

孙宁,付家琳,徐澍,等. 皮质醇用于评估犬应激压力的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(11): 1504–1511.
Sun N, Fu JL, Xu S, et al. Research progress on cortisol measurement to evaluate stress in dogs [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(11): 1504–1511.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.11.015

皮质醇用于评估犬应激压力的研究进展

孙宁¹, 付家琳¹, 徐澍¹, 俞曦², 水映懿³, 朱启文^{4*}

(1. 中国刑事警察学院, 沈阳 110034; 2. 安徽省铜陵市公安局, 安徽 铜陵 244000;
3. 中国人民公安大学, 北京 100038; 4. 沈阳医学院辽宁省行为认知重点实验室, 沈阳 110034)

【摘要】近年来,人们将皮质醇(cortisol)作为评估犬(*Canis familiaris*)压力的生物标志物。为了评估犬的福利状况,本文综述了犬在各种应激压力下皮质醇水平及其变化情况,并根据犬皮质醇的变化规律,探究缓解犬压力的影响因素,进一步完善缓解犬压力的措施。建议使用皮质醇测定结合行为观察等多项生理指标,以更准确地评估犬的抗应激压力水平。

【关键词】皮质醇;犬;应激压力;动物福利

【中图分类号】Q95-33 【文献标志码】A 【文章编号】1005-4847(2023)11-1504-08

Research progress on cortisol measurement to evaluate stress in dogs

SUN Ning¹, FU Jialin¹, XU Shu¹, YU Xi², SHUI Yingyi³, ZHU Qiwen^{4*}

(1. Criminal Investigation Police University of China, Shenyang 110034, China. 2. Tongling Public Security Bureau, Anhui Province, Tongling 244000. 3. People's Public Security University of China, Beijing 100038.
4. Liaoning Provincial Key Laboratory of Behavioral Cognition, Shenyang Medical College, Shenyang 110034)

Corresponding author: ZHU Qiwen. E-mail: syxyzqw@163.com

【Abstract】In recent years, cortisol has been used as a biomarker to assess stress in dogs. To evaluate the welfare of dogs, we reviewed cortisol levels and changes in dogs under various stresses. We explored the influential factors that relieve stress in accordance with variations in cortisol levels, to improve the measures which reduce stress in dogs. It is recommended to apply cortisol measurement and behavioral observation comprehensively to evaluate stress in dogs more accurately.

【Keywords】cortisol; dog; stress; animal welfare

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

皮质醇作为动物福利研究的基石,已被用于测量各物种的压力应激反应^[1]。皮质醇(cortisol)是一种糖皮质激素,参与许多生理过程,也是衡量动物压力的良好指标。皮质醇的释放受下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴调控。皮质醇分泌增加被认为是一种对应激反应的适应。皮质醇可以加速动物体内碳水化合物代谢,

增加血液中葡萄糖的可利用性,这样有助于应对短期应激中的压力,同时皮质醇也是反映动物个体面临压力强度的重要生理指标^[2]。

犬(*Canis familiaris*)是人类最早驯化的动物,量化犬的压力水平一直是研究人员感兴趣的研究。近年来,人们将皮质醇作为评估犬压力的生物标志物^[3-5]。大量研究证明了皮质醇衡量犬肾上腺皮质

【基金项目】中央高校基本科研业务费项目(3242021016),辽宁省教育厅科学研究经费项目(LJKZ0073)。

Funded by the Fundamental Research Funds for the Central Universities(3242021016), Scientific Research Fund Project of Liaoning Education Department(LJKZ0073)。

【作者简介】孙宁(1973—),女,硕士,教授,硕士生导师,研究方向:警犬技术及动物行为研究。Email:1336794661@qq.com

【通信作者】朱启文(1963—),男,博士,教授,博士生导师,研究方向:动物行为与认知研究。Email:syxyzqw@163.com

活动的实用性和有效性,目前已经在多种基质中测定犬的皮质醇水平,血液、唾液、尿液、乳汁、头发和粪便中的皮质醇都可作为犬的压力标志物^[6-10],每种方法都有自身特点和相对可行性。血液和唾液中的皮质醇测定具有瞬时性,可以“即时”还原采集样本时的肾上腺皮质活动,尿液、乳汁、粪便、毛发中的皮质醇是显示肾上腺皮质活动的时间累积值,时间范围从 < 1 h(尿液、牛奶)到 1 d(粪便)到几天或几周(毛发)。对于发生在数小时内的急性应激反应,最好采用唾液、尿液以及粪便来测定^[11];而毛发以及指甲能够测定数周内的皮质醇,可以用来反映一段时间内的肾上腺皮质的慢性变化。通过皮质醇水平的变化来识别犬在压力下的生理反应,对于评估犬的福利状态非常重要。本文归纳总结了犬外界环境中的各种压力源,综述了犬在各种应激压力下皮质醇水平及其变化情况,同时根据犬皮质醇的变化规律,探究缓解犬压力的影响因素,进一步完善减轻犬压力的措施,改善犬的福利状况。

1 皮质醇评估各种压力源对犬的压力

犬经常会暴露在各种压力源下,例如噪音、新环境、运输、恶劣条件等,犬会表现出恐惧、刻板行为(stereotyped)等,各种压力源对犬的压力可以通过测定皮质醇进行量化评估。

1.1 评估噪音对犬的压力

犬对噪音经常会表现为恐惧行为,发生率在 23% ~ 49%^[12]。声源的性质(强度、频率、可预测性等)对犬有不同的影响。

噪音通常声音响亮、发生突然,例如:雷暴^[13]、烟花^[14]和枪声^[15]等。犬面对这种响亮的噪音,行为表现为降低姿势(身体蹲伏、尾巴低垂)、喘息、颤抖、吠叫、躲藏、踱步以及找寻熟人等^[16]。雷暴发生后,犬的唾液皮质醇显著增加 207%,持续 40 min 以上才恢复^[13];听到枪声后,犬血浆皮质醇和孕酮急剧增加^[15]。

常见的家庭噪音,如吸尘器、微波炉、烟雾报警器等,也会导致犬恐惧和焦虑。表现为向主人靠近、嚎叫、舔嘴唇以及气喘吁吁等。吸尘器的噪音会使犬基础血浆皮质醇浓度持续高于 55 nmol/L^[17]。声源的频率不同,犬的行为有所不同,但皮质醇水平的差异未见报道。对于低频声源(如真空吸尘器),犬更常见激动和兴奋(吠叫、攻击)行为,也有少量表现为舔嘴唇、耳朵后耷;烟雾报警器的哔哔声为高

频声音,犬会表现为更强烈的恐惧,例如颤抖,因为犬对 1000 ~ 8000 Hz 范围内的声音具有高灵敏度^[18]。犬对高频声音的敏感性高于人类,犬对较低频声音与人类的敏感性差别不大^[19]。例如,人类婴儿的哭声,人听起来仅仅是响亮的声音,犬听起来是痛苦并响亮的^[20]。

刺激能否预测,犬的压力程度有所不同,犬会表现出不同的急性应激行为及皮质醇反应。对于犬无法预期的刺激,如爆炸声、电击和突然掉落的袋子,犬行为表现为降低姿势(身体蹲伏、尾巴低垂),诱发唾液皮质醇升高,峰值为 20.4 ± 4.5 nmol/L(唾液皮质醇基础值为 6.0 nmol/L),皮质醇的水平与犬暴露在响亮噪音下相似^[13]。峰值出现在声音刺激后 16.9 ± 2.3 min,持续约 60 min 恢复正常。其他的刺激,比如人打开雨伞、按压犬趴在地上,这些刺激都是可以预期的,并没有改变犬的皮质醇水平,唾液皮质醇值与基础水平相比保持不变^[21],但犬在行为上表现为身体颤抖和舔嘴行为频率增加,以及轻微的舔嘴、打哈欠等。Weiss^[22]在经典的应激大鼠实验中,认为刺激的可预见性是调节唾液皮质醇水平的主要因素。但 Dess 等^[23]观点相反,他认为是可控制性而不是可预测性显著地调节了电击后犬血浆皮质醇的反应,但也提出,不可预测的休克后的皮质醇均值比可预测休克后的更高。可见两种观点并不矛盾,因此,刺激的可预测性能判断刺激压力是否引发皮质醇反应。

1.2 评估新环境对犬的压力

犬进入新环境后,不熟悉的环境、人、动物,之前社会关系的破坏以及不可预测的事件等情况都会给犬带来压力^[24]。犬去宠物医院就医,会引发犬血浆皮质醇水平增加^[25],可能是因为犬与主人隔离^[26]。收容所对犬来说是一个新环境,刚到收容所的犬,表现出过度舔毛、重复转圈等刻板行为。刻板行为越多,皮质醇水平越高^[10]。在入住前 3 d 压力水平最高,之后逐渐减弱^[27],第 1 周就习惯了收容所的新环境;Hennessy^[28]研究表明,入住第 3 ~ 5 天尿和血浆皮质醇水平会急剧升高,然后随着时间的推移趋于平稳^[29],直到 10 d 后才下降到基础水平^[30];Stephen 等^[31]发现犬到收容所第 17 天左右尿皮质醇达到峰值,之后水平稳步下降,到第 31 天时,与在家中的基础水平没有显著性差异(作者也注意到犬存在很大的个体差异);小猎犬在从户外围栏转移到犬笼后,发现第 1 天的皮质醇水平最高,并在

接下来的 77 d 内逐渐下降并趋于稳定^[32];新入住收容所的犬血浆皮质醇水平是在家时的 3 倍^[33],然而,仅仅 5 d 后水平相当^[27]。以上研究显示,随着时间的推移,收容所犬的皮质醇水平下降,表明压力减轻了,犬已经适应了新环境^[33-34]。相比之下,老年犬适应新的环境较慢,入住收容所第 7 天,老年犬粪便皮质醇水平(12178.4 ± 2524.4 ng/g),是同一收容所与人类经常接触的犬的 10 倍(与人类经常接触的犬: 1035.9 ± 179.9 ng/g)^[35],之后略有下降。随着时间的推移,刻板行为从第 1 天的 35.7% 下降到第 6 天的 2.6%,结果表明,老年犬似乎在行为上适应了新环境,但需要超过 1 周的时间才能充分适应收容所中的新环境。然而,有作者指出,皮质醇的减少并不一定代表压力减少,他们认为长时间的压力使肾上腺变得“疲劳”而无法继续产生皮质醇,很有可能是 HPA 轴出现不正确反应才导致皮质醇水平下降^[9,29]。

接触人类可以减少犬对新环境的压力。Willen 等^[36]发现,30 min 的人类陪伴降低了新入收容所的犬血浆皮质醇浓度。Coppola 等^[4]研究表明,新入收容所的犬经过 30 ~ 90 min 的玩耍、梳毛、训练和散步,第 2 天的唾液皮质醇降低。van der laan 等^[37]发现新来收容所的犬会频繁地接近不熟悉的人并迅速形成依恋关系,犬增加了与人类的社会接触。接触人类对犬适应新环境的有益影响也已得到证实^[4,24,38],接触人类缓解了犬的 HPA 应激系统对新情况的敏感性。从这个意义上说,人类的陪伴能够抑制对新环境的压力反应^[39]。在压力期间,同种动物的存在可以使某些动物平静下来,这种现象被称为社会缓冲^[40]。但有人发现犬接触人类比接触犬同类更有利于犬的健康^[41]。在新环境中,犬皮质醇水平升高,有同伴犬陪伴发现皮质醇仍然升高,但如果在新环境中有人类陪伴,则皮质醇水平不会升高,而且经常观察到犬有接近人类的社会行为。关于人犬互动的文献有很多,但探索收容所环境中人犬互动作用的研究有限。对犬而言,玩具起着重要作用,可以作为新的刺激物打破犬舍的单调^[42]。对于猫来说,提供专门用于抓挠、攀爬的空间特别有用^[43]。收容所可根据物种的特性需求来丰富环境,以帮助它们应对新环境的压力源,并减少因压力导致的异常行为和刻板行为^[44]。

1.3 评估运输对犬的压力

运输对犬来说是一种新奇事物,综合了不同的

压力源,例如在运输过程中被关在狭窄的笼子里、车辆振动、交通噪音、未知环境、高温和装卸货等。公路和飞机运输都会对给犬带来压力^[45]。Horwitz^[46]的研究显示,犬在运输过程中的压力反应是恐惧或焦虑的结果。Beerda 等^[3]发现唾液皮质醇的水平从运输前的 3.6 ± 0.4 nmol/L 增加到到达后的 37.4 ± 8.2 nmol/L。Frank 等^[47]观察到皮质醇浓度在运输前和运输后均有所增加,飞机运输之前 (16.2 nmol/L) 和运输后 (14.8 nmol/L) 的平均唾液皮质醇浓度显著高于基线水平 12.6 nmol/L (最初采样时犬可能已经很兴奋)。结果表明,运输前和运输过程造成了高强度的压力。皮质醇在粪便中的代谢有滞后性,即应激的发生与粪便中出现皮质醇之间存在延迟时间。运输时的应激与粪便皮质醇峰值的延迟时间发生在动物装载后 47 h^[48]。

鉴于运输会引起生理应激反应,可采取适当措施,例如减少运输时间、改善运输条件(空间、通风、温度等)。重复运输过程也可减少犬压力反应,在一项研究中表明,直升机运输犬去搜救,犬被装载到直升机上飞行了 30 min,皮质醇仅适度增加(10% ~ 20%),唾液皮质醇从基础水平 5.4 μ g/L 增加到 6.4 μ g/L^[49],而且犬恢复良好,未影响搜索性能,皮质醇的变化程度比之前的研究要小,之前研究中,环境压力会导致犬血浆皮质醇增加高达 2 ~ 4 倍,45 min 后才能恢复到基础水平^[21],搜救犬的日常运输训练使犬对环境挑战产生较小的反应(即较小的皮质醇变化)。对人类的研究表明,训练有素且技术娴熟的运动员对压力源的反应明显低于未受过训练的运动员^[50]。马运输引起的应激反应也会随着反复运输而降低^[51]。

1.4 评估恶劣犬舍对犬的压力

大多数犬生活在犬舍里,犬舍的空间和条件对犬福利的影响非常大^[24]。Beerda 等^[52]认为居住条件恶劣的犬尿皮质醇水平升高并持续多年。由于犬舍环境的压力,犬表现出异常行为。犬在狭窄的犬舍空间中,表现最明显的异常行为就是刻板行为^[53]。重复的、无功能的行为被称为刻板行为。刻板行为与不佳环境之间存在高度相关性^[54]。将刻板行为视为福利受损和慢性压力已被广泛认可。犬刻板行为的具体表现是盘旋、反复在犬舍行走、踱步、从墙壁上弹起、食粪、大声吠叫等^[55]。与家庭环境相比,犬舍环境中的刻板行为发生率相对较高^[29]。Stephen 等^[56]发现,犬在犬舍中时间越长,

刻板行为发生率越高,而恐惧行为越少。工作犬,如警犬、军犬等,通常饲养在犬舍中,Denham 等^[57]发现工作犬中有 93% 表现出刻板行为。马利诺阿犬是中国工作犬品种之一,在密闭空间内通常会表现出盘旋的行为,据报道,马利诺阿犬的刻板行为率比其他工作犬品种更高,达 29.78% ~ 33.86%^[5],但比不盘旋的个体具有更强的工作欲望和主动性,工作性能更好^[58]。在评估刻板行为与皮质醇水平之间的关系中发现,无论是犬盘旋、踱步、吠叫等任何刻板行为和粪便皮质醇水平之间无相关性^[59],这个结果倾向于皮质醇水平和行为无关的结论^[8,33]。

一些研究表明,环境丰富可以有效地减少犬舍带来的压力,比如丰富犬舍内的玩具、训练和基础设施被证明是提高犬福利的有效方法,犬可以减少刻板行为、降低血浆皮质醇水平^[55]。工作犬的犬舍基础设施通常不丰富,一项改善研究是在犬舍周围铺设草坪(350 m²)、在犬舍的天花板上悬挂玩具(30 cm 黄麻抹布卷),犬刻板行为表现出降低趋势^[60],刻板行为的减少可以作为犬适应环境的良好指示。同时训导员将犬带到草坪区域互动,发现犬的粪便皮质醇水平显著降低,说明犬定期进行户外活动以及丰富的犬舍设施都可以成为减轻犬压力行为和生理的有效方法。

还有一种缓解措施,就是群养犬。Hetts 等^[61]指出,社会隔离可能比空间限制更有害。单独圈养的犬与成群圈养的犬的行为差异很大,单养犬的刻板行为时间为 4% ~ 5%;群养犬刻板行为时间为 0.9% ~ 2%,更多的行为表现是休息、游戏和社交互动^[55]。从福利的角度来看,群养是一种合适的选择,提供了与其他犬积极互动的机会,包括玩耍、陪伴、身体联系和社交。

2 皮质醇评估人压力与犬压力的相关性

2.1 人犬压力的同步性

犬是人类的驯化动物,犬和人类至少有 15 000 年的密切联系,有着独特的种间关系。犬和人类间会发生压力传染^[62]。Sundman 等^[63]评估犬与主人毛发中的皮质醇浓度,发现犬与人之间存在长期的种间应激激素同步,证实犬在很大程度上反映了主人的压力,主人体内皮质醇水平的增加伴随着犬体内皮质醇水平的增加。Ouellette 等^[64]明确报告说,

人类对犬皮质醇水平的变异性有很大的影响。人类母亲和孩子之间也存在皮质醇水平的同步性。主人的性格、责任心和开放性与犬的皮质醇水平存在相关性。Kotrschal 等^[65]发现,神经质主人的犬毛发皮质醇水平低,因为神经质主人与他们的犬形成了强烈的依恋联系。更有趣的是,人犬的压力同步与犬性别有关,公犬和母犬的毛发皮质醇水平均与主人的毛发皮质醇水平同步,母犬相关性更强,这与其他物种人类^[66]、大鼠^[67]的研究结果一致。Nagasawa 等^[68]发现母犬会表现出更高的情绪反应。主人的性别也会影响犬的行为反应,例如犬在被女性主人抚摸时比男性主人更放松^[69]。此外,男性主人的公犬比女性主人的公犬更善于交际和活跃^[65],并且在犬的依恋实验评估中,男性主人的公犬的皮质醇浓度最低^[70],这可能与人类与犬的互动态度有关^[71]。

2.2 人犬压力同步受犬工作性能的影响

工作犬是特殊用犬,人犬压力同步在工作犬中体现得尤为明显。工作犬在工作期间与它们的主人一样暴露于相同的压力源中。已经证实,人和犬以相似的方式对同压力刺激作出反应^[20]。在搜救犬考试期间,主人的压力会影响犬的压力水平。犬和主人的皮质醇水平存在强烈的显著正相关。Lit 等^[72]观察到犬考试失败后,皮质醇水平升高。Sümegi 等^[62]描述了类似的结论,当主人有压力时,犬在解决问题方面更差,认知能力也更差。犬可通过人类肢体语言和面部表情精准识别人类的情绪^[73]。搜救犬和主人每周都要进行数小时的训练,在共同完成任务的接触中,人与犬的相互理解进一步增强,这可能会导致更强的皮质醇相关性^[74]。在犬的敏捷性比赛中,证实了主人与犬之间皮质醇水平是同步的^[73]。之前的研究表明,训练和竞争会影响犬的社会行为^[75]和毛发皮质醇水平^[76]。赛犬与主人的皮质醇同步性比宠物犬与主人的关联性更强,如 Meyer 等^[74]的建议,许多犬主人应积极训练他们的犬参加敏捷性和服从性比赛,训练可能会增加情感上的亲密度,从而产生更强的同步性。

3 皮质醇可作为评估工作犬压力的标志物

3.1 评估工作犬的压力

工作犬在一些工作领域发挥着不可替代的作用,人类社会对专业工作犬的需求日益增加,如导

盲犬、搜毒犬、搜爆犬、搜救犬等。与家养犬相比,工作犬会暴露在许多具有挑战性的环境中,例如交通、噪音等干扰,与陌生环境、陌生人等压力源接触。它们更容易感受到压力和紧张,会出现异常行为,比如跑向或远离主人、反复转身、重复舔舐行为、过度警觉^[77]。压力导致的一系列消极表现会影响工作性能的发挥,也会有损其福利水平。

工作犬通常在压力大的情况下工作。例如 Wojtas 等^[78]表明救援搜索对工作犬来说是压力事件,这可以通过唾液皮质醇的升高来证明。还有一项专门对工作犬福利的研究,对德国牧羊犬、马利诺阿犬、杜宾犬和罗威纳犬 4 种工作犬进行皮质醇测定^[79],休息条件下的唾液皮质醇浓度平均在 $0.361 \sim 0.438 \mu\text{g}/\text{dL}$ 之间,而工作条件下的唾液皮质醇浓度平均在 $0.312 \sim 0.592 \mu\text{g}/\text{dL}$ 之间。犬的基础唾液皮质醇水平范围为 $0.02 \sim 0.3 \mu\text{g}/\text{dL}$ ^[80]。结果表明,即使在休息条件下,工作犬的皮质醇水平也很高,这意味着它们长时间承受压力。

在工作期间,各品种的工作犬之间的皮质醇水平没有显著性差异,这可能是因为犬处于相同的刺激下,训练程序和环境对于所有品种来说都是相同的,皮质醇水平基本没有差异^[5]。罗威纳犬($0.614 \mu\text{g}/\text{dL}$)和德国牧羊犬($0.567 \mu\text{g}/\text{dL}$)的唾液皮质醇水平略高于其他犬($P > 0.05$)。虽然德国牧羊犬皮质醇水平较高,但并没有表现与压力有关的行为,可能与体力工作相关^[63]。罗威纳犬的唾液皮质醇水平最高,在日常训练、休息或工作中,与其他受到相同刺激的工作犬相比,罗威纳犬会表现出更多的刻板行为,罗威纳犬可能更容易感受到压力。

3.2 评估犬在压力源中的恢复能力

在极度紧张的环境中完成任务后,合格的工作犬经过一段时间会表现出行为复原力。Elizabeth 等^[81]对 2001 年 9 月 11 日恐怖袭击事件参与救援工作的搜救犬进行了终生跟踪,以评估事件对其健康和行为的影响,研究表明,事件并未对搜救犬的行为产生不利影响,搜救犬在一定时间内能从强大的压力中恢复。Beerda 等^[21]也证明犬能从急性压力源中恢复,他发现,大多数犬在应激后 30 min 后,唾液皮质醇的峰值下降了一半,并在应激后 45 ~ 60 min 后恢复到基础水平。这表明,犬有能力从遭遇的压力源中恢复过来,这种从压力源中恢复的能力对于工作犬来说尤其重要,因为它们注定会定期暴露于潜在的压力源中。因此,Beerda 等^[21]认为

可通过皮质醇测试犬在压力源中的恢复能力来筛选工作犬。目前,筛选工作犬的常用方法是评估幼犬的警用素质。依据 6 月龄幼犬培训考核标准,考核包括发育状况、体能、服从性、胆量、衔取等,其中与应对压力相关的项目是胆量的考核。国内考核方法是:犬在牵引状态下能自由穿梭 6 人以上陌生人群,并能适应陌生人牵引、抚摸和 50 m 处声响刺激,对车辆行人不惊慌。国外的考核方法是考核犬应对各种突发刺激、新情况、触觉/音频刺激的表现,然后根据考核结果挑选警用性能良好的幼犬。在现有的工作犬筛选标准中,尚未评估犬在压力源中的恢复能力。可根据皮质醇的变化来评估工作犬能否应对将来的工作任务,例如犬在训练后,显示出唾液皮质醇升高但能恢复到基线值,可以认定该犬能够应对训练期间遇到的压力源,以此来衡量工作犬的应对压力能力,可以尽早发现具有潜力的工作犬,从而提高整体训练效果,有助于降低培训成本。

4 皮质醇测定与行为观察的相关性

犬暴露于以上的压力源时,除了皮质醇水平变化,往往在行为上也有所表现,比如,恐惧行为和刻板行为。恐惧行为中,犬降低姿势(包括身体蹲伏、尾巴低垂、耳朵后耷)是犬极度恐惧时最明显的行为表现,细微的行为表现是身体颤抖、吠叫、呜呜声、舔嘴唇、打哈欠、摇尾巴和抬起爪子等,各种表述不一致^[82];刻板行为中,多表现为盘旋、反复在犬舍行走、踱步、从墙壁上弹起、食粪、大声吠叫等^[55]。因此,很多人认为行为观察和皮质醇测定方法密切相关,行为特征与压力下的生理和神经内分泌反应有关^[83]。Hiby 等^[9]先前的研究表明,犬表现出恐惧行为和刻板行为越多,皮质醇水平越高。但 Beerda 等^[21]发现,压力行为与唾液、尿液皮质醇水平几乎没有显著的关联。目前,毛发样本是唯一发现皮质醇水平与压力行为(如躲藏、喘气、降低身体姿势)之间存在密切相关的测定方法,其他研究也报告犬的皮质醇水平与行为之间没有关系^[8,33]。尽管犬的行为观察和皮质醇测量之间是否存在相关性仍存在争议^[8],但这两项方法都在单独评估动物福利状况。例如,行为观察已被确立为评估犬应激的工具^[13],行为观察通常被认为是一个可靠的指标^[84]。因此,可坚持建议综合使用行为观察和皮质醇测定方法来共同研究犬的压力。

5 总结与展望

综上所述,国外皮质醇用于评估犬应激压力的研究蓬勃发展,且取得了一系列有意义的研究成果。通过测定皮质醇的水平可以评估犬在压力源下的福利状况,也可监测缓解犬压力的影响因素,进而指导完善减轻犬压力的措施。虽然皮质醇测定是评估 HPA 系统功能活动的最实用和最常见的测量方法,但皮质醇在压力评估中的可靠性仍受到质疑,因为皮质醇浓度变化受复杂机制的影响,许多因素会影响皮质醇水平,比如环境、个体、测定方法和时间变量^[85]。针对某个动物、某一个时间点上,确定影响皮质醇水平的因素不一定与压力事件相关^[86]。使用皮质醇作为压力指标,特别是从长远来看,仍然存在争议。为了更准确地评估犬的整体应激压力水平,建议参考多项参数,包括行为观察和其他的生理指标,如心率变异性(heart-rate variability, HRV)、催产素(oxytocin, OT)、分泌型免疫球蛋白 A(salivary immunoglobulin A, sIgA)、唾液 α -淀粉酶(salivary alpha-amylase)等^[87-88],以更可靠、更客观地评估犬的福利状况。

参 考 文 献(References)

- [1] Mormède P, Andanson S, Aupérin B, et al. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare [J]. *Physiol Behav*, 2007, 92(3): 317-339.
- [2] 胡越, 熊威威, 谭毅, 等. 不同急性应激反应大鼠模型的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(12): 51-54.
Hu Y, Xiong WW, Tan Y, et al. Comparison of different rat models of acute stress response [J]. *Chin J Comp Med*, 2016, 26(12): 51-54.
- [3] Beerda B, Schilder MB, Bernadina W, et al. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses [J]. *Physiol Behav*, 1999, 66(2): 243-254.
- [4] Coppola CL, Grandin T, Enns RM. Human interaction and cortisol: can human contact reduce stress for shelter dogs? [J]. *Physiol Behav*, 2006, 87(3): 537-541.
- [5] Haverbeke A, Diederich C, Depiereux E, et al. Cortisol and behavioral responses of working dogs to environmental challenges [J]. *Physiol Behav*, 2008, 93(1-2): 59-67.
- [6] Korchia J, Freeman K. Validation study of canine urine cortisol measurement with the Immulite 2000 Xpi cortisol immunoassay [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2021, 33: 1052-1068.
- [7] Megahed AA, Jones KL, Bisinotto RS, et al. Validation of a fully automated chemiluminescent immunoassay for cattle serum and plasma progesterone measurement [J]. *Front Vet Sci*, 2023, 9: 1064201.
- [8] Hennessy MB, Voith VL, Mazzei SJ, et al. Behavior and cortisol levels of dogs in a public animal shelter, and an exploration of the ability of these measures to predict problem behavior after adoption [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 2001, 73(3): 217-233.
- [9] Hiby EF, Rooney NJ, Bradshaw JWS. Behavioural and physiological responses of dogs entering re-homing kennels [J]. *Physiol Behav*, 2006, 89(3): 385-391.
- [10] Meunier S, Groessl M, Reusch C, et al. Salivary cortisol in healthy dogs: a randomized cross-over study to evaluate different saliva stimulation methods and their effects on saliva volume and cortisol concentration [J]. *BMC Vet Res*, 2021, 17(1): 194.
- [11] Touma C, Palme R. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1046: 54-74.
- [12] Storengen LM, Lingaas F. Noise sensitivity in 17 dog breeds: prevalence, breed risk and correlation with fear in other situations [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 2015, 171: 152-160.
- [13] Dreschel NA, Granger DA. Physiological and behavioral reactivity to stress in thunderstorm-phobic dogs and their caregivers [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 2005, 95(3-4): 153-168.
- [14] Dale AR, Walker JK, Farnworth MJ, et al. A survey of owners' perceptions of fear of fireworks in a sample of dogs and cats in New Zealand [J]. *N Z Vet J*, 2010, 58(6): 286-291.
- [15] Hydbring-Sandberg E, von Walter LW, Höglund K, et al. Physiological reactions to fear provocation in dogs [J]. *J Endocrinol*, 2004, 180(3): 439-448.
- [16] Blackwell EJ, Bradshaw JWS, Casey RA. Fear responses to noises in domestic dogs: prevalence, risk factors and co-occurrence with other fear related behaviour [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 2013, 145(1-2): 15-25.
- [17] Gin TE, Puchot ML, Cook AK. Impact of an auditory stimulus on baseline cortisol concentrations in clinically normal dogs [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2018, 64: 66-69.
- [18] Heffner H. Hearing in large and small dogs: absolute thresholds and size of the tympanic membrane [J]. *Behav Neurosci*, 1983, 97: 310-318.
- [19] Barber A, Wilkinson A, Montealegre ZF, et al. A comparison of hearing and auditory functioning between dogs and humans [J]. *Comp Cogn Behav Rev*, 2020, 15: 45-94.
- [20] Yong MH, Ruffman T. Emotional contagion: dogs and humans show a similar physiological response to human infant crying [J]. *Behav Process*, 2014, 108: 155-165.
- [21] Beerda B, Schilder MBH, van Hooff JARAM, et al. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 1998, 58(3-4): 365-381.
- [22] Weiss JM. Psychological factors in stress and disease [J]. *Sci Am*, 1972, 226(6): 104-113.
- [23] Dess NK, Linwick D, Patterson J, et al. Immediate and proactive effects of controllability and predictability on plasma cortisol responses to shocks in dogs [J]. *Behav Neurosci*, 1983, 97(6): 1005-1016.
- [24] Vieira de Castro AC, Fuchs D, Morello GM, et al. Does training method matter? Evidence for the negative impact of aversive-

- based methods on companion dog welfare [J]. PLoS One, 2020, 15(12): e0225023.
- [25] Mariti C, Pierantoni L, Sighieri C, et al. Guardians' perceptions of dogs' welfare and behaviors related to visiting the veterinary clinic [J]. J Appl Anim Welf Sci, 2017, 20(1): 24–33.
 - [26] Buttner AP. Neurobiological underpinnings of dogs' human-like social competence: how interactions between stress response systems and oxytocin mediate dogs' social skills [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2016, 71: 198–214.
 - [27] Hennessy MB, Davis HN, Williams MT, et al. Plasma cortisol levels of dogs at a County animal shelter [J]. Physiol Behav, 1997, 62(3): 485–490.
 - [28] Hennessy MB. Using hypothalamic-pituitary-adrenal measures for assessing and reducing the stress of dogs in shelters: a review [J]. Appl Anim Behav Sci, 2013, 149(1–4): 1–12.
 - [29] Protopopova A. Effects of sheltering on physiology, immune function, behavior, and the welfare of dogs [J]. Physiol Behav, 2016, 159: 95–103.
 - [30] Dudley ES. White blood cell counts, parasite prevalence, and plasma cortisol levels of dogs in a county animal shelter: changes over days and impact of a program of repeated human Interaction [D]. Dayton: Wright State University; 2014.
 - [31] Stephen JM, Ledger RA. A longitudinal evaluation of urinary cortisol in kennelled dogs, *Canis familiaris* [J]. Physiol Behav, 2006, 87(5): 911–916.
 - [32] Clark JD, Rager DR, Crowell-Davis S, et al. Housing and exercise of dogs: effects on behavior, immune function, and cortisol concentration [J]. Lab Anim Sci, 1997, 47(5): 500–510.
 - [33] Rooney NJ, Gaines SA, Bradshaw JWS. Behavioural and glucocorticoid responses of dogs (*Canis familiaris*) to kennelling: investigating mitigation of stress by prior habituation [J]. Physiol Behav, 2007, 92(5): 847–854.
 - [34] Part CE, Kiddie JL, Hayes WA, et al. Physiological, physical and behavioural changes in dogs (*Canis familiaris*) when kennelled: testing the validity of stress parameters [J]. Physiol Behav, 2014, 133: 260–271.
 - [35] Uetake K, Uchida H, Ishihara J, et al. Faecal corticosterone levels of dogs relinquished to a shelter in Japan [J]. Vet Rec Open, 2015, 2(2): e000139.
 - [36] Willen RM, Mutwill A, MacDonald LJ, et al. Factors determining the effects of human interaction on the cortisol levels of shelter dogs [J]. Appl Anim Behav Sci, 2017, 186: 41–48.
 - [37] van der Laan JE, Vinke CM, Arndt SS. Evaluation of hair cortisol as an indicator of long-term stress responses in dogs in an animal shelter and after subsequent adoption [J]. Sci Rep, 2022, 12: 5117.
 - [38] Hennessy MB, Morris A, Linden F. Evaluation of the effects of a socialization program in a prison on behavior and pituitary-adrenal hormone levels of shelter dogs [J]. Appl Anim Behav Sci, 2006, 99(1–2): 157–171.
 - [39] Pedretti G, Canori C, Marshall-Pescini S, et al. Audience effect on domestic dogs' behavioural displays and facial expressions [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 9747.
 - [40] Denomme MR, Mason G. Social buffering as a tool for improving rodent welfare [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2022, 61(1): 5–14.
 - [41] Valsecchi P, Pattacini O, Beretta V, et al. 13: effects of a human social enrichment program on behavior and welfare of sheltered dogs [J]. J Vet Behav Clin Appl Res, 2007, 2: 88–89.
 - [42] Wells DL. The influence of toys on the behaviour and welfare of kennelled dogs [J]. Animal Welf, 2004, 13(3): 367–373.
 - [43] Stella J, Croney C, Buffington T. Environmental factors that affect the behavior and welfare of domestic cats (*Felis silvestris catus*) housed in cages [J]. Appl Anim Behav Sci, 2014, 160: 94–105.
 - [44] Wells DL. Sensory stimulation as environmental enrichment for captive animals: a review [J]. Appl Anim Behav Sci, 2009, 118(1–2): 1–11.
 - [45] Liang W, Zeng L, Yu C, et al. Effect of flight transport stress on blood parameters in beagles and the anti-stress effect of Dangshen [J]. Anim Model Exp Med, 2018, 1(2): 162–168.
 - [46] Horwitz D. BSAVA manual of canine and feline behavioural medicine [M]. Philadelphia: British Small Animal Veterinary Association; 2009.
 - [47] Frank D, Gauthier A, Bergeron R. Placebo-controlled double-blind clomipramine trial for the treatment of anxiety or fear in beagles during ground transport [J]. La Revue Veterinaire Can, 2006, 47(11): 1102–1108.
 - [48] Shepherdson D, Lewis KD, Carlstead K, et al. Individual and environmental factors associated with stereotypic behavior and fecal glucocorticoid metabolite levels in zoo housed polar bears [J]. Appl Anim Behav Sci, 2013, 147(3–4): 268–277.
 - [49] Perry E, Gulson N, Liu Cross TW, et al. Physiological effects of stress related to helicopter travel in federal emergency management agency search-and-rescue canines [J]. J Nutr Sci, 2017, 6: e28.
 - [50] Rimmel U, Zellweger BC, Marti B, et al. Trained men show lower cortisol, heart rate and psychological responses to psychosocial stress compared with untrained men [J]. Psychoneuroendocrinology, 2007, 32(6): 627–635.
 - [51] Schmidt A, Hödl S, Möstl E, et al. Cortisol release, heart rate, and heart rate variability in transport-naïve horses during repeated road transport [J]. Domest Anim Endocrinol, 2010, 39(3): 205–213.
 - [52] Beerda B, Schilder MBH, van Hooff J. Behavioural and hormonal indicators of enduring environmental stress in dogs [J]. Anim Welf, 2000, 9(1): 49–62.
 - [53] Beerda B, Schilder MB, van Hooff JA, et al. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral responses [J]. Physiol Behav, 1999, 66(2): 233–242.
 - [54] Mason GJ. Stereotypies: a critical review [J]. Anim Behav, 1991, 41(6): 1015–1037.
 - [55] Hubrecht RC, Serpell JA, Poole TB. Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs [J]. Appl Anim Behav Sci, 1992, 34(4): 365–383.
 - [56] Stephen J, Ledger R. An audit of behavioral indicators of poor

- welfare in kenneled dogs in the United Kingdom [J]. J Appl Anim Welf Sci, 2005, 8: 79–95.
- [57] Denham HDC, Bradshaw JWS, Rooney NJ. Repetitive behaviour in kennelled domestic dog: Stereotypical or not? [J]. Physiol Behav, 2014, 128: 288–294.
- [58] Cao X, Irwin DM, Liu YH, et al. Balancing selection on CDH2 may be related to the behavioral features of the Belgian Malinois [J]. PLoS One, 2014, 9(10): e110075.
- [59] Nogueira LB, Palme R, Mendonça-Furtado O. Give them a toy or increase time out of kennel at lawn areas: what is the influence of these interventions on police dogs' welfare? [J]. Animals, 2021, 11(8): 2264.
- [60] Lefebvre D, Giffroy JM, Diederich C. Cortisol and behavioral responses to enrichment in military working dogs [J]. J Ethol, 2009, 27(2): 255–265.
- [61] Hettis S, Derrell Clark J, Calpin JP, et al. Influence of housing conditions on beagle behaviour [J]. Appl Anim Behav Sci, 1992, 34(1–2): 137–155.
- [62] Sümegi Z, Oláh K, Topál J. Emotional contagion in dogs as measured by change in cognitive task performance [J]. Appl Anim Behav Sci, 2014, 160: 106–115.
- [63] Sundman AS, van Poucke E, Svensson Holm AC, et al. Long-term stress levels are synchronized in dogs and their owners [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 7391.
- [64] Ouellette SJ, Russell E, Kryski KR, et al. Hair cortisol concentrations in higher- and lower-stress mother-daughter dyads: a pilot study of associations and moderators [J]. Dev Psychobiol, 2015, 57(5): 519–534.
- [65] Kotschal K, Schöberl I, Bauer B, et al. Dyadic relationships and operational performance of male and female owners and their male dogs [J]. Behav Processes, 2009, 81(3): 383–391.
- [66] Höglin A, van Poucke E, Katajamaa R, et al. Long-term stress in dogs is related to the human-dog relationship and personality traits [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 8612.
- [67] Ben-Ami Bartal I, Decety J, Mason P. Empathy and pro-social behavior in rats [J]. Science, 2011, 334(6061): 1427–1430.
- [68] Nagasawa M, Mitsui S, En S, et al. Social evolution. Oxytocin-gaze positive loop and the coevolution of human-dog bonds [J]. Science, 2015, 348(6232): 333–336.
- [69] Hennessy MB, Williams MT, Miller DD, et al. Influence of male and female petters on plasma cortisol and behaviour: can human interaction reduce the stress of dogs in a public animal shelter? [J]. Appl Anim Behav Sci, 1998, 61(1): 63–77.
- [70] Schöberl I, Beetz A, Solomon J, et al. Social factors influencing cortisol modulation in dogs during a strange situation procedure [J]. J Vet Behav, 2016, 11: 77–85.
- [71] Schöberl I, Wedl M, Beetz A, et al. Psychobiological factors affecting cortisol variability in human-dog dyads [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0170707.
- [72] Lit L, Boehm D, Marzke S, et al. Certification testing as an acute naturalistic stressor for disaster dog handlers [J]. Stress, 2010, 13(5): 392–401.
- [73] Jones AC, Josephs RA. Interspecies hormonal interactions between man and the domestic dog (*Canis familiaris*) [J]. Horm Behav, 2006, 50(3): 393–400.
- [74] Meyer I, Forkman B. Dog and owner characteristics affecting the dog-owner relationship [J]. J Vet Behav, 2014, 9(4): 143–150.
- [75] Marshall-Pescini S, Frazzi C, Valsecchi P. The effect of training and breed group on problem-solving behaviours in dogs [J]. Anim Cogn, 2016, 19(3): 571–579.
- [76] Roth LS, Faresjö Å, Theodorsson E, et al. Hair cortisol varies with season and lifestyle and relates to human interactions in German shepherd dogs [J]. Sci Rep, 2016, 6: 19631.
- [77] Mills D, Karagiannis C, Zuleh H. Stress—its effects on health and behavior: a guide for practitioners [J]. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2014, 44(3): 525–541.
- [78] Wojtaś J, Karpiński M, Czyżowski P. Salivary cortisol interactions in search and rescue dogs and their handlers [J]. Animals, 2020, 10(4): 595.
- [79] Arcuri GB, Pantoja MHA, Titto CG, et al. Preliminary analysis of reproductive, behavioral and physiological characteristics of military working dogs [J]. Anim Reprod, 2022, 19(1): e20210092.
- [80] Hekman JP, Karas AZ, Dreschel NA. Salivary cortisol concentrations and behavior in a population of healthy dogs hospitalized for elective procedures [J]. Appl Anim Behav Sci, 2012, 141(3): 149–157.
- [81] Elizabeth H, Kelsey Kathleen M, Niedermeyer Greta M, et al. Long-term behavioral resilience in search-and-rescue dogs responding to the September 11, 2001 terrorist attacks [J]. Appl Anim Behav Sci, 2021, 234: 105173.
- [82] Stellato AC, Flint HE, Widowski TM, et al. Assessment of fear-related behaviours displayed by companion dogs (*Canis familiaris*) in response to social and non-social stimuli [J]. Appl Anim Behav Sci, 2017, 188: 84–90.
- [83] Doerfler RL, Lehermeier C, Kliem H, et al. Physiological and behavioral responses of dairy cattle to the introduction of robot scrapers [J]. Front Vet Sci, 2016, 3: 106.
- [84] Mariti C, Gazzano A, Moore JL, et al. Perception of dogs' stress by their owners [J]. J Veter Behav, 2012, 7(4): 213–219.
- [85] Lensen RCMM, Moons CPH, Diederich C. Physiological stress reactivity and recovery related to behavioral traits in dogs (*Canis familiaris*) [J]. PLoS One, 2019, 14(9): e0222581.
- [86] Ralph CR, Tilbrook AJ. INVITED REVIEW: the usefulness of measuring glucocorticoids for assessing animal welfare [J]. J Anim Sci, 2016, 94(2): 457–470.
- [87] Clark JM, Sun D. Guidelines for the ethical review of laboratory animal welfare People's Republic of China National Standard GB/T 35892-2018 [J]. Anim Model Exp Med, 2020, 3: 103–113.
- [88] Kang EH, Park SH, Oh YI, et al. Assessment of salivary alpha-amylase and cortisol as a pain related stress biomarker in dogs pre-and post-operation [J]. BMC Vet Res, 2022, 18(1): 31.