

Marina Bacha Nascimento

Hipofagia induzida pela novidade em pombos (*Columba livia*): descrição das respostas comportamentais, dos efeitos da reexposição e das diferenças sexuais nestas respostas.

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a. Dr. José Marino Neto

Co-orientador: Fernando Falkenburger Melleu

Florianópolis

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bacha Nascimento, Marina

Hipofagia induzida pela novidade em pombos (*Columba livia*) : descrição das respostas comportamentais, dos efeitos da reexposição e das diferenças sexuais nestas respostas. / Marina Bacha Nascimento ; orientador, José Marino Neto ; coorientador, Fernando Falkenburger Melleu. Florianópolis, SC, 2015.

60 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Neurofisiologia comparada. 3. Etologia. 4. *Columba livia*. 5. Teste comportamental. I. Marino Neto, José. II. Falkenburger Melleu, Fernando. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Marina Bacha Nascimento

**Hipofagia induzida pela novidade em pombos (*Columba livia*):
descrição das respostas comportamentais, dos efeitos da reexposição
e das diferenças sexuais nestas respostas.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para a obtenção do título de “Bacharel em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Programa Curso de Ciências Biológicas.

Florianópolis, 07 de dezembro de 2015.

Prof.^a Dr.^a Maria Risoleta Freire Marques.
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Marino Neto
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Me. Fernando Falkenburger Melleu
Coorientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Ma. Karolina Domingues
Universidade Federal de Santa Catarina
Membro Titular

Mauro Federico Ramírez
Universidade Federal de Santa Catarina
Membro Titular

A todos os animais utilizados
no ensino da Biologia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, em especial a meus pais, Soraia e Álvaro e minha tia Alice por me apoiarem e me ajudarem em todas as minhas decisões.

Aos meus amigos que fiz durante esses seis anos de graduação. Minhas queridas amigas biológicas que vou levar sempre comigo, Anaclara, Maria Luíza, Sarah, Júlia, Adriana, Ariana, Jéssica, e Camila. As aulas não teriam a mesma graça sem vocês.

Agradeço a todos os professores do curso de Biologia da UFSC que sempre ajudaram fora da classe. Em especial ao meu Professor querido Paulo Simões Lopes por ter sido o melhor professor não só da graduação, mas o melhor professor que tive na vida.

Aos meus colegas do Laboratório de Neurofisiologia Comparada, em especial ao Fernando Melleu, meu coorientador que me ajudou muito nesses quatro anos de laboratório, com problemas de computadores e muito mais. Sempre deixando o clima do laboratório mais engraçado e interessante.

Agradeço é claro a todos os animais utilizados neste estudo, que foram tratados com muito amor.

Por último, mas muito importante, minha imensa gratidão ao meu professor e orientador José Marino Neto, por ser um excelente orientador, sempre muito presente e atencioso.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Foto da gaiola casa (A) no biotério setorial. Foto da gaiola experimental (ambiente novo) (B), na sala de experimento, com assoalho forrado e tampa de vidro. Flecha cinza apontando o comedouro com a ração palatável, e flecha vermelha apontando o bebedouro e câmara situada na região frontal á uma distância de 65 cm.....30
- Figura 2. Ambiente desconhecido e comportamento ingestivo em pombos: diferenças sexuais e efeitos da repetição. Totais em cada uma das repetições (primeira: Exp1; segunda: Exp2; terceira: Exp3), após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados dos machos (n=6), fêmeas (n=6), e do total de animais (n=12). (*) $p < 0,05$ comparado à Exp1 no mesmo sexo.....38
- Figura 3. Ambiente desconhecido e comportamento ingestivo em pombos: efeitos da repetição. Segmentos de 5 minutos em cada uma das repetições, após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados do total de animais (machos + fêmeas, n=12). (#) $p < 0,05$ comparado ao primeiro intervalo da mesma exposição mesmo intervalo. (*) $p < 0,05$ comparado à Exp1 no mesmo intervalo.....40
- Figura 4. Ambiente desconhecido e comportamentos exploratórios, locomotores e de manutenção em pombos: diferenças sexuais e efeitos da repetição. Totais em cada uma das repetições, após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados dos machos (n=6), fêmeas (n=6), e do total de animais (n=12). (*) $p < 0,05$ comparado à Exp1 no mesmo sexo.....43
- Figura 5. Ambiente desconhecido e comportamentos exploratórios, locomotores e de manutenção em pombos: efeitos da repetição. Segmentos de 5 minutos em cada uma das repetições, após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados do total de animais (machos + fêmeas, n=12). (*) $p < 0,05$ comparado à primeira exposição ao ambiente novo, no mesmo intervalo de tempo; (#) $p < 0,05$ comparado ao primeiro intervalo de tempo na mesma exposição.....45
- Figura 6. Relações e correlações entre comportamentos ingestivos e exploratórios, na primeira exposição ao ambiente desconhecido em pombos (n=12, 6 machos e 6 fêmeas). Dados em A e B expressos como

média ± EPM. (*) correlação significativa a $p < 0,05$ (teste de correlação de Spearman).....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comportamentos ingestivos e de manutenção no ambiente desconhecido: Efeito das repetições. Durações (em segundos), frequências (número de eventos nos 30 minutos do teste) e latência para o primeiro evento (em segundos). Os dados são expressos em média +/- EPM. (*) $p < 0,05$ comparado aos dados da Exposição 1.....	41
Tabela 2. Comportamentos de Exploração e Defesa no ambiente desconhecido com comida palatável. Efeito das repetições. Durações (em segundos), frequências (número de eventos nos 30 minutos do teste) e latência para o primeiro evento (em segundos). Os dados são expressos em média +/- EPM. (*) $p < 0,05$ comparado aos dados da Exposição 1.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A - Imobilidade alerta
AL - Autolimpeza
AP - Arrepiar as penas
BA - Bater de asas
B - Beber
CC - Comer do chão
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CN - Comportamento novo
CP - Comer ração palatável
Df - Degrees of freedom
DP - Desvio padrão
EA - Exploração do assoalho
EC - Exploração do comedouro
EPM - Erro padrão da média
Exp1 - Exposição 1
Exp2 - Exposição 2
FA - Friedman ANOVA
Exp3 - Exposição 3
GPC - Gramas por peso corporal
HIN - Hipofagia induzida pela novidade
L - Locomoção
M+F - Macho + fêmea
N - Número
P - Espiar
PC - Peso corporal
P.E. - Por exemplo
RN - Ração normal
RP - Ração palatável
UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina
V - Escanear
VG - Voar nas grades

Sumário

1 Introdução	23
2 Objetivos e hipóteses.....	27
2.1 Hipóteses	27
2.2 Objetivos gerais.....	27
2.3 Objetivos específicos.....	27
3 Metodologia	29
3.1 Animais	29
3.2 Teste de hipofagia induzida pela novidade	29
3.3 Análise dos vídeos comportamentais	30
3.4 Catálogo comportamental.....	31
3.4.1 Ingestão	31
3.4.2 Manutenção	31
3.4.3 Exploratório/Locomotor	31
3.5 Análise estatística.....	32
4 Resultados.....	35
4.1 Comportamento induzido por novidade em pombos: Análise qualitativa dos efeitos do sexo e da repetição	35
4.2 Comportamento induzido por novidade em pombos: efeitos do sexo e da repetição: Análise quantitativa.....	35
5 Discussão.....	49
6 Referências bibliográficas	55

Hipofagia induzida pela novidade em pombos (*Columba livia*): descrição das respostas comportamentais, dos efeitos da reexposição e das diferenças sexuais nestas respostas.

Resumo

A hipofagia induzida pela novidade tem sido estudada em mamíferos para descrever comportamentos relacionados à ansiedade, porém há poucos estudos registrados em aves. Submetemos 12 pombos (*Columba livia*), sendo 6 fêmeas e 6 machos, a este teste passando por 3 repetições registradas, com jejum de 4 horas, onde a novidade foi o ambiente. Na presença de uma comida palatável já conhecida, foram feitos registros de 30 minutos contados após o animal bicar pela primeira vez a ração, analisando-se latências, durações, frequências e durações médias para comportamentos catalogados. Através de análises não paramétricas, comparamos o efeito das 3 exposições, neste ambiente desconhecido, nos comportamentos relevantes e possíveis diferenças sexuais apresentadas na execução dos mesmos. Foram registradas diminuições significantes nas latências para comer nas segunda e terceira exposição, porém sem diferenças entre os sexos. Observamos uma pequena diferença nas estratégias utilizadas por machos e fêmeas para lidar com uma novidade e alcançar a saciedade. Pela segmentação em períodos de 5 minutos dos vídeos foi possível notar uma relação inversamente proporcional dos comportamentos exploratórios com o de ingestão de comida ao longo de todas as sessões. O presente trabalho pretende avaliar o valor dos testes baseados em hipofagia como uma ferramenta para investigar comportamentos de ansiedade e medo na espécie, bem como a influência das diferenças sexuais nessas respostas.

Palavras chave: Hipofagia; novidade; comportamento; ansiedade; pombo; sexo.

Abstract

The novelty suppressed feeding has been studied in mammals in order to describe anxiety-related behaviours, however there are few registered studies in birds. We have submitted 12 pigeons (*Columba livia*), with 6 males and 6 females to this test and repeated for 3 registered times, with a 4 hour fasting in which the novelty was the environment. With a palatable and known food, we recorded for 30 min counted after the animals first peck the food, analyzing latencies, durations, frequencies and mean durations of cataloged behaviours. Through non-parametric statistical analysis, we compared the effect of 3 repetitions in the relevant behaviours and possible sex differences presented. We registered significant decreases in the latency for eating in the second and third exposure, but no differences were found between sexes. We observed a small difference in the strategies used by males and females to deal with a novelty and to reach satiety. With the video segmentations in periods of 5 minutes we were able to note an inverse relationship between exploratory behaviors and food intake throughout all sessions. This paper aims to assess the value of tests based on the novelty suppressed feeding as a tool to investigate anxiety-related and fear behaviours in the species, as well as the influence of sex difference in those responses.

Key words: Novelty; suppressed; feeding; behaviour; anxiety; pigeon; sex.

1. Introdução

Medo e ansiedade são caracterizados por reações fisiológicas e comportamentais que preparam um indivíduo para enfrentar situações de perigo. Estas reações defensivas estão entre os padrões comportamentais mais prevalentes em todas as espécies animais (BLANCHARD et al., 1990). De fato, na natureza, a habilidade de indivíduos de uma dada espécie de executarem reações defensivas bem coordenadas é indispensável para sua sobrevivência, possuindo assim, um alto valor adaptativo.

Em laboratório, estudos sistemáticos de mecanismos relacionados ao medo envolvem a exposição de um animal a situações que lhe representam algum tipo de conflito que desencadeia esses comportamentos (GRIEBEL, 1995; RODGERS e DALVI, 1997; TREIT, 1985). Em experimentos que analisam o medo condicionado, quando há reações defensivas que podem ser desencadeadas nos animais após a apresentação de um estímulo aversivo (p.e. Choque na pata ou exposição ao predador) somado ao pareamento deste estímulo com um tom ou contexto ambiental. Ratos (*Rattus norvegicus*) quando expostos ao cheiro de um gato aprendem que o ambiente é nocivo, ao serem reintroduzidos, 24 horas depois, ao ambiente expressam o comportamento de imobilidade (Em inglês: “freezing”). Esse comportamento pode ser diminuído pela administração de fármacos que possuem efeito ansiolítico ou amnésico (KROON e CAROBREZ, 2009). Por outro lado, em estudos que testam respostas ao medo não condicionado são utilizados procedimentos mais etológicos que envolvem situações (novidade, presença de um predador, sua manipulação por humanos) que provocam reações comportamentais defensivas e espontâneas (ENNACEUR et al., 2006; LISTER, 1990; TREIT, 1985). Assim, essas respostas a situações vão variar de acordo com a espécie e o contexto.

Estudos em roedores utilizam modelos etológicos de ansiedade em testes de campo aberto, em que há a exposição do animal a um ambiente desconhecido. Nessa situação o conflito apresenta-se na manifestação ou de um comportamento de exploração ou uma imobilização por parte do animal (LISTER, 1990). Há também o teste caixa claro/escuro, o qual permite que o roedor explore livremente os compartimentos claro e/ou escuro, que variam em cor, tamanho e iluminação. Esses animais possuem uma aversão inata a áreas

iluminadas e abertas (HOLMES et al., 2001; HASCOËT et al., 2001; BOURIN e HASCOËT, 2002), fazendo-os, então, ter uma maior latência a se deslocar para áreas claras e maior permanência em áreas escuras. Nesse teste, o uso de fármacos ansiolíticos diminui a latência que o roedor leva a se deslocar para a área clara, sugerindo que a atividade exploratória não é um efeito motor generalizado (HASCOËT et al., 2001; BOURIN e HASCOËT, 2002), mostrando que essa latência pode estar envolvida no comportamento de ansiedade.

Em aves os comportamentos defensivos são aparentemente semelhantes aos de mamíferos, quando expostas a predadores ou novidades visuais, tais como ambientes desconhecidos (JONES e WADDINGTON, 1992; JONES, 1991; HAZARD et al., 2008; CALANDREAU et al., 2011). Em modelos de medo condicionado em pombos, se verificou o conflito entre a busca por comida e um elemento aversivo imposto, choque elétrico (KLEVEN e KOEK, 1996; 1999). Este teste consiste no estabelecimento do comportamento de bicar um disco, reforçado pela apresentação de comida ou pela apresentação de comida simultaneamente ao choque. Houve uma pequena taxa de bicadas à resposta punida, porém a resposta punida nos pombos foi aumentada com o uso do ansiolítico, o que se revela uma correlação positiva, com as doses desse mesmo fármaco, em humanos (KLEVEN e KOEK, 1996 e 1999). Estudos foram realizados em galinhas e codornas, da ordem Galliformes, sobre a resposta não condicionada ao medo, no teste do campo aberto em que o índice avaliado é a atividade exploratória. Concluiu-se que os comportamentos relacionados a essa exploração (caminhar, bicar o ambiente, exploração visual) apresentaram maior frequência na gaiola residente que no campo aberto, indicando que o medo exerce um efeito inibitório sobre a atividade exploratória (FAURE e COLS., 1983; JONES et al., 1991; MILLS e COLS., 1993; JONES e ROPER, 1997; CLARKE e JONES, 2000).

Estudos de medo não condicionado podem apresentar uma maior relevância para a ecologia de aves e contribuir para o entendimento dos comportamentos defensivos deste grupo. Atualmente, o teste de hipofagia induzida por novidade (HIN, novelty suppressed feeding) é usado em roedores para testar a possível ação ansiolítica e/ou antidepressiva de fármacos. Além do valor preditivo, esse teste fornece dados relevantes para a etologia e ecologia desses animais. (DULAWA e HEN, 2005). O teste de HIN é realizado colocando-se um animal (normalmente ratos ou camundongos) previamente privado de alimento

em uma arena desconhecida, sendo o tempo para o início do comportamento ingestivo um parâmetro importante para a avaliação do medo do animal em resposta a este ambiente novo (DULAWA e HEN, 2005). Este teste baseia-se no fato de que na natureza, roedores apresentam uma menor disposição para alimentarem-se em ambientes abertos e desconhecidos. Da mesma maneira, o comportamento ingestivo de aves na natureza parece ser especialmente sensível às condições ambientais. Várias espécies de aves diminuem a ingestão, aumentando a vigilância e a latência para voltarem a comer após serem apresentados a sons de alarme de coespecíficos ou mesmo de indivíduos de outras espécies (COLEMAN, 2008). Esses parâmetros também parecem sofrer alterações por variações do tamanho do grupo e da posição espacial dos animais no mesmo (DIAS, 2006; FERNÁNDEZ-JURICIC et al., 2007). Baseado nesses dados, um teste de HIN em aves poderia ter uma relevância para o entendimento dos comportamentos defensivos que fazem parte da ecologia desses animais. Ainda, dados não publicados do nosso laboratório mostraram que pombos expostos pela primeira vez a uma gaiola desconhecida, apesar de ingerirem alimento, não produzem todos os comportamentos de sua sequência comportamental de saciedade (SPUDEIT, 2013). Isto é, após a ingestão de alimento, diversas espécies (vertebrados e invertebrados) apresentam um conjunto de comportamentos pós-prandiais que se tornam prevalentes de forma sequencial (e.g. ingestão de água, autolimpeza e sono), e esses comportamentos, além dos ingestivos e vigilância, também parecem sofrer modificações em ambientes desconhecidos.

Diferenças sexuais podem ter influência em comportamentos envolvidos no medo e na ansiedade, podendo fazer com que machos e fêmeas respondam de maneiras diferentes a antidepressivos (CARRIER e KABBAJ, 2012). Na espécie humana, sabe-se que transtornos psiquiátricos apresentam diferenças sexuais nas diferenças sexuais têm grande influência em (LENSI et al., 1996). Mulheres possuem mais chances de desenvolverem depressão ou ansiedade, enquanto que homens é mais comum apresentarem transtornos obsessivos compulsivos. Testes realizados em ratos avaliaram comportamentos relacionados à ansiedade envolvendo possíveis diferenças sexuais nas respostas comportamentais a situações ansiogênicas, tendo em vista que mulheres possuem menos transportadores de serotonina no córtex prefrontal que os homens (OLIVER et al., 2008). Através de testes como os de campo aberto, labirinto em cruz elevado e HIN, onde apenas

no teste HIN houve diferença sexual em que o macho apresentou maior latência que a fêmea para se locomover até o comedouro situado em luz intensa.

Pombos domésticos estão presentes em muitos estudos de neurociência e são objeto de inúmeras pesquisas comportamentais, neuroquímicas e neuroanatômicas (BINGMAN et al., 2006; MEHLHORN e REHKÄMPER, 2009; NAKAMURA et al., 2011; REINER et al., 2004; SOUZA et al., 2009). Constituem uma espécie comumente utilizada inclusive na avaliação de base neurofarmacológica da ansiedade e dos efeitos de drogas ansiolíticas e antidepressivas (MANSBACH e BARRET, 1987; BARRET, 1993; BARRET e VANOVER, 1992). São bons animais para serem estudados na neurobiologia, pois não sofreram a ação de seleção artificial, tais como Galiformes. Todavia, os comportamentos e mecanismos defensivos de pombos em situações de perigo são pouco estudados, apesar de esses animais serem uma espécie muito adaptada ao ambiente urbano, onde exibem poucas manifestações aparentes de fuga e esquiva mesmo com intensa proximidade de humanos e animais domésticos considerados como possíveis predadores. Um estudo sistemático do comportamento de pombos frente a situações ameaçadoras pode contribuir para o melhor entendimento da evolução desses comportamentos e de seu valor adaptativo para a ecologia dessas aves.

2. Objetivos e hipóteses:

2.1 Hipóteses:

A exposição a um ambiente desconhecido pode fazer com que o animal diminua sua ingestão de alimento e realize mais comportamentos defensivos.

A reexposição a este ambiente pode diminuir comportamentos defensivos.

Machos e fêmeas devem usar estratégias diferentes para lidar com o ambiente novo e as repetições.

2.2 Objetivos Gerais

Neste projeto, procuramos investigar uma possível reação de hipofagia induzida pela novidade (HIN, introdução em um ambiente desconhecido) em pombos e os comportamentos prandiais/exploratórios após a primeira visita ao comedouro.

2.3 Objetivos Específicos

a) Descrever, qualitativa e quantitativamente, os comportamentos prandiais realizados por pombos expostos a um ambiente desconhecido contendo comida palatável conhecida.

b) Avaliar, em pombos, possíveis mudanças comportamentais desencadeadas por repetidas exposições ao ambiente acima indicado.

c) Avaliar e comparar as diferenças sexuais nas estratégias usadas nos comportamentos defensivos, exploratórios, ingestivos e de manutenção no ambiente desconhecido.

3. Metodologia

Os procedimentos abaixo relatados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC; protocolo PP00896-2014).

3.1. Animais

Para o experimento foram utilizados, no total, 12 pombos (*Columba livia*) de ambos os sexos, em idade reprodutiva, com peso corporal entre 350-400g oriundos do Biotério Central da UFSC. Os animais foram alojados no biotério setorial do laboratório de neurofisiologia comparada (com temperaturas entre 22-24°C e em um ciclo de claro/escuro de 12 horas), em gaiolas individuais de 50x50x40cm com assoalho forrado em papel jornal, água filtrada e ração para aves, os quais foram trocados a cada 3 dias. As gaiolas eram situadas lado à lado em distância aproximada, com possibilidade de ver os colegas. Após um período de adaptação de 10 dias ao biotério, foram iniciados os experimentos. Durante os 3 dias que precederam os experimentos foi apresentada uma ração palatável, contendo os grãos aveia, painço e girassol (proporções de 4:2:1), por 30 minutos para cada animal em sua gaiola casa.

3.2. Teste da hipofagia induzida pela novidade

Para este experimento foram usados 12 animais (6 machos e 6 fêmeas) que passaram pelo período de adaptação de 10 dias à gaiola casa nas condições citadas anteriormente. No 11º dia se teve o início do experimento, em que se foram usados 4 pombos por dia. Por volta das 10 horas da manhã do dia do experimento foi retirada a ração normal (RN) da gaiola dos dois primeiros animais a serem usados e às 11 horas foi retirada dos outros dois animais. Esse procedimento ocorre para que haja um jejum de 4 horas antes do experimento, lembrando que esse tempo não é suficiente para o animal sentir fome, apenas esvaziar o papo. Após as 4 horas, um animal por vez foi retirado de sua gaiola-casa e transportado com sua cabeça vendada para uma sala individual com iluminação artificial branca em uma gaiola de tamanho 70x70x40 (maior e diferente da que o animal estava habituado). Dentro dela, havia, ao lado oposto de onde o animal é gentilmente colocado, um

recipiente que foi pesado anteriormente, com a ração palatável (RP) e outro com a água. Dois animais foram usados simultaneamente em duas gaiolas experimentais similares localizadas em salas separadas. O experimento foi realizado às 14 horas com dois pombos e às 15 horas com os outros dois animais. O registro, feito por uma câmera instalada na parte frontal da gaiola, seguiu-se por 30 minutos após a primeira bicada no comedouro; latências maiores que 30 minutos para iniciar a ingestão da RP foram assumidas como comportamento refratário ao teste. Após o experimento o animal foi transportado de volta à gaiola casa com sua cabeça coberta e sua ração normal de volta na gaiola. A RP foi pesada antes e após o experimento (recolhendo também do assoalho). Foram registradas as durações (tempo em que o animal permanece realizando o comportamento em segundos), latências (tempo que o animal leva para realizar o comportamento pela primeira vez, em segundos) e frequências (quantidade de vezes em que o animal realiza o comportamento) de comportamentos de acordo com o catálogo comportamental desenvolvido pelo nosso laboratório. O intervalo entre cada exposição durou 7 dias e esse experimento foi repetido 3 vezes para cada animal.

Figura - 1 (A) Foto da gaiola casa no biotério setorial. (B) Foto da gaiola experimental (ambiente novo), na sala de experimento, com assoalho forrado e tampa de vidro. Flecha cinza apontando o comedouro com a ração palatável, e flecha vermelha apontando o bebedouro e câmera situada na altura da metade da gaiola, na região frontal á uma distância de 65 cm.



3.3. Análise dos vídeos comportamentais

Para a realização da análise dos dados coletados durante as filmagens foi utilizado o programa Ethowatcher (CRISPIM et al., 2012), desenvolvido em nosso laboratório, com a utilização de um catálogo

comportamental descrito pelo laboratório. O ponto de início da análise do vídeo se dá quando a pessoa que transportou o animal até a gaiola experimental se ausenta da imagem.

3.4. Catálogo comportamental

3.4.1. Ingestão

BEBER, B - O animal introduz o bico no frasco de água e a suga, podendo fazer bolhas de ar, dentro do bebedouro. Observam-se movimentos da parte anterior do pescoço do animal.

COMER RAÇÃO PALATÁVEL, CP - O animal ingere a comida palatável presente no recipiente. Observam-se movimentos da parte anterior do pescoço do animal.

COMER DO CHÃO, CC - O animal pega a ração palatável do chão e a deglute.

3.4.2. Manutenção

ARREPIAR AS PENAS, AP - O animal altera a configuração normal das penas em relação à pele, deixando-as longe do contato com o corpo, eriçando-as. Através desse comportamento, o corpo do animal adquire um aspecto mais volumoso.

AUTOLIMPEZA, AL - O animal toca as próprias penas com o bico ou patas, fazendo movimentos repetitivos de puxar, separar, coçar ou bicar as penas.

3.4.3. Exploratório/Locomotor

ESCANEAR, V - O animal de olhos abertos, com uma ou duas patas fixas no assoalho, apresenta rotações da cabeça nos eixos laterolateral ou rostro-caudal com alterações da angulação do pescoço. Considerar esse evento com duração e frequência.

ESPIAR (“peeping”), P - O animal está de olhos abertos, com uma ou duas patas fixas ao assoalho, apresenta movimentos balísticos lineares e rotações da cabeça (sem tocar objetos com o bico). Considerar o evento com duração e frequência.

EXPLORAÇÃO DO ASSOALHO, EA - O animal apresenta-se com a cabeça voltada para a superfície a ser explorada, tocando o bico no

assoalho, podendo estar com uma ou duas patas fixas ao chão, ou retirando uma por vez do contato com o chão.

EXPLORAÇÃO DO COMEDOURO, EC – O animal explora com o bico o comedouro.

LOCOMOÇÃO, L - O animal retira uma pata por vez do contato com o assoalho da gaiola (com ou sem auxílio do movimento de bater asas). Pode realizar o espiar ao mesmo tempo, porém será contada apenas a locomoção enquanto o animal estiver em movimento.

BATER DE ASAS, BA - O animal, com as patas fixas no assoalho, realiza a extensão das asas e em seguida movimentos para cima e para baixo das mesmas, batendo as asas. Considerar o evento em duração e frequência.

IMOBILIDADE ALERTA, A - O animal fica com uma ou duas patas fixas ao assoalho, com a postura totalmente ereta, com os olhos totalmente abertos ou piscando rapidamente podendo executar movimentos suaves com a cabeça. É um comportamento com o intuito de vigiar o ambiente semelhante ao comportamento de vigília, porém o animal está imóvel.

VOAR NAS GRADES, VG – O animal bate as asas e realiza pequenos voos podendo se segurar nas grades sugerindo um comportamento de fuga.

COMPORTAMENTO NOVO, CN (1, 2, 3...) – O animal exhibe um ou mais comportamentos não descritos no catálogo. Neste experimento o único comportamento observado que não estava presente no catálogo foi o de balançar as penas posteriores num movimento horizontal.

3.5. Análise estatística

Todos os dados foram analisados quanto a sua normalidade, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnoff, e homocedasticidade, estabelecida pelo teste estatístico de Levene. Os resultados destes testes indicaram o uso de testes não paramétricos nas comparações entre os grupos experimentais. A descrição quantitativa dos comportamentos exibidos nas 3 exposições ao ambiente novo incluiu uma análise das possíveis diferenças entre machos (n=6) e fêmeas(n=6). As comparações entre as diferentes exposições foram avaliadas com uma ANOVA não paramétrica (ANOVA de Friedman para medidas repetidas), seguidos pelo teste post hoc de Wilcoxon, quando a ANOVA não-paramétrica indicava diferença significativa entre os grupos. As comparações entre os

sexos foram realizadas pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Estes procedimentos foram realizados usando o programa Statistica (versão 8.0, Statsoft, Tulsa, Oklahoma) e consideraram um $p < 0,05$ como indicativo de diferença significativa entre os dados em comparação. Todos os dados são representados graficamente e em tabelas na forma de média \pm erro padrão da média.

4. Resultados

4.1. Comportamento induzido por novidade em pombos: Análise qualitativa dos efeitos da repetição.

Foi notado que a maioria dos animais fazia maior comportamento de exploração (espiar, ou peeping) na 1ª exposição à gaiola experimental antes da primeira bicada ao comedouro e após essa, durante os primeiros momentos da ingestão de comida, era mais frequente o comportamento de vigilância intercalando os comportamentos de vigilância (V) e comer a comida palatável no comedouro (CP). Muitos dos animais, durante a primeira exposição à gaiola experimental, ao serem colocados dentro da mesma permaneciam parados executando apenas o comportamento de espiar. Em sequência iniciavam um espiar mais intenso com alongamento do pescoço na direção do comedouro para que então se iniciasse a locomoção com curtos passos intercalados com o espiar.

Após a primeira bicada do animal no comedouro, foi comum observar que alguns animais balançavam o comedouro e uma parte da comida caía sobre o assoalho e muitos deles começaram a forragear no chão. Também se observou uma locomoção de 360 graus partindo do comedouro durante os primeiros períodos de ingestão. O comportamento de manutenção de auto limpeza (AL) se apresentou de duas maneiras distintas: uma auto limpeza rápida seguida de espiar ou escanear o ambiente ou uma auto limpeza mais duradoura seguida de arrepiar penas e uma agitação breve das penas e asas.

A maioria dos animais na 3ª exposição já fazia menos comportamento de espiar durante a latência para comer muitas vezes indo direto ao comedouro ao ser colocado na gaiola experimental, antes mesmo que a pessoa que o transportou deixasse a sala. O único comportamento novo (CN) apresentado descrito que o catálogo não continha foi o de agitar a cauda, no qual o animal faz o movimento no sentido horizontal das penas da região posterior.

4.2. Comportamento induzido por novidade em pombos: efeitos do sexo e da repetição: Análise quantitativa.

A **latência para comer**, alta na primeira exposição (248 ± 62 s), diminui significativamente com a repetição do teste (machos +

fêmeas: Friedman ANOVA Chi Sqr. (FA) (N = 12, df = 2) = 20,66 p = 0,00003) para 45 ± 12 s no segundo teste e para 26 ± 11 s no terceiro teste (Fig 2 A). Fêmeas (FA: (N = 6, df = 2) = 9,3 p = 0,009) e machos (FA: (N = 6, df = 2) = 12,00 p = 0,002) apresentaram reduções semelhantes, mas não observamos diferenças significantes entre machos e fêmeas nesta redução de latência (Fig 2 A).

A **duração total do comportamento de comer no comedouro** também foi significantemente afetada pela repetição (machos + fêmeas: FA: (N = 12, df = 2) = 11,16 p = 0,003), **aumentando** na segunda exposição e dobrando na terceira exposição em comparação com a primeira exposição (Fig. 2D). Observamos aumentos marginalmente significantes na duração de comer ao longo das repetições nas fêmeas (FA: (N = 6, df = 2) = 5,3 p = 0,06) e nos machos (FA: (N = 6, df = 2) = 5,33 p = 0,07) (Fig. 2D) sem diferenças significantes entre machos e fêmeas.

Durante o comportamento de **comer no comedouro**, parte variável e significativa do alimento bicado no comedouro cai ao chão, e pode ser coletado e ingerido pelo animal durante a sessão experimental. A duração do comportamento de **comer a comida espalhada do chão** não se modificou ao longo das exposições nas fêmeas nem no total dos animais, mas diminuiu significantemente nos machos (FA: (N = 6, df = 2) = 6,3 p = 0,04) (Fig. 2G) durante a ultima exposição. Quando somamos as durações de **comer do comedouro** e **comer do chão**, notamos que o tempo total devotado a coletar alimento não se modificou no total dos animais (machos + fêmeas; FA: (N = 12, df = 2) = 4,6 p = ,09) nem nos machos (FA: (N = 6, df = 2) = 0,33 p = 0,8), mas sofreu um aumento modesto porem significante nas fêmeas (FA: (N = 6, df = 2) = 6,3 p = 0,04) na terceira exposição ao ambiente.

Da mesma forma, a **frequência de comer** (Fig. 2L) (machos + fêmeas: FA: (N = 12, df = 2) = 2,0 p = 0,3) e a **quantidade de alimentos ingeridos** (Fig. 2B) nos 30 minutos após o início da ingestão (entre 3-4 g/100 g de peso corporal ; machos + fêmeas: FA: (N = 12, df = 2) = 4,50 p = 0,1; não se modificaram ao longo das repetições. No entanto, a ingestão de alimentos na primeira exposição foi significantemente **menor** em relação às seguintes nos machos (FA: (N = 6, df = 2) = 6,3 p = 0,042), mas não nas fêmeas (FA: (N = 6, df = 2) = 0,33 p = 0,84). A frequência de comer (Fig. 2L) não se modificou com as repetições nas fêmeas (FA: (N = 6, df = 2) = 1,0 p = 0,6) ou nos

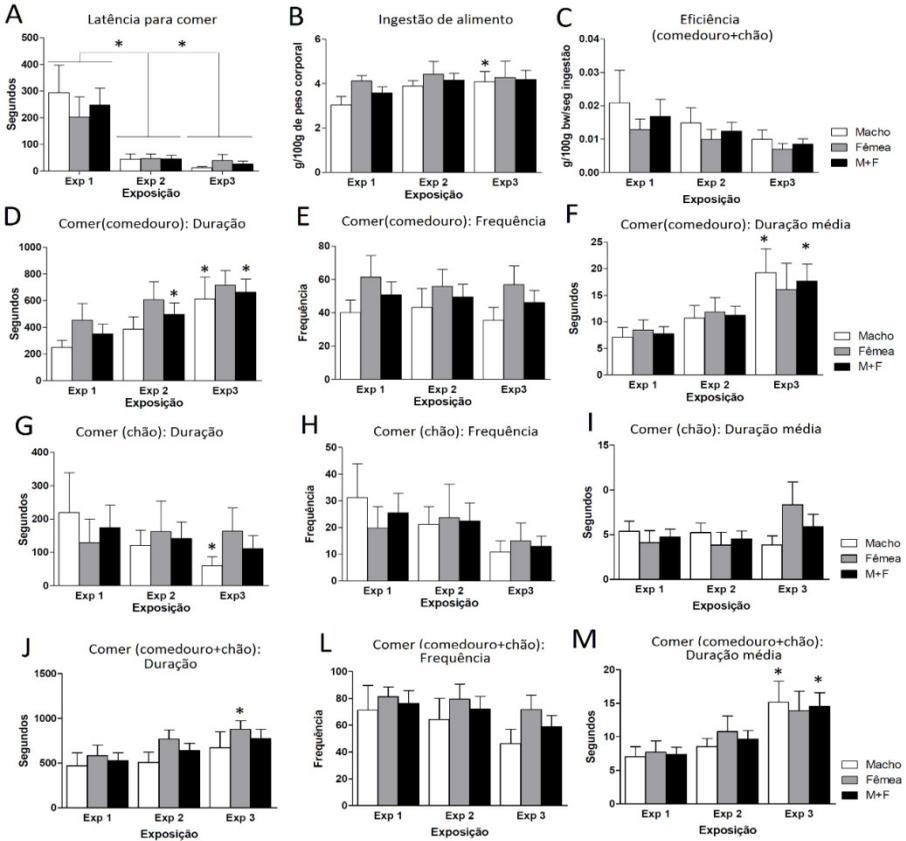
machos (FA: (N = 6, df = 2) = 1,0 p = 0,6), nem observamos diferenças entre machos e fêmeas neste índice.

Para esclarecer estes efeitos, calculamos a **duração média** dos episódios ingestivos (duração total de comer do comedouro + chão/frequência de comer do comedouro + chão) e um índice de “**eficiência ingestiva**” (gramas de alimento ingeridas/100 g pc/duração **total** de comer do comedouro + chão) para cada um dos testes. A **duração média** dos episódios de comer aumenta significativamente (Figuras 2F, I e M) com a repetição dos testes (machos + fêmeas: FA: (N = 12, df = 2) = 13,167 p = 0,001; Fig. 2F) e este efeito pode ser observado nos machos (FA: (N = 6, df = 2) = 9,3 p = 0,009), mas não nas fêmeas ((N = 6, df = 2) = 4,33 p = 0,11). Não observamos mudança significativa na **eficiência ingestiva** (Figura 2C) entre as diferentes exposições (machos + fêmeas: FA: (N = 12, df = 2) = 3,50 p = 0,17), e isto se repete nos machos (FA: (N = 6, df = 2) = 0,33 p = 0,84) e nas fêmeas (FA: (N = 6, df = 2) = 4,3 p = 0,11). Comparações entre o desempenho de machos e de fêmeas usando o teste não paramétrico de Mann-Whitney **não indicaram diferenças significantes** em relação às frequências, latências e durações destes índices ingestivos, em nenhuma das exposições.

Em resumo, a introdução ao ambiente novo provoca uma grande latência para iniciar a comer a comida palatável, que é reduzida na segunda e terceira exposição. Além disto, o tempo total devotado à ingestão de alimentos tende a aumentar de forma discreta, porém significativa ao longo das repetidas exposições. Machos e fêmeas diferem na forma como alcançam este aumento: enquanto machos comem proporcionalmente mais do comedouro e menos do chão com o passar das repetições, as fêmeas alcançam este aumento na ingestão total por um efeito aditivo entre a ingestão do chão e do comedouro. Além disto, machos tendem a comer menos e em episódios de duração média menor na primeira exposição, enquanto as fêmeas mantêm tanto a ingestão quanto as durações médias constantes ao longo das 3 exposições ao ambiente desconhecido. Deve ser notado, contudo, que machos e fêmeas não diferiram em duração, frequência ou latência de seus comportamentos, quando comparados dentro de cada uma das exposições.

Figura 2 – Ambiente desconhecido e comportamento ingestivo em pombos: diferenças sexuais e efeitos da repetição. Totais em cada uma das repetições

(primeira: Exp1; segunda: Exp2; terceira: Exp3), após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados dos machos (n=6), fêmeas (n=6), e do total de animais (n=12). (* $p < 0,05$ comparado à Exp1 no mesmo sexo).



A análise da distribuição temporal destes comportamentos ingestivos ao longo dos 30 minutos de registro, segmentados em períodos de 5 minutos, indica que a duração (M+F: (N = 12, df = 5) = 35,55 p = 0,0001; Macho: (N = 6, df = 5) = 18,53 p = 0,002 ; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 17,42 p = 0,003) e a frequência (M+F: (N = 12, df = 5) = 34,26 p = 0,0001; Macho: (N = 6, df = 5) = 22,18 p = 0,0004; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 13,50 p = 0,019) de comer do comedouro decaíram significativamente ao longo da primeira sessão de registro sem diferenças significantes entre os sexos. Este decréscimo foi igualmente significativo nas duas últimas exposições (Figura 3 A e B). No entanto, as durações e frequências de comer do chão mantem-se inalteradas ao longo da primeira exposição no total dos animais, nos machos e nas fêmeas, e esta estabilidade mantêm-se na segunda e terceira exposição nos grupos experimentais, sem diferenças significantes entre os sexos (Figura 3 C e D). O tempo total devotado a comer (chão + comedouro Figura 3 E e F) também diminuiu significativamente ao longo da primeira sessão de registro (M+F: (N = 12, df = 5) = 39,06 p = 0,00001; Macho: (N = 6, df = 5) = 23,65 p = 0,0002; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 18,09 p = 0,002). Quedas significantes na duração total de comer ao longo da segunda e terceira exposições foram também observadas, mas comparações entre machos e de fêmeas usando o teste não paramétrico de Mann-Whitney não indicaram diferenças significantes em relação às frequências, e durações destes índices ingestivos, em nenhuma das exposições ou período intra-sessão analisado.

Figura 3 - Ambiente desconhecido e comportamento ingestivo em pombos: efeitos da repetição. Segmentos de 5 minutos em cada uma das repetições, após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média ± EPM dos dados do total de animais (machos + fêmeas, n=12). (#) p<0,05 comparado ao primeiro intervalo da mesma exposição mesmo intervalo. (*) p<0,05 comparado à Exp1 no mesmo intervalo.

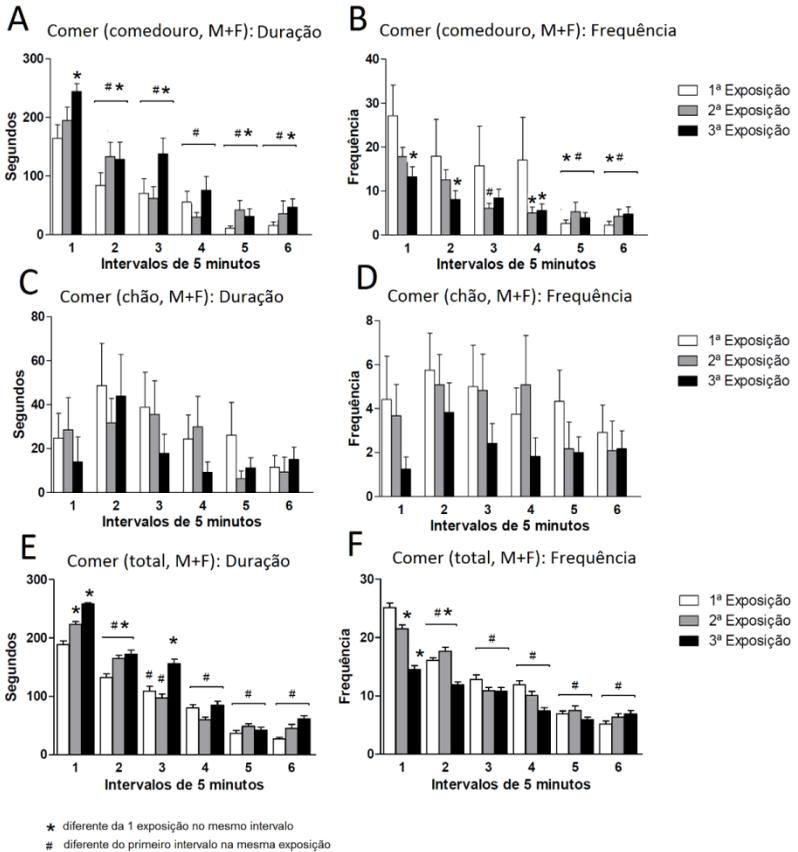


Tabela1. Comportamentos ingestivos e de manutenção no ambiente desconhecido: Efeito das repetições, Durações (em segundos), frequências (numero de eventos nos 30 minutos do teste) e latência para o primeiro evento (em segundos. Os dados são expressos em média \pm - EPM. (*) $p<0,05$ comparado aos dados da Exposição 1

Comportamento	Exposição 1			Exposição 2			Exposição 3		
	Macho (N=6)	Fêmea (N=6)	M:F (N=12)	Macho (N=6)	Fêmea (N=6)	M:F (N=12)	Macho (N=6)	Fêmea (N=6)	M:F (N=12)
Ingestão (μ l/100 g/pe)	3,04 \pm 0,39	4,12 \pm 0,24	3,58 \pm 0,27	3,39 \pm 0,24	4,42 \pm 0,38	4,16 \pm 0,41	4,08\pm0,47	4,28 \pm 0,73	4,18 \pm 0,41
Comer do Comedouro									
Duração (s)	249,21 \pm 54,08	453,87 \pm 123,9	351,54 \pm 11,87	387,34 \pm 97,89	607,31 \pm 135,69	497,33\pm84,37	612,02\pm166,02	715,82 \pm 109,86	683,97\pm96,19
Frequência	40,17 \pm 7,38	61,51 \pm 12,80	50,83 \pm 7,74	43,17 \pm 11,50	55,83 \pm 10,28	49,50 \pm 7,60	35,50 \pm 7,68	56,83 \pm 11,27	46,17 \pm 7,25
Latência	293,83 \pm 103,52	202,50 \pm 75,73	248,17 \pm 62,68	44,67\pm20,03	46,67\pm17,62	45,67\pm12,72	12,83\pm4,01	39,33\pm23,10	26,08\pm11,87
Comer do Chão									
Duração	219,19 \pm 7,19	129,18 \pm 70,78	174,19 \pm 67,68	120,81 \pm 119,74	162,02 \pm 92,11	141,41 \pm 49,40	59,39\pm27,47	163,48 \pm 70,06	111,43 \pm 39,16
Frequência	31,17 \pm 12,72	19,83 \pm 8,01	25,50 \pm 7,37	21,17 \pm 6,70	23,67 \pm 12,53	22,42 \pm 6,79	10,83\pm4,19	15,00 \pm 6,69	12,92\pm3,81
Comer Total									
Duração	468,40 \pm 146,53	583,05 \pm 118,69	525,73 \pm 91,55	508,15 \pm 115,58	769,33 \pm 101,10	638,74 \pm 83,12	671,41\pm178,72	879,33\pm94,45	775,41\pm101,34
Frequência	71,33 \pm 18,46	81,33 \pm 7,18	76,33 \pm 9,57	64,33 \pm 15,66	79,50 \pm 11,13	71,92 \pm 9,52	46,33 \pm 10,73	71,33 \pm 10,56	59,08 \pm 8,14
Autolimpeza									
Duração	37,23 \pm 19,04	27,12 \pm 10,42	32,17 \pm 10,46	50,48 \pm 30,91	13,40\pm4,67	31,94 \pm 15,92	31,31 \pm 14,53	13,85 \pm 7,53	22,58 \pm 8,23
Frequência	8,00 \pm 2,56	9,00 \pm 3,09	8,50 \pm 1,92	11,83 \pm 5,70	7,00 \pm 2,25	9,42 \pm 3,01	9,67 \pm 2,88	5,67\pm2,40	7,67 \pm 1,89
Agitar Cauda									
Duração	0,18 \pm 0,18	1,84 \pm 1,53	1,01 \pm 0,76	1,49 \pm 0,89	2,71 \pm 0,98	2,10 \pm 0,66	2,12 \pm 0,65	3,10 \pm 1,02	2,61 \pm 0,60
Frequência	0,17 \pm 0,17	0,83 \pm 0,65	0,50 \pm 0,34	1,00 \pm 0,63	1,67 \pm 0,56	1,33 \pm 0,41	1,50 \pm 0,56	2,00 \pm 0,68	1,75 \pm 0,43

A duração de **espiar** não muda com as exposições (M+F: (N = 12, df = 2) = 1,166667 p = 0,54; macho: (N = 6, df = 2) = 1,0 p = 0,60; fêmea: (N = 6, df = 2) = 0,33 p = 0,84) nem com o sexo. No entanto, a frequência de **espiar** diminui significativamente na terceira exposição (M+F: (N = 12, df = 2) = 8,16 p = 0,016; fêmeas: (N = 6, df = 2) = 9,33 p = 0,009), exceto nos machos, nos quais este comportamento permanece constante ao longo das exposições ((N = 6, df = 2) = 1,00 p = 0,60; Figura 4 A e B). A duração de **escanear** não muda significativamente ao longo das sessões no total dos animais, nem nas fêmeas, mas decai nos machos (N = 6, df = 2) = 6,33 p = 0,042), enquanto as frequências deste comportamento permanecem constantes ao longo das repetições. Figura 4 C e D). A duração do comportamento de bater asas (tabela 2) aumenta no total dos animais (M+F: (N = 12, df = 2) = 12,33 p = 0,002) e nas fêmeas (N = 6, df = 2) = 10,17 p = 0,006) nas duas últimas exposições, mas não nos machos, nos quais não observamos uma mudança significativa neste comportamento. A frequência deste comportamento e os índices relativos aos outros comportamentos não apresentaram mudanças significantes ou consistentes ao longo das exposições.

A análise das sessões segmentadas em períodos de 5 minutos indicou aumento significativo nas durações (M+F: (N = 12, df = 5) = 32,55 p = 0,001; Macho: (N = 6, df = 5) = 17,9 p = 0,002 ; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 18,42 p = 0,004) e na frequência de espiar (M+F: (N = 12, df = 5) = 31,2 p = 0,001; Macho: (N = 6, df = 5) = 23,3 p = 0,004; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 13,00 p = 0,02), bem como as durações (M+F: (N = 12, df = 5) = 25,55 p = 0,01; Macho: (N = 6, df = 5) = 15,2 p = 0,02 ; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 19,42 p = 0,003) e a frequência (M+F: (N = 12, df = 5) = 32,26 p = 0,001; Macho: (N = 6, df = 5) = 25,9 p = 0,004; Fêmea: (N = 6, df = 5) = 12,50 p = 0,01) de escanear (Figura 5). As análises post-hoc destes comportamentos indicaram que as durações e frequências de espiar são significativamente menores no primeiro segmento de 5 minutos que nos segmentos seguintes ao longo de todas as sessões. Além disto, a frequência e a duração de espiar diminui significativamente nos primeiros 5-10 minutos da terceira sessão, em comparação com a primeira exposição ao ambiente novo.

Figura 4 - Ambiente desconhecido e comportamentos exploratórios, locomotores e de manutenção em pombos: diferenças sexuais e efeitos da repetição. Totais em cada uma das repetições, após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados dos machos (n=6), fêmeas (n=6), e do total de animais (n=12). (*) $p < 0,05$ comparado à Exp1 no mesmo sexo.

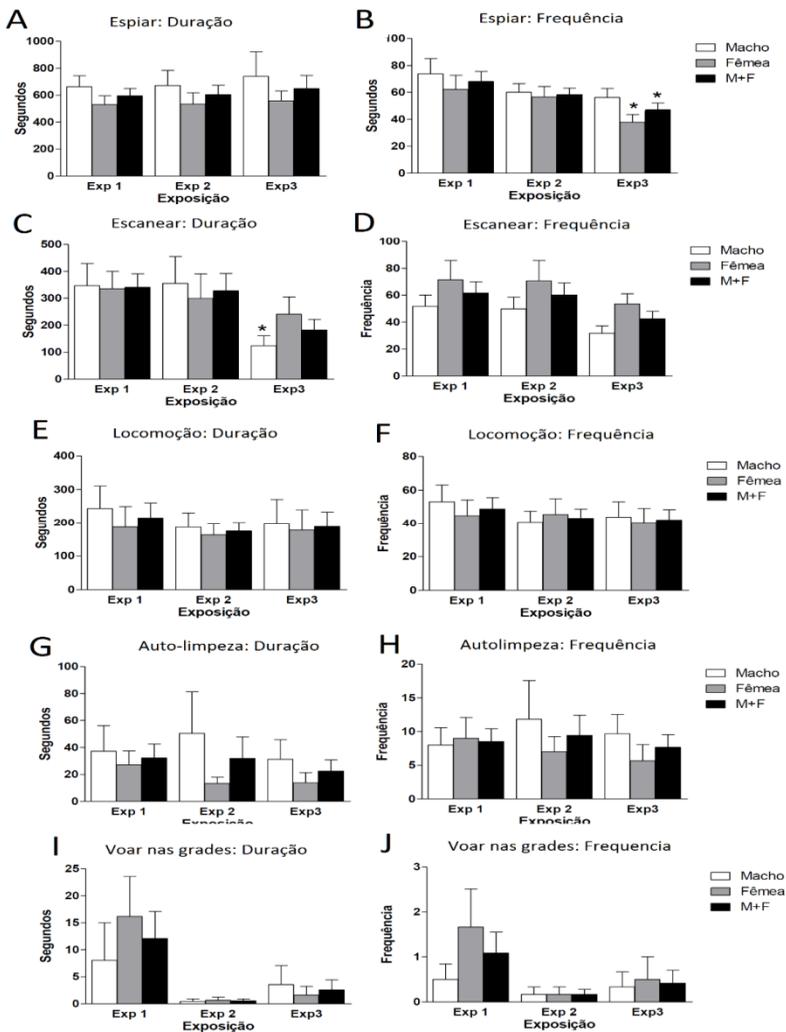
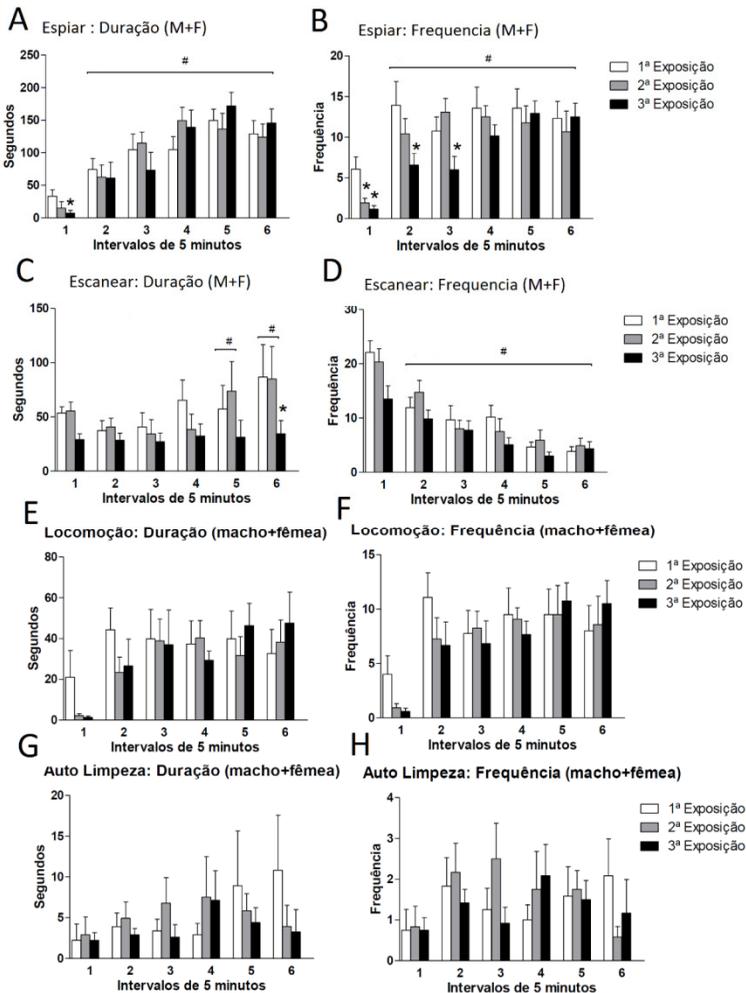


Tabela 2. Comportamentos de Exploração e Defesa no ambiente desconhecido com comida palatável: Efeito das repetições Durações (em segundos), frequências (numero de eventos nos 30 minutos do teste) e latência para o primeiro evento (em segundos). Os dados são expressos em média +/- EPM. (*) $p < 0,05$ comparado aos dados da Exposição 1

Comportamento	Exposição 1			Exposição 2			Exposição 3		
	Macho (N=6)	Fêmea (N=6)	M+F (N=12)	Macho (N=6)	Fêmea (N=6)	M+F (N=12)	Macho (N=6)	Fêmea (N=6)	M+F (N=12)
Locomoção									
Duração	243,11±67,50	186,94±62,72	215,02±44,74	186,24±43,95	162,84±35,33	174,54±27,12	198,26±72,39	177,66±61,44	187,96±45,37
Frequência	53,00±10,07	44,67±9,50	48,33±6,72	40,83±6,57	45,50±9,33	43,17±5,48	43,83±9,21	40,50±8,61	42,17±6,03
Voar grades									
Duração	8,02±6,97	16,16±7,40	12,09±4,99	0,44±0,44	0,61±0,61	0,52±0,36	3,52±3,52	1,61±1,61	2,56±1,86
Frequência	0,50±0,34	1,66±0,84	1,03±0,46	0,17±0,17	0,16±0,16	0,16±0,11	0,33±0,33	0,50±0,50	0,41±0,28
Bater Asas									
Duração	4,13±1,54	4,13±2,69	4,13±1,48	10,95±6,56	7,15±3,20	9,05±3,11	12,83±5,09	13,68±6,15	13,24±3,45
Frequência	1,83±0,65	1,17±0,60	1,50±0,44	2,50±1,02	2,17±1,01	2,33±0,69	1,83±0,65	2,67±0,80	2,25±0,51
Exp. Assolho									
Duração	5,06±2,75	4,97±2,22	5,02±1,69	2,02±1,29	1,74±1,55	1,88±0,96	0,99±0,99	1,67±0,63	1,33±0,57
Frequência	2,67±1,54	3,00±1,32	2,83±0,97	1,00±0,63	0,50±0,34	0,75±0,35	0,50±0,50	0,83±0,31	0,67±0,28
Espirar									
Duração	662,53±81,59	529,40±66,11	595,97±53,94	671,19±113,67	533,92±83,71	602,55±70,41	739,51±182,78	557,86±72,59	648,69±97,67
Frequência	73,83±11,26	62,17±10,53	68,00±7,56	60,00±6,57	56,67±7,69	58,33±4,85	56,33±6,63	37,83±5,79	47,08±5,04
Escanear									
Duração	346,73±82,04	335,53±64,55	341,13±49,80	355,49±99,15	299,79±90,92	327,64±64,68	124,05±37,13	241,50±63,31	182,77±39,21
Frequência	51,83±8,22	71,50±14,29	61,56±8,40	49,83±8,78	70,66±15,13	60,25±8,91	31,66±5,57	53,50±7,45	42,58±5,52

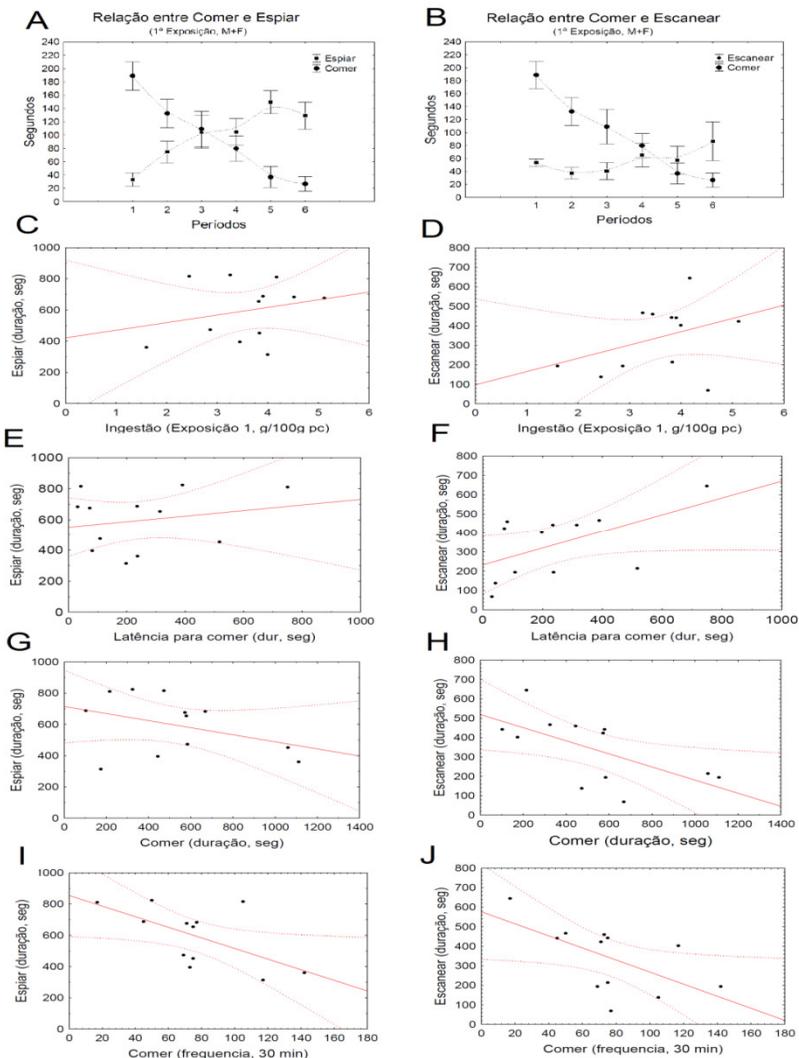
Figura 5 – Ambiente desconhecido e comportamentos exploratórios, locomotores e de manutenção em pombos: efeitos da repetição. Segmentos de 5 minutos em cada uma das repetições, após a primeira bicada no comedouro e ao longo dos 30 minutos seguintes. Dados expressos como média \pm EPM dos dados do total de animais (machos + fêmeas, n=12). (*) $p < 0,05$ comparado à primeira exposição ao ambiente novo, no mesmo intervalo de tempo; (#) $p < 0,05$ comparado ao primeiro intervalo de tempo na mesma exposição.



* diferente da 1 exposição no mesmo intervalo
diferente do primeiro intervalo na mesma exposição

As relações entre o comportamento de comer (latências, durações e frequências absolutas) e os comportamentos exploratórios na primeira exposição ao ambiente desconhecido são mostradas na figura 6. Esta figura indica que comer é o comportamento preponderante no início da primeira exposição; à medida que este decai ao longo do processo de saciação, o comportamento de espiar aumenta de incidência e duração, enquanto o comportamento de escanear permanece relativamente constante ao longo da sessão (Figura 6 A e B). O total de alimento ingerido e a latência para ir comer não apresentam correlações significantes com os comportamentos exploratórios. No entanto, a frequência de comer está correlacionada negativamente com a duração de espiar (Figura 6 I), e tanto a duração quanto a frequência de comer são negativamente correlacionadas com o comportamento de escanear (Figura 6 H e J) ao longo da primeira exposição ao ambiente desconhecido.

Figura 6 - Relações e correlações entre comportamentos ingestivos e exploratórios, na primeira exposição ao ambiente desconhecido em pombos ($n=12$, 6 machos e 6 fêmeas). Dados em A e B expressos como média \pm EPM. (*) correlação significativa a $p<0,05$ (teste de correlação de Spearman).



5. Discussão

Nossos dados sugerem que a latência para comer pode ser um índice sensível à novidade ambiental nestes animais. No entanto, já na segunda exposição, o tempo que o animal leva para tomar a decisão de comer parece atingir o nadir, persistindo neste patamar na terceira sessão, sugerindo que o efeito da mudança ambiental sobre a fase apetitiva de busca pelo alimento limita-se à novidade inicial. Ainda de acordo com nossos dados, as informações obtidas desta experiência parecem ser retidas por pelo menos 7 dias. Estes dados reforçam as observações de Megibow e Zeigler (1968), de que pombos submetidos a jejuns prolongados (suficientes para provocar pesos corporais de 75 a 90% menores que em condições *ad libitum*) apresentam latências decrescentes para comer quando expostos repetidamente (a intervalos não informados) a um ambiente novo. Estes autores indicaram também que a latência para ir comer na primeira exposição ao ambiente era diretamente proporcional ao peso corporal perdido durante estes jejuns prolongados, da mesma forma que o observado em ratos (BOLLES, 1965). Nossos dados sugerem que jejuns de 4 horas (que não afetam o peso corporal dos animais) seguidos de apresentação a uma comida palatável, tem o mesmo efeito sobre a latência para comer, indicando que tanto o déficit alimentar quanto as características hedônicas da comida são estímulos eficazes na tomada de decisão (de comer) em um ambiente novo.

Não encontramos diferenças nas latências para iniciar a ingestão entre pombos machos e fêmeas. Diferenças ligadas ao sexo em respostas exploratórias e de defesa em ambientes novos e aversivos também não foram observadas em camundongos (campo aberto, labirinto em cruz elevado, preferência entre ambientes claros e escuros (QIN et al., 2015). No entanto, ratos (OLIVIER et al., 2008) parecem apresentar dimorfismo sexual nas respostas ao campo aberto e ao labirinto em cruz elevado (com as fêmeas movendo-se a maiores distâncias que os machos em ambos os testes) e também na tarefa de emergir da gaiolacasa (onde o macho dominante da colônia emerge antes seguido das fêmeas de um lugar conhecido para um desconhecido), mas não apresentam diferenças sexuais em relação à latência para comer em um teste de hipofagia provocada por novidade (ambiente novo).

Assim, é aparente que os comportamentos e atividades que controlam a disposição (ou motivação) para iniciar a ingestão podem ser

semelhantes nestes mamíferos e nos pombos. Encontrar comida e tomar a decisão de comer são componentes apetitivos (preliminares e condicionantes dos comportamentos consumatórios) na ingestão de alimentos e forrageamento e, portanto, são uma das decisões ecologicamente mais importantes na vida de um animal (RYAN, 2011). As avaliações dos custos e benefícios, dos riscos e recompensas envolvidas na obtenção de um determinado alimento são centrais nas estratégias de forrageamento usadas em ambientes novos e ameaçadores. Pombos expostos a uma comida palatável em ambientes novos parecem processar as informações (ambientais, interoceptivas, mnemônicas) e tomar uma decisão a respeito de iniciar a ingestão já nos primeiros 5 minutos de exposição à novidade (ver adiante), além de usar estas informações uma semana depois para reduzir o tempo desta tomada de decisão.

Assim, não será muito surpreendente o fato de que, apesar das diferenças na latência para iniciar a comer, estes animais ingeriram quantidades de alimentos semelhantes após 30 minutos em todas as exposições ao ambiente de teste. Dados não publicados de nosso laboratório indicam que **pombos saciados** apresentados à comida palatável por 30 minutos **em sua gaiola-casa** ingerem quantidades crescentes desta ração na primeira ($1,4 \pm 0,9$ g/100 gpc, média \pm DP), segunda ($3,9 \pm 1,1$ g/100 gpc) e terceira exposições ($3,65 \pm 1,4$ g/100 gpc). Além disso, as latências para comer nesta situação foram menores na terceira exposição em 21 dos 22 pombos utilizados neste teste. Como comparação, as quantidades de **ração regular** ingeridas em **uma hora** durante o dia por pombos saciados são de $0,89 \pm 0,34$ g/100 gpc (SPUDEIT et al., 2013). As quantidades de ração palatável ingeridas (em 30 minutos) na segunda e terceira exposições à ração palatável na gaiola casa se mostraram estatisticamente similares às apresentadas pelos animais na gaiola experimental em nossos experimentos (1ª exposição: $3,0 \pm 0,9$ g/100 gpc; 2ª exposição: $3,9 \pm 0,6$ g/100 gpc ; 3ª exposição: $4,1 \pm 1,1$ g/100 gpc). Estes dados indicam que estes animais devem apresentar estratégias tais que lhes permitem a ingestão de quantidades grandes (e idênticas às apresentadas em um ambiente conhecido) de comida palatável mesmo em um ambiente desconhecido. Assim o ambiente não parece causar uma verdadeira hipofagia nestes animais, afetando apenas o tempo que o animal leva para tomar a decisão de iniciar a ingestão.

Estes dados também sugerem que o jejum de 4 horas a que estes animais foram submetidos antes de serem apresentados à gaiola experimental não parece ter influência importante sobre a quantidade de comida palatável ingerida. Assim, os níveis de ingestão deste alimento, uma vez que ele é conhecido pelo animal, devem ser controlados essencialmente por informações relacionadas à palatabilidade da comida. Além disto, apenas quando apresentamos a comida palatável pela primeira vez (em sua gaiola casa) é que este animal ingeriu menos comida durante os 30 minutos avaliados. Esta observação indica que estes animais reagem com uma verdadeira hipofagia à comida desconhecida, mas não ao ambiente desconhecido. Por outro lado, e à semelhança do observado em roedores (e.g., DAVID et al., 1985), estes animais apresentam o fenômeno da neofobia, ou seja, apresentam uma crescente aceitação de comidas com sabores e cores não familiares, mesmo quando são altamente palatáveis. Assim, nossos dados indicam que, uma vez superada a neofobia, os pombos consumirão quantidades altas de alimentos necessários ou desejados mesmo em ambientes desconhecidos.

A análise dos dados segmentados em períodos de 5 minutos revela que em todas as exposições (e para ambos os sexos) o tempo devotado a ingerir alimentos é alto já no início das sessões, declinando de forma contínua ao longo da sessão. Estas curvas são similares em perfil e duração às observadas em processos de saciação em pombos saciados ou submetidos a privação de alimentos por 1 hora e expostos à comida palatável (SPUDEIT et al., 2013). Assim, é surpreendente o fato de que, mesmo em um ambiente desconhecido, o animal atinge um estado saciado, onde o consumo é estável e pequeno, em menos de 30 minutos. Ainda assim, a novidade do ambiente parece afetar discretamente o comportamento ingestivo dos pombos, já que estes animais tenderam a aumentar a duração média dos episódios de ingestão na terceira exposição. As durações de comer aumentam (e as frequências de comer diminuem) significativamente já nos primeiros 5 minutos da segunda e terceira exposições. Estas mudanças parecem estar associadas a diferentes estratégias para alcançar o mesmo suposto objetivo: ingerir uma quantidade ótima de alimento palatável.

Assim, a primeira parte de nossa primeira hipótese, de que a exposição a um ambiente desconhecido pode fazer com que o animal diminua sua ingestão de alimento não pode ser confirmada. A segunda parte desta hipótese, de que esta “queda” na ingestão seria acompanhada

por um aumento nos comportamentos defensivos, e de que a re-exposição a este ambiente poderia diminuir comportamentos defensivos, também não se mostrou verdadeira, como discutiremos a seguir.

O tempo total devotado às atividades exploratórias espiar e escanear foi semelhante nas primeiras exposições e apenas na terceira exposição observamos diminuições significantes, mas discretas nas frequências de espiar nas fêmeas (e no total dos animais) e a duração de escanear em machos. Ao longo das diferentes exposições ao ambiente desconhecido, espiar aumentou em duração e frequência, atingindo seu pico ao final dos 30 minutos (em situação diametralmente oposta à do comportamento de comer). Já o comportamento de escanear aumentou em duração e diminuiu em frequência nas duas primeiras exposições, mantendo-se estável ao longo de toda a terceira sessão. Assim, ao contrário da nossa proposição, os comportamentos de avaliação de um ambiente novo (e potencialmente aversivo) são inibidos após a decisão de iniciar a ingestão, e só voltam a preponderar quando o processo de saciação termina.

Estes dados são completamente opostos a achados de nosso próprio laboratório (DE SOUZA et al., 2009), pelos quais pombos colocados em um ambiente desconhecido (sem comida de qualquer espécie) apresentam comportamento de espiar intenso e que decai ao longo de 30 minutos, enquanto o comportamento de escanear aumenta nos intervalos finais da primeira sessão. Além disto, estes comportamentos exploratórios apresentam habituação perceptível ao longo de 3 repetições. Nossos dados indicam que a presença de uma comida palatável muda o padrão de investigação do ambiente já na primeira exposição à gaiola desconhecida, sugerindo que estes comportamentos (após o início da ingestão) não devam ser interpretados necessariamente como defensivos ou de avaliação de risco, mas sim como parte das estratégias flexíveis do animal em explorar o ambiente. A análise dos comportamentos exploratórios antes da primeira visita ao comedouro, não apresentada neste trabalho pode sugerir que estes mesmos comportamentos podem ser utilizados em funções diferentes no processo de avaliação de risco que ocorre durante a fase apetitiva da presente situação experimental. Ainda assim, as correlações negativas observadas entre a frequência de comportamento ingestivo e as durações de escanear e espiar pode indicar que estes animais apresentam reatividades variadas ao ambiente novo, desenvolvendo mais ou menos atividade ingestiva de acordo com o tempo despendido em atividades

exploratórias. A associação entre estas atividades exploratórias e ingestivas e o grau de aversividade do ambiente percebido pelo animal ainda necessita ser investigada.

Nossos dados parecem também sugerir que machos e fêmeas devem usar estratégias ingestivas e exploratórias discretamente diferentes para lidar com o ambiente novo e as repetições. Espiar é reduzido em machos ao longo da repetição, enquanto fêmeas reponde com uma queda no comportamento de escanear. Machos aumentam de forma abrupta a duração média dos episódios ingestivos e quantidade de alimento ingerido na terceira sessão, enquanto as mudanças ingestivas nas fêmeas parecem seguir um curso também ascendente, porém gradual. Deve ser notado, no entanto que em ambos as mudanças gerais nestes comportamentos e em suas relações são similares, sugerindo um baixo grau de dimorfismo sexual nas respostas ao ambiente novo e à comida palatável.

Em conclusão, nossos dados indicam que estes animais utilizam estratégias ativas e rápidas de tomada de decisões ingestivas em ambientes desconhecido e retêm/usam os resultados destas estratégias posteriormente em decisões posteriores. Uma vez tomada a decisão de iniciar a ingestão, estes comportamentos ingestivos prevalecem sobre os comportamentos exploratórios mesmo em ambiente desconhecido, e a exploração do ambiente só volta a ocorrer ao final do processo de saciação (que resultam em ingesta estável em todas as exposições. Estas estratégias podem permitir ao animal lidar de forma eficaz e rapidamente com ambientes em constante mudança (como o ambiente urbano) ao mesmo tempo em que obtém deste ambiente os recursos energéticos necessários à sua sobrevivência.

6. Referências Bibliográficas

BARRET, J.E., Studies on the effects of 5-HT1a drugs in the pigeon. **Drug Development Research**, n.26, p.299-317, 1992.

BARRET, J.E., VANOVER, K.E. 5-HT receptors as targets for the development of novel anxiolytic drugs: models, mechanisms and future directions. **Psychopharmacology**, n.112, p.1-12, 1993.

BINGMAN, V.P.; SIEGEL, J.J.; GAGLIARDO, A.; ERICHSEN, J.T. Representing the richness of avian spatial cognition: properties of a lateralized homing pigeon hippocampus. **Neuroscience**, n.17, p.17-28, 2006.

BLANCHARD, R.J.; BLANCHARD, D.C.; RODGERS, J. WEISS SM. The characterization and modelling of antipredator defensive behavior. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, n. 14, p.463-72, 1990.

BOLLES, R. C. Readiness to eat: Effects of age, sex, and weight loss. **Journal of Comparative Physiological Psychology**, n.60, p.88-92, 1965.

BOURIN, M.; HASCOËT, M. The mouse light/dark box test. **European Journal of Pharmacology**, n.463, p.55-65, 2002.

CALANDREAU, L.; FAVREAU-PEIGNÉA, A.; BERTINA, A.; CONSTANTINA, P.; ARNOULDA, C.; LAURENCEE, S.; LUMINEAUE, S.; HOUELIERE, C.; RICHARD-YRISE, M.A.; BOISSYF, A.; LETERRIERA, C. Higher inherent fearfulness potentiates the effects of chronic stress in the Japanese quail. **Behavioral Brain Research**, n.225, p.505-510, 2011.

CARRIER, N.; KABBAJ, M. Sex differences in the antidepressant-like effects of ketamine. **Neuropharmacology**, n70, p.27-34, 2013.

CLARKE, C.H., JONES, R.B. Effects of prior video stimulation on open-field behavior in domestic chicks. **Applied Animal Behaviour Science**, n.66, p.107-117, 2000.

COLEMAN, S.W. Mourning dove (*Zenaida macroura*) wing-whistles may contain threat-related information for con- and hetero-specifics. **Naturwissenschaften**, n.95, p.981-986, 2008.

CRISPIM, C.F.; PEDERIVA, C.N.; ROSE, R.C.; GARCIA, V.A.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINO-NETO, J. **Ethowatcher**: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals, 2012.

DE SOUZA, A.C.B.; AVERBECK, E.; PASCHOALINI, M.A.; FARIA, M.S.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINO-NETO, J. The peeping response of pigeons (*Columba livia*) to isolation from conspecifics and exposure to a novel environment. **Behavioural Processes**, n.81, p.26-33, 2009.

DIAS, R.I. Effects of position and flock size on vigilance and foraging behavior of the scaled dove (*Columbina squammata*). **Behavioural Processes**, n.73, p.248-252, 2006.

DULAWA, S.C.; HEN, R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: The novelty-induced hypophagia test. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, n.29, p.771-783, 2005.

ENNACEUR, A.; MICHALIKOVA, S.; VAN RENSBURG, R.; CHAZOT, P.L. Models of anxiety: responses of mice to novelty and open spaces in a 3D maze. **Behavioural Brain Research**, n.174, p.9-38, 2006.

FAURE, J.M.; JONES, R.B.; BESSEI, W. Fear and social motivation as factors in open-field behavior of the domestic chick. **Biology of Behavior**, n.8, p.103-116, 1983.

FERNÁNDEZ-JURICIC, E.J., BASTAIN, G.B.B. Group-size and distance-to-neighbour effects on feeding and vigilance in brown-headed cowbirds. **Animal Behavior**, n.73, p.771-778, 2007.

GILLEY, D.W.; FRANCHINA, J.J. Effects of preexposure flavor concentration on conditioned aversion and neophobia. **Behavioral and Neural Biology**, n.44, p.503-508, 1985.

GRIEBEL, G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. **Pharmacology and Therapeutics**, n.65, p.319-395, 1995.

HASCOËT, W.; BOURIN, M.; DHONNCHADHA, N. The mouse light-dark paradigm: A review. **Progress Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, n.25, p.141-166, 2001.

HAZARD, D.; LECLAIRE, S.; COUTY, M.; GUÉMÉNÉ, D. Genetic differences in coping strategies in response to prolonged and repeated restraint in Japanese quail divergently selected for long or short tonic immobility. **Hormones and Behavior**, n.54, p.645-653, 2008.

HOLMES, A.; ILES, J.P.; MAYELL, S.J.; RODGERS, R.J. Prior test experience compromises the anxiolytic efficacy of chlordiazepoxide in the mouse light/dark exploration test. **Behavioural Brain Research**, n.1222, p.159-167, 2001.

JONES, R.B. Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives World's. **Poultry Science**, n.52, p.131-174, 1996.

JONES, R.B.; MILLS, A.D.; FAURE, J.M. Genetic and experiential manipulation of fear-related behavior in japanese quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*). **Journal of Comparative Psychology**, vol.105, n.1, p.15-24, 1991.

JONES, R.B.; ROPER, T.J. Olfaction in domestic fowl: A critical review. **Physiology & Behavior**, vol.65, n.5, p.1009-1018, 1997.

JONES, R.B.; WADDINGTON, D.G. Modification of fear in domestic chicks, *Gallus gallus domesticus*, via regular handling and early environmental enrichment. **Animal Behavior**, n.43, p. 1021–1033, 1992.

KLEVEN, M.S.; KOEK, W. Pharmacological characterization of in vivo properties of putative mixed 5-HT_{1A} agonist/5-HT_{2A/2C} antagonist anxiolytics. I. Antipunishment effects in the pigeon. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, vol.276, n.2, p.388-397, 1996.

KLEVEN, M.S.; KOEK, W. Effects of different classes of partial benzodiazepine agonist on punish and unpunished responding in pigeons. **Psychopharmacology**, n.141, p.206-410, 1999.

KROON, J.A.; CAROBREZ, A.P. Olfactory fear conditioning paradigm in rats: effects of midazolam, propranolol or scopolamine. **Neurobiology of Learning and Memory**, n.91, p.32-40, 2009.

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology and Therapeutics**, vol.46, p.321-240, 1990.

LENSI, P.; CASSANO, G.B.; CORREDDU, G.; RAVAGLI, S.; KUNOVAC, J.L.; AKISKAL, H.S. Obsessive-compulsive disorder. Familial-developmental history symptomatology, comorbidity and course with special reference to gender-related differences. **British Journal of Psychiatry**, n.169, 101-107, 1996.

MANSBACH, R.S.; BARRET. J.E. Discriminative stimulus properties of buspirone in the pigeon. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, n.240, p.364-369, 1987.

MEGIBOW, M.; ZEIGLER, H.P. Readiness to eat in the pigeon. **Psychonomic Science**, vol.12, p.17-18, 1968.

MEHLHORN, J.; REHKÄMPER, G. Neurobiology of the homing pigeon a review. **Naturwissenschaften**, n.96, p.1011-1025, 2009.

MILLS, A.D.; JONES, R.B.; FAURE, J.M.; WILLIAMS, J.B. Responses to isolation in Japanese quail genetically selected for high or low sociality. **Physiology & Behavior**, n.53, p.183-189, 1993.

NAKAMURA, N.; WATANABE, S.; BETSUYAKU, T.; FUJITA, K. Do birds (pigeons and bantams) know how confident they are of their perceptual decisions? **Animal Cognition**, n.14, p.83-93, 2011.

OLIVIER, J.D.A.; VAN DER HART, M.G.C.; VAN SWELM, R.P.L.; DEDEREN, P.J.; HOMBERG, J.R.; CREMERS, T.; DEEN, P.M.T.; CUPPEN, E.; COOLS, A.R.; ELLENBROEK, B.A. A study in male and female 5-HT transporter knockout rats: an animal model for anxiety and depression disorders. **Neuroscience**, n.152, p.573-584, 2008.

QIN, Z.; ZHOU, X.; PANDEY, N.R.; VECCHIARELLI, H.A.; STEWART, C.A.; ZHANG, X.; LAGACE, D.C.; BRUNEL, J.M.; BÉIQUE, J.C.; STEWART, A.F.; HILL, M.N.; CHEN, H.H. Chronic stress induces anxiety via an amygdalar intracellular cascade that impairs endocannabinoid signaling. **Neuron**, n.85, p.1319-1331, 2015.

REINER, A.D.; PERKEL, J.; BRUCE, L.; BUTLER, A.; CSILLAG, A.; KUENZEL, W.; MEDINA, L.; PAXINOS, G.; SHIMIZU, T.; STRIEDTER, G.; WILD, M.; BALL, G.F.; DURAND, S.; GÜTÜRKUN, O.; LEE, D.W.; MELLO, C.V.; WHITE, S.A.; HOUGH, G.; KUBIKOVA, L.; SMULDERS, T.V.; WADA, K.; DUGAS-FORD, J.; HUSBAND, S.; YAMAMOTO, K.; YU, J.; SIANG, C.; JARVIS, E.D. Revised nomenclature for avian telencephalon and some related rainstem nuclei. **Journal of Comparative Neurology**, n.473, p.377-414, 2004.

RODGERS, R.J.; DALVI, A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, n.21, p.801-810, 1997.

RYAN, M.J.; WILCZYNSKI, W. An introduction to animal behavior: an integrative approach. **New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 2011. 258 p.

SOUZA, A.C.B.; AVERBECK, E.; PASCHOALINI, M.A.; FARIA, M.S.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINO-NETO, J. The peeping response of pigeons (*Columba livia*) to isolation from conspecifics and exposure to a novel environment. **Behavioural Processes**, n.81, p.26-33, 2009.

SPUDEIT, W.A.; SULZBACHA, N.S.; BITTENCOURT, M.; DUARTE, A.M.C.; LIANG, H.; LINO-DE-OLIVEIRA, C.; MARINONETO, J. The behavioral satiety sequence in pigeons (*Columba livia*). Description and development of a method for quantitative analysis. **Physiology & Behavior**, n.122, p.62-71, 2013.

TREIT, D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, n.9, p.203-222, 1985.