo 21 marzo 2005 n. 73.

L'Allegato 1 prescrive l'obbligo di "ospitare, in conformità alle linee guida di cui all'allegato 1, gli animali in condizioni volte a garantire il loro benessere ed a soddisfare le esigenze biologiche e di conservazione delle singole specie, provvedendo, tra l'altro, ad arricchire in modo appropriato



l'ambiente delle singole aree di custodia, a seconda delle peculiarità delle specie ospitate”, chiarisce tutti i profili attinenti la cura, il benessere, la salute ed igiene degli animali. L'allegato 2 prescrive l'obbligo di “mantenere, in conformità alle linee guida di cui all'allegato 2, un elevato livello qualitativo nella custodia e nella cura degli animali attraverso l'attuazione di un programma articolato di trattamenti veterinari, preventivi e curativi, e fornendo una corretta alimentazione”, determina i protocolli applicativi relativi alla cura degli animali ed ai profili veterinari nonché il protocollo post mortem. L'allegato 3 prescrive l'obbligo di “adottare, in conformità alle linee guida di cui all'allegato 3, misure idonee ad impedire la fuga degli animali, anche per evitare eventuali minacce ecologiche per le specie indigene e per impedire il diffondersi di specie alloctone” e di “disporre, in conformità alle linee guida di cui all'allegato 3, misure atte a garantire la sicurezza e la salvaguardia sanitaria del pubblico e degli operatori”, descrivono tutte le misure di Protezione e sicurezza di cui devono essere dotati i giardini zoologici italiani. Nei successivi artt. 4, 5, 6 e 7 del D.Lgs 73/2005 vengono recepiti ed attuati gli artt. 4, 5 e 6 della Direttiva Zoo 1999/22/CE. Completano il sistema normativo delineato dal D. Lgs. 73/2005 gli artt. 8 (relativi alle sanzioni), 9 (disposizioni finanziarie), 10 (disposizioni transitorie) ed 11 (disposizioni finali). (Ministero della transizione ecologica, s.d.)

In netto contrasto con la precedente concezione di zoo, la Direttiva 1999/22/CE ne sottolinea l'importanza che esercita in ambito di conservazione e formazione. Nello specifico, l'articolo 3 prescrive la partecipazione “a ricerche da cui risultino vantaggi per la conservazione delle specie e/o ad azioni di formazione nelle pertinenti tecniche di conservazione e/o a scambi di informazioni circa la conservazione delle specie e/o, se del caso, l'allevamento in cattività, il ripopolamento o la reintroduzione di specie nella vita selvatica”, promuove “l'istruzione e la sensibilità del pubblico quanto alla conservazione della biodiversità, in particolare fornendo informazioni sulle specie esposte e sui loro habitat naturali”, impone di stabulare gli animali “in condizioni volte a soddisfare le esigenze biologiche e di conservazione delle singole specie, in particolare provvedendo ad un arricchimento specifico delle zone recintate sotto il profilo della specie e mantenere un elevato livello qualitativo nella custodia degli animali grazie ad un vasto programma di trattamenti veterinari preventivi e curativi e di alimentazione”. (Direttiva 1999/22/CE del Consiglio del relativa alla custodia degli animali selvatici nei giardini zoologici, art.3, 1999)

La comunità internazionale ha ribadito che la perdita di biodiversità costituisce una delle minacce principali e ha proposto gli obiettivi di Aichi per la biodiversità per monitorare i progressi compiuti nella protezione della biodiversità a livello mondiale, al fine di arrestare la perdita di biodiversità.

Anche i giardini zoologici possono contribuire in maniera notevole alla strategia dell'UE sulla biodiversità e agli obiettivi di Aichi della CBD in materia di biodiversità attraverso il loro ruolo e il loro profilo pubblico di visibilità che attira un gran numero di visitatori. Ciò offre loro un'occasione unica per istruire e aumentare la sensibilizzazione sulla necessità di proteggere l'ambiente e la sua biodiversità. In conclusione, per quanto concerne il loro potenziale di contribuire alla conservazione della biodiversità, i giardini zoologici occupano una posizione strategica e sono titolari di una responsabilità notevole trattandosi di uno dei pochi luoghi nei quali la maggior parte delle persone si avvicina effettivamente a numerose specie selvatiche diverse. Allo stesso tempo, la società è diventata più sensibile al benessere degli animali e al ruolo puramente ricreativo dei giardini zoologici; i visitatori potrebbero essere più favorevoli ai giardini zoologici considerati come un luogo per apprendere insegnamenti in merito alla conservazione. Giardini zoologici ben gestiti possono svolgere un ruolo importante tanto nell'istruire il pubblico sulla fauna selvatica e sui loro habitat quanto nella partecipazione ad attività che contribuiscono alla salvaguardia della biodiversità e proteggono specificamente la fauna selvatica minacciata di estinzione.

In accordo con il Documento sulle buone pratiche, basato sulla Direttiva UE sui giardini zoologici, essi rivestono un ruolo fondamentale nelle ricerche, da cui risultino vantaggi per la conservazione della specie. Tali ricerche possono interessare vari ambiti (ad esempio: utilizzo dei dati per creare proiezioni demografiche, anticipare le possibilità di gestione della metapopolazione e studiare la vitalità delle popolazioni in cattività; fisiologia, metabolismo basale, benessere animale; ricerche sugli adattamenti genetici e comportamentali alla cattività e sulle modalità per superarli; medicina applicata alla conservazione; riproduzione; ricerca specie selvatiche invasive) sono molto importanti per l'integrazione dei giardini zoologici all'interno della comunità scientifica e per il miglioramento continuo del benessere degli animali. Le attività di ricerca possono essere intraprese dai giardini zoologici autonomamente oppure in collaborazione con istituzioni accademiche. In tali mansioni (si aggiungano ad esse piani sanitari, management, gestione clinica degli animali) è inserito il medico veterinario. Stabilire legami stretti tra le popolazioni in cattività e quelle che vivono allo stato selvatico nell'ottica di collaborare alla gestione delle specie, scambiare conoscenze, raccogliere dati e attuare, quindi, un approccio integrato alla conservazione delle specie costituisce un'altra funzione importante che i giardini zoologici possono svolgere. I membri del personale devono possedere le qualifiche e/o esperienza adeguate per il lavoro in esame. Inoltre, sarebbe auspicabile che chiunque assuma una posizione rilevante di responsabilità all'interno di un giardino zoologico partecipi a un'introduzione sul ruolo dei giardini zoologici nel

contesto della conservazione, sugli obiettivi di conservazione dell'istituzione e sul loro ruolo particolare nel contesto di tale missione; sono suggerite collaborazioni con istituzioni accademiche e la comunità (formazione studenti universitari, volontari, programmi di scambio con l'obiettivo di aumentare l'attività di divulgazione). Il ruolo nella formazione è infatti un altro punto chiave. Gli obiettivi sono: creare una connessione tra le persone e la natura; ispirare curiosità, empatia e rispetto nei confronti del mondo naturale; comunicare in maniera efficace questioni concernenti la conservazione, l'ambiente e la relazione uomo animale; aumentare la consapevolezza delle persone; fornire informazioni, esperienze e opportunità per incoraggiare cambiamenti positivi di comportamento; istruire ed ispirare in maniera dimostrabile i visitatori affinché modifichino il loro comportamento contribuendo alla conservazione della biodiversità. È dunque essenziale la presenza di personale indirizzato a tale scopo. Inoltre, i percorsi, gli exhibit, le attività e soprattutto i cartelli e i pannelli interattivi sono fatti in modo tale da informare i visitatori sulle caratteristiche principali delle specie animali e del loro habitat.

La conservazione in situ si attua sostanzialmente arrestando o attenuando gli effetti delle minacce e dei processi che hanno portato al declino degli habitat o delle specie in questione, nonché lavorando al loro ripristino verso uno "stato di conservazione soddisfacente". Esistono numerose e ben note minacce alla biodiversità che nel 1989 sono stati descritti come i fattori trainanti dell'estinzione indotti dall'uomo: perdita, alterazione e frammentazione degli habitat; eccessivo sfruttamento; specie introdotte e cascate di estinzione. (Diamond, 1989) Più recentemente, è stato proposto di aggiungere ulteriori due fattori: sinergie globali di cambiamento ed estinzione derivanti dagli effetti additivi risultanti dalla combinazione di diversi di questi fattori. (Brook, 2008) Gli strumenti più importanti per la conservazione in situ nell'UE sono la rete Natura 2000 e il rigoroso sistema di protezione delle specie stabilito dalle direttive Uccelli e Habitat. I giardini zoologici e le autorità competenti per la biodiversità degli Stati membri sono incoraggiati a collaborare a iniziative di conservazione attiva coordinate nel contesto di tali quadri consolidati. Queste attività possono comportare, ad esempio, azioni mirate destinate ad arrestare le minacce e garantire la protezione, accertare lo stato della popolazione o ripristinare gli habitat e le specie con riferimento tanto alla fauna quanto alla flora. Una delle attività di conservazione nel contesto delle quali il ruolo dei giardini zoologici è stato considerato sempre più importante è la collaborazione di questi ultimi alla gestione delle zone protette e delle specie minacciate di estinzione in natura. Numerose delle attività su scala locale possono essere applicate anche a interventi a livello nazionale in collaborazione con autorità nazionali, zone protette più ampie, associazioni professionali, organizzazioni che si occupano di conservazione sul campo e istituzioni scientifiche.

Gli animali devono essere allocati in ambienti consoni in base alla specie. Si definisce adeguato un ambiente “che consenta agli animali di tutte le età di esprimere il loro comportamento in maniera tale da permettere loro di soddisfare le loro esigenze nella misura più ampia possibile”. Non sono requisiti sempre facili o possibili da ottenere, ma l’obiettivo è ottenere l’ambiente migliore per ogni specie, considerando anche che, per evitare la fuga degli animali e vari incidenti, questi devono essere recintati e confinati. Una buona progettazione delle zone recintate consente agli animali di esprimere modelli di comportamento naturale, permettendo allo stesso tempo l’attuazione di procedure di custodia adeguate, nonché di offrire al pubblico un’esperienza interessante ma non invasiva. È importante creare opportunità comportamentali specifiche per le specie e offrire agli animali presenti in una specifica zona recintata di beneficiare di un certo livello di controllo e scelta (gli animali scelgono se e quando mostrarsi al pubblico. La visita all’ exhibit non implica la vista dell’animale ma è un momento di educazione sulle caratteristiche di quella specie). È importante definire lo spazio tenendo conto di un arredamento che consenta agli animali di esibire il loro comportamento naturale in tutte le fasi della loro crescita in tutte le dimensioni dello spazio disponibile. Ciò impone provvedere alla presenza di opportunità di riparo, nidificazione, nonché alla possibilità di scalare, volare, fare il bagno, scavare, ecc. Lo spazio dipende inoltre dalle dimensioni e dalle dinamiche del gruppo sociale. Vanno ben definiti, dunque, illuminazione, umidità, temperatura, ventilazione, alimentazione, sistemi di abbeverata e di gestione degli animali in modo tale che essi si avvicinino il più possibile all’habitat naturale. Con lo stesso criterio vanno formati eventuali gruppi ed esposizioni di specie miste, evitando situazioni di stress e conflittualità.

È altresì importante fornire un adeguato arricchimento ambientale, definito come “la messa a disposizione di opportunità specifiche per la specie nel contesto dell’ambiente di un animale con l’obiettivo di consentirgli di esprimere una varietà di comportamenti auspicabili e naturali”. Gli animali da giardino zoologico potrebbero non essere in grado di esprimere l’intera gamma del loro comportamento normale in cattività. I cambiamenti nel repertorio comportamentale possono avere un impatto variabile sul benessere degli animali. Essi non sono auspicabili per i programmi di conservazione in quanto compromettono la sopravvivenza degli animali in condizioni naturali, perciò è importante cercare di mantenere l’espressione di repertori comportamentali specie-specifici.

La gestione professionale degli animali è affidata a personale adeguatamente formato del giardino zoologico. L’addestramento di animali è sempre più comune presso i giardini zoologici per ragioni

legate a particolari aspetti della gestione veterinaria e della custodia, nonché per fornire interazioni custode-animale positive, arricchimento cognitivo e istruzione pubblica. È opportuno che i metodi di addestramento si basino sul condizionamento operante positivo. Un buon programma di monitoraggio comporta una routine quotidiana di osservazione del comportamento e delle indicazioni di salute, seguita dalla registrazione da parte del custode responsabile (comprendere rapidamente i segnali di stress, malattia, ecc.).

Il medico veterinario del giardino zoologico è responsabile dello sviluppo e dell'esecuzione di programmi di prevenzione sanitaria, che includono il controllo sanitario, il controllo dei parassiti e la vaccinazione. Il controllo sanitario include di norma visite periodiche di consulenza da parte di medici veterinari, osservazioni quotidiane da parte dei custodi del giardino zoologico, controllo regolare del peso, esami fisici completi, esami dentali, esami regolari delle feci, riesami periodici delle diete e tenuta di registri. I protocolli per lo screening ordinario di malattie e per la vaccinazione dipendono dalla specie e dall'esemplare interessato, dalla natura e dalla prevalenza della malattia presso il giardino zoologico, dallo stato epidemiologico in termini di regione e popolazione e dalle normative nazionali. Inoltre, l'identificazione e la valutazione del rischio di infezione zoonotica contribuiranno a determinare le azioni preventive e le misure di controllo adeguate per ridurre al minimo il rischio per i visitatori e per il personale del giardino zoologico. Può essere necessario effettuare esami e trattamenti per motivi di salute animale e/o di salute pubblica. I giardini zoologici necessitano di strutture per catturare, contenere, trasportare, esaminare, trattare e isolare gli animali; può essere imposta la custodia in quarantena degli animali in arrivo con durata variabile.

Gli animali presenti nel giardino zoologico sono inseriti in un apposito registro aggiornato. (Unione europea, 2015)

# LO STRESS

## RISPOSTA ALLO STRESS

Al termine “stress” possiamo attribuire diverse definizioni. Selye lo definisce come una “reazione generale di allarme” che genera una “sindrome da adattamento generale”, cioè il tentativo dell’organismo di adattarsi a una nuova condizione che minaccia di alterare l’omeostasi. (Selye, 1998)

L’animale si prepara ad affrontare una situazione stressante e potenzialmente pericolosa (stress esogeno o endogeno) in un primo momento con l’attivazione del “sistema nervoso simpatico” (SNS), appartenente del sistema nervoso autonomo. Il neurone pregangliare è colinergico, il postgangliare è adrenergico, quindi i neurotrasmettitori coinvolti sono le catecolamine: “l’adrenalina e la noradrenalina”. Neuroni pregangliari, inoltre, formano sinapsi con la midollare della ghiandola adrenale, anch’essa deputata alla secrezione di adrenalina (prevalente nei mammiferi) e noradrenalina che agiscono con modalità endocrina, entrano cioè nel torrente circolatorio andando a stimolare gli organi bersaglio e potenziando l’azione della stimolazione neuronale.

Gli effetti di tale attivazione sono i seguenti: dilatazione delle pupille, le ghiandole salivari producono un secreto scarso e viscoso, si ha vasocostrizione e aumento della sudorazione, aumento della frequenza cardiaca e della forza di contrazione del cuore, dilatazione bronchiolare, riduzione della motilità del tratto gastroenterico, aumento della glicemia, rilasciamento delle pareti muscolari della vescica e contrazione degli sfinteri. (Sjaastad Ø. V., 2013) Inoltre, si verificano un aumento della degradazione del glicogeno e della stimolazione della gluconeogenesi epatica al fine di aumentare la glicemia per sostenere l’aumentata attività cellulare, una stimolazione della demolizione dei trigliceridi con aumento della concentrazione plasmatica di acidi grassi. La redistribuzione della perfusione sanguigna consente un maggior apporto di sangue ai muscoli scheletrici a discapito dell’irrorazione dei visceri addominali. La paura prepara quindi l’animale a svolgere uno sforzo fisico intenso, contestualizzabile nella reazione di “attacco o fuga”. (Sjaastad Ø. V., 2013)

## ANATOMIA DELLA ghiandola ADRENALe

Le ghiandole adrenali sono ghiandole endocrine, pari, situate in prossimità del polo craniale di ciascun rene. Di forma variabile (diversa tra destra e sinistra e tra le varie specie), il peso e le dimensioni variano in base alla specie, alla razza, al sesso, all'età, alle dimensioni e alle condizioni fisiche dell'animale. Sappiamo che in condizioni scadenti o di denutrizione il peso delle ghiandole aumenta, vanno incontro ad ipertrofia.

Ciascuna ghiandola adrenale è avvolta da una capsula di tessuto connettivo denso che comprende fibre collagene, fibre elastiche e cellule muscolari lisce. Dalla capsula prendono origine setti e trabecole che penetrano nel parenchima fornendo il supporto alle ramificazioni vascolari e nervose. In sezione si evidenziano bene le due componenti di ciascuna ghiandola: la corticale, esternamente, di colore giallo-bruno con una sottile striatura radiale, di origine mesoteliale, e la midollare, internamente, di colore più scuro, brunastro, di natura neuroectodermica.

Il parenchima corticale è composto da cordoni di endocrinociti disposti radialmente a partire dalla midollare. Si suddivide ulteriormente in tre zone:

- **Zona multiforme:** presenta organizzazione variabile in base alla disposizione degli endocrinociti (è infatti definita zona arcuata negli equidi, nel suino e nei carnivori e zona glomerulare nei ruminanti e nell'uomo) che sono di forma colonnare. È deputata alla sintesi dei mineralcorticoidi, che hanno un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'equilibrio idrico-salino. L'ormone principale è l'aldosterone, la cui funzione primaria è quella di aumentare il riassorbimento di sodio nel tubulo contorto distale dei nefroni; stimola anche il trasferimento di sodio attraverso altri epiteli, mantiene quindi l'equilibrio sodio-potassio. La sua secrezione è regolata dalla variazione della concentrazione di questi ioni nei liquidi extracellulari, dal sistema renina-angiotensina-aldosterone e, in misura minore, dall'ACTH ipofisario. Infatti, l'ipofisectomia determina la degenerazione delle zone fascicolata e reticolare dell'adrenale, ma non della multiforme, in quanto in gran parte indipendente da questo asse endocrino.
- **Zona fascicolata:** è la più spessa (due terzi della corteccia), è formata da cordoni di cellule cubiche disposte radialmente che secernono glucocorticoidi, le cui funzioni sono molteplici, tra cui la regolazione del metabolismo glucidico, favorendo la gluconeogenesi e inibendo l'utilizzo del glucosio, in modo tale da aumentare la glicemia.

- Zona reticolata: è costituita da cordoni di cellule poliedriche che si anastomizzano formando una rete a maglie irregolari. Secerne androgeni, principalmente deidroepiandrosterone (DHEA).

La midollare è composta da cellule disposte in ammassi o cordoni, circondate da un fitto stroma reticolare e da una rete di capillari sinusoidi e di venule. Producono catecolamine, la cui azione si somma a quella del sistema nervoso simpatico, e altre sostanze regolatrici, come serotonina e neuropeptidi. Date le loro affinità tintoriali per i sali di cromo queste cellule sono chiamate “cromaffini o feocrome”. (Barone R., 2012)

## FISIOLOGIA DELL'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-ADRENALE

La secrezione di cortisolo è regolata dall'asse ipotalamo-ipofisi-adrenale. L'ipotalamo produce l'ACTHRH o CRH che, rilasciato nel circolo portale, stimola la produzione di ACTH da parte delle cellule corticotrope dell'adenoipofisi. Questo stimola la produzione di cortisolo attraverso l'attivazione dell'adenilatociclastasi. Il cortisolo, a sua volta, inibisce la secrezione di ACTHRH e di ACTH a carico rispettivamente dell'ipotalamo e dell'adenoipofisi, esercitando quindi un meccanismo a feedback negativo.

Nell'uomo la secrezione di ACTH e cortisolo segue un ritmo circadiano: i livelli ormonali sono più elevati verso la fine della notte e il mattino presto e sono minimi a tarda notte. Modalità di secrezione circadiane sono state osservate anche negli animali, sebbene siano meno marcate e abbiano tempistiche diverse.

Lo stress incrementa la secrezione di cortisolo, modificandone il rilascio circadiano, che può ridursi fino a scomparire completamente.

Quando gli animali sono sottoposti a stress prolungati, le protratte ed elevate concentrazioni di ACTH a livello plasmatico stimolano la secrezione di glucocorticoidi ad alti livelli e per tempi prolungati, causando un'ipertrofia della corticale della ghiandola adrenale.

Tutte le cellule nucleate dell'organismo possiedono recettori per il cortisolo. Questo, essendo liposolubile, diffonde bene attraverso le membrane cellulari legandosi ai recettori presenti nel citosol. Il complesso cortisolo-recettore viene trasportato nel nucleo, dove si lega al DNA e agisce



stimolando o inibendo la trascrizione di alcuni geni. Gli effetti sono quindi molteplici, a carico di vari organi e vie metaboliche:

- ha un'azione permissiva nei confronti degli effetti prodotti da altri ormoni (vasocostrizione indotta dalle catecolamine, risposta delle cellule secernenti glucagone e dell'organismo in generale all' ipoglicemia, evita la caduta della pressione arteriosa)
- stimola la gluconeogenesi e inibisce l'assorbimento e l'utilizzazione del glucosio, aumentando la concentrazione plasmatica di glucosio in molti tessuti, escluso il cervello
- ad elevate concentrazioni stimola la degradazione di grassi e proteine, aumentando la concentrazione plasmatica di acidi grassi e aminoacidi
- se la produzione è elevata per lunghi periodi inibisce la sintesi di DNA in molti tessuti
- interferisce con il sistema immunitario, modulando il processo infiammatorio, fino a immunodeprimere l'animale (Sjaastad Ø. V., 2013)
- stabilizza le membrane lisosomiali opponendosi alla liberazione di istamina da parte dei mastociti, inibisce la produzione di fibroblasti e la sintesi del collagene, di cui favorisce la degradazione
- aiuta l'organismo a mantenere il volume di fluidi extracellulari, combatte la vasodilatazione dovuta allo shock, agisce anche sulla componente psichica (Barone R., 2012)

L'inibizione della sintesi del DNA e la degradazione di grassi e proteine inibiscono la crescita dell'animale, cosa che può risultare vantaggiosa ad esempio in condizioni estreme, di carenza di cibo, così che vengano soddisfatti solo i bisogni primari. (Sjaastad Ø. V., 2013)

## EFFETTI NEGATIVI CAUSATI DALLO STRESS CRONICO

Si può comunque fare una distinzione tra lo “stress positivo” o “eustress”, che si riferisce al contesto fisiologico, nel caso in cui si affronta una sfida, si corrono dei rischi ma si ha gratificazione da un esito positivo, e “stress negativo” o “distress”, ovvero una sensazione di disagio costante, legata alla presenza di uno o più stressors, ma senza la capacità di far fronte o di migliorare tale situazione. (Lazarus R. S., Folkman S., 1984) (Diez Roux A. V., Mair C., 2010) (Theall KP, 2013). Se nel primo caso l'attivazione dei suddetti meccanismi è proficua, consente all'animale di adattarsi e far fronte ad una certa situazione, nel secondo caso l'iperattivazione degli

stessi sistemi o la loro attivazione per lunghi periodi è causa di danni all'organismo. Tra le strutture coinvolte, il cervello gioca sicuramente un ruolo fondamentale, selezionando le informazioni ed orchestrando la risposta alle stesse. (McEwen, 2017)

È nota la presenza di recettori dei glucocorticoidi e dei mineralcorticoidi a livello dell'ippocampo (McEwen BS, 1968) (Reul J. M., 1985) e che questi ormoni modifichino le strutture encefaliche: i glucocorticoidi causano l'alterazione e la perdita dei dendriti nell'ippocampo (McEwen B. S., 2016) , nella parte mediale dell'amigdala (Bennur S, 2007) (Lau T, 2017) e nella corteccia prefrontale (associato a rigidità cognitiva) (Radley J. J., 2004) (Liston C, 2006), mentre nell'amigdala basolaterale in seguito ad eventi traumatici acuti o stress cronico si rileva l'espansione dei dendriti (Vyas A, 2002), analogamente nella corteccia orbitofrontale, probabilmente correlato ad una migliore attenzione (Radley J. J., 2004) (Liston C, 2006).

I glucocorticoidi stimolano il rilascio di amminoacidi eccitatori e regolano indirettamente il rilascio di glutammato e GABA tramite la stimolazione della sintesi locale di endocannabinoidi. (Hill M. N., McEwen B. S., 2009) L'eccesso di neurotrasmettitori eccitatori, ad esempio l'eccesso di attività glutammatergica, che si nota anche in caso di invecchiamento e demenza, (Pereira A. C., 2014) causa la perdita permanente dei neuroni e tale processo è esacerbato dai glucocorticoidi. (Sapolsky R. M., 1986) Alti livelli di glucocorticoidi causano l'aumento della produzione di radicali liberi (Du J, 2009) e, con l'alterazione della loro fisiologica secrezione circadiana, sono concausa di obesità e sindrome metabolica, (Karatsoreos IN, 2010) a causa dell'eccessivo deposito di grassi, che può aumentare il rischio di patologie cerebrovascolari. (Shively CA, 2009) (Ortega-Montiel J, 2015)

Sicuramente c'è una certa soggettività, variabile in base all'individuo, della risposta allo stress. Sembra esservi una componente genetica, ma soprattutto epigenetica: ogni individuo reagisce diversamente agli eventi e tale capacità è legata anche alle esperienze di vita, soprattutto in età giovanile. (Halfon N, 2014)

Si osserva inoltre un differente rimodellamento neuronale tra maschi e femmine, se posti entrambi nelle stesse condizioni di stress cronico, il che suggerisce che vi sia un differente approccio tra i sessi alle sfide quotidiane. (McEwen, 2017)

Lo stress cronico gioca un ruolo importante nella patogenesi dell'aterosclerosi (Bo-chen Yao, 2019): l'attivazione della midollare dell'adrenale causa l'aumento della produzione di citochine proinfiammatorie (Ferreira B. I., 2016) (Vegas O, 2018) (Rao R. T., 2017) (Garland E. L., 2017), iperlipidemia e aumento dello stress ossidativo (Devaki M, 2013) (Park K, 2018) (Wacker B. K., 2018) (Hoeke G, 2017) (Amor A. J., 2017). I ratti esposti a stress cronico, rispetto a quelli del gruppo di controllo, presentano un aumento nella concentrazione sierica di colesterolo totale, trigliceridi, LDL, VLDL e dell'indice aterogenico. (Meng L. B., 2018)

L'iperattivazione del sistema nervoso simpatico è una causa di ipertensione, data la costrizione dei vasi e l'aumento dell'angiotensina II (Wang C., 2018) (Holbein W. W., 2018) (Lezama-Martinez D., 2017) (Ishigaki S., 2018). Sono inoltre riportati effetti anche sulle cellule staminali ematopoietiche; in particolare, la stimolazione cronica al rilascio di noradrenalina stimola la proliferazione delle suddette cellule, aumentando la concentrazione di leucociti circolanti. (Heidt T, 2014) (A., 2015)

Lo stress cronico è causa di danno endoteliale, di formazione e rottura di placche aterosclerotiche, (Bo-chen Yao, 2019) nonché di alterata risposta di chemorecettori e barorecettori, fattore che può peggiorare patologie cardorespiratorie. (Egidi M. S. F., 2019)

# BENESSERE ANIMALE

Il concetto di “benessere animale” ha assunto un ruolo molto rilevante negli ultimi anni, grazie anche al parere favorevole dell’opinione pubblica. La definizione non è univoca (Broom D. M., 1986) e spesso riflette l’etica della società (Frazer D. et al, 1997); in riferimento soprattutto all’ambito zootecnico sono state definite le 5 libertà del benessere animale:

- Libertà dalla fame, dalla sete e dalla cattiva nutrizione
- Libertà di avere un ambiente fisico adeguato
- Libertà dal dolore, dalle ferite, dalle malattie
- Libertà di manifestare le proprie caratteristiche comportamentali specie-specifiche
- Libertà dalla paura e dal disagio (CIWF Italia, s.d.)

La sicurezza della filiera alimentare è direttamente connessa al benessere degli animali, in particolare nel caso di animali allevati per la produzione di alimenti, dati gli stretti legami tra benessere degli animali, salute degli animali e malattie di origine alimentare. Fonti di stress e condizioni di scarso benessere possono avere come conseguenza negli animali una maggiore predisposizione alle malattie trasmissibili, che può rappresentare un rischio per i consumatori. Il benessere degli animali destinati alla produzione di alimenti dipende in gran parte da come essi vengono gestiti dall’uomo e sono numerosi i fattori che possono influire. Il benessere degli animali riveste un ruolo sempre più preponderante nel mandato dell’EFSA. Le valutazioni scientifiche sono fondamentali per il miglioramento delle condizioni degli animali. Il gruppo di esperti scientifici dell’EFSA sulla salute e il benessere degli animali valuta molte delle componenti legate a tutte le varie fasi della produzione. Essi si avvalgono di linee guida che comprendono una metodologia per la valutazione dei rischi per il benessere animale. (EFSA, s.d.)

Raggiungere e mantenere elevati livelli di benessere animale è anche uno degli obiettivi principali del moderno giardino zoologico. (Sherwen S. L., *The Visitor Effect on Zoo Animals: Implications and Opportunities for Zoo Animal Welfare*, 2019) Anche in questo caso, l’aumento di interesse dell’opinione pubblica nel benessere degli animali tenuti in cattività ha permesso di ottenere degli standard più elevati. (Broom, 2016) (Gracia, 2013) (Phillips, et al., 2012) (Prickett & al., 2010) (Vanhonacker & al, 2008) (Whitham & Wielebnowski, 2013) Si consideri anche che in queste strutture le condizioni degli exhibit e degli animali sono sempre ben visibili agli occhi dei visitatori. (Sherwen S. L., *The Visitor Effect on Zoo Animals: Implications and Opportunities for*

Zoo Animal Welfare, 2019) La sfida più grande, in questo caso, consiste nel fatto che sono presenti varie specie animali, anche molto diverse tra loro per origine, tassonomia e etologia, ognuna con diverse esigenze. L'aumento delle informazioni, grazie a vari studi, ha permesso di migliorare la conoscenza degli animali e quindi il loro livello di benessere. Tuttavia su alcune di esse le conoscenze non sono ancora molto approfondite, non è noto il valore etologico di certi comportamenti e non è dunque possibile definire un comportamento come anomalo se non si hanno dei riferimenti. (Knierim U et al, 2001) (Fidgett A. L., 2008). La maggior parte delle ricerche sul benessere riguarda animali domestici, soprattutto di interesse zootecnico. (Hill, 2009) Tra gli animali da zoo i primati sono più frequentemente oggetto di studio. (Melfi V., 2005) Inoltre, le linee guida si riferiscono in generale a una specie, ma in realtà ogni animale è diverso per temperamento, genetica, esperienze precedenti, (Boissy A. et al, 2007) quindi sarebbe ideale pensare anche al benessere individuale del singolo soggetto. (Broom D. M., 2007) (Fraser D. , 2008). Si considera fondamentale per il benessere l'adattamento dell'animale all'ambiente in cui vive e la sua capacità di far fronte a cambiamenti e nuovi eventi. Per avere una valutazione oggettiva delle condizioni di adattamento si considerano vari parametri.

La valutazione di parametri fisiologici consente una valutazione oggettiva, numerica. Si possono valutare, ad esempio: frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, la risposta delle ghiandole adrenali, neurotrasmettitori come le catecolamine, parametri riproduttivi e, in caso di decesso, le caratteristiche delle carcasse, anche effettuando un esame anatomo-patologico. (Hill, 2009) Altri parametri, come la temperatura, sono più difficili da rilevare e meno indicativi, ma possono comunque essere usati per altri scopi nella ricerca. Data la complessità della risposta agli stimoli, valutare solo un parametro può risultare fuorviante, è meglio valutare più parametri contemporaneamente e per un periodo sufficientemente lungo. I risultati vanno inoltre contestualizzati: parametri come la frequenza cardiaca possono aumentare anche perché l'animale sta svolgendo attività fisica o un'attività di suo gradimento, non implicando necessariamente una condizione stressante; se invece lo stesso parametro aumenta mentre l'animale è in condizioni di riposo può indicare disagio. (Hill, 2009) La valutazione dei metaboliti dei glucocorticoidi, utile per valutare effettivamente la risposta allo stress, si considera anch'essa in relazione all'attività dell'animale: attività fisica, gioco, risposte ad alcuni stimoli possono causare l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, sebbene siano attività benefiche per l'animale. (Manser C. E., 1992) Inoltre, alcuni parametri, molto utili negli studi sugli animali domestici, sono difficili da rilevare negli animali da zoo, soprattutto nei soggetti non addestrati. Il personale deve lavorare in

sicurezza, per cui spesso molte delle valutazioni vengono effettuate dai keepers. L'esito di molti studi dipende infatti dalla loro collaborazione. (Hill, 2009)

Si possono effettuare anche valutazioni comportamentali, sono immediate e meno dispendiose. Il comportamento mette in evidenza situazioni di stress a breve e a lungo termine (Hill, 2009). Esso, in genere, viene classificato come "normale" o "anomalo". Un comportamento è definito anomalo quando è diverso, anche per frequenza e contesto, da quello che in una situazione analoga esibirebbe un conspecifico in natura. (Broom DM J. K., 2000) Gli animali in natura vivono in un ambiente che cambia continuamente, devono adattarsi per sopravvivere. Questo aspetto viene meno negli animali tenuti in cattività, che vanno quindi stimolati. (Sachser N., 2001) Per poter definire un comportamento di riferimento come "normale" si dovrebbe avere un'adeguata conoscenza della specie animale, della sua etologia (frequenza, modalità e contesto dei comportamenti esibiti) e di una certa variabilità individuale. (Knierim U. et al, 2001) Gli animali, però, possono esibire un range piuttosto ampio di comportamenti, per cui la loro risposta a uno stressor può variare molto. Questo aspetto rende più complicato avere degli indicatori universali di benessere. (Dawkins D. M., 2001) Inoltre, esistono notevoli differenze comportamentali tra più popolazioni di una stessa specie, gli animali si adattano a condizioni di vita diverse, per cui un animale in cattività può essere etologicamente molto diverso da un suo conspecifico in natura ma ciò non implica necessariamente che questo sia stressato. (Dawkins D. M., 2001) (Goodall, 1996) Se un animale in cattività non è correttamente stimolato tende a sviluppare stereotipie, comportamenti autolesionisti e compulsivi, riconosciuti universalmente come "anomali" e come indicatori di scarso benessere. (Broom DM J. K., 2000) Gli animali in condizioni di deprivazione sensoriale sviluppano più spesso problemi fisici e sociali. (Harlow, 1971)

Le stereotipie sono comportamenti ripetitivi, monotoni e afinalistici. (Odberg, 1978) Vengono molto prese in considerazione per la valutazione del benessere animale. Alcuni autori suggeriscono che la sola presenza di stereotipia sia indice di scarso benessere, (Broom D., 1993) (Laidlow R., 2001) (EC, 1996) altri che il benessere cali all'aumentare delle stereotipie, (Dawkins M. S., 1990) (Fox, 1984) altri ancora che il livello di benessere è inaccettabile se le stereotipie sono presenti in più del 5% della popolazione (Wiepkema P. et al, 1983) o in più del 10% (Broom D. , 1991). In realtà questo aspetto non è del tutto chiaro. Più di 85 milioni di animali nel mondo presentano stereotipie. Ciò indicherebbe dunque che una grande quota della popolazione animale vive in condizioni di scarso benessere, ma non è necessariamente vero. (Mason G. J., Latham N. R., 2004) Vi sono varie evidenze in letteratura che collegano la presenza di stereotipie con bassi livelli di

benessere e animali in queste condizioni presentano in genere livelli di corticosteroidi più elevati. (Odberg, 1978) (Mason, 1991) (Wielebnowski N. C. et al, 2002) Tuttavia, le stereotipie non sono sempre presenti in condizioni di scarso benessere (Thelen, 1981) (Sroufe L., Cooper R., 1988) (Frith C. D., 1990), alcune aumentano in condizioni che sono positive per il loro benessere (ad esempio aumentano nella volpe artica all'aumentare della grandezza della gabbia) (Korhonen H. et al, 2001), in altri casi non sono correlate ad altri segni indici di scarso benessere (ad esempio sono correlate negativamente con il livello di corticosteroidi). (Redbo, 1993) (Vestergaard K. S. et al, 1997) Le stereotipie possono fungere da "auto-arricchimento" ed essere una sorta di sostituto di un pattern comportamentale naturale (Mason G. J., Latham N. R., 2004), possono avere sull'animale un effetto calmante (Mason, 1991) o possono essere dissociate dal concetto di benessere; infatti, con la ripetizione di certi comportamenti, questi diventano un'abitudine, l'animale li ripete in automatico. (Mason G., 1993) Questo aspetto sembra spiegare perché l'arricchimento ambientale risulta meno efficace nel ridurre le stereotipie con l'aumento dell'età nelle arvicole. (Cooper J. J. et al, 1996) In alcuni casi le stereotipie sono correlate ad una ridotta abilità nel rispondere a cambiamenti e a nuovi stimoli. (Turner, 1999) I cambiamenti risultano stressanti, per cui in questi casi l'arricchimento ambientale va introdotto con calma perché l'animale impiega più tempo per adattarsi. (Novak M. A., 1975) (Meehan C. L. et al, 2001) La sola valutazione della presenza di stereotipie non dovrebbe dunque essere utilizzata per la valutazione del benessere; animali che non presentano stereotipie potrebbero comunque vivere in condizioni stressanti. (Mason G. J., Latham N. R., 2004)

In genere, l'approccio in presenza di stereotipie è quello di cercare di ridurle, usando vari metodi. La riduzione delle stereotipie è uno dei principali obiettivi dei programmi di arricchimento ambientale dello zoo moderno. (Shepherdson D. J. et al, 1999) (Young, 2003) Sono stati usati farmaci antidepressivi e antagonisti dei recettori degli oppioidi sia negli animali domestici che in quelli da zoo, (Melman, 1995) con esiti positivi (Poulsen E. et al, 1995) (Kohnke J., 2000). È stata anche messa in atto una selezione genetica contro le stereotipie in animali quali galline o visoni; in Olanda gli allevatori di animali da pelliccia selezionano contro questi caratteri. (Vinke C. M. et al, 2002) Vari autori, però, suggeriscono la pericolosità di limitare soltanto fisicamente le stereotipie, anche con l'uso di farmaci. (Schofield W., 1998) (Garner J., 2002) Anche la selezione genetica ha i suoi limiti, vi sono dei rischi se si seleziona contro la capacità di espressione di un comportamento. (Vinke C. M. et al, 2002) (EC, The welfare of animals kept for fur production- Report of the scientific committee on animal health and animal welfare, 2001) Inoltre, se un certo ambiente stimola la comparsa di stereotipie, queste potranno essere presenti anche dopo il

miglioramento del benessere. In questi casi si agisce solo limitando l'espressione del comportamento stesso, ma non si interviene sull'eventuale causa. Le valutazioni da fare sono complesse, in quanto le stereotipie possono comparire per diverse ragioni e non tutte sono indice di stress, in alcuni casi possono anche essere presenti in condizioni di benessere. L'arricchimento ambientale non è sempre efficace e, se lo è, il suo effetto non è immediato. Bisognerebbe soprattutto capire il significato della comparsa di stereotipie e a cosa esse siano correlate. (Mason G. J., Latham N. R., 2004)

Bisogna anche considerare, però, che alcuni animali (anche il gatto domestico) tendono a mascherare il dolore, lo stress o il disagio. Evoluzionisticamente ciò costituisce un vantaggio perché l'animale non manifesta un problema di fronte a potenziali predatori. (Hill, 2009) (Rochlitz, 1997)

Gli aspetti del comportamento che si possono valutare sono:

- Comportamenti affiliativi: per gli animali sociali che vivono in gruppi attività quali il grooming reciproco riducono la tensione all'interno del gruppo e promuovono il mantenimento dei legami e del rapporto sociale (Schino, 1988). Il grooming stimola anche il rilascio di endorfine (Keverne, 1989). In alcune circostanze, però, l'aumento di questi comportamenti non è indice di benessere. (Boissy A. et al, 2007)
- Sonno: su molte specie esotiche si sa poco, in un giardino zoologico questo può essere influenzato dalle pratiche gestionali, dai visitatori o dalla routine. Si possono però valutare alcune caratteristiche del sonno; è dimostrato che un sonno di qualità, senza elementi di disturbo, è correlato a una migliore attività quando l'animale è sveglio (Whithama J. C., Wielebnowski N., 2013).
- Gioco: è in genere considerato un indicatore di benessere (Boissy A. et al, 2007). È un comportamento "di lusso", gli animali, soprattutto i selvatici, giocano in particolari condizioni, quando i loro bisogni primari sono stati soddisfatti. (Spinka, 2006) (Burghardt, 2005) (Duncan, 2006) (Fraser, 1998) In caso di spazi limitati o situazioni stressanti l'attività è in genere ridotta, si preferiscono giochi che richiedono minor dispendio energetico. Vanno quindi valutati anche i caratteri dell'attività ludica. (Barrett L. et al, 1992)
- Comportamenti anticipatori: si valuta come si comporta l'animale nel momento in cui sa o prevede che arriverà una ricompensa (Boissy A. et al, 2007). Sono comportamenti associati



ad un aumento dell'attività dopaminergica (Berridge, 1996) (Spruijt, 2001). È dimostrato che i ratti che esibiscono comportamenti anticipatori, se inseriti in una gabbia arricchita, sono complessivamente più attivi dei ratti che si trovano in gabbie standard, esposti a stimoli neutrali o avversi (Van der Harst J. E. et al, 2003). In un giardino zoologico gli animali hanno una buona probabilità di esprimere comportamenti anticipatori, data la routine abbastanza rigorosa. Tuttavia, la risposta degli animali può variare in base ai loro bisogni (Boissy A. et al, 2007). Animali che vivono in exhibit più arricchiti possono rispondere meno di animali che invece vivono in ambienti in cui sono meno stimolati (Van der Harst J. E. et al, 2003), animali molto appagati possono non rispondere del tutto. Anche in questo caso, dunque, il comportamento anticipatorio va contestualizzato, non è detto che il comportamento anticipatorio sia segno di benessere, né che la sua assenza sia segno di malessere. Fornisce inoltre informazioni su cosa un animale trova gratificante (l'animale anticipa di solito qualcosa che lo gratifica, non ciò a cui è indifferente. Questo aspetto varia da un soggetto all'altro). (Whitham & Wielebnowski, 2013)

- Vocalizzazioni: per gli animali che le esprimono, le vocalizzazioni associate ad eventi graditi, quando vengono espresse sono indice di gratificazione. (Boissy A. et al, 2007) (Fraser D. 2., 2008) (Yeates, 2008)
- Comportamento esplorativo: indica curiosità nei confronti dell'ambiente circostante, è un segno di benessere. Si distingue l'esplorazione ispettiva, messa in atto quando si verifica un cambiamento nell'ambiente, da quella inquisitiva, quando l'animale ricerca attivamente cambiamenti o nuovi stimoli. Quest'ultima si osserva quando i bisogni vitali dell'animale sono soddisfatti, è ritenuta un'attività piacevole, che l'animale mette in atto perché è gratificante. (Boissy A. et al, 2007) (Berlyne, 1960) (Environmental challenge and animal agency, 2011)
- Scelta, controllo e interazione con l'ambiente: per incoraggiare il comportamento esplorativo e la possibilità di fare delle scelte e interagire con l'ambiente circostante avendo un certo controllo su di esso gli zoo investono sulla creazione di exhibit complessi e interattivi. È dimostrato che questo approccio ha dei benefici per gli animali. (Bassett, 2007) (Meehan, 2007) (Spinka M., 2011)
- Interazione con i keeper: è dimostrato che l'interazione degli animali con i keepers può fungere essa stessa da arricchimento ambientale. (Bloomsmith M. A., 1999) (Claxton, 2011) (Laule, 2003) I keepers sono delle figure molto importanti, da essi dipendono molti aspetti della vita dell'animale e la qualità delle loro interazioni può influenzare il loro benessere. Anche alcuni animali domestici hanno una paura innata nei confronti dell'uomo

che delle interazioni scorrette possono esacerbare. (Waiblinger, 2006) Tuttavia, se il personale ha delle interazioni positive la paura si riduce e gli animali sviluppano un buon rapporto col personale. (Boivin X. e., 2003) La routine può influenzare i parametri indicatori di benessere, ad esempio del leopardo i glucocorticoidi fecali aumentano se nella struttura è presente un numero elevato di keepers e si abbassano se essi trascorrono più tempo interagendo con gli animali. (Wielebnowski N. C. et al, 2002) Ciò è valido per molte specie: reagiscono meglio se vengono gestite da pochi keepers e sempre dagli stessi, se questi interagiscono con loro e sono in grado di valutare le loro reazioni. Sono molti gli aspetti dell'interazione tra animale e keeper che possono interferire con il benessere animale, la formazione del personale e il monitoraggio delle attività sono essenziali per garantire delle interazioni di qualità. Inoltre, interazioni positive tra gli animali e persone a loro familiari favoriscono un rapporto uomo-animale migliore in generale, moderando anche l'effetto delle interazioni negative con persone a loro sconosciute, tra cui i visitatori. (Hosey G. , 2008) L'addestramento con rinforzo positivo è una delle attività che migliora l'interazione e la comunicazione uomo-animale. (Savastano, 2003) Tuttavia, considerando che certe interazioni possono avere degli effetti imprevedibili sul rapporto tra gli animali, come un aumento dell'agonismo in alcuni primati, (Chelluri, 2013) è bene studiare come il rapporto e il tipo di interazione tra i keepers e le varie specie (nonché tra i keepers e i singoli individui) influenza il comportamento degli animali. (Whitham & Wielebnowski, 2013)

Il concetto di benessere animale è dunque complesso da valutare. È importante valutare il comportamento degli animali, ma queste valutazioni devono essere contestualizzate. Le valutazioni devono essere effettuate sempre con criterio scientifico. La combinazione della valutazione del comportamento con la valutazione di alcuni parametri può fornire una buona indicazione del livello di benessere degli animali. (Hill, 2009)

La WAZA (World Association of Zoos and Aquariums), fondata nel 1935, ha come obiettivo la conservazione delle specie animali nei loro habitat. I membri sono più di 400 istituzioni e organizzazioni in tutto il mondo. (<https://www.waza.org/about-waza/>, s.d.) La WAZA ha adottato un codice etico e di benessere animale, che rappresenta una guida generale a livello internazionale. Ogni associazione e istituzione ha un suo codice etico più dettagliato. Si pone l'attenzione sull'obbligo morale degli zoo e degli acquari di “contribuire alla conservazione degli habitat e

della biodiversità per il bene della società e degli stessi animali”. L’aumento dell’interesse della popolazione su questi aspetti li rende ancora più importanti. (WAZA, 2005)

## FONTI DI STRESS IN CATTIVITA’

In cattività sono molte le fonti di stress alle quali possono essere esposti gli animali. (Morgan K. N., 2007)

### ARRICCHIMENTO AMBIENTALE

L’ambiente in cui vive l’animale deve promuovere lo sviluppo di abilità sociali, sensoriali e cognitive, aspetto molto carente nei vecchi zoo. La contemporanea concezione di benessere animale ha permesso negli anni di aumentare le conoscenze e sviluppare strategie che consentano di migliorare le condizioni degli animali in cattività. Le ricerche sono focalizzate su come le modifiche apportate all’ambiente influenzano la salute e il benessere degli animali in cattività. (Baumans V., 2005) (Shepherdson, 1998) Elementi degli habitat naturali sono stati introdotti anche nei giardini zoologici, aumentandone anche il valore ecologico. (Hutchins, 1984) Ambienti complessi, arricchiti e la presenza di nuove tecnologie consentono agli animali di esplorare e di sviluppare capacità di problem solving. (Carlstead, 1993) (Markowitz, 1982) Grazie all’arricchimento ambientale le condizioni degli animali sono migliorate. (Bloomsmith, 2005) (Sorensen, 2004) In alcuni casi, però, i finanziamenti forniti o l’architettura delle strutture rappresentano un grosso limite. Inoltre, non sempre è noto ciò che un animale considera stressante, considerando che ogni specie animale ha una percezione diversa degli stimoli. Alcuni aspetti del giardino zoologico riflettono le necessità umane, non quelle degli animali. (Morgan, 2007)

### SUONI

Per molte specie si sa poco sul loro range uditivo. Mediamente, nei giardini zoologici c’è un elevato rumore di fondo con superfici che riflettono le onde sonore, condizioni non ideali per il benessere animale. (Gamble, 1982) (Tromborg, 1993) Il rumore è influenzato dal numero dei visitatori, dal loro tono di voce, dalla presenza di macchinari, dalla vicinanza a strade, zone urbane, trasporti pubblici. (Tromborg C. C., 1995) Ciò contrasta totalmente con i suoni presenti in natura, dove l’intensità dei suoni è molto più bassa (in particolare molto bassa nella savana, media vicino ai fiumi, più alta nella foresta pluviale) e sono rappresentati da: canto degli uccelli, scorrere dei corsi d’acqua, vento, insetti e fruscii dalla vegetazione. (Morgan K. N., 2007) L’intensità dei suoni

in natura varia circa da 20 dB a 36 dB, gli animali da laboratorio mostrano segni di elevato stress quando l'intensità è superiore ad 85 dB per tempi prolungati. (Anthony, 1959) In particolare, suoni aperiodici e improvvisi sono quelli che provocano maggiormente distress negli animali, soprattutto nelle prede. (Gamble, Sound and its significance for laboratory-animals., 1982) (Meyer-Holzappel, 1968) (Stoskopf, 1983) I suoni forti influenzano la pressione sanguigna e la frequenza cardiaca, all'attivazione del sistema nervoso simpatico e dell'asse ipotalamo-ipofisi-adrenale. (Geverink, 1998) (Salveti, 2000) (Henkin, 1963) Sono descritti effetti negativi anche negli animali esposti a tali condizioni in utero. L'esposizione di animali gravidi, infatti, causa vari problemi, tra cui immunosoppressione (Sobrian, 1997) e anomalie comportamentali (Schneider, 2002) (Poltyrev, 1996) (Morgan K. T., 1997). È dimostrato che l'aumento del rumore è correlato ad un aumento dei comportamenti di vigilanza. (Birke, 2002) Inoltre, nei giardini zoologici animali che in natura sono prede possono essere costantemente esposti alla presenza dei loro naturali predatori, ulteriore fonte di stress. (Morgan K. N., 2007)

## ILLUMINAZIONE

L'illuminazione nei giardini zoologici riflette spesso le esigenze del personale, non quelle degli animali. L'illuminazione può essere costante o quasi, oppure può variare periodicamente secondo schemi fissi (in genere 12 ore di luce e 12 di buio), ma comunque non riflette il naturale fotoperiodismo. Anche il tipo di luce è importante: le fonti di più usate sono quelle con ridotti costi di mantenimento, ma spesso queste lunghezze d'onda non sono gradite dagli animali. Esse possono emettere luce in modo discontinuo. Luce con intensità troppo elevata o troppo bassa può interferire negativamente con il benessere animale. Inoltre, forti contrasti tra zone di luce e buio possono spaventare gli animali. (Morgan K. N., 2007) (Grandin, 2005) (Martrenchar, 1999) (Pollard, 1994) La sensibilità degli animali alle lunghezze d'onda varia in base alla specie. È dimostrato che la deprivazione da lunghezze d'onda importanti per ciascuna specie animale è causa di stress. (Cuthill, 2000) (O'Neill, 1989) Gli animali hanno una diversa sensibilità alla luce e, se possono scegliere, manifestano diverse preferenze sull'intensità della luce e sul tempo di esposizione ad esse. (Miller, 1995) (Gunter, 1995) (Barber, 2004)

## ODORI

Quasi tutti gli animali, esclusi i primati, quindi la maggioranza delle specie animali che vivono nei giardini zoologici, sono macrosmatici, dunque l'olfatto è molto importante, spesso è il senso più sviluppato. (Slotnick, 2005) Certi odori sono stati usati come forma di arricchimento ambientale.

(Pearson, 2002) (Wells, 2004) Gli odori ai quali sono esposti gli animali in cattività possono essere fonte di stress. Alcune prede sono costantemente esposti all'odore dei loro predatori ed è dimostrato che l'esposizione dei ratti all'odore del gatto causa l'aumento del livello dei corticosteroidi plasmatici e il manifestarsi di comportamenti difensivi. (Dielenberg, 2001) Anche l'odore dei conspecifici può essere stressante. Gli animali percepiscono se un loro conspecifico è stressato e ciò costituisce anche per essi fonte di stress. (Galef Jr., 2002) (Vieuille-Thomas, 1992) Per molte specie la comunicazione attraverso gli odori e i feromoni è fondamentale per le interazioni sociali e per il comportamento riproduttivo. In cattività la pulizia degli ambienti può interferire con queste normali funzioni: gli animali marcano per territorialità o per indicare il proprio stato riproduttivo e la rimozione di questi odori può essere fonte di stress, per cui spesso rimarkano le stesse zone. Inoltre, alcuni animali aumentano le marcature quando sono stressati. (Hediger, 1964) (Epple, 1985) Alcuni animali provano fastidio all'odore di alcuni prodotti usati per la pulizia, ad esempio all'odore di pino. (Epple G. e., 1996) Gli odori sono quindi fondamentali per creare un ambiente tranquillo e adatto per le attività riproduttive. (Kleiman, 1994) (Morgan K. N., 2007)

## TEMPERATURA

Ogni specie animale ha un range termico preferenziale, in natura se la temperatura non è ottimale gli animali migrano. In cattività ciò non è possibile, gli animali sono esposti a temperature alle quali non sono adattati (troppo fredde per gli animali africani e sud americani e troppo calde per quelli polari). Questo può essere fonte di stress, gli animali possono mostrare comportamenti anomali. (Brent, 2003) (Hillman, 2004) La legislazione indica dei range di temperatura ritenuti accettabili per ciascuna specie. (Besch, 1990) È utile inserire dei termometri che monitorino costantemente la temperatura. (Morgan K. N., 2007)

## SUBSTRATI

Gli animali in natura mettono in atto dei comportamenti atti alla termoregolazione. In cattività questa possibilità è limitata; anche se provvisti di zone d'ombra, gli exhibit sono spesso costituiti da substrati che non consentono un'adeguata termoregolazione. Si è osservato che modificando tali substrati può limitare le anomalie comportamentali causate da una temperatura non adeguata. I substrati più comunemente usati in cattività possono variare molto per inerzia termica e capacità di riflettere il calore, in condizione di temperatura non ideali il microclima dell'exhibit può facilmente risultare fastidioso per l'animale. (Morgan K. N., 2007) I materiali variano molto anche

in consistenza e resistenza alla compressione. Gli animali, se possono scegliere, hanno le loro preferenze in merito. (Faerevik, 2005) (Ago, 2002) (Huynh, 2004)

Molti animali in natura costruiscono dei nidi, sia per le proprie esigenze sia per quelle della prole. In exhibit costituiti da certi materiali (substrati duri, pavimenti lisci) non è possibile ricavare del materiale per costruire un nido, gli animali manifestano comportamenti aberranti, cercano di ottenere del materiale per la nidificazione, da cui si deduce che la preparazione del nido per alcune specie è una necessità (Anna, 2002) (Cooper, 2003). Fornire materiali come paglia o terra riduce i comportamenti anomali e funge anche da arricchimento ambientale, in quanto sono materiali manipolabili. (Baker, 1997) (Chamove, 1982) (Fraser S. e., 1991) Substrati più complessi possono anche favorire le interazioni sociali. (Armstrong, 1998) Come spesso accade, si sa poco sulle preferenze o sulle percezioni tattili di molte specie animali e i keepers non sono quindi in grado di rilevare eventuali problemi. (Morgan K. N., 2007)

## CONFINAMENTO E CONTROLLO SULL'AMBIENTE

Gli animali in natura sono esposti a diversi stimoli di varia natura. La principale differenza con gli ambienti in cattività consiste nel controllo che in natura gli animali riescono ad esercitare su di essi, assente o molto ridotto nei giardini zoologici, dove gli animali sono confinati in spazi più o meno grandi, con stimoli fissi, alcuni dei quali possono fungere da stressors. (Morgan K. N., 2007)

## SPAZI RISTRETTI

Uno degli stressor principali, noto da tempo, è costituito dalla scarsa possibilità di movimento causata dal confinamento in spazi ristretti. (Levy, 1944) Spesso la grandezza degli exhibit è decisa in modo arbitrario da professionisti, non sempre ci sono studi in merito, in più alcuni studi hanno dato risultati vari e contrastanti. (Morgan K. N., 2007) È dimostrato che la mortalità neonatale e le stereotipie in animali da zoo è tanto maggiore quanto maggiore è l'ampiezza del territorio in cui si muovono in natura. (Clubb, 2007) La scarsa attività fisica e il peso corporeo sono altri problemi degli animali che vivono in spazi ristretti. (Pearce, 1993)

L'aumento della grandezza degli spazi va però valutato con cautela: in alcuni studi ciò non ha causato nessun cambiamento nel comportamento degli animali (Wilson, 1982), in altri è emersa una correlazione tra la grandezza dell'exhibit e l'attività fisica (Perkins, 1992), in altri casi la variazione di comportamento è meno prevedibile, si riducono alcuni comportamenti, altri si

modificano o aumentano di frequenza, (Goerke, 1987) (Morgan K. e., 2002) infine, in uno studio i comportamenti anomali sono aumentati. (Bayne, 1989) Spazi molto ampi possono infatti stressare animali che in natura sono prede e vengono predati in spazi aperti. (Hughes, 1969)

## ASSENZA DI SPAZI IN CUI RIFUGIARSI

In natura gli animali hanno la possibilità di scappare e rifugiarsi se percepiscono una minaccia, aspetto che in cattività può essere scarsamente considerato ed è fonte di stress. È dimostrato che l'aggiunta di uno spazio apposito migliora il benessere e riduce anche lo stress correlato alla presenza di altri animali. (McGlone, 1985) (Morgan K. N., 2007)

## VICINANZA FORZATA CON GLI UMANI

Nei giardini zoologici si cerca di trovare un valido compromesso tra il benessere animale e la possibilità per i visitatori di vedere gli animali (principale motivo per cui vanno allo zoo). Le condizioni in cui vivono gli animali (presenza di visitatori e del personale che si prende cura di loro) implica la presenza dell'uomo in misura maggiore rispetto a quanto tollerato da molte specie, aspetto che può interferire negativamente con il loro benessere. La costruzione degli exhibit dovrebbe tenere conto anche della distanza di fuga dall'uomo, diversa per ogni specie. L'aspetto meno prevedibile e quindi potenzialmente più stressante per gli animali è il numero di visitatori. Mentre il personale è invariato, così come la routine di alimentazione, gestione e pulizia, i visitatori possono variare molto in numero e anche per il loro comportamento. In alcuni casi relazioni con l'uomo possono fungere da arricchimento ambientale e quindi avere effetti positivi sul benessere, (Morris, 1964) (Hosey G. , How does the zoo environment affect the behaviour of captive primates?, 2005) ma spesso una folla molto numerosa può alterare i normali comportamenti ed essere fonte di stress. (Wood, 1998) Analogamente avviene per la gestione da parte del personale. Gli animali hanno però la capacità di discriminare tra i singoli individui, per cui possono evitare gli estranei e avvicinarsi agli individui a loro familiari. (Davis H. e., 1997) (Morgan K. N., 2007)

## GESTIONE E ROUTINE

Spesso l'avversità degli animali nei confronti dell'uomo nasce da eventi sgradevoli durante le quotidiane attività di gestione e pulizia. In alcuni casi, anche queste attività possono essere fonte di stress per l'animale. Nei primati sono riportati aumenti della frequenza cardiaca durante la pulizia e durante i pasti. (Malinow, 1974) (Line, 1989) (Morgan K. N., 2007)

## ALIMENTAZIONE RISTRETTA E OPPORTUNITÀ DI CERCARE IL CIBO

In natura molti animali dedicano gran parte della loro giornata alla ricerca e al consumo di cibo. (Herbers, 1981) In cattività, invece, gli animali consumano il cibo che viene loro offerto, che può essere molto diverso da quello che consumerebbero in natura (diversa consistenza, diverso tenore proteico, minor contenuto di fibre), inoltre i pasti in cattività sono molto più rapidi. Secondo alcuni studi gli animali, soprattutto quelli che vivono in ambienti ristretti, mostrano dei comportamenti di ricerca del cibo, come farebbero in natura, anche se questo viene loro offerto. Questo fenomeno è chiamato “contrafreeloading”. (Coulton, 1997) (Inglis, 1994) (Reinhardt, 1994) Invece, fornire all’animale la possibilità di “cercare” il cibo è correlato all’espressione di comportamenti indice di benessere, ad esempio in alcuni primati aumenta il tempo dedicato al gioco e alle attività. (Baker, Straw and forage material ameliorate abnormal behaviors in adult chimpanzees, 1997) La dieta offerta in cattività, inoltre, è spesso invariata. Gli animali mangiano sempre gli stessi alimenti e la prevedibilità della razione spesso non è gradita. I pasti, inoltre, avvengono spesso ad orari programmati, a differenza di quanto avviene in natura. In più, fornire alimenti semplici da consumare limita l’espressione di comportamenti legati al pasto (ad esempio nei carnivori che cacciano e consumano prede intere). Garantire l’espressione di questi pattern comportamentali riduce lo stress. (Lindburg, 1998) (Morgan K. N., 2007)

## GRUPPI SOCIALI ANOMALI

Per molti animali in cattività, soprattutto per le specie sociali e gregarie, vivere in isolamento costituisce fonte di stress. L’impatto è particolarmente negativo per i primati. (Mason W. , 1991) (Harlow H. H., 1971) In altri casi gli animali vivono in gruppi che non rispettano le leggi naturali (diversi per numero, rapporto maschi/femmine), ciò può generare tensioni sociali. (Stoinski, 2001) Inoltre alcuni animali vivono in ambienti sovraffollati oppure la composizione dei gruppi viene modificata repentinamente generando instabilità sociale, anche se temporaneamente (ad esempio in caso di visite veterinarie, trasporti). In natura gli animali possono difendersi evitando i soggetti dominanti o le situazioni di conflitto, in cattività ciò non è possibile. (Morgan K. N., 2007)

## ARRICCHIMENTO AMBIENTALE

L’arricchimento ambientale consiste nel fornire gli stimoli necessari a garantire il benessere psicologico e fisiologico di un animale in cattività. (Unit of cognitive primatology, s.d.)



Esso comprende:

- Arricchimento fisico: elementi naturali (rocce, acqua, ecc.) o artificiali (corde, giochi, piattaforme, ecc.)
- Arricchimento nutrizionale: riguarda sia la frequenza che la modalità di somministrazione e il tipo di alimento, che può essere fornito intero, a pezzi, congelato, nascosto in varie zone, sepolto
- Arricchimento sensoriale: odori, feromoni, luci e ombre, zone raffrescate e riscaldate
- Arricchimento sociale: presenza di gruppi di animali omogenei o multispecie, composizione dei gruppi, introduzione di nuovi soggetti, nascite
- Arricchimento occupazionale: problem solving, manipolazione di oggetti, addestramento con rinforzo positivo
- Interazioni con l'uomo: addestramento, grooming, attività varie (American veterinary medical association, 2002)

Secondo Heine Hediger, gli animali allo zoo sono “isolati dal ciclo della natura, per cui va ricreato un nuovo ciclo artificiale”. Egli sosteneva che cercare di ricreare la natura, in senso stretto, fosse un errore, che bisognasse piuttosto concentrarsi sul trovare un “sostituto”, in quanto effettivamente è impossibile ottenere un ambiente identico al naturale in un contesto artificiale. Si sposta dunque l'attenzione sulla ragione del comportamento animale, vanno soddisfatte le sue esigenze. (Hediger H., 1950) Quindi un buon addestramento, un buon arricchimento ambientale e un corretto rapporto col personale sono degli elementi occupazionali importanti. (American veterinary medical association, 2002)

I cambiamenti possono indurre l'animale a mostrare segni di stress a breve termine (comportamenti anomali, ridotta attività, stereotipie), ma il giusto arricchimento, che stimoli una corretta attività e aumenti il benessere, permette all'animale di sviluppare delle competenze. (Spinka M., 2011) (Meehan, 2007) (Whithama J. C., Wielebnowski N., 2013)

# ANALISI DEI METABOLITI DEI CORTICOSTEROIDI

La valutazione dei corticosteroidi e dei suoi metaboliti è usata come biomarker per valutare la risposta dell'animale allo stress. (Cook N. J., 2012) Si possono utilizzare diversi campioni biologici.

Il siero è un buon substrato. Generalmente si ottiene dalla centrifuga di sangue da prelievo venoso. È stato per lungo tempo usato come parametro per la valutazione dello stress nei mammiferi. (Broom D., 1993) (Möstl E., 2002)Risulta tuttavia uno dei metodi più invasivi. (Greff J. E., et al., 2019) Poiché è un parametro indicativo di quel momento, sapendo che la cortisolemia varia notevolmente in base agli avvenimenti e anche secondo ritmo circadiano, il singolo prelievo è poco significativo, l'ideale sarebbe avere dei prelievi seriali. (Möstl E., 2002)Inoltre la metodica di prelievo, soprattutto negli animali da zoo in cui implica spesso sedazione o contenimento, è fonte essa stessa di stress, (Cook et al, 2002) ragioni che ne limitano, dunque, l'utilità nelle suddette specie animali, per le quali si preferisce ora usare metodiche meno invasive. (Wielebnowski, 2003) I corticosteroidi nel siero sono per l'80% legati ad una specifica globulina (CBG), per il 10% legati all'albumina e per il 10% sono in forma libera. La CBG ha una funzione importante soprattutto nel trasporto dei corticosteroidi nei siti sede di infiammazione. L'aumento dei corticosteroidi plasmatici in risposta allo stress si traduce soprattutto in un aumento della frazione libera, quindi misurare i corticosteroidi totali può non essere biologicamente significativo per questo scopo. La misura della frazione libera sarebbe più attendibile, ma è tecnicamente più complessa da ottenere. (Brien T. G., 1980) (Pemberton P. A., 1988) (Cook N. J., 2012)

Il vantaggio della valutazione del cortisolo urinario consiste nel fatto che il cortisolo legato alle proteine plasmatiche non supera il filtro renale e quindi non è presente nelle urine. Quindi il cortisolo presente nelle urine riflette direttamente il valore di cortisolo plasmatico libero. La produzione urinaria e lo stato di idratazione possono però interferire, per cui il valore di cortisolo urinario andrebbe sempre espresso in rapporto alla creatinina urinaria. Per un risultato ottimale, tuttavia, l'urina andrebbe prelevata durante tutte le 24 ore antecedenti al test, metodo che risulta complicato o inapplicabile con la maggior parte degli animali. Riflette, però, solo il cortisolo della finestra temporale coincidente con il prelievo stesso. (Aron D. C., 2004)

La saliva è molto usata, soprattutto nell'uomo. È un substrato valido, sebbene, anche in questo caso, possono esservi dei fattori di confondimento nell'interpretazione dei risultati, soprattutto se

si opta per il contenimento dell'animale per ottenere i campioni. L'aumento del cortisolo salivare è legato in misura minore alla conversione del cortisolo in cortisone da parte della 11 $\beta$ -deossisteroide deidrogenasi di tipo 2, è soprattutto il risultato della diffusione passiva del cortisolo plasmatico libero nel lume delle ghiandole salivari, che consente di raggiungere rapidamente un equilibrio tra il cortisolo plasmatico e quello salivare. Il cortisolo salivare rappresenta circa il 10% di quello plasmatico, questo rapporto può variare in base alla specie, alla concentrazione di cortisolo e di CBG. (Vining R. F., 1987) Si pone il problema sulla metodica di prelievo: nell'uomo è semplice, ma nella maggior parte degli animali non è possibile ottenere un campione di saliva in modo diretto, soprattutto se non si vuole ricorrere al contenimento, quindi vanno usati dei materiali assorbenti ma che non leghino il cortisolo e non interferiscano con le metodiche analitiche. È dunque richiesta la validazione dei materiali per tale scopo; in genere materiali assorbenti composti da fibre polimeriche sono idonei. La metodica analitica più usata è l'immunoassay. (Cook N. J., 2012)

In tutte le matrici sopra elencate, tuttavia, non è possibile avere valori di cortisolo da riferire a un lungo periodo, ma solo circa alle 24 ore prima. L'esame va effettuato subito dopo il prelievo, oppure si possono stoccare i campioni congelandoli.

Negli animali in lattazione può essere valutato il cortisolo nel latte, indice di stress a breve a termine. (Verkerk G. A., 1998)

Si possono valutare anche i metaboliti nelle uova e nelle penne. (Cook N. , 2012)

Sia il prelievo della saliva che delle urine, però, in ambito veterinario richiedono una minima manipolazione. Il latte invece risulta utile solo per gli animali in lattazione, quindi soprattutto per gli animali da latte. (Möstl E., 2002)

I capelli, invece, avendo una crescita più o meno costante, riflettono anche i valori di cortisolo dei mesi precedenti al prelievo, che risulta anche molto poco invasivo. Infatti, esso viene incorporato nella midollare del capello durante la crescita e risente del cortisolo presente nel secreto di ghiandole sudoripare e sebacee. Inoltre, è una matrice molto stabile, non necessita di congelamento, le analisi possono essere eseguite in tempi successivi al prelievo. Sarebbe importante conoscere anche il rate di crescita del capello. La metodica analitica in questo caso in genere prevede un'estrazione seguita da un test ELISA. Tuttavia, i valori di cortisolo presenti sui

capelli possono essere alterati da raggi UV, agenti chimici quali tintura e shampoo e dai trattamenti effettuati. La punta del capello, inoltre, risente molto di più di questi fattori ambientali, tanto più quanto distante è dallo scalpo. Analogamente, negli animali vi è una correlazione tra cortisolo e caratteristiche del pelo quali lunghezza, regione corporea ed esposizione a fattori ambientali. È in grado di rilevare condizioni di stress cronico. (Greff J. E., et al., 2019) (Cook N. J., 2012)

Si è anche cercato di usare come matrice le unghie, ottenute durante il taglio delle stesse. Non sembrano però essere un buon substrato e non c'è correlazione tra il cortisolo trovato nelle unghie e quello dei capelli. (Binz T. F., 2018) (Izawa S., 2015)

In ambito veterinario, soprattutto in riferimento a specie animali non domestiche, una delle matrici più usate sono le feci. Costituiscono un metodo non invasivo, che non necessita di contatto diretto con l'animale e quindi non interferisce con il livello di cortisolo. È dimostrato che nel gatto domestico il cortisolo fecale riflette i valori di cortisolo sierico, per cui risulta un valido metodo di monitoraggio delle specie da zoo. Il cortisolo nelle feci si trova soprattutto in forma non idrolizzata, idrosolubile. È coniugato a livello epatico, dopo la quota di metaboliti è influenzata soprattutto dall'attività batterica intestinale. (Cook N. J., 2012) (Graham L. H., 1996) Anche in questo caso, essendo il cortisolo fecale un indicatore a breve termine, va considerata la frequenza dei prelievi, in quanto con prelievi molto dilazionati nel tempo eventuali picchi di cortisolo potrebbero non essere rilevati. Inoltre, la distribuzione dei metaboliti nelle feci non è uniforme quindi è meglio effettuare più campionamenti. Per avere risultati attendibili i campioni andrebbero analizzati subito dopo la raccolta oppure congelati immediatamente per essere analizzati in un secondo momento. Infatti, l'attività dei batteri continua anche dopo la deposizione delle feci, dunque una scorretta conservazione dei campioni potrebbe alterare i risultati delle analisi. (Möstl E., 2002) Il cortisolo fecale risulta un parametro abbastanza attendibile e biologicamente significativo, come riportato da molti studi (Most E et al, 2002) (Palme R et al, 1999) (Palme R et al, Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolites, 2000) (Merl S et al, 2000); la variazione di esso causata dall'influenza della dieta dell'animale sembra essere trascurabile, come dimostrato per altri ormoni quali il progesterone. (Rabiee RA et al, 2001) (Cook N. J., 2012) Tuttavia, è poco sensibile alle variazioni di cortisolo circolante o di stimolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-adrenale, ma risente di fattori esterni ad esso. Va quindi bene se considerato come marker di stress su lunghi periodi, soprattutto se sono note le condizioni di vita dell'animale e sono controllati gli aspetti che potrebbero essere fuorvianti. (Cook N. J., 2012)

Il cortisolo e i suoi metaboliti risultano essere il marker migliore per la valutazione dello stress, ma si possono valutare anche noradrenalina e il suo metabolita 3-metossi-4-idrossifenilglicole, nonché testosterone, deidroepiandrosterone (DHEA) e i suoi analoghi solforati DHEA-S, alfa-amilasi, immunoglobulina A secretoria e cromogranina A. Le metodiche di analisi più utilizzate sono l'immunoassay, analisi immunologiche ed elettrochimiche. (Ginevra Giacomello, 2020)

La valutazione del cortisolo è importante per la valutazione del benessere animale (in tal caso inteso come assenza di distress cronico), per valutare la qualità della stabulazione, del rapporto col personale, dei trasporti e di tutti i vari aspetti della vita e della gestione degli animali in cattività. (Möstl E., 2002)

# VALUTAZIONE DELLO STRESS NEI LEMURI

## VALUTAZIONI COMPORTAMENTALI

Sono stati effettuati degli studi per la valutazione della presenza di differenze significative tra le popolazioni di lemuri selvatici e quelli in cattività. Si valuta la differenza tra i comportamenti di queste popolazioni e la frequenza con la quale questi vengono espressi. Tra gli obiettivi di questi studi vi è valutare la possibilità di reintroduzione in natura, soprattutto per le specie a rischio, e la qualità della gestione degli animali all'interno dei giardini zoologici. (Shire, 2012) Studi sui *Lemur catta* hanno dimostrato che gli animali nei giardini zoologici sono meno attivi rispetto ai conspecifici che vivono in natura. Migliorare il design degli exhibit e introdurre un buon arricchimento ambientale sono tra gli strumenti usati per far fronte a questo problema. (Dishman R. K., 2009) (Morgan N. K., Tromborg T. C., 2007) I lemuri in natura trascorrono più della metà della loro giornata riposando e facendo grooming. Il resto del tempo lo impiegano in attività quali cercare cibo, alimentarsi, spostarsi. (Keith-Lucas, 1999) I lemuri allo zoo non hanno le stesse possibilità di spostarsi e andare alla ricerca di cibo che hanno quelli in natura, per cui è normale, entro certi limiti, che siano meno attivi. L'obiettivo è fornire un ambiente che stimoli comunque attività quali l'arrampicata. (Shire, 2012)

Sia in natura che in cattività è documentato che i lemuri si arrampicano sui rami alti degli alberi rivolti verso Est, al mattino, per prendere il sole. (Keith-Lucas, 1999) (Jolly, 1966) L'esposizione al sole li scalda, riducendo il dispendio energetico per la termogenesi, e aiuta a controllare le infestazioni da ectoparassiti (Loudon J. E., 2006). È un comportamento in parte naturale, in parte acquisito (apprendono la postura e la ricerca della zona per esporsi al sole), abbastanza specie specifico. Si osserva infatti solo in alcune specie di lemuri (*Lemur catta*, *Propithecus spp*, *Varecia variegata*), non nelle altre o negli altri primati. Se i lemuri non mettono in atto questo comportamento è possibile che non siano abbastanza stimolati oppure la conformazione dell'exhibit potrebbe non consentire loro una corretta esposizione. Poiché gli ambienti presentano in genere una temperatura controllata, allo zoo l'esposizione al sole non è strettamente necessaria per la termoregolazione. Si nota che i lemuri che vivono in cattività si espongono meno al sole rispetto ai selvatici e che quelli che vivono in ambienti chiusi si espongono meno rispetto a quelli che vivono all'aperto. (Shire, 2012) Dopo la reintroduzione in natura di due esemplari di *Lemur*

*catta*, questi hanno manifestato comportamenti di esposizione al sole anomali, con una postura insolita. (Keith-Lucas, 1999)

Se non vengono rispettati i criteri presenti in natura nella formazione dei gruppi (numero di esemplari, rapporto maschi/femmine, ecc.) in cattività gli animali possono manifestare episodi o eccesso di aggressività. (Shire, 2012)

L'aggressività (sia per l'animale che la mostra che per quello che la riceve) è correlata ad alti livelli di glucocorticoidi nel *Lemur catta*. (Cavigelli S., 2003) Comportamenti affiliativi e relazioni sociali invece riducono lo stress. (Wittig R. M., 2008) (Ehmke E. E., 2010) Tuttavia, non sempre si rilevano correlazioni tra i livelli di cortisolo e comportamenti affiliativi: gli animali stressati possono ricorrere a queste attività e quindi mostrare alti livelli di cortisolo iniziali. È possibile inoltre che il grooming nel lemure non abbia primariamente una funzione sociale, ma soprattutto igienica, come per altri primati. (Zamma K., 2002) (Akinyi M. Y., 2013) (Tennenhouse E. M., 2017)

## RAPPORTO TRA GLI ANIMALI E I VISITATORI

È dimostrato che uno dei punti critici che può interferire in vari modi con il benessere animale è il rapporto con i visitatori e con l'uomo in generale. (Sherwen S. L., 2019)

I primi studi sull'impatto dell'uomo sul benessere animale risalgono agli anni '70 (Cole & Fraser, 2018). Le prime ricerche si concentrarono su come la paura nei confronti dell'uomo fosse causa di scarso benessere. (Hemsworth & Sherwen, 2018) Forti rumori e movimenti bruschi possono essere percepiti come minaccia dagli animali e aumentare la loro paura nei confronti degli uomini. (Hemsworth, Human-animal interactions in livestock production, 2003) Gli animali che vivono nei giardini zoologici non sono domestici, non hanno una storia di adattamento all'uomo, dunque la risposta può variare molto, anche in relazione al carattere del singolo animale e al suo ruolo di preda o predatore in natura. (Sherwen S. L., 2019) (Price, 2002) Hosey propose un modello per la valutazione del rapporto uomo-animale (Hosey, 2008), poi ridefinito (Hosey G. H., 2013) (Ward & Sherwen, 2018). Secondo questo modello il rapporto uomo-animale allo zoo si può classificare in 3 categorie:

1. Rapporto negativo, in cui l'animale ha paura dell'uomo e lo evita

2. Rapporto neutro, in cui l'animale non mostra alcuna reazione alla presenza dell'uomo ed è abituato
3. Rapporto positivo, in cui l'animale ha una reazione che indica emozioni positive all'interazione con l'uomo (Hosey, 2008), (Hosey G. H., 2013)

Queste affermazioni si basano sulle osservazioni di Hediger, secondo cui l'animale può considerare l'uomo nei seguenti modi: come un nemico, una preda, un simbiote, una parte inanimata dell'ambiente o un membro della stessa specie. In base a ciò variano la risposta dell'animale e quindi le implicazioni per il suo benessere. (Hediger H. , 1970)

La maggior parte degli studi evidenzia che la presenza dei visitatori ha sugli animali un effetto negativo. In natura gli animali tendono a scappare da una situazione minacciosa, per cui in uno zoo ci sono molti stimoli che possono essere fonte di stress, soprattutto se i visitatori urlano o si muovono velocemente. (Boissy, 1995) (Rushen, 1999) Gli animali presentano comportamenti ritenuti indice di stress, ad esempio molte specie cercano di evitare i visitatori. (Sherwen S. L., 2019) Usando dei test cognitivi, diversi dalle tradizionali metodiche e utili perché consentono di non isolare gli animali dal gruppo, è emerso che alcuni primati in presenza dei visitatori presentano modifiche comportamentali associate a stati d'ansia. (Cronin, 2018) In varie specie l'aumento del numero dei visitatori si associa all'aumento dei metaboliti fecali o urinari dei corticosteroidi. (Davis, 2005) (Pifarré, 2012) La risposta negativa da parte degli animali ha a sua volta un impatto negativo sui visitatori perché può inficiare sulla loro esperienza allo zoo e sulla loro opinione sul rispetto del benessere animale nella struttura. (Sherwen S. L., 2019) Alcuni animali, invece, non mostrano alcuna risposta alla presenza dei visitatori, anche all'aumentare del rumore e del numero di persone. È possibile che essi si siano abituati alla presenza dell'uomo e percepiscano i visitatori come parte dell'ambiente e non come una minaccia. È infatti documentato che gli animali in natura che hanno contatti ripetuti con l'uomo sviluppano una sorta di tolleranza. (Geffroy, 2015) Per alcuni zoo questa reazione è l'ideale: gli animali si comportano naturalmente e svolgono le loro attività anche in presenza dei visitatori. (Sherwen S. L., 2019)

In rari casi gli animali considerano i visitatori come una positiva fonte di stimoli. (Sherwen S. L., 2019)

Gli studi dimostrano che c'è un'ampia variabilità tra le specie nell'adattamento alla cattività e alla vista dell'uomo. Alcune specie si adattano molto bene e hanno delle performance riproduttive



migliori a quelle in natura, mentre altre non si adattano, non si riproducono e mostrano delle “patologie legate allo stress”. (Mason G. , 2010) Dal punto di vista evoluzionistico, data anche la carenza di studi, è difficile stabilire quali siano le specie più adatte a stabilire rapporto con l’uomo, anche perché questa predisposizione non dipende solo dalla specie. Vi è infatti una certa soggettività che dipende molto dalla genetica (selezione naturale e artificiale), dal temperamento del soggetto, dalla sua storia e dalle sue esperienze pregresse con l’uomo. Questo influenza la percezione dell’ambiente in cui vive e quindi influisce sul suo benessere. (Price, 2002) (Bashaw & al, 2016) Se gli animali hanno fin da giovani esperienze positive con l’uomo, successivamente avranno meno paura. (Boivin & al, 2000) (Bonato & al, 2013) (Hemsworth & Barnett, 1992)

Un ambiente con uno spazio in cui rifugiarsi per potersi allontanare dai visitatori può ridurre lo stress degli animali. (Hosey G. , 2000) È infatti dimostrato che esso è correlato anche alla costituzione dell’exhibit (presenza di una barriera tra gli animali e i visitatori, grandezza dell’exhibit, altezza e distanza dalla quale gli animali vedono i visitatori). Se gli animali riescono ad esercitare un controllo sulla loro esposizione agli stimoli e ai visitatori stessi si stressano meno, è importante fornire loro la possibilità di scegliere dove stare. Un ambiente poco stressante può anche migliorare l’esperienza dei visitatori e cambiare il modo in cui essi si avvicinano agli animali. (Blaney & Wells, 2004) (Morgan N. K., Tromborg T. C., 2007)

Nei lemuri, in particolare nel *Lemur catta* si nota che: quando sono presenti i visitatori aumenta le l’aggressività degli animali, diminuisce il tempo dedicato al grooming e ad altri comportamenti affiliativi. Quando i visitatori sono più numerosi aumenta il grooming e si riduce l’agonismo tra gli esemplari. (Chamove A. S., 1988) I lemuri si muovono di più e interagiscono coi visitatori quando essi non sono passivi e interagiscono con gli animali. (Hosey & Druck, 1987) (Mitchell, 1992)

La WAZA ha rilasciato delle linee guida per le strutture che scelgono di optare per l’interazione diretta uomo-animale. Gli obiettivi sono: mantenere comunque un elevato livello di benessere, fornire un’interazione di qualità e in sicurezza e fare in modo che sia un’esperienza formativa. Bisogna valutare l’impatto che queste attività hanno sugli animali e quali animali impiegare (non tutte le specie e non tutti i soggetti sono adatti). Evitare specie che non gradiscono interazioni con l’uomo. Le interazioni non devono interferire con i programmi di riproduzione e devono avvenire sempre sotto stretta sorveglianza del personale, devono essere impiegati animali addestrati. Se l’animale manifesta segni di stress va interrotta l’attività, l’animale deve avere uno spazio in cui

andare se non vuole più interagire. Evitare di usare animali giovani, anziani o in riproduzione e quelli che dovranno essere reintrodotti in natura. Non usare farmaci o sistemi di contenimento. Il messaggio da trasmettere al visitatore è sempre legato al rispetto dell'animale e all'informazione sulla specie. Gli animali vanno presentati in un contesto simile a quello naturale, così da mantenere il ruolo educativo, non devono esibirsi come animali da circo. Mantenere un adeguato livello di igiene facendo lavare le mani ai visitatori prima e dopo il contatto con l'animale. (WAZA, Interactions, WAZA Guidelines for the Use of Animals in Visitor, 2015) (WAZA, WAZA Code of Ethics and Animal Welfare., 2003) (Mellor, 2015)

Per quanto riguarda le interazioni con il personale, intese come parte dell'arricchimento ambientale, è dimostrato che l'introduzione di una sessione giornaliera dedicata alle interazioni con i keepers, al gioco e/o al training, soprattutto nei primati, è correlata a un miglioramento del benessere, che si traduce in: riduzione dei comportamenti anomali e di quelli legati a stati di tensione, riduzione dell'inattività e dell'aggressività, aumento del grooming tra conspecifici. In particolare, alcune forme di arricchimento sono correlate a comportamenti indice di benessere solo quando essi sono presenti, mentre non sempre vi è un miglioramento a lungo termine nel benessere dell'animale e in assenza di quell'elemento; in questo caso, gli animali sembrano trarre beneficio a lungo termine e mostrano tali comportamenti durante il resto della giornata, anche dopo il termine della sessione interattiva. (Baker K. C., 2004) I risultati possono variare tra gli studi, il che suggerisce che vi sia una correlazione anche con altri aspetti quali la numerosità del gruppo, exhibit costituito da ambiente all'aperto e/o al coperto. (Bloomsmith M. A., 1999) (Baker K. C. R. S., 1998)

## FATTORI STRESSANTI E LIVELLI DI GLUCOCORTICOIDI NEI LEMURI

In natura alcuni fattori, come clima avverso, carenza di cibo o presenza di molti predatori, sono associati ad un aumento dei glucocorticoidi fecali nei primati. (Engh A., 2006) (Pride R., 2005) (T. Weingrill, Fecal cortisol levels in free-ranging female chacma baboons: relationship to dominance, reproductive state and environmental factors. , 2004)

In particolare, nei lemuri la carenza di cibo, soprattutto nella stagione riproduttiva, è correlata ad un aumento dei metaboliti fecali dei glucocorticoidi. Durante la stagione riproduttiva, infatti, aumenta il fabbisogno energetico dell'organismo e un'eventuale carestia può aumentare la

competizione tra gli esemplari per accaparrarsi il cibo. Questo aspetto è più evidente nei gruppi più numerosi. In particolare, la carenza di tamarindo, frutto molto consumato dal *Lemur catta*, è associata ad un'alterazione nella numerosità dei gruppi in questa specie. (Pride, 2005)

Gli aspetti sociali sembrano influenzare maggiormente la produzione di glucocorticoidi (Romero L., 2000) (Muller M., 2004) rispetto alle condizioni ambientali. Non vi è un'evidente correlazione tra rango sociale e livello di corticosteroidi o tra maschi e femmine, i risultati degli studi sono variabili e le differenze spesso statisticamente non significative o da imputare ad altre variabili. (Cavigelli S. A., 2003)

Uno degli aspetti che influenza di più la produzione di corticosteroidi (e anche degli ormoni sessuali) nei lemuri è l'avvento della stagione riproduttiva, durante la quale i livelli ormonali sono molto più elevati. È una stagione che richiede elevato dispendio energetico e durante la quale aumentano la competitività tra gli esemplari e le lotte. Questo periodo coincide anche con minori piogge e minore disponibilità di tamarindo in natura. Nell'*Eulemur fulvus rufus* i livelli di testosterone e corticosteroidi rimangono elevati anche nel periodo dei parti e della lattazione, mentre in altre specie, come il *Lemur catta* e il *Propithecus verreauxi*, dopo gli accoppiamenti i livelli ormonali calano. Vi sono varie ipotesi in merito a questo aspetto, sembra che sia legato più a fattori sociali. Inoltre, i metaboliti fecali sono più elevati durante la gravidanza rispetto alla lattazione perché gli ormoni placentari e gli estrogeni fetali stimolano la produzione di corticosteroidi. È possibile che alti livelli di testosterone e corticosteroidi consentano ai maschi di far fronte a una possibile invasione da parte di altri maschi che intendono uccidere i cuccioli. L'infanticidio è descritto sia in natura che in cattività nell' *E. fulvus rufus*, accade in genere nel primo mese post partum, la sua funzione è quella di interrompere la lattazione nella femmina per far migliorare le sue condizioni fisiche e aumentare le probabilità di sopravvivenza della cucciolata successiva. (Pereira M. E., 1991) (Jolly A., 2000) (Tilden C., 2008) Nelle femmine di *Lemur catta* i livelli di estradiolo aumentano nei periodi di maggiore aggressività. (Drea C. M., 2007) Nel maschio alcuni studi mettono in evidenza una correlazione positiva tra i livelli di testosterone e quelli di aggressività soprattutto nei periodi di instabilità sociale. (Cavigelli S. A. P. M., 2000) (Gould L. Z. T., 2007) Tuttavia, non sempre i livelli di testosterone sono predittivi del grado di aggressività. (Cavigelli S. A. e. a., Mating Season Aggression and Fecal Testosterone Levels in Male Ring-Tailed Lemurs (*Lemur catta*), 2000) Gli alti livelli di testosterone nelle femmine, correlati ad alti livelli di aggressività potrebbero essere legati al ruolo dominante della femmina nella gerarchia sociale dei lemuri. (Tennenhouse E. M., 2017) Inoltre, la secrezione di leptina può

influenzare l'attività della ghiandola adrenale. (Schwartz, 1997) Poiché i livelli di leptina sono positivamente correlati alla quantità di tessuto adiposo presente, ciò potrebbe in parte correlare lo stato sociale (le femmine di rango superiore hanno la priorità sul cibo e quindi presentano più depositi adiposi e condizioni fisiche migliori) alla secrezione di cortisolo. (Cavigelli S. A. e. a., Female dominance status and fecal corticoids in a cooperative breeder with low reproductive skew: ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). , 2003) È noto infatti che uno dei principali motivi di conflitto tra le femmine è l'accesso al cibo. (Sauter M. L., 1993)

Nel *Microcebius murinus* i livelli di testosterone variano da 15 nmol/l durante il periodo di riposo a 245 nmol/l durante la stagione riproduttiva. Soprattutto in cattività, la presenza di maschi dominanti può determinare alterazioni nell'efficienza riproduttiva di quelli non dominanti. È dimostrato che il solo odore delle urine e delle marcature di un maschio dominante è sufficiente a ridurre livelli di testosterone plasmatici e ad innalzare quelli di cortisolo degli altri soggetti. (Schilling, 1984) I maschi non dominanti presentano inoltre una capacità maggiore della globulina plasmatica che lega il testosterone (essa è correlata inversamente con i livelli di testosterone plasmatici. Va da un massimo di  $1.72 \pm 0.4$   $\mu\text{mol/l}$  nella stagione di riposo ad un minimo di  $0.98 \pm 0.24$   $\mu\text{mol/l}$  in quella riproduttiva). (Perret, 1986)

In specie quali il *Lemur catta* nei mesi tra Febbraio e Aprile la ricrescita del pelo e l'accumulo di tessuto adiposo possono aumentare la richiesta di energia. (Pereira M. E. e. a., 1999)

I soggetti che in natura vivono in ambienti minacciati e degradati presentano livelli di corticosteroidi più elevati. (Balestri M., 2014)

Il numero di individui presenti nel gruppo influenza molto il livello di stress nei lemuri. Questo aspetto è molto importante per la formazione dei gruppi nei giardini zoologici, ma è presente anche in natura. I lemuri presentano alti livelli di metaboliti fecali dei glucocorticoidi quando vivono in gruppi troppo numerosi o con pochi individui (0,25-0,50 log ng/g di cortisolo nelle feci nei gruppi piccoli). Il livello di metaboliti più basso si registra negli animali che vivono in gruppi con un numero intermedio di animali (per il *L. catta* 9-18 soggetti. Valori di cortisolo fecale intorno allo 0 log ng/g). In un gruppo molto numeroso gli animali devono dividere il cibo tra più individui, c'è maggiore rivalità e questo ostacola anche la ricerca del cibo stesso. Contestualmente, un gruppo piccolo ha meno individui per difendere il territorio, il cibo e la prole e maggiore probabilità di essere attaccato con successo da gruppi più numerosi. I livelli di metaboliti fecali nelle femmine

sono più elevati nei gruppi molto grandi e molto piccoli (in particolare le femmine nei gruppi più piccoli hanno i livelli di metaboliti più elevati), raggiungono i livelli più bassi nei gruppi con numerosità ideale. Diversamente, nei maschi i metaboliti fecali sono elevati solo nei soggetti che vivono in piccoli gruppi, non si rilevano differenze significative negli altri, se non nei maschi in procinto di abbandonare il gruppo. Aumentano invece in tutti i maschi nella stagione degli accoppiamenti, in modo lineare con la numerosità del gruppo. Ciò potrebbe essere legato alla competizione per il cibo, ma anche all'aumento della rivalità tra maschi; si associa infatti ad un aumento dei comportamenti di marcatura del territorio e di dominanza. In questo periodo lo stress sembra legato al numero di maschi presenti nel gruppo perché aumenta il numero di potenziali rivali. (Gould L., 2002) Durante il resto dell'anno livelli di cortisolo variano anche in base alla composizione del gruppo, ma nel definire il livello di cortisolo delle femmine è rilevante soprattutto il numero di femmine, non quello di maschi, con i quali non c'è rivalità. Infatti, lo stress di questi soggetti è determinato dalla presenza di altre femmine perché sono i soggetti dominanti, parzialmente isolate dai maschi, hanno la priorità sul cibo rispetto ai maschi e sono i soggetti coinvolti nei conflitti. Nei gruppi più piccoli sono le femmine dominanti ad avere i livelli di cortisolo più alti, mentre nei gruppi più numerosi sono le femmine di rango inferiore. (Pride R., 2005) (Ostner J., et al, 2008) Tuttavia nel *L. catta* non vi è una gerarchia fissa, è abbastanza fluida e i soggetti dominanti cambiano abbastanza di frequente, ciò potrebbe spiegare perché è meno prevedibile la correlazione tra rango sociale e livello di glucocorticoidi, perché varia l'esposizione a fattori di stress cronico (uno stesso soggetto non è sempre dominante o sempre sottomesso).

Nel *Microcebius murinus*, una specie solitaria con una struttura sociale primitiva, la vita in gruppo è correlata a livelli di cortisolo più elevati del 75-120 % rispetto ai valori medi basali (140 ng/ml nei maschi e 230 ng/ml nelle femmine). Ciò è correlato a scarsa efficienza riproduttiva e mortalità più elevata; potrebbe inoltre spiegare la natura di alcune lesioni che si rilevano all'esame anatomico-patologico. (Perret M., 1984)

Gli stessi dati si rilevano nei lemuri in cattività: gli animali che vivono in gruppi piccoli, soprattutto se sempre con gli stessi esemplari, sono più stressati. Questa tendenza si rileva più nelle femmine che nei maschi. (Seeley K. E., 2021) Gli animali in gruppi più numerosi hanno interazioni sociali maggiori e più varie. (Pride, 2005) Nei lemuri non emerge una chiara e univoca correlazione tra i parametri associati allo stress, come l'allostatic load, e il sesso e l'età. In altri primati, quali i gorilla (i quali, però, presentano una struttura sociale totalmente diversa, con i maschi a capo del gruppo) e l'uomo, l'allostatic load è maggiore nelle femmine e aumenta all'aumentare dell'età. (Edes & al,

2016) (Edes & al, Rearing history and allostatic load in adult western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) in human care: Rearing History and Allostatic Load in Gorillas, 2016) (Crimmins & al, 2003) Altri studi, invece, rilevano che i *Lemur catta* giovani presentano alti livelli di cortisolo nei peli e che questi calano con l'aumentare dell'età. Il testosterone invece aumenta e raggiunge i livelli massimi dopo la pubertà. (Castracane V. D., 1986) (Resko, 1967) (McCormack, 1971)

I lemuri che hanno la possibilità di stare all'aperto sono meno stressati di quelli tenuti solo al chiuso. Gli exhibit che prevedono degli spazi aperti sono in genere più simili agli habitat naturali dei lemuri e quindi soddisfano maggiormente le loro necessità biologiche ed etologiche. (Fàbregas & al, 2012) Gli animali hanno una sorta di controllo sull'ambiente, possono scegliere dove trascorrere il loro tempo e possono spostarsi, fattori che riducono lo stress in cattività. Gli spazi all'aperto incoraggiano l'espressione di certi comportamenti naturali e migliorano le interazioni tra conspecifici. (Carlstead & al, 1993) (Koolhaas & al, 1999) Gli animali che trascorrono più tempo all'aperto sono meno stressati di quelli che trascorrono più ore al chiuso durante la giornata probabilmente anche per una maggiore esposizione alla luce solare (nell'uomo la carenza di vitamina D si associa a varie patologie, come l'osteoporosi, l'ipertensione, l'artrite reumatoide). (Zhang & Naughton, 2010) Inoltre, spesso gruppi di animali più grandi vivono in exhibit più grandi e con spazi all'aperto, mentre se gli animali sono pochi sono spesso previsti solo ambienti chiusi. Questo aspetto può creare una correlazione tra la grandezza e il tipo di exhibit e la numerosità del gruppo ed essere un fattore di confondimento. (Seeley K. E., 2021)

È noto che la sicurezza e il comfort del luogo in cui i lemuri dormono influenzano la profondità del sonno nei lemuri diurni. (Samson D. R., 2018) Nell'uomo vari studi dimostrano l'importanza della durata, della continuità e della qualità del sonno per l'efficienza delle performance cognitive e delle funzioni esecutive. (Durmer J. S., 2005) (Goel N., 2009) Per le scimmie è dimostrata l'importanza dell'arricchimento dei siti in cui dormono per il rispetto del loro benessere. (Shumaker R. W., 2013) (Shumaker R., 1997) La fase di sonno profondo, REM, emerge di più nelle scimmie. In genere, i mammiferi con quoziente di encefalizzazione più alto hanno una fase REM più lunga. (Lesku J. A., 2006) Essa è massima nell'uomo, che ha preferito dormire a terra, in gruppi con sentinelle, garantendo una migliore qualità del sonno. (Samson D. R., Chronotype variation drives night-time sentinel-like behaviour in hunter-gatherers, 2017) Per dormire, alcune specie di lemuri costruiscono un nido, molte dormono nelle cavità degli alberi o sui rami. (Vining A. Q., 2021) Anche la costruzione del nido dipende dalle abilità cognitive degli animali: gli scimpanzè costruiscono i nidi basandosi sulle abilità degli altri membri del gruppo, (Videan E. N.,

2006) i lemuri (in particolare il *Varecia variegata*) invece, non tengono conto delle capacità dei conspecifici. (Pereira M. E. e. a., Tactics of care for young infants by forest-living ruffed lemurs (*Varecia variegata variegata*): Ground nests, parking, and biparental guarding, 1987) Infatti la flessibilità nella scelta del sito di costruzione del nido delle grandi scimmie riflette le loro capacità di apprendimento e di problem solving. (McGrew W.C., 1992) In natura vari motivi spiegano perché alcuni animali preferiscono dormire in zone più scomode ma più sicure per loro, anche se la durata del sonno si riduce. In molti primati la competizione tra maschi è una delle cause del dimorfismo sessuale: per la pressione selettiva i maschi sono più grandi delle femmine. Nei lemuri e altri animali arboricoli, data anche la presenza di predatori, come i fossa, in grado di arrampicarsi e quindi la necessità di stare sugli alberi o in piccole cavità per difendersi, le dimensioni corporee sono abbastanza ridotte. La mancanza di un sito fisso in cui dormire ha anche altri vantaggi: maggiore efficienza nella ricerca del cibo, con il variare della distribuzione delle risorse alimentari i lemuri possono spostarsi in prossimità di esse; (Anderson, 1998) (Day R. T., 1999) (Baden, 2019) migliore adattamento in caso di presenza di predatori o di incursioni; minore contaminazione da parassiti. (Nunn C. L., 2006) Dormire all'esterno e in alto invece aumenta il rischio di puntura da parte di vettori volanti.

La deprivazione di sonno influenza il comportamento dei lemuri in modo specie specifico, ha l'impatto maggiore sulle specie diurne come quelle appartenenti al genere *Propithecus*. I lemuri del genere *Varecia* mostrano segni di aggressività, nel genere *Lemur* si riducono i comportamenti affiliativi. (Samson D. R., Sleep influences cognitive performance in lemurs, 2019) Inoltre, fornire un luogo in cui dormire, isolato e con materiali morbidi (questi aspetti sono più importanti della grandezza del sito) allunga la durata del sonno, in particolare, secondo i modelli usati in alcuni studi, i lemuri dormono dai 23 ai 41 minuti in più, con benefici sul loro benessere. (Vining A. Q., 2021)

Alti livelli di corticosteroidi sono associati a tassi più alti di patologie e mortalità. (Romero L. M., 2001) (Sapolsky, 1998) Le cause includono una ridotta risposta immunitaria e infiammatoria che aumentano la suscettibilità alle patologie (Dhabhar, 2009) e una risposta adrenocorticale anomala in caso si presentassero ulteriori fattori di stress acuto, come un predatore, con conseguente difficoltà dell'animale ad affrontarli. (Norris D. O., 1999) La mortalità dipende dalle condizioni fisiche dell'animale (si considera come parametro il body condition score). Gli individui che presentano condizioni fisiche scadenti sono più suscettibili alle patologie, (Beldomenico P. M., 2010) ai predatori (Wirsiung A. J., 2002) e hanno difficoltà nella competizione. (Kokko, 1999) Il

BCS è influenzato da molti fattori, ma è noto che esso cala negli individui sottoposti a stress cronico. (Dickens M. J., 2013)

Alti livelli di glucocorticoidi suggeriscono anche la presenza di fattori ambientali stressanti, che potrebbero minacciare la sopravvivenza degli animali (Dhabhar F. M., 2000) Poiché essi nelle popolazioni selvatiche sono correlati ad alti livelli di mortalità (più del 40% rispetto al 10% nelle popolazioni con bassi livelli di glucocorticoidi) costituiscono un parametro predittivo delle condizioni di vita e della mortalità di una popolazione. (Pride R. E., 2005)

La concentrazione di cortisolo nei peli dipende da fattori ambientali, epigenetici ma anche da fattori genetici. Alcuni soggetti potrebbero dunque percepire l'ambiente come più stressante e quindi secernere più cortisolo. (Fairbanks L. A., 2011) (Husak J. F., 2008)

Il trasporto, evento stressante per tutti gli animali, se avviene in condizioni ben controllate limita le risposte comportamentali e l'aumento dei glucocorticoidi, indici di stress acuto. (Volfová M., 2019)

Data l'importanza dell'olfatto nei lemuri, è stato valutato l'impatto che può avere l'uso degli oli essenziali (come lavanda e lemongrass) negli exhibit, in particolare nel *Varecia rubra*. I risultati sono controversi: i lemuri esibiscono comportamenti associati a stato di tranquillità, ma aumentano i metaboliti fecali dei glucocorticoidi (forse associati a stati di eccitazione). Tuttavia i soggetti interagiscono meno tra loro, per cui ad oggi non ne è raccomandato l'uso. (Vaglio S., 2021)



## CONCLUSIONE

Negli ultimi anni le leggi e le direttive introdotte hanno migliorato le condizioni di vita degli animali che vivono nei giardini zoologici. La presenza di studi sulle varie specie e di esperti coinvolti nel settore consentono di avere dei dati scientifici e di aumentare le conoscenze sugli animali ai fini di migliorare il loro livello di benessere.

La valutazione del benessere animale è uno degli strumenti fondamentali per valutare le condizioni degli animali negli zoo. La misurazione di ormoni indice di stress (sono stati considerati soprattutto glucocorticoidi e i relativi metaboliti) consente di avere dati numerici e oggettivi per valutare la presenza di stress acuto e cronico negli animali. In particolare, la scelta di esaminare matrici che implicano modalità di prelievo non invasive consente di effettuare monitoraggi più frequenti, senza entrare a diretto contatto con gli animali o riducendo lo stress legato al prelievo. Per questo motivo si possono usare anche per il monitoraggio dello stress negli animali selvatici o che vivono in riserve. I dati che si ottengono sono attendibili. Le analisi sui peli rilevano bene condizioni di stress cronico. Le analisi dei metaboliti fecali dei glucocorticoidi sono quelle meno invasive. Si considera che, mentre l'aumento dei glucocorticoidi plasmatici in risposta ad uno stress acuto è rapido, quello nelle feci si osserva dopo un certo lasso di tempo (Touma & Palme, 2005), non prima di 24 ore dopo (mediamente tra 38 e 50 ore dopo nel *Microcebius murinus*). Ciò è legato al tempo di transizione delle ingesta nell'intestino. (Volfová M., 2019) Per ottenere risultati più attendibili è meglio prevedere campionamenti multipli. Vanno tuttavia presi in considerazione i fattori che possono alterare i risultati degli esami.

Date le differenti condizioni di vita degli animali e date le diverse metodiche di analisi (per considerare i risultati come attendibili queste devono essere appositamente validate) non sono stati effettuati dei confronti tra i valori ottenuti da diversi studi: si considera un animale più o meno stressato solo paragonandolo agli altri soggetti sempre all'interno dello stesso studio. Gli studi sono in genere effettuati comparando soggetti che vivono nelle stesse condizioni al fine di ridurre eventuali fattori di confondimento.

L'attenzione degli studi si concentra soprattutto sulla rilevazione dello stress cronico, che potrebbe mettere in evidenza condizioni di benessere non elevato e che sono correlate allo sviluppo di patologie e a mortalità più elevata nei lemuri. (Pride, 2005) (Rakotoniaina J. H. et al, 2017) Tuttavia, i fattori da considerare sono molti e usare un unico biomarker per valutare lo stress può

essere riduttivo. (Seeley K. E., 2021) La valutazione di più parametri, soprattutto se correlata ad adeguate valutazioni comportamentali mette in evidenza più aspetti, tra cui quelli etologici ed è quindi più accurata.

Dagli studi considerati si evince che i lemuri che vivono in condizioni che rispettano le loro esigenze etologiche, in gruppi mediamente numerosi, con uno spazio all'aperto, con possibilità di rifugiarsi, arrampicarsi, con un corretto arricchimento ambientale e una controllata esposizione ai visitatori vivono meglio rispetto a quelli che vivono in strutture in cui queste condizioni non sono soddisfatte. I dati sulla correlazione tra livelli di glucocorticoidi ed età, sesso o rango sociale sono spesso contrastanti. Attività quali trasporti o visite di controllo sono stressanti per gli animali, ma se avvengono in condizioni controllate e se gli animali sviluppano un sano rapporto con l'uomo, tramite interazioni e training, si riesce a minimizzare lo stress. L'osservazione quotidiana degli animali e quindi la collaborazione dei keepers sono fondamentali per valutare il benessere degli animali e per intervenire in tempo in caso si presentassero dei problemi. Oltre alle grandi differenze tra le varie specie si tiene conto della soggettività della risposta degli animali: ogni individuo è diverso dai conspecifici caratterialmente e si adatta diversamente alle condizioni in cui vive.

Tutelare il benessere degli animali e le loro condizioni di vita è fondamentale anche per garantire il successo dei programmi di conservazione e reintroduzione. (Volfova M., 2020) La stagione riproduttiva richiede un grande dispendio energetico e il successo riproduttivo può essere garantito solo se gli animali stanno bene. Il *Lemur catta* è una delle specie per le quali sono stati presi in considerazione vari tentativi di reintroduzione in natura, essendo molto comuni nei giardini zoologici. Tuttavia, la distruzione degli habitat minaccia il successo di tali programmi. (Shire, 2012) Sono diversi gli aspetti da tenere in considerazione; non sempre la reintroduzione in natura ha successo. Nel caso del *Varecia variegata*, gli esemplari hanno avuto difficoltà ad affrontare i pericoli presenti in natura tra cui i predatori. (WAZA, Building a Future for Wildlife - The World Zoo and Aquarium Conservation strategy, 2005)

I giardini zoologici consentono però di aumentare la sensibilità della popolazione e svolgono dunque un ruolo importante nei programmi di conservazione e negli studi sulle specie ospitate.

Garantire elevati livelli di benessere pone diverse sfide, dal punto di vista economico e gestionale, ma è soprattutto un dovere etico. Monitoraggi e studi scientifici approfonditi sono quindi

fondamentali per aumentare le conoscenze sulle varie specie animali e comprendere quali sono le azioni da intraprendere per garantire agli animali in cattività le migliori condizioni di vita.

## BIBLIOGRAFIA

- AERODOGANA customs clearance SRL*. (2022). Tratto da [www.aerodogana.com](http://www.aerodogana.com):  
<https://www.aerodogana.com/faq/che-cose-il-cites/>
- Ago A. et al (2002). Preferences for paper bedding material of the laboratory mice.. . *Exp. Anim*, 51, 157–161.
- Akinyi M. Y., et al (2013). Role of grooming in reducing tick load in wild baboons (*Papio cynocephalus*). *Anim Behav*, 85:559–568.
- American veterinary medical association. (2002). Animal welfare forum: the welfare of zoo animals. *Journal of the American veterinary medical association*, 14.
- Amor A. J., et al. (2017). Relationship between total serum bilirubin levels and carotid and femoral atherosclerosis in familial dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* , 37: 2356–2363.
- Anderson J. R. (1998). Sleep, sleeping sites, and sleep-related activities: Awakening to their significance. *Am J Primatol.*, 46: 63–75.
- Ollson I. A. S., Dahlborn K. (2002). Improving housing conditions for laboratory mice: a review of “environmental enrichment”. *Lab. Anim.*, 36, 243–270.
- Anthony A., et al (1959). Noise stress in laboratory rodents: I. Behavioral and endocrine responses of mice, rats, and guinea pigs . *J. Acoust. Soc. Am.*, 31, 1437–1440.
- Armstrong K., et al (1998). Use of corn-husk nesting material to reduce aggression in caged mice. *Comtemp. Topics Lab. Anim. Sci.*, 37, 64–66.
- Aron D. C., et al (2004). *Glucocorticoids and adrenal androgens*. MacGraw-Hill Companies.
- Baden A. L. (2019). A description of nesting behaviors, including factors impacting nest site selection, in black and-white ruffed lemurs (*Varecia variegata*). *Ecol Evol.*, 9: 1010–102.

- Baker K. C. (2004). Benefits of positive human interaction for socially-housed chimpanzees. *Anim Welfare*, 13(2):239-245.
- Baker K. C., Ross S. K. (1998). Outdoor access: The behavioral benefits to chimpanzees. *American Journal of Primatology*, 45:166.
- Baker, K. (1997). Straw and forage material ameliorate abnormal behaviors in adult chimpanzees. *Zoo Biol.*, 16, 225–236.
- Baker K. (1997). Straw and forage material ameliorate abnormal behaviors in adult chimpanzees. *. Zoo Biol.*, 16, 225–236.
- Balestri M. et al. (2014). Habitat Degradation and Seasonality Affect Physiological Stress Levels of *Eulemur collaris* in Littoral Forest Fragments. *Plos one*, 9(9).
- Barber C. P. (2004). Preferences of growing ducklings and turkey poults for illuminance. *Anim. Welfare* , 13, 211–224.
- Barone R., Simoens P. (2012). *Anatomia comparata dei mammiferi domestici*. Bologna: Edagricole.
- Barrett L. et al. (1992). Environmental influences on play behaviour in immature gelada baboons. *Animal Behavior*, 44, 111-115.
- Bashaw M., et al (2016). Does enrichment improve reptile welfare? Leopard geckos (*Eublepharis macularius*) respond to five types of environmental enrichment. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 184, 150–160.
- Bassett L., et al (2007). Effects of predictability on the welfare of captive animals. *Appl. Anim. Behav. Science*, 102, 223–245.
- Baumans V. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. *ILAR J*, 46, 162–170.

- Bayne K. M. (1989). The effect of cage size on the behaviour of individually housed rhesus monkeys. . *Lab. Anim.* , 18, 25–28.
- Beldomenico P. M., Begon M. (2010). Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol Evol.*, 25(1):21–7.
- Bennur S. et al (2007). Stress-induced spine loss in the medial amygdala is mediated by tissue-plasminogen activator. *Neuroscience*, 144: 8–16.
- Berlyne D. (1960). Conflict, Arousal and Curiosity. *McGraw-Hill*.
- Berridge K. C. (1996). Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 20, 1–25.
- Besch E. (1990). Environmental variables and animal needs. In: Rollin, B.E., Kesel, M.L. (Eds.), *The Experimental Animal in Biomedical Research: A Survey of Scientific and Ethical Issues for Investigators*, vol. 1. *CRC Press, Boca Raton, FL*, 113–131.
- Birke L. (2002). Effects of browse, human visitors, and noise on the behaviour of captive orangutans. *Animal Welfare*, 11, 189–202.
- Blaney E., Wells D. (2004). The influence of a camouflage net barrier on the behaviour, welfare and public perceptions of zoo-housed gorillas . *Anim. Welf.*, 13, 111–118.
- Bloomsmith M. A., et al (1999). Comparing animal training to non-training human interaction as environmental enrichment for chimpanzees. *American Journal of Primatology*, 49:35–36.
- Bloomsmith M. E. (2005). Behavioral management of chimpanzees in biomedical research facilities: the state of the science. *ILAR J*, 46, 192–201.
- Yao B., et al (2019). Chronic stress: a critical risk for atherosclerosis. *Journal of International Medical Research*, 1-7.

- Boissy A., et al. (2007). Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol. Behav.*, 92, 375–397.
- Boissy A. (1995). Fear and fearfulness in animals. . *Q. Rev. Biol.* , 70, 165–191.
- Boivin X. et al (2003). Stockmanship and farm animal welfare. *Anim. Welf.*, 12, 479–492.
- Boivin X., et al (2000). Hand-feeding and gentling influence early-weaned lambs' attachment responses to their stockperson. *J. Anim. Sci.*, 78, 879.
- Bonato M., et al (2013). Extensive human presence at an early age of ostriches improves the docility of birds at a later stage of life . *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 148, 232–239.
- Brent L. et al (2003). The influence of temperature on the behavior of captive mother–infant baboons. *Behaviour* , 140, 209–224.
- Brien T. G. (1980). Free cortisol in human plasma. *Horm. Metab. Res.*, 12, 643, 650.
- Brook B. W. (2008). Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in ecology & evolution* 23.8, 453-460.
- Broom D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *Br vet j*, 142.
- Broom D. M. Quality of life means welfare: how is it related to other concepts and assessed?. *Animal welfare-potters bar then wheathampstead*, 2007, 16: 45
- Broom D. M., et al. (1993). Stress and animal welfare. *Chapman and Hall: London, UK*.
- Broom D. M., Johnson K. J. (2000). *Stress and animal welfare*. Dordrecht: Kluwer.
- Broom D. M. (1991). Animal welfare: concept and measurement. *Journal of animal science*, 69.
- Broom D. M. (2016). Considering animals' feelings: Précis of Sentience and animal welfare. *Anim. Sentience Interdiscip.* . *J. Anim. Feel*, 1.

- Burghardt G. M. (2005). *The Genesis of Animal Play: Testing the Limits*. MIT press, Cambridge.
- Carlstead K. et al (1993). Behavioral and adrenocortical responses to environmental changes in leopard cats (*Felis bengalensis*). *Zoo Biol.*, 12, 321–331.
- Carlstead K., et al (1993). Behavioral and physiological correlates of stress in laboratory cats. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 38, 143–158.
- Castracane V. D., et al. (1986). Pubertal endocrinology of yellow baboon (*Papio cynocephalus*)—plasma testosterone, testis size, body-weight, and crown-rump length in males. *Am J Primatol*, 11:263–270.
- Cavigelli S. A., et al (2000). Mating Season Aggression and Fecal Testosterone Levels in Male Ring-Tailed Lemurs (*Lemur catta*). *Hormones and Behavior* , 37, 246–255.
- Cavigelli S. A., et al (2003). Female dominance status and fecal corticoids in a cooperative breeder with low reproductive skew: ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). . *Horm Behav*, 43:166–179.
- Cavigelli S. A., Pereira M. E. (2000). Mating season aggression and fecal testosterone levels in male ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Horm Behav*, 37:246–255.
- Cavigelli S., et al (2003). Female dominance status and fecal corticoids in a cooperative breeder with low reproductive skew: ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Horm Behav*, 43:166–179.
- Chamove A., et al (1982). Deep woodchip litter: hygiene, feeding, and behavioral enhancement in eight primate species. *Int. J. Study Anim. Prob.* , 3, 308–318.
- Chamove A. S. (1988). Visitors excite primates in zoos. *Zoo Biol.*, 7, 359–369.
- Chelluri G., et al (2013). Behavioral correlates and welfare implications of informal interactions between caretakers and zoo-housed chimpanzees and gorillas. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 133.



- CIWF Italia*. (s.d.). Tratto da [www.ciwf.it](http://www.ciwf.it): <https://www.ciwf.it/chi-siamo/cosa-e-il-benessere-animale/>
- Claxton A. (2011). The potential of the human-animal relationship as an environmental enrichment for the welfare of zoo-housed animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 133, 1–10.
- Clubb R. M. (2007). Natural behavioural biology as a risk factor in carnivore welfare: How analysing species differences could help zoos improve enclosures. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 102, 303–328.
- Cole J., Fraser D. (2018). Zoo Animal Welfare: The Human Dimension. . *J. Appl. Anim. Welf. Sci.*, 21, 49-58.
- Cook N. J. (2012). Review: Minimally invasive sampling media and the measurement of corticosteroids as biomarkers of stress in animals. *Can. J. Anim. Sci.*, 92, 227–259.
- Cooper J. J., et al. (1996). Limitation of the effectiveness of environmental improvements in reducing stereotypic behaviour in bank voles (*Clethrionomus glareolus*). *Applied animal behaviour science*, 48.
- Cooper J. A. (2003). The value of environmental resources to domestic hens: a comparison of the work-rate for food and for nests as a function of time. . *Anim. Welfare*, 12, 39–52.
- Coulton L. et al (1997). Effects of foraging enrichment on the behaviour of parrots. *Anim. Welfare*, 6, 357–363.
- Crimmins E., et al (2003). Age differences in allostatic load: An index of physiological dysregulation. *Exp. Gerontol.*, 38, 731–734.
- Cronin K. A. (2018). Evaluating Mood Changes in Response to Anthropogenic Noise with a Response-Slowing Task in Three Species of Zoo-housed Primates. *Animal Behavior & Cognition*, 209-221.
- Cuthill I., et al (2000). Ultraviolet vision in birds. *Adv. Studies Behav.* , 29, 159–214.

- Davis H., et al (1997). Preference for familiar humans by rats. *Psychon. Bull. Rev.*, 4, 118–120.
- Davis N., et al (2005). Evidence that zoo visitors influence HPA activity in spider monkeys (*Ateles geoffroyii rufiventris*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 90, 131–141.
- Dawkins D. M. (2001). How can we recognize and assess good welfare? *Dahlem University press*, 63-76.
- Dawkins M. S. (1990). From an animal's point of view: motivation, fitness and animal welfare. *Behavioral and brain science*, 13.1: 1-9.
- Day R. T., Elwood R. W. (1999). Sleeping site selection by the golden-handed tamarin *Saguinus midas midas*: The role of predation risk, proximity to feeding sites, and territorial defence. *Ethology*, 105: 1035– 1051.
- Devaki M, et al (2013). Chronic stress-induced oxidative damage and hyperlipidemia are accompanied by atherosclerotic development in rats. *Stress*, 16: 233–243.
- Dhabhar F. S. (2000). Bidirectional effects of stress and glucocorticoid hormones on immune function: possible explanations for paradoxical results. *Psycho neuroimmunology. New York: Academic Press*, 301–338.
- Dhabhar F. S. (2009). Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulat.*, 16(5):300–17.
- Diamond, J. M. (1989). The present, past and future of human-caused extinctions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences* 325.1228, 469-477.
- Dickens M. J., Romero L. M. (2013). A consensus endocrine profile for chronically stressed wild animals does not exist. *Gen Comp Endocr.* , 191:177–89.
- Dielenberg, R. et al (2001). The cardiovascular and behavioral responses to cat odor in rats: unconditioned and conditioned effects. *. Brain Res.*, 897, 2280237.

- Diez Roux A. V., Mair C. (2010). Neighborhoods and health. *Ann N Y Acad Sci*, 1186: 125-145.
- Direttiva 1999/22/CE del Consiglio del relativa alla custodia degli animali selvatici nei giardini zoologici, art.3. (1999, Marzo 29).
- Direttiva 92/43/CEE del Consiglio relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche. (1992, Maggio 21).
- Dishman R. K., et al (2009). Move to Improve: a randomized workplace trial to increase physical activity. *American journal of preventive medicine*, 36.2: 133-141.
- Drea C. M. (2007). Sex and seasonal differences in aggression and steroid secretion in Lemur catta: are socially dominant females hormonally ‘masculinized’? *Horm Behav*, 51:555–567.
- Drea C. M., Weil A. (2008). External Genital Morphology of the Ring-Tailed Lemur (*Lemur catta*): Females Are Naturally “Masculinized”. *Journal of morphology*, 1,2,10,11.
- Du J., et al (2009). Dynamic regulation of mitochondrial function by glucocorticoids. *Proc Natl acad sci USA*, 106: 3543–3548.
- Duncan I. (2006). The changing concept of animal sentience. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 100, 11–19.
- Durmer J. S., Dinges D. F. (2005). Neurocognitive consequences of sleep deprivation. *Semi Neurol*, 25:117–129.
- EC. (1996). Report of the scientific veterinary committee animal welfare section on the welfare of laying hens. *Commission of the European Community, Bruxelles, Belgio*.
- EC. (2001). The welfare of animals kept for fur production- Report of the scientific committee on animal health and animal welfare. *Commisson of the European communities, Bruxelles, Belgio*.

- Edes A., et al (2016). Assessing Stress in Zoo-Housed Western Lowland Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) Using Allostatic Load. *Int. J. Primatol.*, 37, 241–259.
- Edes A., et al (2016). Rearing history and allostatic load in adult western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) in human care: Rearing History and Allostatic Load in Gorillas. *Zoo Biol.*, 35, 167–173.
- EFSA. (s.d.). *Benessere degli animali*. Tratto da [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu): <https://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/animal-welfare>
- Firmino E. M. S., et al (2019). Effect of chronic stress on cardiovascular and ventilatory. *Journal of Experimental Biology*, 222.20.
- Ehmke E. E. (2010). Stress and affiliation among wild female primates: effects of group size, risk, and reproductive condition in a dynamic forest community. *University of Florida, Gainesville*.
- Encyclopaedia Britannica. (2022, Luglio 14). *lemur*. Tratto da [www.britannica.com](http://www.britannica.com): <https://www.britannica.com/animal/avahi>
- Engh A., et al (2006). Behavioural and hormonal responses to predation in female chacma baboons (*Papio hamadryas ursinus*). *Proc R Soc Lond B* , 273:707–712.
- Environmental challenge and animal agency. (2011). *Animal welfare*, 27-43.
- Epple G. (1985). Social Odor in Mammals. *Clarendon Press, Oxford, GB* , 732–739.
- Epple G. et al (1996). Pine needle oil causes avoidance behaviors in pocket gophers. *J. Chem. Ecol*, 22, 1013–1025.
- Fàbregas M., et al (2012). Do naturalistic enclosures provide suitable environments for zoo animals? . *Zoo Biology*, 31, 362–373.

- Faerevik G., et al (2005). Preferences of sheep for different types of pen flooring. . *Appl. Anim. Behav. sci*, 90, 265–276.
- Fairbanks L. A., et al (2011). Heritability and genetic correlation of hair cortisol in vervet monkeys in low and higher stress environments. *Psychoneuroendocrino*, 36(8):1201–8.
- Ferreira B. I., et al (2016). Psoriasis and associated psychiatric disorders: a systematic review on etiopathogenesis and clinical correlation. *J Clin Aesthet*, 9: 36–43.
- Fidgett A. L., et al (2008). Zoo research guidelines: research using zoo records.
- Fox M. (1984). Farm animals: husbandry, behaviour and veterinary practice. *University park press, Baltimora, USA*.
- Fraser D. (2008). Understanding Animal Welfare: The Science in its Cultural context. *Wiley-Blackwell, Oxford*.
- Fraser D. D. (1998). ‘Pleasures’, ‘pains’ and animal welfare: toward a natural history of affect . *Animal welfare*, 7, 383–396.
- Frazer D., et al. (1997). A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. *Anim welf*, 6.
- Fraser D. (2008) Understanding animal welfare. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50.1: 1-7
- Fraser S., et al (1991). Effect of straw on the behavior of growing pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* , 30, 307–318.
- Frith C. D., Done D. J. (1990). Stereotyped behaviour in madness and health. *Neurobiology of stereotyped behaviour*, 232-259.
- Galef Jr. B. G. (2002). Social learning of food preferences in rodents: rapid appetitive learning. *Curr. Protocol Neurosci*, 8.5D1–8.5D8.

- Gamble M., (1982). Sound and its significance for laboratory-animals. *Biol. Rev. Cambr. Philosoph. Soc.* , 57, 395–421.
- Garland E. L., et al (2017). Biobehavioral mechanisms of mindfulness as a treatment for chronic stress: an RDoC perspective. *Chronic Stress (Thousand Oaks)*, 1.
- Garner J. P., Mason G. J. (2002). Evidence for a relationship between cages stereotypies and behavioural dishinibition in laboratory rodents. *Behavioural brain research*, 136:83-92.
- Geffroy B., et al (2015). How Nature-Based Tourism Might Increase Prey Vulnerability to Predators. . *Trends Ecol. Evol.*, 30, 755–765.
- Geverink N., et al (1998). Responses of slaughter pigs to transport and lairage sounds. *Physiol. Behav.*, 63, 667–673.
- Giacomello G., et al (2020). Current methods for stress marker detection in saliva. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 191.
- Glatston A. (1979). Reproduction and behaviour of the lessere mouse lemur (*Microcebius murinus*, Miller 1777) in captivity.
- Goel N., et al (2009). Neurocognitive con sequences of sleep deprivation. *Semin Neurol* , 29:320.
- Goerke B., et al (1987). Behavioral changes of a juvenile gorilla after transfer to a more naturalistic environment. *Zoo Biol.* , 6, 283–295.
- Goodall J. (1996). Chimpanzee cultures. *Harvard University Press*, 15-21.
- Gould L., Overdoff D. J. (2002). Adult male scent-marking in Lemur catta and Eulemur fulvus rufus. *Int J Primatol* , 23:575–586.
- Gould L., Ziegler T. E. (2007). Variation in fecal testosterone levels, inter-male aggression, dominance rank and age during mating and post-mating periods in wild adult male ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Am J Primatol*, 69:1325–1339.

- Gracia A. (2013). The determinants of the intention to purchase animal welfare-friendly meat products in Spain. *Anim. Welf*, 22.
- Graham L. H., Brown J. L. (1996). Cortisol Metabolism in the Domestic Cat and Implications for Non-Invasive Monitoring of Adrenocortical Function in Endangered Felids. *Zoo Biology*, 71-82.
- Grandin T. J. (2005). *Animals in Translation*. Scribner, New York, NY.
- Greff J. E., et al. (2019). Hair cortisol analysis: An update on methodological considerations and clinical application. *Clinical Biochemistry*, 1-9.
- Gunter R. (1995). The absolute threshold for vision in the cat. *J. Physiol.* , 114, 8–15.
- Halfon N, et al (2014). Lifecourse health development: past, present and future. *Matern Child Health J*, 18: 344–365.
- Harlow H. F. (1971). *Learning to love*. Aldine.
- Harlow H. H. (1971). Psychopathology in monkeys. *Experimental Psychopathology: Recent Research and Theory*. USnc, San Diego, CA, 203–229.
- Hediger H. (1950). *Wild animals in captivity*. Butterwoth press.
- Hediger H. (1964). *Wild Animals in Captivity: An Outline of the Biology of Zoological Gardens*. Dover Publications, New York, NY.
- Hediger H. (1970). *Man and Animal in the Zoo*. Routledge Kegan Paul: London, UK.
- Heidt T., et al (2014). Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells. *Nat Med*, 20: 754–758.
- Hemsworth P. (2003). Human–animal interactions in livestock production. *Appl. Anim. Behav. Sci*, 81, 185–198.

- Hemsworth P., Barnett J. (1992). The effects of early contact with humans on the subsequent level of fear of humans in pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 35, 83–90.
- Hemsworth P., Sherwen S. (2018). Human contact. In *Animal Welfare. CAB International: Wallingford, UK*, 294-314.
- Henkin R. K. (1963). The effects of sound on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Am. J. Physiol.* , 204, 710–714.
- Herbers J. (1981). Time resources and laziness in animals. *Oecologia*, 49, 252–262.
- Hill M. N., McEwen B. S. (2009). Involvement of the endocannabinoid system in the neurobehavioural effects of stress and glucocorticoids. *Prog Neuro-Psychopharm Biol Psychiat*, 106: 3543–3548.
- Hill S. P. (2009). Measuring zoo animal welfare: theory and practice. *Zoo Biology*, 531-544.
- Hillman E., et al (2004). Lying behavior and adrenocortical response as indicators of the thermal. *Animal Welfare* , 13, 329–335.
- Hoeke G., et al (2017). Atorvastatin accelerates clearance of lipoprotein remnants generated by activated brown fat to further reduce hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 267: 116–126.
- Holbein W. W., et al (2018). Burst patterning of hypothalamic paraventricular nucleus-driven sympathetic nerve activity in ANG II-salt hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 314: H530–H541.
- Hosey G. (2000). Zoo animals and their human audiences: what is the visitor effect? . *Animal Welfare*, 9: 343-359.
- Hosey G. (2005). How does the zoo environment affect the behaviour of captive primates? *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 90, 107–109.



- Hosey G. (2008). A preliminary model of human–animal relationships in the zoo. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 109, 105-127.
- Hosey G. H. (2013). Revisited: How Do Zoo Animals See Us? *J. Appl. Anim. Welf. Sci.*, 16, 338–359.
- Hosey G. R., Druck P. L. (1987). The influence of zoo visitors on the behaviour of captive primates. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 18, 19–29.
- Hughes R. (1969). Social facilitation of locomotion and exploration in rats. *Brit. J. Psychol.*, 60, 385–388.
- Husak J. F., Moore I. T. (2008). Stress hormones and mate choice. *Trends Ecol Evol.*, 23(10):532–4.
- Hutchins M., et al (1984). Naturalistic solutions to behavioral problems of captive animals. *Der Zoologische Garten*, 54, 28–42.
- Huynh T., et al (2004). Effects of floor cooling during high ambient temperatures on the lying behavior and productivity of growing finishing pigs. *Trans. ASAE* 47, 1773–1782.
- Inglis I. S. (1994). Rats work for food they then reject: support for the information-primacy approach to learned industriousness. *Ethology*, 98, 154–164.
- Ishigaki S., et al (2018). Melatonin ameliorates intrarenal renin-angiotensin system in a 5/6 nephrectomy rat model. *Clin Exp Nephrol*, 22: 539–549.
- Izawa S., et al (2015). Cortisol level measurements in fingernails as a retrospective index of hormone production. *Psychoneuroendocrinology*, 54:24-30
- Jolly A., et al (2000). Infant killing, wounding and predation in Eulemur and Lemur. *Int J Primatol*, 21:21–40.

- Jolly A. (1966). Lemur Social Behavior and Primate Intelligence The step from prosimian to monkey intelligence probably took place in a social context. *Science*, 153.3735: 501-506.
- Karatsoreos I. N., et al (2010). Endocrine and physiological changes in response to chronic corticosterone: a potential model of the metabolic syndrome in mouse. *Endocrinology*, 151: 2117–2127.
- Keith-Lucas T. (1999). Changes in behavior in free-ranging Lemur catta following release in a natural habitat. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 47.1: 15-28.
- Keverne E. M. (1989). Beta-endorphin concentrations in cerebrospinal fluid of monkeys are influenced by grooming. *Psychoneuroendocrinology*, 14 (1–2), 155–161.
- Kleiman D. (1994). Mammalian sociobiology and zoo breeding programs. . *Zoo Biol.* , 13, 423–432.
- Knierim U., et al. (2001). Group report: good welfare: improving quality of life. In: Broom DM, editor. Coping with challenge: welfare in animals including humans. *Berlin: Dahlem University Press*, 79–100.
- Kohnke J. (2000). Tratto da Aerophagia or oral "windsucking" in horses: [http://www.petalia.com.au/Templates/StoryTemplate\\_Process.cfm?Story\\_No=1305&specie=6](http://www.petalia.com.au/Templates/StoryTemplate_Process.cfm?Story_No=1305&specie=6)
- Kokko H. (1999). Competition for early arrival in migratory birds. *J Anim Ecol.*, 68(5):940–50.
- Koolhaas J., et al (1999). Coping styles in animals: Current status in behavior and stress-physiology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* , 23, 925–9.
- Korhonen H., et al. (2001). Effect of space and floor material on the behaviour of farmed blue foxes. *Canadian journal of animal science*, 81.
- Laidlow R. (2001). The state of ark: a review of condition at the Granby zoo.

- Lau T., et al (2017). Stress-induced structural plasticity of medial amygdala stellate neurons and rapid prevention by a candidate antidepressant. *Mol Psychiatry*, 22: 227–234.
- Laule G., et al (2003). The use of positive reinforcement training techniques to enhance the care, management, and welfare of primates in the laboratory. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.*, 6 (3), 163–173.
- Lazarus R. S., Folkman S. (1984). Stress, appraisal and coping. *New York: Springer Verlag*, 1.
- Lesku J. A., et al (2006). A phylogenetic analysis of sleep architecture in mammals: The integration of anatomy, physiology, and ecology. *. Am Nat.*, 168: 441–453.
- Levy D. (1944). On the problem of movement restraints, stereotyped movements, hyperactivity. *. 14*, 644–671.
- Lezama-Martinez D., et al (2017). Combination of beta adrenergic receptor block and renin-angiotensin system inhibition diminished the Angiotensin II-induced vasoconstriction and increased bradykinin-induced vasodilation in hypertension. *Dose Response*, 15.
- Lindburg D. (1998). Enrichment through provisioning. *Smithsonian Institution Press, Washington, DC*, 262–276.
- Line S., et al (1989). Heart rate and activity of rhesus monkeys in response to routine events. *Lab. Primate Newslett*, 28, 9–12.
- Liston C., et al (2006). Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting. *J Neurosci*, 26: 7870–7874.
- Loudon J. E., et al (2006). One reserve, three primates: applying a holistic approach to understand the interconnections among ring-tailed lemurs (*Lemur catta*), Verreaux's sifaka (*Propithecus verreauxi*), and humans (*Homo sapiens*) at Beza Mahafaly Special Reserve, Madagascar. *Ecological and Environmental Anthropology (University of Georgia)*, 7.

- Malinow M., et al (1974). Heart rate in caged rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Lab. Anim. Sci.*, 24, 537–540.
- Manser C. E. (1992). The assessment of stress in animals. *Horsham (UK): R.S.P.C.A.*
- Mariotti A. (2015). The effects of chronic stress on health: new insights into the molecular mechanisms of brain-body communication. *Future Sci OA*, 1.
- Markowitz H. (1982). Behavioral Enrichment in the Zoo. . *Van Nostrand Reinhold, New York, NY.*
- Martrenchar A. (1999). Animal welfare and intensive production of turkey broilers. *World Poultry Sci. J.*, 55, 143–152.
- Mason G. J., Latham N. R. (2004). Can't stop, won't stop: is stereotypy a reliable welfare indicator? *Animal welfare*, 1-10.
- Mason G. J., Turner M. A. (1993). Mechanisms involved in the development and control of stereotypies. *Plenum press, New York, USA*, 53-85.
- Mason G. J. (1991). Stereotypies: a critical review. *Animal behaviour*, 41.
- Mason G. J. (2010). Species differences in responses to captivity: Stress, welfare and the comparative method. *Trends Ecol. Evol.* , 25, 713–721.
- Mason W. (1991). Effects of social interaction on well-being: developmental aspects. *Lab. Anim. Sci.*, 41, 323–328.
- McCormack S. A. (1971). Plasma testosterone concentration and binding in the chimpanzee; effect of age. *Endocrinology*, 89:1171–1177.
- McEwen B. S. (2016). Stress-induced remodeling of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res*, 1645: 50–54.

- McEwen B. S., et al (1968). Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. *Nature*, 220: 911-912.
- McEwen B. S. (2017). Neurobiological and Systemic effect of chronic stress. *Sage*, 1-7.
- McGlone, J. C. (1985). Behavior and performance of weanling pigs in pens equipped with hide areas. . *J. Animal science*, 60, 20–24.
- McGrew W.C. (1992). Tool-use by free-ranging chimpanzees: the extent of diversity. *J Zool*, 228: 689– 694.
- Meehan C. L. et al. (2001). Environmental enrichment prevents yhe development of abnormal behaviors and modifies fear responses in young Orange-winged Amazon parrot. *The center for animal welfare at UC Davis, California, USA*, 42.
- Meehan C. M. (2007). The challenge of challenge: can problem solving opportunities enhance animal welfare? *Appl. Anim. Behav. Sci*, 102, 246–261.
- Melfi V. (2005). The appliance of science to zoo housed primates. *Appl Anim Behav Sci*, 90.
- Mellor D. J. (2015). Caring for Wildlife: The World Zoo and Aquarium Animal Welfare Strategy.
- Melman S. (1995). Tratto da Use of Prozac in animals for selected dermatological and behavioral conditions: <http://www.dermamet.com/articles/art-06.html>
- Meng L. B., et al (2018). The more critical murderer of atherosclerosis than lipid metabolism: chronic stress. *Lipids Health dis*, 7: 143.
- Merl S., et al. (2000). Pain causes increased concentrations of glucocorticoid metabolites in horse feces. *J Equine Vet Sci*, 20.
- Meyer-Holzappel M. (1968). Abnormal behavior in zoo animals. In: Fox, M.W. (Ed.), *Abnormal Behavior in Animals*. Saunders, Philadelphia, PA, , 476–502.

- Miller P. M. (1995). Vision in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 207, 1623–1634.
- Ministero della transizione ecologica. (s.d.). *Giardini zoologici*. Tratto da [www.mite.gov.it](http://www.mite.gov.it):  
<https://www.mite.gov.it/pagina/giardini-zoologici>
- Mitchell G., et al (1992). More on the influence of zoo visitors on the behavior of captive primates. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 35, 189–198.
- Mittermeier R. A. (2010). *Lemurs of madagascar. Conservation International*.
- Morgan K. N., Tromborg T. C. (2007). Sources of stress in captivity. *Applied animal behaviour science*, 102.3-4: 262-302.
- Morgan K., et al (2002). Changes in chimp behavior, visitor behavior, and visitor attitude with a change in exhibit. *Paper presented at the Animal Behaviour Society Annual Meeting, Bloomington, IN, June*.
- Morgan K. T. (1997). Prenatal stress affects emotional responses to an escape task. *In: Poster presented at the American Psychological Society, Biology and Behavior Symposium, Washington, DC, May*.
- Morris D. (1964). The responses of animals to a restricted environment. *Zool. Soc. Lond.*, 13, 99–118.
- Möstl E., et al. (2002). Measurement of cortisol metabolites in faeces of ruminants. *Vet Res Commun*, 26.
- Möstl E., Palme R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*, 23.1-2: 67-74
- Muller M., Wrangham R. W. (2004). Dominance, cortisol and stress in wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Behav Ecol Socio biol* , 55:332–340.

- Norris D. O., et al (1999). Impaired adrenocortical response to stress by brown trout, *Salmo trutta*, living in metal-contaminated waters of the Eagle River, Colorado. *Gen Comp Endocr.*, 113(1):1–8.
- Novak M. A., Harlow H. F. (1975). Social recovery of monkeys isoated for the first year of life. *Developmental psychology*, 453-465.
- Nunn C. L., et al (2006). *Infectious Diseases in Primates: Behavior, Ecology, and Evolution*. New York: Oxford University Press.
- O'Neill P. (1989). A room with a view for captive primates: issues, goals, related research and strategies. . In: Segal, E.F. (Ed.), *Housing, Care, and Psychological Wellbeing of Captive and Laboratory Primates*. Noyes Publications, Park Ridge, NJ, 135–160.
- Odberg F. (1978). Introductions to abnormale behaviours: stereotypies. *Proceedings of the I world congress on ethology applied to zoothechnics*, 475-480.
- Ortega-Montiel J., et al (2015). Self-perceived stress is associated with adiposity and atherosclerosis. *The GEA study. BMC Public Health*, 15: 780.
- Ostner J., et al. (2008). Androgen and glucocorticoid levels reflect seasonally occurring social challenges in male redfronted lemurs (*Eulemur fulvus rufus*). *Behav Ecol Sociobiol*, 62:627–638.
- Palme R., et al. (1999). Measurement of faecal cortisol metabolites in ruminants: a non-invasive parameter of adrenocortical function. *Wien Tierärztl Mschr*, 86.
- Palme R., et al. (2000). Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolites. *Vet Rec*, 146.
- Park K., et al (2018). Exogenous insulin infusion can decrease atherosclerosis in diabetic rodents by improving lipids, inflammation, and endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 38: 92–101.

- Pearce G. P. (1993). The effect of space restriction and provision of toys during rearing on the behavior productivity, and physiology of male pigs. . *Appl. Anim. Behav. Sci*, 36, 11–28.
- Pearson J. (2002). On a roll: novel objects and scent enrichment for Asiatic lions. . *Shape Enrich.*, 11, 7–10.
- Pemberton P. A., et al (1988). Hormone binding globulins undergo serpin conformational change in inflammation . *Nature* , 336, 257, 258 .
- Pereira A. C., et al (2014). Glutamatergic regulation prevents hippocampal-dependent age-related cognitive decline through dendritic spine clustering. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 18733–18738.
- Pereira M. E., et al (1987). Tactics of care for young infants by forest-living ruffed lemurs (*Varecia variegata variegata*): Ground nests, parking, and biparental guarding. *Am J Primatol*, 13: 129– 144.
- Pereira M. E., et al. (1999). Metabolic strategy and social behavior in Lemuridae. *New directions in lemur studies (Rakotosamimanana B, Rasamimanana H, Ganzhorn JU, Goodman SM, eds)*. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 93-118.
- Pereira M. E., Weiss M. L. (1991). Female mate choice, male migration, and the threat of infanticide in ringtailed lemurs. *Behav Ecol Sociobiol* , 28:141–152.
- Perkins L. (1992). Variables that influence the activity of captive orangutans. . *Zoo Biol.* , 11, 177–186.
- Perret M., Predine J. (1984). Effects of long-term grouping on serum cortisol levels in *Microcebus murinus* (Prosimii). *Hormones and Behavior*, 346-358.
- Perret M. (1986). Plasma testosterone-binding globulin-binding capacity in the male lesser mouse lemur (*Microcebus murinus*): relationship to seasonal and social factors. *Journal of Endocrinology*, 110(1), 169-175.



- Phillips C., et al (2012). Students' attitudes to animal welfare and rights in Europe and Asia. *Anim. Welf*, 21.
- Pifarré M., et al (2012). The effect of zoo visitors on the behaviour and faecal cortisol of the Mexican wolf (*Canis lupus baileyi*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 136, 57–62.
- Pollard J. L. (1994). Behavioural effects of light conditions on red deer in a holding pen. *Appl. Anim Behav. Sci.* , 41, 127–134.
- Poltyrev T., et al (1996). Role of experimental conditions in determining differences in exploratory behavior of prenatally stressed rats. exploratory behavior of prenatally stressed rats. *Develop. Psychobiol*, 29, 453–462.
- Poulsen E., et al. (1995). The successful treatment of a chronic stereotype in one polar bear using enrichment programming, enclosure redesign and medical therapy. 209-217.
- Price E. (2002). *Animal Domestication and Behavior*. CAB International: Wallingford, UK.
- Prickett R., et al. (2010). Consumer preferences for farm animal welfare: Results from a telephone survey of US households. *Anim. Welf*, 19.
- Pride R. (2005). Foraging success, agonism, and predator alarms: behavioral predictors of cortisol in *Lemur catta*. *Int J Primatol*, 26:295–319.
- Pride R. E. (2005). High faecal glucocorticoid levels predict mortality in ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Biol. Lett.*, 1, 60–63.
- Pride, R. E. (2005). Optimal group size and seasonal stress in ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Behavioral Ecology*, 550-560.
- Rabiee R. A., et al. (2001). The effect of level of feed intake on progesterone clearance rate by measuring faecal progesterone metabolites in grazing dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 67.

- Radley J. J., et al (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 125: 1–6.
- Rakotoniaina J. H., et al. (2017). Hair cortisol concentrations correlate negatively with survival in a wild primate population. *BMC Ecology*, 1-10.
- Rao R. T., Androulakis I. P. (2017). Modeling the sex differences and interindividual variability in the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology*, 158: 4017–4037.
- Redbo I. (1993). Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. *Applied animal behaviour science*, 38.
- Regione Emilia-Romagna. (2018, Dicembre 18). *Programmi e progetti europei e internazionali*. Tratto da progeu.regione.emilia-romagna.it: <https://progeu.regione.emilia-romagna.it/it/life-eremita/temi/progetto-eremita/coseunlife>
- Regolamento (CE) N. 338/97 del Consiglio relativo alla protezione di specie della flora e della fauna selvatiche mediante il controllo del loro commercio. (1996, Dicembre 9).
- Reinhardt V. (1994). Caged rhesus macaques voluntarily work for ordinary food. *Primates*, 35, 95–98.
- Resko J. A. (1967). Plasma androgen levels of the rhesus monkey: effects of age and season. *Endocrinology*, 81:1203–1212.
- Reul J. M., Kloet E. R. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117: 2505–2511.
- Rochlitz I. (1997). The welfare of cats kept in confined environments. *University of Cambridge*.
- Romero L. M., Wikeski M. (2001). Corticosterone levels predict survival probabilities of Galapagos marine iguanas during El Nino events. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98:7366–7370.

- Romero L., et al (2000). Effects of weather on corticosterone responses in wild free-living passerine birds. *Gen Comp Endocrinol* , 118:113–122.
- Rushen J., et al (1999). Domestic animals' fear of humans and its effect on their welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* , 65, 285–303.
- Sachser N. (2001). What is important to achieve good welfare in animals? *Dahlem University press*, 31-48.
- Sherwen S. L., Hemsworth P. H. (2019). The Visitor Effect on Zoo Animals: Implications and Opportunities for Zoo Animal Welfare. *Animals*, 9.6: 366.
- Salveti F., et al (2000). Effect of noise exposure on rat cardiac peripheral benzodiazapine receptors. *Life Sci.*, 66, 1165–1175.
- Samson D. R., et al (2017). Chronotype variation drives night-time sentinel-like behaviour in hunter–gatherers. *Proc R Soc B Biol Sci.*, 284.
- Samson D. R., et al (2018). The cost of deep sleep: environmental influences on sleep regulation are greater for diurnal lemurs. *Am J Phys Anthropol.*
- Samson D. R., et al (2019). Sleep influences cognitive performance in lemurs. *Animal Cognition*, 22:697–706.
- Samson D. R., Shumaker R. W. (2013). Documenting orang-utan sleep architecture: Sleeping platform complexity increases sleep quality in captive Pongo. *Behaviour*, 150: 845–861.
- San Diego Zoo Wildlife Alliance. (2021, Marzo 9). *Ring-tailed Lemur (Lemur catta) Fact Sheet: Behavior & Ecology*. Tratto da [ielc.libguides.com](https://ielc.libguides.com): <https://ielc.libguides.com/sdzg/factsheets/ringtailedlemur/behavior>
- San Diego Zoo Wildlife Alliance. (2021, Marzo 9). *Ring-tailed Lemur (Lemur catta) Fact Sheet: Physical Characteristics*. Tratto da [ielc.libguides.com](https://ielc.libguides.com): <https://ielc.libguides.com/sdzg/factsheets/ringtailedlemur/characteristics>

- San Diego Zoo Wildlife Alliance. (2021, Marzo 9). *Ring-tailed Lemur (Lemur catta) Fact Sheet: Reproduction & Development*. Tratto da ielc.libguides.com: <https://ielc.libguides.com/sdzg/factsheets/ringtailedlemur/reproduction>
- San Diego Zoo Wildlife Alliance. (2021, Marzo 9). *Ring-tailed Lemur (Lemur catta) Fact Sheet: Taxonomy & History*. Tratto da ielc.libguides.com: <https://ielc.libguides.com/sdzg/factsheets/ringtailedlemur/taxonomy>
- Sapolsky R. M., et al (1986). The Neuroendocrinology of Stress and Aging: The Glucocorticoid Cascade Hypothesis. *EndocrRev*, 7: 284–301.
- Sapolsky R. (1998). Why zebras don't get ulcers. *New York: W. H. Freeman and Co.*
- Sauther, M. L. (1993). A new interpretation of the social organization and mating system of the ring-tailed lemur (*Lemur catta*). *Plenum Press, New York*, 111–121.
- Sauther, M. L. (1999). Sauther, Michelle L., Robert W. Sussman, and Lisa Gould. "The socioecology of the ringtailed lemur: Thirty-five years of research. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 8.4: 120-132.
- Savastano G., et al (2003). The development of an operant conditioning training program for New World Primates at the Bronx Zoo. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.*, 6 (3), 247–261.
- Schilling A., et al (1984). Sexual inhibition in a prosimian primate: a pheromone-like effect. *Journal of Endocrinology*, 102(2), 143-151.
- Schino G. S. (1988). *Am. J. primatol.*, 16, 43-50.
- Schneider M., et al (2002). The impact of prenatal stress, fetal alcohol exposure, or both on development: perspectives from a primate model. *Psychoneuroendocrinology*, 27, 285–298.
- Schofield W., Mulville J. P. (1998). Assessment of the modified Forsell procedure for the treatment of oral stereotypes in 10 horses. *Veterinary record*, 142: 572-575.

- Schwartz M. W. (1997). Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N. Engl. J. Med.*, 336, 1802.
- Seeley K. E., et al (2021). Assessing Allostatic Load in Ring-Tailed Lemurs (*Lemur catta*). *Animals*, 11, 3074.
- Selye H. (1998). A syndrome produced by diverse noxious agents. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 230-231.
- Shepherdson D. J., et al. (1999). Second nature- Environmental enrichment or captive animals, second edition. *Smithsonian institute press, Washington, USA*.
- Shepherdson D., et al (1998). Second Nature: Environmental Enrichment for Captive animals. *Smithsonian Institution Press, Washington, DC*.
- Sherwen S. L., Hemsworth P. H. (2019). The Visitor Effect on Zoo Animals: Implications and Opportunities for Zoo Animal Welfare. *Animals*, 9.6: 366.
- Shire T. E. E. (2012). Differences in behavior between captive and wild ring-tailed lemur (*Lemur catta*) populations: Implications for reintroductions and captive management. 5-17.
- Shively C. A., et al (2009). Social stress, visceral obesity, and coronary artery atherosclerosis: product of a primate adaptation. *Am J Primatol*, 71: 742–751.
- Shumaker R. (1997). Gorilla enrichment. Management of Gorillas in Captivity. Atlanta: Gorilla species survival plan and the Atlanta/Fulton County Zoo. In: *Ogden J, Wharton D, editors*, 102–110.
- Sjaastad Ó. V., et al (2013). *Fisiologia degli animali domestici*. Milano: Casa editrice Ambrosiana.
- Slotnick B., et al (2005). Olfaction. *Oxford University Press, New York, NY*, 90–104.

- Sobrian S., et al (1997). Gestational exposure to loud noise alters the development and postnatal responsiveness of humoral and cellular components of the immune system in offspring. *Environ. Res.*, 73, 227–241.
- Sorensen D., et al (2004). Consequences of enhancing environmental complexity for laboratory. *Consequences of enhancing environmental complexity for laboratory. Anim. Welfare*, 13, 193–204.
- Spinka M., et al (2011). Environmental challenge and animal agency. *Animal Welfare*, 27–43.
- Spinka, M. (2006). How important is natural behaviour in animal farming systems? *Appl. Anim. Behav. Sci.* , 100, 117–128.
- Spruijt B. M., et al (2001). A concept of welfare based on reward evaluating mechanisms in the brain: anticipatory behaviour as an indicator for the state of reward systems. *Appl. Anim Behav. Sci*, 72, 145–171.
- Sroufe L., Cooper R. (1988). Child development- Its nature and course. *Alfred A Knopf, New York, USA*.
- Stoinski T., et al (2001). A preliminary behavioral comparison of two captive all-male gorilla groups. *Zoo Biol.*, 20, 27–40.
- Stoskopf M. (1983). The physiological effects of psychological stress. *Zoo Biology*, 2, 179–190.
- Weingrill T., et al (2004). Fecal cortisol levels in free-ranging female chacma baboons: relationship to dominance, reproductive state and environmental factors. *Horm Behav*, 45:259–259.
- Tennenhouse E. M., et al (2017). Relationships between steroid hormones in hair and social behaviour in ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Primates*, 58:199–209.
- Theall K. P., et al (2013). Neighborhood disorder and telomeres: connecting children’s exposure to community level stress and cellular response. *Soc Sci Med*, 85: 50-58.

- Thelen E. (1981). Rhythmycal behavior in infancy: an ethological perspective. *Developmental psychology*, 17.3: 237.
- Tilden C. (2008). Low fetal energy deposition rates in lemurs: another energy conservation strategy. *Elwyn Simons, a Search for Origins*. Springer, New York, 311–318.
- Touma C., Palme R. (2005). Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: The importance of validation. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1046, 54–74.
- Treccani. (s.d.). Tratto da [www.treccani.it](http://www.treccani.it): <https://www.treccani.it/vocabolario/zoologico>
- Tromborg C. (1993). Behavioral effects of exposing captive cotton top tamarins to controlled auditory stimuli . *Unpublished Master's Thesis, California State University, San Francisco*.
- Tromborg C. C. (1995). Denizens, decibels, and dens. *In: Annual Proceedings of the American Association of Zoos and Aquariums, Seattle, WA*, pp. 521–528.
- Turner M. (1999). Genereting novel ideas: fluency performance in high-functioning and learning disabled individuals with autism. *Journal of child psychology and psychiatry*, 40: 189-201.
- Unione europea. (2015). Direttiva UE sui giardini zoologici Documento sulle buone pratiche. Lussemburgo.
- Unit of cognitive primatology. (s.d.). Tratto da [www.ucp.istc.cnr.it](http://www.ucp.istc.cnr.it): <http://www.ucp.istc.cnr.it/index.php/2012-05-28-21-15-32/il-centro-primati/11-animals/47-l-arricchimento-ambientale-che-cos-e>
- Vaglio S., et al. (2021) Effects of scent enrichment on behavioral and physiological indicators of stress in zoo primates. *Am J Primatol*. 83(5)
- Van der Harst J. E., et al. (2003). Access to enriched housing is rewarding to rats as reflected by their anticipatory behaviour. *Anim. Behav*, 66, 493–504.

- Vanhonacker F., et al (2008). Do citizens and farmers interpret the concept of farm animal welfare differently? . *Livest. Sci*, 116.
- Vegas O., et al (2018). Chronic social stress Ameliorates psoriasis-form dermatitis through upregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Brain Behav Immun*, 68: 238–247.
- Verkerk G. A., et al (1998). Characterization of milk cortisol concentrations as a measure of short-term stress responses in lactating dairy cows. *Anim Welfare*, 7.
- Vestergaard K. S. et al. (1997). The stress of not being able to perform dustbathing in laying hen. *Physiology and behaviour*, 62.
- Videan E. N. (2006). Bed-Building in Captive Chimpanzees (*Pan troglodytes*): The Importance of Early Rearing. *Am J Primatol*, 68: 745–751.
- Vieuille-Thomas C. S. (1992). Pheromonal transmission of an aversive experience in domestic pig. *J. Chem. Ecol.* , 18, 1551–1557.
- Vining A. Q., et al (2021). Enriched sleep environments lengthen lemur sleep duration . *PLoS ONE*, 16(11).
- Vining R. F., McGinley R. A. (1987). The measurement of hormones in saliva: Possibilities and pitfalls. *J. Steroid Biochem.*, 27, 81, 94.
- Vinke C. M., et al. (2002). Stereotypic behaviour and tail biting in farmed mink (*Mustela vison*) in a new housing system. *Animal welfare*, 11: 231-245.
- Volfová M., et al (2019). The effects of transport stress on the behaviour and adrenocortical activity of the black-and-white ruffed lemur (*Varecia variegata*) . *Acta vet, brno*, 88: 85–92.
- Volfova M., et al (2020). Comparison of the Glucocorticoid Concentrations between Three Species of Lemuridae Kept in a Temporary Housing Facility. *Animals* , 10, 1013.



- Vyas A, et al (2002). Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci*, 22: 6810-6818.
- Wacker B. K., et al (2018). Apo A-I (Apolipoprotein A-I) vascular gene therapy provides durable protection against atherosclerosis in hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 38: 206–217.
- Waiblinger S., et al (2006). Assessing the human-animal relationship in farmed species: a critical review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* , 101, 185–242.
- Wang C., et al (2018). NRF2 prevents vent hypertension, increased ADMA, microvascular oxidative stress and dysfunction in mice with two weeks of ANG II infusion. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 314: R399–R406.
- Ward S., Sherwen S. (2018). Zoo animals. In *Anthrozoology: Human-Animal Interactions in Domesticated and Wild animals*. Oxford University Press: Oxford, UK,.
- WAZA. (2003). WAZA Code of Ethics and Animal Welfare.
- WAZA. (2005). Building a Future for Wildlife - The World Zoo and Aquarium Conservation strategy. 1-72.
- WAZA. (2015). Interactions, WAZA Guidelines for the Use of Animals in Visitor.
- WAZA. Tratto da <https://www.waza.org/about-waza/>.
- Wells D. E. (2004). The influence of olfactory enrichment on the behaviour of captive black-footed cats, *Felis nigripes*. *Appl. Anim. Behav. Sci.* , 85, 107–119.
- Whitham J. C., Wielebnowski N. (2013). New directions for zoo animal welfare science. *Appl. Anim. Behav. Sci*, 147.
- Whithama J. C., Wielebnowski N. (2013). New directions for zoo animal welfare science. *Applied Animal Behaviour Science*, 1-10.

- Wielebnowski N. C., et al. (2002). Noninvasive assessment of adrenal activity associated with husbandry and behavioral factors in the North American clouded leopard population. *Zoo biology*, 21.
- Wielebnowski N. (2003). Stress and distress: evaluating their impact for the well-being of zoo animals. *JOURNAL-AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION* , 973-976.
- Wiepkema P., et al. (1983). Abnormal behaviours in farm animals. Report of the commission of the European communities. *Commission of the European communities, Brouxelles, Belgio*.
- Wilson S. (1982). Environmental influences on the activity of captive apes. . *Zoo Biol.*, 1, 201–209.
- Wirsing A. J., et al (2002). Relationship between body condition and vulnerability to predation in red squirrels and snowshoe hares. *J Mammal.*, 83(3):707–15.
- Wittig R. M., et al (2008). Focused grooming networks and stress alleviation in wild female baboons. *Horm Behav* , 54:170–177.
- Wood W. (1998). Interactions among environmental enrichment, viewing crowds, and zoo chimpanzees (Pan troglodytes. *Zoo Biol.*, 17, 211–230.
- www.iucn.org.* (2020, Luglio 9). Tratto da IUCN: <https://www.iucn.org/news/species/202007/almost-a-third-lemurs-and-north-atlantic-right-whale-now-critically-endangered-iucn-red-list>
- Yeates J. M. (2008). Assessment of positive welfare: a review. *Vet Journal*, 175, 293–300.
- Young R. (2003). Environmental enrichment. *Blackwell science, Oxford, UK*.
- Zamma K. (2002). Grooming site preferences determined by lice infection among Japanese macaques in Arashiyama. *Primates*, 43:41–49.

Zhang R., Naughton D. (2010). Vitamin D in health and disease: Current perspectives. *Nutr. J.*, 9, 65.