



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Fabiani Fernanda Triches

**Avaliação dos comportamentos de fêmeas e machos da mosca da fruta
(*Drosophila melanogaster*) após o isolamento social**

Florianópolis

2020

Fabiani Fernanda Triches

**Avaliação dos comportamentos de fêmeas e machos da mosca da fruta
(*Drosophila melanogaster*) após o isolamento social**

Trabalho de Conclusão do Curso da Graduação em
Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Santa Catarina como
requisito para a obtenção do título de Licenciada em
Ciências Biológicas
Orientadora: Prof^ª Dra. Cilene Lino de Oliveira
Co-orientadora: Prof^ª Dra. Daniela Cristina de Toni

Florianópolis

2020

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

Triches, Fabiani Fernanda

Avaliação dos comportamentos de fêmeas e machos da mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) após o isolamento social / Fabiani Fernanda Triches ; orientadora, Cilene Lino de Oliveira, coorientador, Daniela Cristina de Toni, 2020.

82 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, , Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. *Drosophila melanogaster*. 3. Isolamento social. 4. Campo aberto. 5. Labirinto em cruz. I. Lino de Oliveira, Cilene . II. de Toni, Daniela Cristina . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Fabiani Fernanda Triches

**Avaliação dos comportamentos de fêmeas e machos da mosca da fruta
(*Drosophila melanogaster*) após o isolamento social**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Licenciada em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Curso Ciências Biológicas

Florianópolis, 23 de Novembro de 2020.

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Cilene Lino de Oliveira
Orientador(a)
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a Dr^a Ana B. Ramos Hryb
Avaliadora
Harvard Medical School

Prof^a Mrs^a Fabiola Boz Eckert
Avaliadora
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado a toda minha família, meu companheiro, minhas orientadoras, colegas de laboratório, as minhas amigas e amigos e a todas as pessoas, que direta ou indiretamente, me ajudaram neste processo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha orientadora, Dr^a Cilene Lino de Oliveira e a minha co-orientadora, Dr^a Daniela Cristina de Toni, por todo apoio, correções, conhecimento, paciência e oportunidades que me deram, sem vocês este projeto não sido construído. Ao Dr^o José Marino Neto, que forneceu espaço, material e seu conhecimento para elaboração do meu trabalho.

Quero também, fazer um agradecimento especial a minha família, minha mãe Maria Lurdes e ao meu pai Ari Triches por terem sempre me apoiado, acreditado em mim e me ajudado tanto neste processo. A minha irmã Francieli Triches, que me ensinou a fazer toda a matemática do trabalho. Ao meu companheiro, Candinho Luiz Dalla Brida, por me dar forças na construção do meu TCC, você foi incrível! A família que adotei para mim, meu cunhado Helder Geovane, que auxiliou em toda a elaboração e escrita matemática. Aos pais e irmãos do Candinho, Marcia, Candinho, Pedro, Nádia e Rafaela, por me acolherem como parte da sua família, pelas risadas, passeios e comidas gostosas. Para a minha tia, Jocemara Triches, que me recebeu de braços abertos em Florianópolis e sempre me ajudou tanto desde o momento que pensei em morar aqui.

Aos meus colegas de laboratório, Tamires Martins e Johnny Erick, por corrigirem com tanto carinho meu TCC, a Fabiola Boz Eckert, Patrick Suman, Karolina Domingues e Juliana Bolzann, nós já viajamos juntos, trabalhamos, demos risadas, bebemos cerveja, fizemos jantas deliciosas, falamos mal do governo, vocês fizeram deste processo mais fácil. As amizades que fiz ao longo de todos esses anos de Florianópolis e Biologia, aos antigos e atuais companheiros de casa, principalmente o Allan Ferreira, que só sabe cozinhar ovo e frango. Posso dizer que coseguei aproveitar a Universidade e que sairei daqui com muito orgulho de tudo o que vivi e todas as experiências que tive porque vocês fazem parte dela.

Agradecer as Professoras e Professores pelo conhecimento técnico, a Universidade por possibilitar tantas oportunidades de crescimento pessoal e acadêmico, a assistência estudantil que a UFSC fornece. As instituições financeiras, que com todos os cortes que passam, continuam tentando incentivar a pesquisa e a ciência.

RESUMO

A *Drosophila melanogaster* vem se tornando um animal experimental alternativo aos roedores para estudos iniciais de transtornos mentais. O isolamento social pode ser considerado um precursor destes transtornos em humanos, induzindo comportamento depressivo, aumento da agressividade e distúrbios do sono. Em roedores, o isolamento social é utilizado para levar comportamentos similares aos humanos. Na *Drosophila*, a interação social é essencial para o aprendizado de comportamentos sociais. Estudos indicam que o isolamento social leva ao aumento da agressividade e da locomoção e alteração no sono. Assim como em roedores, testes comportamentais em aparatos como o campo aberto e o labirinto em cruz podem ser usados para analisar os efeitos do isolamento social. No presente projeto o principal objetivo é descrever e comparar o repertório comportamental exibido por fêmeas e machos de (*Drosophila melanogaster*) após diferentes períodos de isolamento social. Para isso desenvolveu-se um protocolo onde moscas fêmeas (n =5) e machos (n =5) passaram por isolamento social de 24h e 96h; posteriormente foram testadas no campo aberto seguido do labirinto em cruz durante 15 min cada. O campo aberto é uma arena com centro e periferia enquanto o labirinto em cruz possui um centro e quatro braços nos quais há ágar (três braços) ou banana (um braço). Para transferência das moscas do alojamento ao campo aberto e após ao labirinto em cruz, elas foram anestesiadas no gelo. Os testes foram realizados em um ambiente com luz controlada. O registro comportamental foi feito dos 10 primeiros minutos após a recuperação da anestesia usando o software *Etho Watcher*. Os resultados foram discutidos a partir da média da duração, frequência e razão entre duração e frequência. Os resultados no campo aberto indicam que todas as moscas permaneceram mais tempo na periferia do aparato que no centro, principalmente as fêmeas controle de ambos os tempos de isolamento. A preferência pela periferia do campo aberto pode ser interpretada de duas formas, a primeira é devido a *tigmotaxia* ou centrofobicidade, padrão visto também em roedores; e a segunda é que as moscas buscam possíveis rotas de fuga. Os animais isolados por 96h caminharam mais que os isolados por 24h. Além disso, o isolamento social levou as moscas a terem mais comportamentos de limpeza. No labirinto em cruz, as fêmeas isoladas (24h e 96h), apresentaram duração maior no braço banana, e o inverso foi visto para os machos. Essa diferença sexual também foi vista para os comportamentos de duração de caminhada, as fêmeas isoladas caminharam menos no aparato que os machos nas mesmas condições, esse dado também é encontrado em roedores. Em ambos os aparatos foi visto padrão comportamental diferente entre os animais isolados e os controle. Entretanto, dado o pequeno tamanho amostral e, conseqüentemente a ausência de estatística, não se pode afirmar uma influência do isolamento social sobre o comportamento das moscas. Fatores como tamanho amostral, densidade luminosa usada durante os testes e anestesia precisam ser corrigidos em experimentos futuros.

Palavras-chave: Campo aberto. *Drosophila melanogaster*. Labirinto em cruz.

ABSTRACT

Drosophila melanogaster has become an alternative animal experimental to rodents for initial studies of mental disorders. Social isolation can be considered a precursor of these disorders in humans, inducing depressive behavior, increased aggression, and sleep disorders. In rodents, social isolation produced behavioral changes similar to that of humans. At *Drosophila*, social interaction is essential for learning social behaviors and social isolation leads to increased aggression, locomotion and altered sleep. As in rodents, behavioral tests in devices such as the open field and the plus-maze, which may be used to analyze the effects of social isolation. In the present project, the main objective is to describe and compare the behavioral repertoire exhibited by females and males (*Drosophila melanogaster*) after different periods of social isolation. For this, a protocol was developed in which female (n = 5) and male (n = 5) flies underwent social isolation for 24h and 96h; subsequently, they were tested in the open field followed by the plus-maze for 15 min each. The open field is an arena with a center and periphery while the plus-maze has a center and four arms in which there is agar (three arms) or banana (one arm). To transfer flies from the housing to the open field and after the plus-maze, they were anesthetized on the ice. The tests were performed in an experimental environment placed under a webcam to enable video recordings, which were further analyzed to behavioral scoring using the EthoWatcher software. Duration and frequencies of all behaviors emitted in the first 10 minutes. Results are expressed as the average duration, frequency, or ratio between duration and frequency. The results in the open field indicate that all the flies remain longer in the periphery of the apparatus than in the center, mainly the control females of both times of isolation. The preference for the periphery of the open field can be interpreted in two ways, the first is due to thigmotaxis or centrophobicity, a pattern is also seen in rodents, and the second is that flies look for possible escape routes. Animals isolated for 96h walked more than those isolated for 24h. Also, social isolation has led flies to have more cleaning behaviors. In the plus-maze, isolated females (24h and 96h), had a longer duration in the banana arm, and the reverse was seen for males. This sexual difference was also seen for walking duration behaviors, isolated females walked less in the apparatus than males under the same conditions, this data is also found in rodents. In both devices, a different behavioral pattern was seen between the isolated animals and the control animals. However, given the small sample size and, consequently, the absence of statistics, one cannot affirm an influence of social isolation on the behavior of flies. Next studies should investigate the influence of factors such as sample size, light density used during tests, and anesthesia on the effect of social isolation on behaviors of the flies.

Keywords: *Drosophila melanogaster*. Open field. Plus-maze.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografia da <i>Drosophila melanogaster</i>	15
Figura 2 – Alojamento dos animais	16
Figura 3 – Local de acondicionamento das moscas para etapa de experimentos.....	17
Figura 4 – Aparato utilizado para os testes comportamentais	18
Figura 5 – Campo aberto	18
Figura 6 – Labirinto em cruz	19
Figura 7 – Etapas do procedimento.....	21
Figura 8 – Durações e frequências proporcionais dos comportamentos das fêmeas do IS 24h.....	26
Figura 9 – Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos das fêmeas do IS 24h.....	27
Figura 10 – Durações e frequências proporcionais dos comportamentos dos machos do IS 24h.....	29
Figura 11 – Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos dos machos do IS 24h.....	30
Figura 12 – Durações e frequências proporcionais dos comportamentos das fêmeas do IS 96h.....	32
Figura 13 – Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos das fêmeas do IS 96h.....	33
Figura 14 – Durações e frequências proporcionais dos comportamentos dos machos do IS 96h.....	35
Figura 15 – Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos dos machos do IS 96h.....	36
Figura 16 – Duração dos comportamentos das fêmeas do IS 24h.....	42
Figura 17 – Frequência dos comportamentos das fêmeas do IS 24h	43
Figura 18 – Razão duração:frequência dos comportamentos das fêmeas do IS 24h.....	44
Figura 19 – Duração dos comportamentos dos machos do IS 24h.....	46
Figura 20 – Frequência dos comportamentos dos machos do IS 24h.....	47
Figura 21 – Razão duração: frequência dos comportamentos dos machos do IS 24h.....	48
Figura 22 – Duração dos comportamentos das fêmeas do IS 96h	50
Figura 23 – Frequência dos comportamentos das fêmeas do IS.....	51
Figura 24 – Razão duração:frequência dos comportamentos das fêmeas do IS 96h.....	52

Figura 25 – Duração dos comportamentos dos machos do IS 96h.....	54
Figura 26 – Frequência dos comportamentos dos machos do IS 96h.....	55
Figura 27 – Razão duração:frequência dos comportamentos dos machos do IS 96h.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ingredientes do meio de cultura	16
Tabela 2 – Delineamento experimental e divisão dos grupos.....	21
Tabela 3 – Comportamentos analisados	24
Tabela 4 – Resumo dos principais achados no campo aberto.....	40
Tabela 5 – Resumo dos principais achados no labirinto em cruz.....	59
Tabela 6 – Duração proporcional no campo aberto para 24h de isolamento social.....	67
Tabela 7 – Frequência proporcional no campo aberto para 24h de isolamento social.....	68
Tabela 8 – Razão entre duração e frequência proporcional no campo aberto para 24h de isolamento social.....	69
Tabela 9 – Duração proporcional no campo aberto para 96h de isolamento social	70
Tabela 10 – Frequência proporcional no campo aberto para 96h de isolamento social	71
Tabela 11 – Razão entre duração e frequência proporcional no campo aberto para 96h de isolamento social.....	72
Tabela 12 – Duração no labirinto em cruz para 24h de isolamento social	72
Tabela 13 – Frequência no labirinto em cruz para 24h de isolamento social	74
Tabela 14 – Razão entre duração e frequência no labirinto em cruz para 24h de isolamento social.....	75
Tabela 15 – Duração no labirinto em cruz para 96h de isolamento social	76
Tabela 16 – Frequência no labirinto em cruz para 96h de isolamento social	77
Tabela 17 – Razão entre duração e frequência no labirinto em cruz para 96h de isolamento social.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- IEB Instituto de Engenharia Biomédica
- IS Isolamento social
- CC Caminhar no centro
- CP Caminhar na periferia
- IC Imobilidade no centro
- IP Imobilidade na periferia
- LPDC Limpar as patas dianteiras no centro
- LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia
- LPTC Limpar as patas traseiras no centro
- LPTP Limpar as patas traseiras na periferia
- LAC Limpar as asas no centro
- LAP Limpar as asas na periferia
- CB Caminhar no braço banana
- C1 Caminhar no no braço ágar 1
- C2 Caminhar no braço ágar 2
- C3 Caminhar no braço ágar 3
- IB Imobilidade ou limpeza no braço banana
- I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1
- I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2
- I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1	CUIDADOS GERAIS COM A MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS	15
3.2	PROCEDIMENTO DO ISOLAMENTO SOCIAL	16
3.3	TRANSFERÊNCIA DAS MOSCAS DURANTE OS TESTES	17
3.4	AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO	17
3.5	APARATOS COMPORTAMENTAIS	18
3.5.1	Campo Aberto.....	18
3.5.2	Labirinto em Cruz.....	19
3.6.	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E DIVISÃO DOS GRUPOS	20
3.7.	ANÁLISE	21
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1.	TESTE DO CAMPO ABERTO	24
4.1.1.	Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no campo aberto	24
4.1.2.	Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas machos no campo aberto	27
4.1.3.	Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no campo aberto	30
4.1.4	Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas machos no campo aberto	33
4.1.5.	Discussão sobre os efeitos do isolamento social sobre os comportamentos das moscas dos dois sexos no teste de campo aberto	36
4.2.	LABIRINTO EM CRUZ	40
4.2.1	Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no labirinto em cruz	41
4.2.2	Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas machos no labirinto em cruz	44
4.2.3	Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no labirinto em cruz	49
4.2.4	Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas machos no labirinto em cruz	53
4.2.5.	Discussão sobre os efeitos do isolamento social sobre o comportamento das moscas dos dois sexos no teste de labirinto em cruz.....	57
5.	PESPECTIVAS FUTURAS	59

6. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS.....	62
APÊNDICE A – DADOS BRUTOS DO CAMPO ABERTO PARA 24h DE ISOLAMENTO SOCIAL	67
APÊNDICE B – DADOS BRUTOS DO CAMPO ABERTO PARA 96h DE ISOLAMENTO SOCIAL	70
APÊNDICE C – DADOS BRUTOS DO LABIRINTO EM CRUZ PARA 24h DE ISOLAMENTO SOCIAL	73
APÊNDICE D – DADOS BRUTOS DO LABIRINTO EM CRUZ PARA 96h DE ISOLAMENTO SOCIAL	76

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da história o uso de vertebrados para estudos na área biomédica tem sido alvo de críticas no campo da ética animal, impulsionando a comunidade científica a criar alternativas (JENNINGS, 2011). Em 1959, Russel e Burch publicaram o livro “The principles of humane experimental technique” dando origem ao que hoje é conhecido por princípios dos “3Rs”: redução (*reduction*), refinamento (*refinement*) e substituição (*replacement*). No esforço de criar alternativas dentro dos 3Rs, novas técnicas estão sendo utilizadas para substituir o uso de animais vertebrados por metodologias que não usem organismos vivos (substituição total) ou, quando estes são necessários, animais invertebrados (substituição parcial) (OSORIO, 2006; THE 3Rs). Dentre os invertebrados, uma das possibilidades é a *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca da fruta, devido a sua atração por frutas em estágios avançados de amadurecimento (JENNINGS, 2011).

A *D. melanogaster* é estudada há mais de um século, principalmente na área da genética e herança, mas também em áreas como desenvolvimento embrionário, comportamento, envelhecimento e diversas doenças humanas (JENNINGS, 2011; UGUR; CHEN; BELLEN, 2016). Além da sua genética ser bastante conhecida, o uso da *D. melanogaster* traz diversas vantagens, como: ciclo de vida curto, produção elevado de embriões de uma única vez. Com isso podemos ter um número amostral grande e, conseqüentemente, maior impacto no poder estatístico. O investimento para manutenção do biotério e os gastos exigidos durante as pesquisas são, em geral, menor se comparado aos roedores, tornando sua manutenção, reprodução e manuseio financeiramente mais viáveis (JENNINGS, 2011).

Mesmo distante filogeneticamente dos humanos, as moscas compartilham um último ancestral comum com um sistema nervoso complexo (HIRTH; REICHERT, 1999; O’KANE, 2011). O’Kane (2011) e Martin; Krantz (2014) demonstraram que os humanos e a *D. melanogaster* compartilhamos função de diversos neurotransmissores, sendo eles: a acetilcolina, o glutamato e monoaminas, que são requeridos para modular diversos comportamentos sofisticados, além de possuir um sistema serotoninérgico com cerca de 40 neurônios. Além disso possuem capacidade de memória, aprendizagem, plasticidade sináptica e comportamentos sociais de corte e agressividade (O’KANE, 2011; MARTIN, KRANTZ, 2014). Por fim, Van Alphen; Van Swinderen (2013) apontam que tais permitem sua inclusão como proposta alternativa em diversas pesquisas biomédicas, sobretudo em psicopatologias com etiologia ainda desconhecidas. Além disso, os benefícios também se estendem na busca e no entendimento de fármacos psicotrópicos (VAN ALPHEN, VAN SWINDEREN, 2013).

A exposição a fatores estressantes alterados está entre os principais precursores de transtornos mentais (JOCA; PADOVAN; GUIMARÃES, 2003; DJORDJEVIC *et al.*, 2012). Em espécies gregárias, o isolamento social pode ser considerado um fator de estresse alterado, levando a alterações comportamentais diversas (DJORDJEVIC *et al.*, 2012; KIM; KIRKPATRICK, 1996). Em humanos, a baixa interação social ou o isolamento completo, pode induzir comportamento depressivo, aumento da agressividade (FERGUSON *et al.*, 2005) e déficit na qualidade do sono (FEBINGER *et al.*, 2014; FRIEDMAN, 2011). Nos roedores, o isolamento social é utilizado para reproduzir fenótipos comportamentais observados em pacientes humanos que apresentam transtornos mentais: aumento da atividade locomotora, comportamentos agressivos, comportamentos semelhantes à ansiedade, impulsividade e anedonia (MATSUMOTO, 2005; KOIKE *et al.*, 2009; WILKINSON *et al.*, 1994).

Na *Drosophila*, alguns estudos vêm mostrando efeitos benéficos da interação social, no aumento da longevidade (RUAN; WU, 2008) e aprendizado de comportamento de corte em diferentes espécies de Drosofilídeos (SENE, 1977). Estudo em machos mostra que a interação social é considerada importante para comunicação química realizada entre os indivíduos (KENT *et al.*, 2008; KRUPP *et al.*, 2008). *D. melanogaster* submetidas ao isolamento social apresentam aumento da agressividade (AGRAWAL, 2020; DANKERT *et al.*, 2009), alterações morfológicas em machos isolados pós-eclosão (DANKERT *et al.*, 2009), diminuição da duração e fragmentação do sono durante o dia e noite (BROWN; STRUS; NAIDOO, 2017), impacto na memória (BROWN; STRUS; NAIDOO, 2017), aumento de locomoção (LIU; DAVIS; ROMAN, 2007) e interfere nos neurônios dopaminérgicos em machos (AGRAWAL, 2019). Finalmente, o isolamento social vem sendo utilizado como método indutor de estresse nas moscas (RAMOS-HRYB *et al.*, 2020).

Em roedores, há uma vasta literatura (ver abaixo) que usa o isolamento social para induzir comportamento tipo depressivo (imobilidade, agressividade) e de ansiedade (esquiva). Porém, para a *D. melanogaster* existem poucos estudos que avaliam o efeito do isolamento social sobre seu comportamento, além, de poucas informações sobre a influência dos diferentes períodos de isolamento e aparatos adequados para a análise comportamental. Dessa forma, o campo aberto é um aparato que pode ser utilizado para medir atividade locomotora e os efeitos do isolamento social. Já nas moscas, o campo aberto é um aparato usado para investigar comportamentos locomotores (BURNET *et al.*, 1988; MARTIN, 2003; MUSACHIO *et al.*, 2020) e de exploração (BESSON; MARTIN, 2005; SOIBAM *et al.*, 2012; VALENTE; GOLANI; MITRA, 2007), também em estudos de desordens do neurodesenvolvimento como o autismo (KAUR *et al.*, 2015). Entretanto, o uso do

campo aberto como método para investigar consequências comportamentais do estresse em *D. melanogaster* ainda é incipiente (MOHAMMAD *et al.*, 2016; RAMOS-HRYB *et al.*, 2020).

Outro aparato usado para estudar a consequência comportamental do estresse em roedores é o labirinto em cruz elevado (TREIT; FUNDYTUS, 1988). Os ratos ou camundongos de laboratório evitam explorar os braços abertos do labirinto em cruz elevado evidenciando sua fobia natural por regiões abertas, quanto mais curto o tempo e o número de entradas em cada braço do aparato maior será a indicação de comportamento tipo ansioso (MINEUR; BELZUNG; CRUSIO, 2006; ZHU *et al.*, 2014). Em *D. melanogaster*, um labirinto em cruz já foi usado para testes de preferência olfativa (SEMMEHACK; WANG, 2009; SIMONNET; BERTHELOT-GROSJEAN; GROSJEAN, 2014), memória olfativa (ICHINOSE; TANIMOTO, 2016; KRASHES; WADDELL, 2008) e para análise de preferência alimentar após períodos de jejum (ECKERT, 2017). A *D. melanogaster* possui preferência por alimentos ricos em açúcar (KRASHES; WADDELL, 2008) que contribuem para a formação da memória apetitiva (BURKE; WADDELL, 2011). Eckert (2017) viu em seus estudos que o estresse de restrição de movimento aumentou a imobilidade no labirinto em cruz, sem afetar significativamente a preferência pela comida palatável. Em roedores, a preferência pela sacarose é diminuída e a atividade locomotora alterada após períodos de estresse (GRØNLI *et al.*, 2005; WILLNER *et al.*, 1987; ZHU *et al.*, 2014). Porém, o uso do labirinto em cruz como método para investigar consequências comportamentais do estresse ainda é incipiente (ECKERT, 2017).

Assim, o campo aberto e labirinto em cruz podem ser úteis para investigar comportamentos após situações indutoras de estresse, porém, os estudos carecem de mais detalhes a fim de fornecer informações mais conclusivas. Diante disso, esse projeto tem como principal proposta desenvolver e padronizar protocolos para o uso do campo aberto e labirinto em cruz para análises comportamentais de moscas fêmeas e machos adultas após diferentes períodos de isolamento social.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever e comparar o repertório comportamental exibidos por fêmeas e machos (*Drosophila melanogaster*) após diferentes períodos de isolamento social.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os comportamentos exibidos pelas fêmeas e machos do grupo controle e isolamento no aparato campo aberto;
- Comparar a duração do tempo despendido no centro e na periferia pelas fêmeas e machos do grupo controle e isolamento no aparato campo aberto;
- Identificar os comportamentos exibidos pelas fêmeas e machos do grupo controle e isolamento no aparato labirinto em cruz;
- Verificar a preferência pelo meio banana pelas fêmeas e machos do grupo controle e isolamento no aparato labirinto em cruz;
- Padronizar o campo aberto como aparato para estudo de exploração;
- Padronizar o labirinto em cruz como aparato para estudo de preferência alimentar.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CUIDADOS GERAIS COM A MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS

Machos e fêmeas (Figura 1) selvagens da espécie *Drosophila melanogaster*, obtidos do *Stock Center Tucson, Arizona*, EUA, e criados no laboratório de Drosofilídeos da UFSC. As moscas foram alojadas em recipientes de vidro de 300 mL, vedados com uma espuma circular de aproximadamente 5 cm de altura na parte superior, com meio de cultura de milho (Tabela 1). Junto ao meio, foi inserido um papel filtro de 8 x 1,5 cm para pouso, cópula e regulação da umidade do ambiente (Figura 2). Os vidros foram mantidos a temperatura de 24-25 °C com ciclo claro/escuro de 12/12 h. A cada 3 dias foram oferecidos grânulos de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) diluídos em água, com o objetivo de fornecer nutrição para as larvas. Os meios foram repicados para um novo recipiente com meio de cultura renovado a cada duas semanas.

Foram produzidos recipientes com o intuito de servirem de estoque para retirada das moscas durante os experimentos. Nestes, foram colocadas 10 moscas (cinco machos e cinco fêmeas) de modo a criar uma população. No momento em que o vidro se encontrava com ovos e larvas as moscas adultas eram transferidas para um novo recipiente deixando apenas os ovos e as larvas. No dia 1 ou dia 2 após a eclosão, o recipiente onde estavam as moscas foi disposto em uma placa de gelo durante 1-2 min para anestesia das moscas e posterior sexagem. Para sexagem foi utilizado o dimorfismo sexual entre fêmeas e machos, principalmente o pente tarsal dos machos – seta está apontando para o pente tarsal dos machos (Figura 1). Indivíduos do mesmo sexo eram colocados juntos em tubos iguais de onde seria realizado o isolamento social (Figura 3), isto garantiu que todos os animais testados fossem virgens.

Figura 1. Fotografia da *Drosophila melanogaster*



Figura 1. No lado esquerdo da imagem temos a representação da fêmea e à direita a do macho da espécie *D. melanogaster* com a seta apontando para o pente tarsal. Fonte: <https://www.mindenpictures.com/>

Figura 2. Alojamento dos animais



Figura 2: Este recipiente é alocado em uma sala com temperatura e luminosidade controlada. Na parte superior do vidro temos uma espuma circular que promove a troca de oxigênio e umidade e na parte inferior se encontra o meio de cultura juntamente com um papel filtro. Fonte: própria autora.

Tabela 1. Ingredientes do meio de cultura

Milho (g)	Açúcar (g)	Soja (g)	Centeio (g)	Sal (g)	Nipagin (g)	Água (mL)
58,34	45,84	2,92	7,50	0,45	1,60	417,00

Tabela 1: Tabela com a quantidade de ingredientes suficientes para produzir meio de cultura de milho para 10 recipientes, que servem de alojamento para os animais (ECKERT, 2017).

3.2 PROCEDIMENTO DO ISOLAMENTO SOCIAL

Durante o experimento piloto as moscas foram acondicionadas em um tubo de plástico transparente com 1,21 cm de espessura por 8,22 cm de altura, vedado com uma espuma circular similar ao recipiente estoque. O tubo também continha uma pequena quantidade de meio de cultura de milho (Figura 3).

Figura 3. Local de acondicionamento das moscas para etapa de experimentos



Figura 3: Local em que os animais permaneciam para aguardar os testes comportamentais. À esquerda temos um esquema com as medidas do tubo. Em suma na parte superior é posta uma pequena espuma circular para troca de oxigênio e umidade e na parte inferior o alimento. À direita está a fotografia do tubo limpo. Fonte: própria autora.

3.3 TRANSFERÊNCIA DAS MOSCAS DURANTE OS TESTES

Previamente ao manuseio, as moscas eram anestesiadas na placa de gelo. Os recipientes eram dispostos sobre uma placa de gelo durante 2-5 min até as moscas adormecerem e ficarem imóveis, e em seguida, as moscas eram transferidas para os aparatos gentilmente com auxílio de uma pinça super fina.

3.4 AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO

Durante o piloto as moscas permaneceram dentro de um campo confeccionado pela equipe do laboratório de Neurobiologia do Comportamento em parceria com o Instituto de Engenharia Biomédica (IEB). O mesmo é composto por um suporte plástico com 48,5 cm de altura, por 36,0 cm de largura e 36,0 cm de comprimento apoiado sobre uma tábua branca. O suporte foi envolto por uma fita de led cor branca homogeneizando a luz no espaço, uma vez que as moscas tendem a se orientar pela luz (WERNET *et al.*, 2012). Este banco também era envolto por uma cortina de plástico branco, evitando interferência luminosa externa. O lux médio medido durante os experimentos foi de aproximadamente 550 lux. Acima do suporte foi posta uma câmera para filmagem dos experimentos (Figura 4).

Figura 4. Ambiente de experimentação
b)

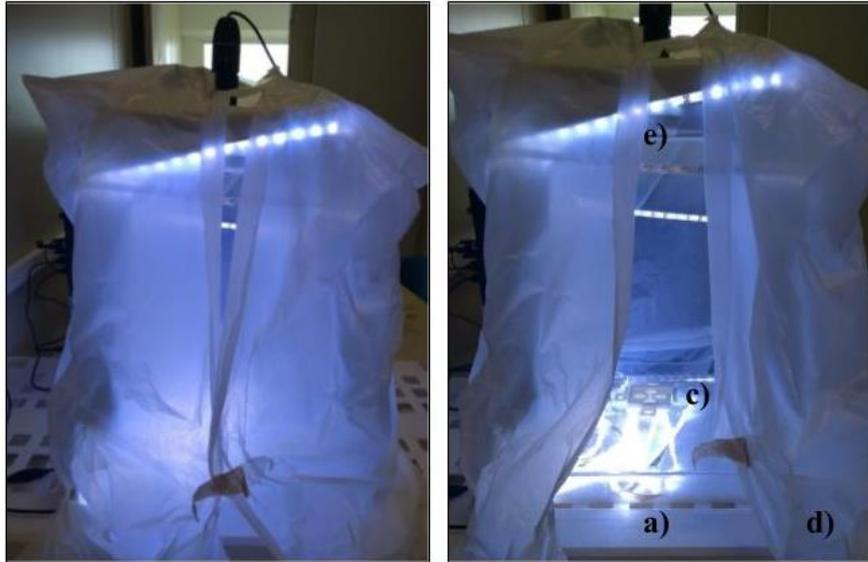


Figura 4: No lado esquerdo da fotografia temos o ambiente de experimentação velado. À direita temos ele aberto, em a) vemos o suporte de plástico, em b) a câmera para filmagem, em c) o aparato comportamental, em d) a cortina plástica branca e em e) a fita de led branca. Fonte: própria autora.

3.5 APARATOS COMPORTAMENTAIS

3.5.1 Campo Aberto

O campo aberto foi confeccionado em parceria com o IEB e impresso em uma impressora 3D (GTMax3D Pro Core H4). Seu tamanho total é de 4,74 cm, sendo a área de teste com diâmetro de 3,97 cm e o centro 2,98 cm. O aparato era higienizado com água corrente a cada novo teste. Ele foi utilizado para analisar os comportamentos de locomoção, imobilidade e auto limpeza (Figura 5).

Figura 5. Campo aberto



Figura 5: À esquerda temos a fotografia do aparato campo aberto utilizado para impressão e à direita uma fotografia do mesmo com suas medidas. Fonte: própria autora.

3.5.2 Labirinto em Cruz

Este aparato foi confeccionado em parceria com o IEB e impresso em uma impressora 3D (GTMax3D Pro Core H4). O labirinto em cruz contém 4 braços e um centro, e seu tamanho total é de 5,5 cm com a distância entre um braço e outro de 4,5 cm. A metade mais externa de cada braço, era preenchida ou com meio banana, ou meio ágar. O meio banana foi escolhido diante da análise do trabalho de Eckert (2017) em que foi encontrado preferência pela banana diante outras opções de alimentos açucarados, e o meio ágar foi escolhido por se tratar de uma solução neutra, sem gosto. No preparo do meio banana, foi colocado 10g de banana bem madura amassada, 50 mL de água e 1g de ágar. Para o meio ágar, era adicionado apenas 50 mL de água e 1g de ágar. Após, eles eram levados ao microondas para que fervessem, isso fazia com que em temperatura ambiente os meios se solidificassem, por fim, eram armazenados na geladeira durante uma semana. No início dos testes realizados a cada dia, os meios eram reaquecidos no microondas para ficarem líquidos e mantidos em uma placa quente, para que fosse feita a troca dos meios a cada novo teste. A posição do braço banana era selecionada aleatoriamente a cada novo teste. O aparato era higienizado com água corrente e os meios trocados em todo novo teste, mesmo que a posição do braço banana fosse a mesma.

Este aparato foi utilizado para analisar a preferência alimentar pelo meio banana, e também os comportamentos de locomoção e imobilidade; não foram analisados comportamentos de limpeza devido à formação de gotículas de água que evaporavam dos meios e fixavam na tampa do aparato (Figura 6). Para o desenvolvimento deste aparato nos baseamos em trabalhos desenvolvidos no nosso laboratório que analisaram a preferência pelo meio banana após períodos de jejum e estresse de restrição de movimento (ECKERT, 2017; ABSTRACTS II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE NEUROPSICOFARMACOLOGIA, 2019).

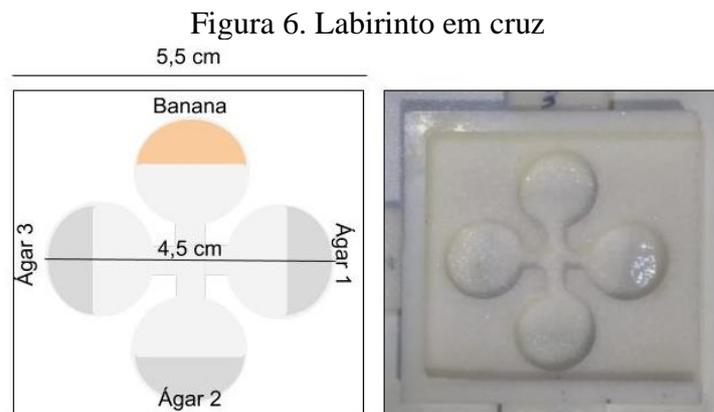


Figura 6: À esquerda temos uma ilustração do aparato labirinto em cruz com suas medidas e representando os braços preenchidos com banana e ágar e à direita uma fotografia do mesmo. Fonte: própria autora.

3.6. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E DIVISÃO DOS GRUPOS

Foram criados dois grupos com períodos de isolamento social diferentes: 1 dia (24h, experimento 1) e 4 dias (96h, experimento 2). Cada experimento era composto por grupos de machos (n =5) e fêmeas (n =5) isolados socialmente e não isolados socialmente (controle) (Tabela 2). Os animais tinham idade entre 5 a 7 dias. Os testes foram realizados entre 10h às 16h, de acordo com a homogeneidade na atividade da mosca durante este período (RIEGER *et al.*, 2007). A separação dos indivíduos para o teste foi feita no mesmo horário do teste para que completasse 24h ou 96h exatas. A escolha do sexo (fêmea ou macho) e do tratamento da mosca a ser testada (controle ou isolado) foi realizada de forma aleatória por sorteio.

Uma vez que utilizaríamos moscas com idade de 5 à 7 dias, a sexagem era feita no 1º ou 2º dia depois do nascimento. As moscas do grupo de isolamento social de 96h, eram transferidas para o tubo que era feito o isolamento social já durante a sexagem, para que completassem a idade para teste, e ficassem 96h em isolamento social. Diferentemente das moscas do grupo de 24h, que eram sexadas e transferidas em grupo para um tubo igual ao que era feito o isolamento social, até chegarem a idade de 4-6 dias para enfim, serem separadas para o isolamento social. Todos os testes tiveram tempo de 15min (900s). Primeiramente era colocado o tubo onde as moscas estavam aguardando para os testes no gelo para anestésias as moscas. Após, a mosca a ser testada era transferida para o campo aberto. Passado o tempo do experimento, eram necessários 5 minutos para que fosse feita novamente a anestesia no gelo para transferência do animal ao labirinto em cruz. O tempo necessário para a anestesia era de 1-2 min. No fim dos experimentos as moscas eram eutanasiadas por congelamento (Figura 7).

Figura 7. Etapas do procedimento

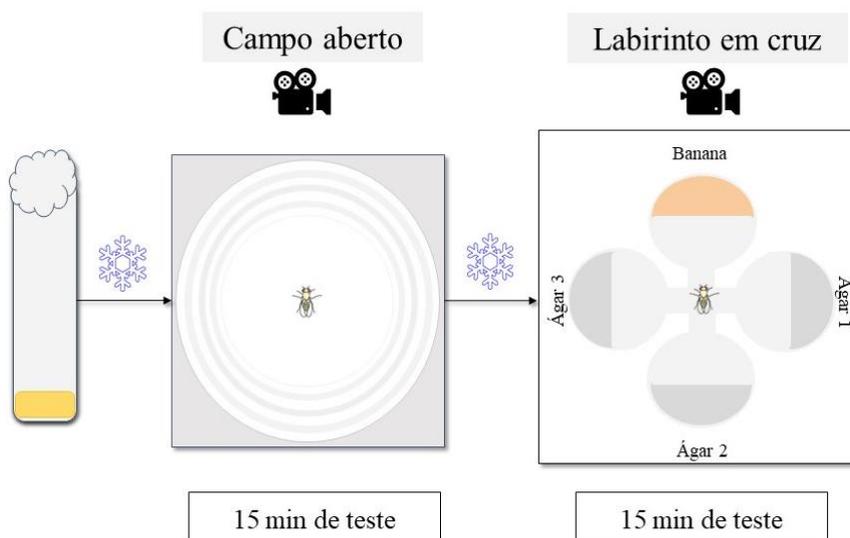


Figura 7: Na imagem temos as etapas do procedimento de teste. Primeiramente as moscas foram anestesiadas no gelo dentro do tubo (à esquerda) e transferidas para o campo aberto. Passado o teste elas eram novamente anestesiadas e transferidas ao labirinto em cruz. Fonte: própria autora.

Tabela 2. Delineamento experimental e divisão dos grupos

24h DE ISOLAMENTO SOCIAL				
Tratamento	Controle		Isolamento	
Sexo	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Número amostral	5	5	5	5
96h DE ISOLAMENTO SOCIAL				
Tratamento	Controle		Isolamento	
Sexo	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Número amostral	5	5	5	5

Tabela 2: Desenho experimental para os grupos de isolamento social de 24h e 96h.

3.7. ANÁLISE

Todos os testes foram filmados com uma *webcam Digital Microscope – Lenovo* conectada a um computador e operada com o auxílio do programa *Virtual Dub 1.10.4.0*. Os vídeos foram usados para posterior registro dos comportamentos usando o programa de análise comportamental criado pelo grupo do laboratório de engenharia biomédica do IEB denominado *EthoWatcher Beta* (CRISPIM JUNIOR *et al.*, 2012). Um catálogo comportamental contendo os principais comportamentos esperados para o campo aberto e para o labirinto em cruz (Tabela 3) foi inserido no *EthoWatcher* e usado para todas as análises. No *link* a seguir se encontra um vídeo com fragmentos dos vídeos dos testes comportamentais que representa cada comportamento analisado no aparato campo aberto e no labirinto em cruz:

https://drive.google.com/file/d/1AUx5tH-feRyqQIRBdVua0F5U_h9jxqF/view?usp=sharing.

O vídeos originais continham cerca de 15 minutos, mas foi necessário excluir o segmento final devido a problemas encontrados na captação das imagens apresentado pelo *Virtual Dub*, então os vídeos analisados continham apenas os primeiros 10 minutos (600 segundos) do teste. Para cortar excluir os segmento final foi utilizado o *EthoWatcher*. Os comportamentos foram registrados por 10 minutos a partir do momento da recuperação da anestesia, i.e., a partir do primeiro movimento da mosca visível no vídeo.

Dado o pequeno tamanho amostral, os dados serão apresentados e discutidos de forma descritiva considerando a média da duração, frequência e a razão entre duração e frequência em ambos os aparatos comportamentais. A duração representa o tempo que os animais gastaram realizando cada comportamento, a frequência é o número de vezes que os animais realizaram cada comportamento e a razão entre duração e frequência é a divisão da duração pela frequência e representa a permanência dos animais em cada comportamento. Ao realizar as análises comportamentais nos aparatos, não era possível identificar se a mosca estava no chão do aparato ou no teto. Com isso, no campo aberto o centro equivale à região central (base + teto respectivo) e periferia (lateral + teto respectivo). A base do aparato se refere a região central, que fica em contato com chão, e a lateral, a região inclinada. O mesmo acontece para o labirinto em cruz, cada região se refere a base mais teto respectivo. No labirinto em cruz, o braço ágar 1 sempre era o primeiro braço à direita do braço que continha o meio banana, ou seja, iniciava a contar os braços ágar 1, 2 e 3 em sentido horário do braço banana.

Para a análise dos resultados dos testes do campo aberto foi feita a proporção dos dados brutos pela área de cada região do aparato; o mesmo não foi feito para o labirinto em cruz porque não foi possível precisar quanto espaço os meios ocupavam nos braços. Para então fazermos o cálculo da área, primeiramente, é preciso calcular o raio da base do aparato e da tampa do aparato inteiro.

Sabemos que o campo aberto tem formato de tronco de cone, sendo o diâmetro da base de $d_1 = 2,98 \text{ cm}$ e diâmetro da tampa toda de $d_2 = 3,97 \text{ cm}$. A fórmula utilizada para cálculo do raio dado o diâmetro é:

$$r = \frac{d}{2}.$$

Logo, o raio da base (r_1) será:

$$r_1 = \frac{2,98}{2} = 1,49 \text{ cm}.$$

E o raio da tampa toda (r_2) será:

$$r_2 = \frac{3,97}{2} = 1,985 \text{ cm}.$$

Após, seguimos para o cálculo da área do centro (C) do aparato. Antes, calculamos a área da base usando a seguinte fórmula:

$$A = \pi r^2.$$

Pelos cálculos anteriores, o raio da base é de $r_1 = 1,49$, portanto, a área da base (A_1) é dada por:

$$A_1 = \pi r_1^2 = \pi(1,49)^2 = 6,97 \text{ cm}^2.$$

Como a área do centro é a área da base mais a área da tampa respectiva, e a área da tampa é igual a área da base, basta multiplicar por 2. Logo, a área do centro é:

$$C = 2 * 6,97 = \mathbf{13,94 \text{ cm}^2}.$$

Passamos agora para o cálculo da área da periferia. Para tal, começamos calculando a área da tampa total (A_2). Como o círculo da tampa tem raio $r_2 = 1,985 \text{ cm}$, temos que a área da tampa toda é:

$$A_2 = \pi r_2^2 = \pi(1,985)^2 = 12,38 \text{ cm}^2.$$

Portanto, a área da periferia da tampa (P_t) é dada por:

$$P_t = A_2 - A_1 = 12,38 - 6,97 = 5,41 \text{ cm}^2.$$

Para calcular a área da superfície lateral do aparato, precisamos saber a medida da altura de inclinação (s) do tronco de cone, cuja definição é a seguinte: dado um tronco de cone com raio do círculo menor sendo r_1 , raio do círculo maior sendo r_2 , e altura h temos que a altura de inclinação s do tronco de cone é dada por:

$$s = \sqrt{(r_1 - r_2)^2 + h^2}.$$

Logo, no nosso caso como $r_1 = 1,49 \text{ cm}$, $r_2 = 1,985 \text{ cm}$ e $h = 0,5 \text{ cm}$, temos:

$$s = \sqrt{(r_1 - r_2)^2 + h^2} = \sqrt{(1,49 - 1,985)^2 + (0,5)^2} = 0,7 \text{ cm}.$$

Portanto, como a área da superfície do tronco do cone é dada por:

$$S = \pi(r_1 + r_2)s,$$

temos que a área da superfície lateral do aparato será:

$$S = \pi(r_1 + r_2)s = \pi(1,49 + 1,985)0,7 = 7,64 \text{ cm}^2.$$

Assim, obtemos que a área da nossa periferia (P) será a área da periferia da tampa P_t mais a área da superfície lateral do aparato S , que é dada por:

$$P = S + P_t = 7,64 + 5,41 = \mathbf{13,05 \text{ cm}^2}.$$

Tabela 3. Comportamentos analisados

Legenda Campo Aberto (CA)		Legenda Labirinto em Cruz (LC)	
CC	Caminhar no centro	CC	Caminhar no centro
CP	Caminhar na periferia	CB	Caminhar no braço banana
IC	Imobilidade no centro	C1	Caminhar no braço ágar 1
IP	Imobilidade na periferia	C2	Caminhar no braço ágar 2
LPDC	Limpar as patas dianteiras no centro	C3	Caminhar no braço ágar 3
LPDP	Limpar as patas dianteiras na periferia	IC	Imobilidade ou limpeza no centro
LPTC	Limpar as patas traseiras no centro	IB	Imobilidade ou limpeza no braço banana
LPTP	Limpar as patas traseiras na periferia	I1	Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1
LAC	Limpar as asas no centro	I2	Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2
LAP	Limpar as asas na periferia	I3	Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3

Tabela 3: Comportamentos analisados no campo aberto (CA) e no labirinto em cruz (LC) juntamente com a sigla de cada comportamento. Para o CA foi analisado os comportamentos no centro e na periferia do aparato e para LC no centro e nos 4 braços.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. TESTE DO CAMPO ABERTO

Abaixo se apresentam os resultados dos testes de campo aberto na forma de duração proporcional, frequência proporcional e de razão entre duração e frequência proporcional – usado como um índice de permanência em moscas fêmeas ou machos dos grupos experimentais controle ou isolamento social. No apêndice A e B se encontram as tabelas com os dados brutos da duração, frequência e razão entre duração e frequência proporcional que cada animal obteve para cada comportamento, tanto para o grupo isolamento social 24h (Tabela 5, 6 e 7) quanto para o isolamento social 96h (Tabela 8, 9 e 10) respectivamente.

4.1.1. Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no campo aberto

Ao analisarmos a duração proporcional, observamos que as fêmeas do grupo controle exibiram maior duração de imobilidade no centro (3%), comparado as fêmeas do grupo isolamento (7%). Além disso, as fêmeas do grupo isolamento tiveram caminhada no centro (CC = 10%), limpeza de patas dianteiras no centro (LPDC = 4%), limpeza de patas traseiras no centro (LPTC = 4%), limpeza de asas no centro (LAC = 3%), maiores que as fêmeas do grupo controle (CC = 8%, LPDC = 2%, LPTC = 2%, LAC = 2%). Na periferia, a duração proporcional de caminhada na periferia (CP), imobilidade na periferia (IP) e limpeza de patas dianteiras (LPDP) é maior nas fêmeas do grupo controle (CP = 61%, IP = 8% e LPDP = 9%) que as fêmeas do grupo isolamento (CP = 46%, IP =

7% e LPDP = 7%). O inverso foi visto nos comportamentos de limpeza de patas traseiras (LPTP = 9%) e limpeza das asas (LAP = 3%), as fêmeas do grupo isolamento tem duração maior que as fêmeas do grupo controle (LPTP = 4% e LAP = 1%) (Fig. 8).

Se então somarmos todos os comportamentos exibidos pelas fêmeas somente na região da periferia, observamos que independente do grupo experimental, a permanência das fêmeas foi maior na periferia se comparado ao centro, porém, as fêmeas do grupo controle tiveram duração maior que as fêmeas do grupo isolamento (periferia: controle = 83%, isolamento = 72%). Somando a duração de caminhada no centro mais a duração de caminhada na periferia, novamente as fêmeas do grupo controle caminharam mais que as fêmeas do grupo isolamento (caminhada: controle = 69%, isolamento = 56%). Entretanto, para os comportamentos de limpeza, vemos o inverso, a soma de todos os comportamentos de limpeza na periferia e no centro mostra que as fêmeas do grupo isolamento gastaram mais tempo nestas atividades que as fêmeas do grupo controle (controle = 20%, isolamento = 30%). Finalmente, o semelhante é feito a partir dos dados de imobilidade, a soma da imobilidade na periferia e no centro revela que as fêmeas do grupo isolamento gastaram mais tempo em imobilidade que as fêmeas do grupo controle (controle = 11%, isolamento = 14%) (Fig. 8).

Analisando a frequência proporcional, vemos que a frequência de caminhada no centro (CC) e na periferia (CP) é maior que os demais comportamentos, entretanto, as fêmeas isoladas tiveram frequência maior de caminhada no centro (CC = 26%) comparado às fêmeas controle (CC = 22%) e o inverso foi visto para caminhada na periferia (CP). As fêmeas isoladas tiveram a frequência (CP = 30%) menor quando comparada as fêmeas controle (CP = 37%). As fêmeas isoladas apresentaram maior frequência no centro para comportamentos de imobilidade (IC = 7%), limpeza das patas dianteiras (LPDC = 4%), limpeza de patas traseiras (LPTC = 5%) e limpeza das asas (LAC = 2%), que as fêmeas controle (IC = 4%, LPDC = 2%, LPTC = 4%, LAC = 1%). Na periferia, o mesmo é verdade apenas para limpeza de patas traseiras (LPTP) e limpeza das asas (LAP) (controle: LPTP = 7%, LAP = 1%; isolamento: LPTP = 10%, LAP = 3%), mas para limpeza de patas dianteiras (LPDP) e imobilidade (IP) as fêmeas controle tiveram frequência maior (controle: LPDP = 12%, IP = 10%; isolamento: LPDP = 7%; IP = 6%) (Fig. 8).

Finalmente, ao somarmos a frequência proporcional de todos os comportamentos exibidos na região da periferia, observamos que as fêmeas controle possuem maior frequência na periferia (67%), que as fêmeas isoladas (56%), conseqüentemente, a frequência no centro nas fêmeas controle é de 33% e nas fêmeas do grupo isolamento de 44%. Para a soma dos comportamentos de limpeza realizados na periferia mais o centro, as fêmeas do grupo isolamento tiveram frequência maior (31%)

que as fêmeas do grupo controle (27%). As fêmeas do grupo controle tem maior frequência quando somamos a imobilidade na periferia mais imobilidade no centro (controle = 14%, isolamento = 13%) (Fig. 8).

Figura 8. Durações e frequências proporcionais dos comportamentos das fêmeas do IS 24h

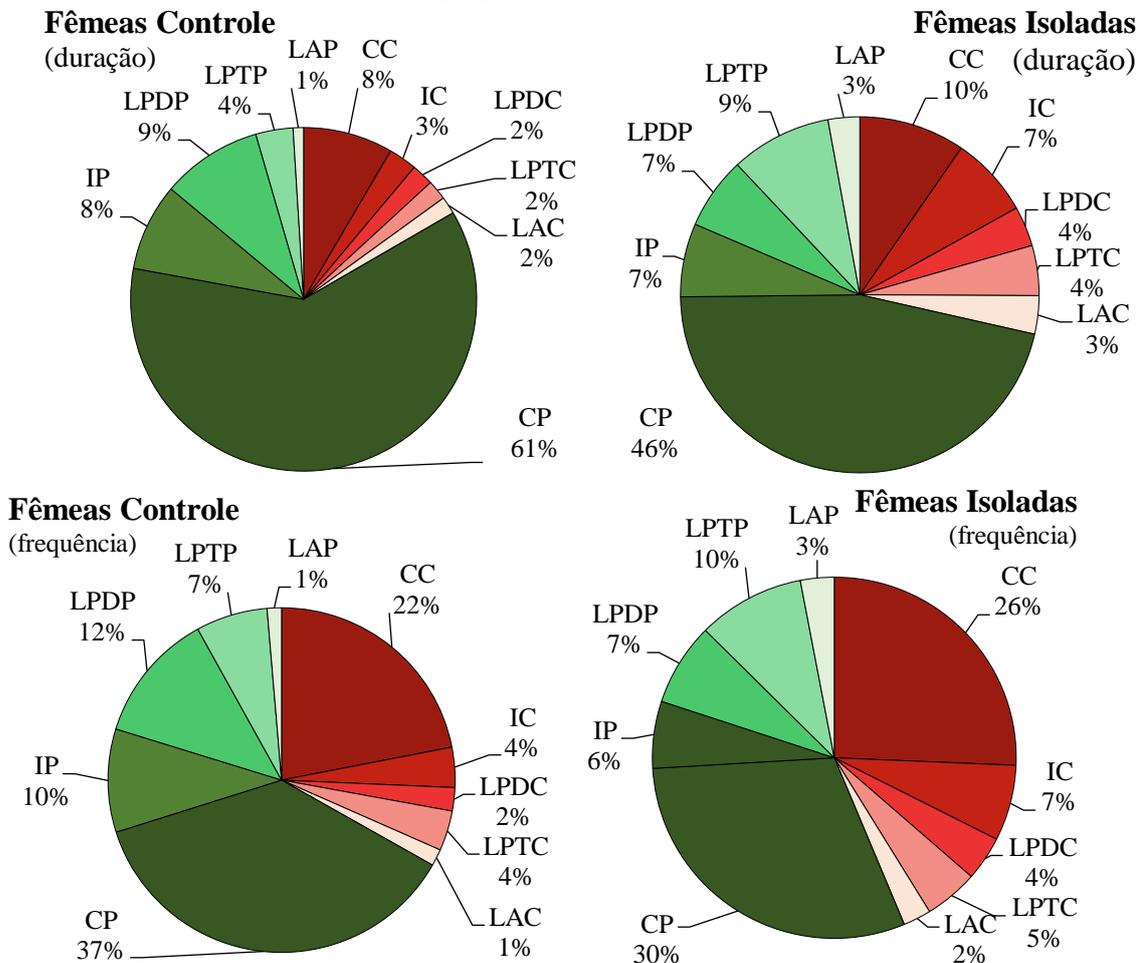


Figura 8: Dados expressos pela média da duração proporcional (painel superior) ou frequência proporcional (painel inferior) dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 24h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro.

Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

Agora para a análise da razão entre duração e frequência proporcional, vemos que as fêmeas isoladas tiveram maior permanência de imobilidade no centro (IC = 13%) comparada as fêmeas controle (IC = 7%). Entretanto, para o comportamento de caminhada no centro (CC) e na periferia (CP) vemos o inverso, as fêmeas isoladas tiveram permanência menor (CC = 4%, CP = 16%) que as fêmeas controle (CC = 5%, CP = 25%). As fêmeas isoladas permaneceram também realizando mais

comportamentos de limpeza das patas traseiras no centro (LPTC) e na periferia (LPTP) (LPTC = 8%, LPTP = 9%) e das asas no centro (LAC) e na periferia (LAP) (LAC = 9%, LAP = 14%), que as fêmeas controle (LPTC = 5%, LPTP = 8%, LAC = 8%, LAP = 9%). Porém, vemos o inverso para o comportamento de limpeza das patas dianteiras no centro (LPDC: isolamento = 7%, controle = 10%) e na periferia (LPDP: isolamento = 11%, controle = 13%) (Fig. 9).

Na soma dos comportamentos, a permanência na periferia do aparato foi maior nas fêmeas controle (65%), que nas fêmeas isoladas (59%). Na soma de todos os comportamentos de limpeza do centro mais os da periferia, foi maior nas fêmeas isoladas (58%) que nas fêmeas controle (53%), o mesmo ocorre para a soma da imobilidade do centro mais da periferia (controle = 17%, isolamento = 22%). Entretanto, as fêmeas controle caminharam mais quando somamos o centro e a periferia (30%) se comparado as fêmeas isoladas (20%) (Fig. 9).

Figura 9. Razão duração:frequência proporcional dos comportamento das fêmeas do IS 24h

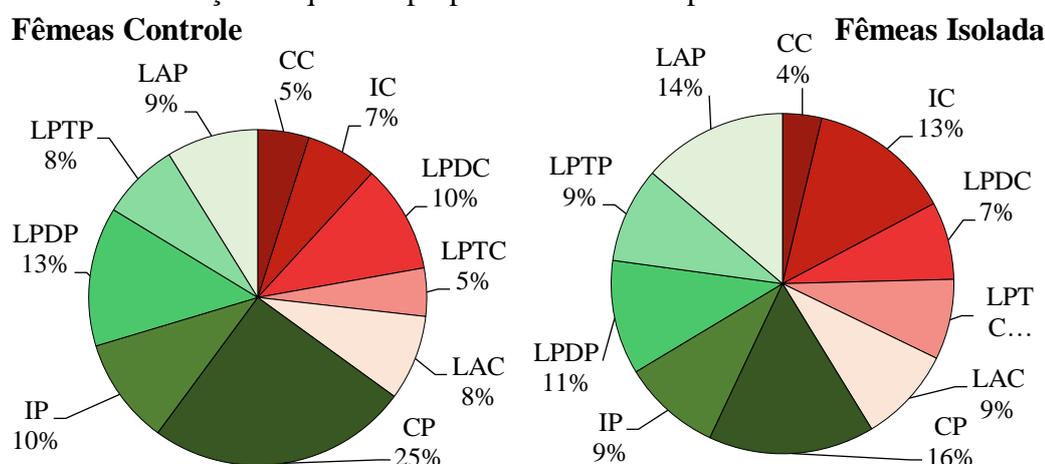


Figura 9: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência proporcional dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e das fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 24h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas:

CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

4.1.2. Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas machos no campo aberto

Ao analisarmos a duração proporcional agora nos machos, observamos que os machos do grupo controle exibiram menor duração de imobilidade no centro (IC = 6%), comparado aos machos do grupo isolamento (9%). Os machos isolados tiveram o comportamento de caminhar no centro (CC), limpeza de patas dianteiras no centro (LPDC), limpeza de patas traseiras no centro (LPTC) e

limpeza das asas no centro (LAC) menores que os machos controle (controle: CC = 10%, LPDC = 2%, LPTC = 1%, LAC = 2%; isolamento: CC = 12%, LPDC = 3%, LPTC = 3%, LAC: 1%). Na periferia, a duração proporcional de caminhada na periferia (CP) é maior nos machos controle (59%) que nos machos isolados (49%), e o inverso é visto nos comportamentos de limpeza de asas (LAP: controle = 1%, isolamento = 2%) e limpeza de patas traseiras (LPTP: controle = 5%, isolamento = 7%), porém, para os comportamentos de imobilidade (IP) e limpeza de patas dianteiras (LPDP) o resultado foi igual (IP: controle = 7%, isolamento = 7%; LPDP: controle = 7%, isolamento = 7%) (Fig. 10).

Se então somarmos todos os comportamentos exibidos pelos machos somente na região da periferia, observamos que ambos tiveram duração maior na periferia se comparado ao centro, porém, os machos controle tiveram duração maior que os machos isolados (periferia: controle = 79%, isolamento = 72%). Somando a duração de caminhada no centro mais a duração de caminhada na periferia, novamente os machos do grupo controle caminharam mais que os machos isolados (controle = 69%, isolamento = 61%). Entretanto, para os comportamentos de limpeza vemos o inverso, a soma de todos os comportamentos de limpeza realizados no centro mais os da periferia mostra que os machos isolados tiveram duração maior que os machos do grupo controle (controle = 18%, isolamento = 23%), o mesmo ocorre para a soma da imobilidade na periferia mais imobilidade no centro (controle = 13%, isolamento = 16%) (Fig. 10).

A frequência proporcional de caminhada no centro (CC) e na periferia (CP) é maior que os demais comportamentos. Entretanto, os machos do grupo isolamento tiveram frequência maior de CC (30%) comparado aos machos do grupo controle (25%), e o inverso foi visto para CP. A frequência de caminhada na periferia pelos machos isolados (34%) foi menor que a observada no grupo controle (36%). Os machos isolados apresentaram maior frequência no centro para comportamentos de limpeza das patas dianteiras (LPDC = 3%) e limpeza de patas traseiras (LPTC = 3%) se comparado aos machos controle (LPDC = 2%, LPTC = 2%). Mas os machos controle tiveram maior frequência no comportamento de imobilidade no centro (IC = 7%), limpeza das asas no centro (LAC = 2%) e limpeza das patas dianteiras na periferia (LPDP = 9%) se comparado aos machos isolados (IC = 6%, LAC = 1%, LPDP = 6%). Porém, para imobilidade na periferia (IP), limpeza das patas traseiras na periferia (LPTP) e limpeza das asas na periferia (LAP) a frequência foi igual entre os machos controle e machos isolados (IP: controle = 9%, isolamento = 9%; LPTP: controle = 6%, isolamento = 6%; LAP: controle = 2%, isolamento = 2%) (Fig. 10).

Finalmente, ao somarmos a frequência proporcional de todos os comportamentos exibidos na

região da periferia, observamos que os machos controle possuem frequência maior na periferia (62%), que os machos isolados (57%). Em contrapartida, no centro os machos controle tem frequência de 37% e os machos isolados de 43%. Na soma dos comportamentos de limpeza realizados no centro mais os da periferia, os machos do grupo controle tiveram frequência maior (23%) que os machos isolados (21%) (Fig. 10).

Figura 10. Durações e frequências proporcionais dos comportamentos dos machos do IS 24h

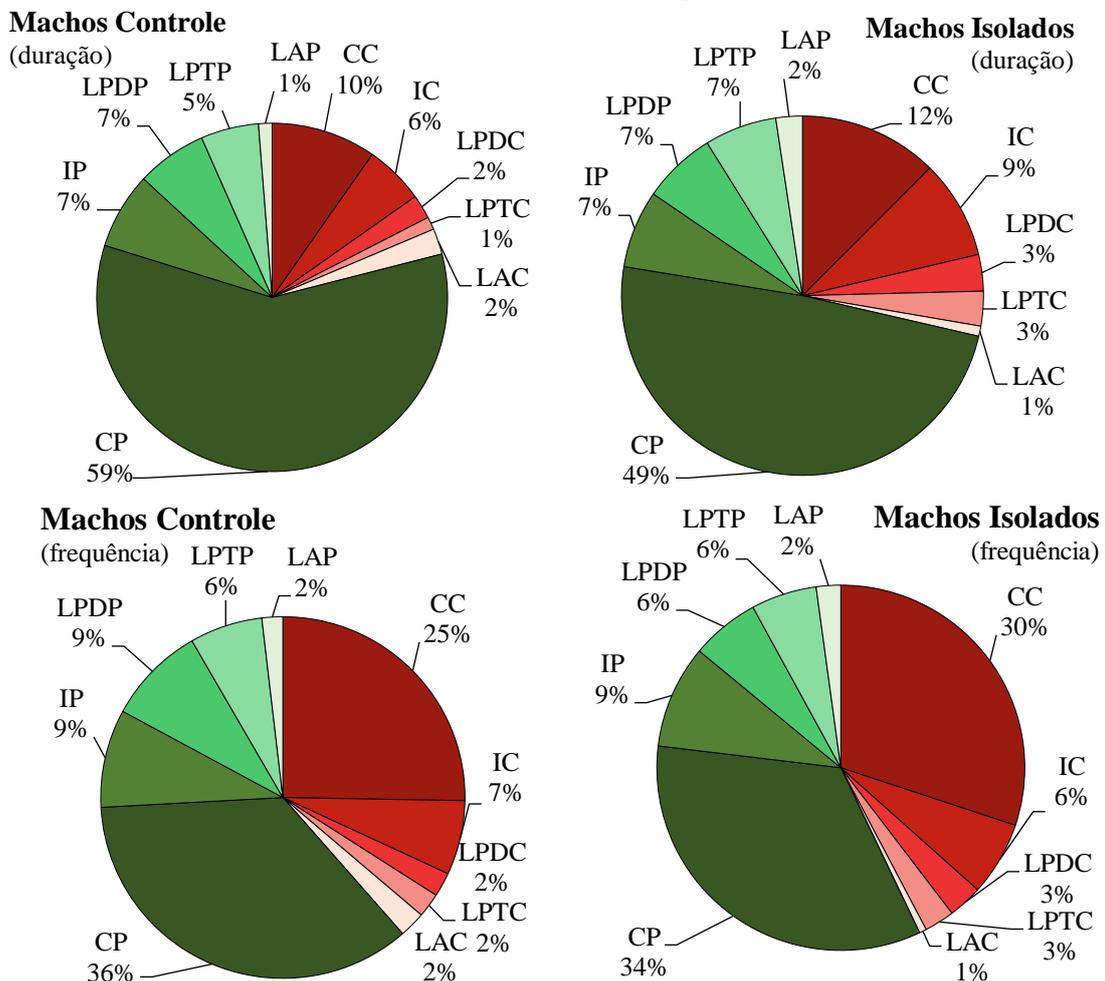


Figura 10: Dados expressos pela média da duração proporcional (painel superior) ou frequência proporcional (painel inferior) dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e dos machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 24h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

A análise agora da razão entre duração e frequência proporcional, demonstrou que os machos do grupo isolamento tiveram maior permanência de imobilidade no centro (IC = 12%) comparada aos machos do grupo controle (IC = 11%), entretanto, para os comportamentos de caminhada no

centro (CC) e na periferia (CP) vemos o inverso. Os machos isolados tiveram permanência menor (CC = 4%, CP = 16%) que os machos controle (CC = 5%, CP = 23%). Os machos do grupo isolamento realizaram mais comportamentos de limpeza das patas traseiras no centro (LPTC) e na periferia (LPTP) (LPTC = 11%, LPTP = 10%) e das asas no centro (LAC) e na periferia (LAP) (LAC = 11%, LAP = 8%), que os machos controle (LPTC = 6%, LPTP = 9%, LAC = 10%, LAP = 3%). Porém, para o comportamento de limpeza das patas dianteiras no centro (LPDC) e na periferia (LPDP) o resultado é igual para os dois grupos (LPDC: isolamento = 9%, controle = 9%; LPDP: isolamento = 11%, controle = 11%) (Fig. 11).

Na soma dos comportamentos, a permanência na periferia foi maior nos machos controle (59%) que nos machos isolados (53%) e na soma de todos os comportamentos de limpeza do centro mais os da periferia, é maior nos machos isolados (60%) que nos machos controle (48%). Porém, os machos controle caminharam mais quando somamos o centro e a periferia (28%) se comparado aos machos isolados (20%) e ficaram mais em imobilidade em todo o aparato (24%) que os machos isolados (20%) (Fig. 11).

Figura 11. Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos dos machos do IS 24h

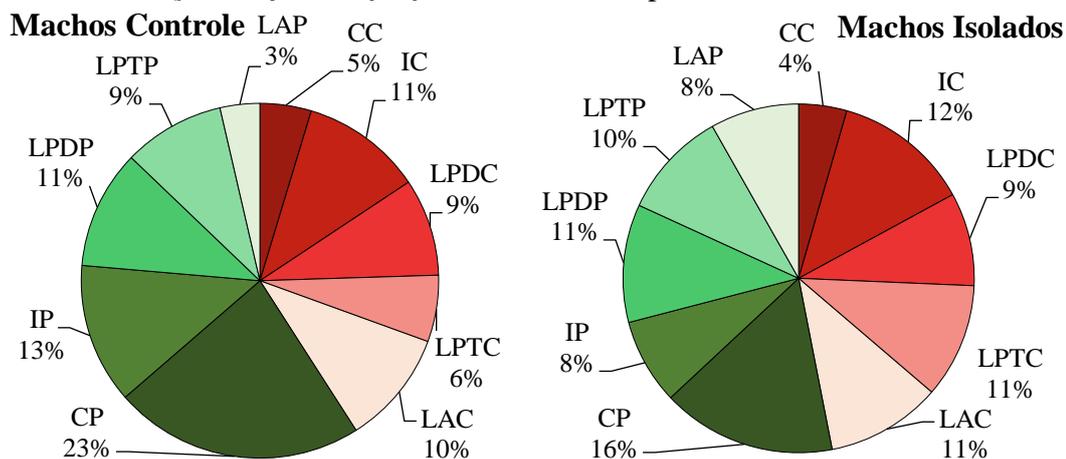


Figura 11: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência proporcional dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e dos machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 24h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

4.1.3. Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no campo aberto

Ao analisarmos a duração proporcional, observamos que as fêmeas do grupo controle

exibiram duração de imobilidade no centro igual (6%) as fêmeas do grupo isolamento (6%), o mesmo ocorre para os comportamentos de imobilidade na periferia (IP: controle = 11%, isolamento = 11%), caminhada no centro (CC: controle = 11%, isolamento = 11%) e limpeza de patas dianteiras no centro (LPDC: controle = 3%, isolamento = 3%). Para os comportamentos de limpeza de patas traseiras no centro (LPTC) e periferia (LPTP) e para limpeza de asas no centro (LAC) as fêmeas controle tiveram duração maior (LPTC = 5%, LPTP = 3%, LAC = 4%), que as fêmeas isoladas (LPTC = 2%, LPTP = 1%, LAC = 1%); e o inverso ocorre para limpeza de patas dianteiras na periferia (LPDP: controle = 7%, isolamento = 9%) e limpeza de asas na periferia (LAP: controle = 1%, isolamento = 2%) (Fig. 12).

Se então somarmos todos os comportamentos exibidos pelas fêmeas somente na região da periferia, observamos que ambas tiveram duração maior na periferia se comparado ao centro, porém, as fêmeas isoladas tiveram duração maior que as fêmeas controle (periferia: controle = 72%, isolamento = 78%). Somando a duração de caminhada no centro mais a duração de caminhada na periferia, novamente as fêmeas isoladas caminharam mais que as fêmeas controle (controle = 61%, isolamento = 66%); para os comportamentos de limpeza vemos o inverso, a soma de todos os comportamentos de limpeza na periferia e no centro mostra que as fêmeas controle tiveram duração maior que as fêmeas isoladas (controle = 23%, isolamento = 18%). Na soma da imobilidade na periferia mais imobilidade no centro as duas fêmeas têm duração igual (controle = 16%, isolamento = 16%) (Fig. 12).

A frequência proporcional de caminhada na região do centro (CC) e periferia (CP) é maior que os demais comportamentos, entretanto, as fêmeas do grupo isolamento tiveram frequência maior de CP (38%) comparado as fêmeas do grupo controle (32%), e o inverso foi visto para CC, as fêmeas isoladas reduziram a frequência (20%) comparada as fêmeas controle (28%). As fêmeas isoladas apresentaram maior frequência para comportamentos de imobilidade no centro (IC = 10%) e na periferia (IP = 15%) que as fêmeas controle (IC = 4%, IP = 6%). Entretanto, para os comportamentos de limpeza, as fêmeas controle tiveram maior frequência para quase todos eles: limpeza de patas traseiras no centro (LPTC = 6%) e na periferia (LPTP = 9%), limpeza de patas dianteiras na periferia (LPDP = 8%), limpeza das asas no centro (LAC = 3%), que as fêmeas isoladas (LPTC = 2%, LPTP = 4%, LPDP = 5%, LAC = 1%), apenas para a limpeza das asas na periferia (LAP) que foi inverso (controle = 1%, isolamento = 2%), e para limpeza de patas dianteiras no centro (LPDC) temos o mesmo resultado (controle = 3%, isolamento = 3%) (Fig. 12).

Finalmente, ao somarmos a frequência proporcional de todos os comportamentos exibidos na

região da periferia, observamos que as fêmeas isoladas possuem maior frequência na periferia (64%), que as fêmeas controle (56%), conseqüentemente, a frequência no centro para as fêmeas isoladas é de 36% e para as fêmeas controle de 44%. Na soma dos comportamentos de limpeza realizados no centro mais os da periferia, as fêmeas controle tiveram frequência maior (30%) que as fêmeas isoladas (17%) (Fig. 12).

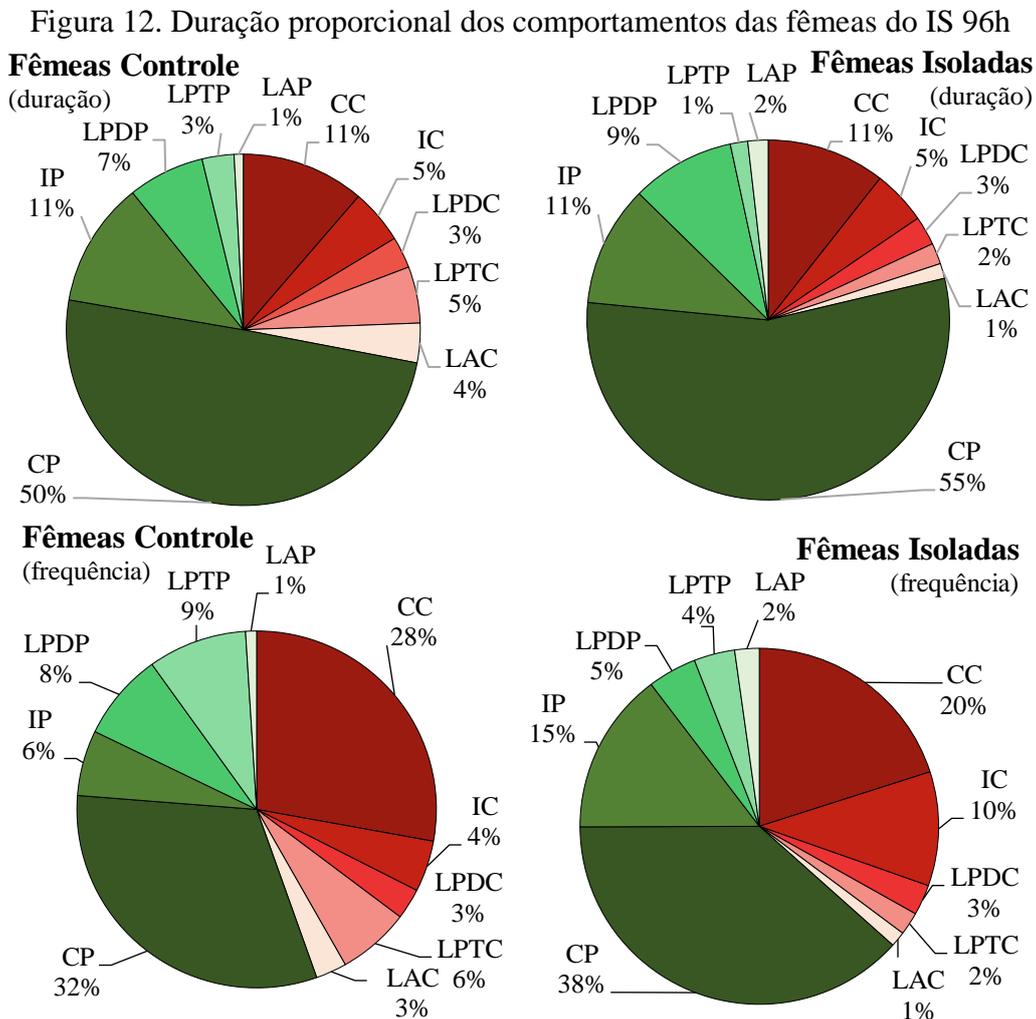


Figura 12: Dados expressos pela média da duração proporcional (painel superior) ou frequência proporcional (painel inferior) dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e das fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 96h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

A análise da razão entre duração e frequência proporcional, demonstrou que as fêmeas do grupo controle tiveram maior permanência de imobilidade no centro (IC = 14%), da limpeza de patas dianteiras no centro (LPDC = 11%), maior permanência de caminhada na periferia (CP = 23%),

imobilidade na periferia (IP = 10%) e limpeza de patas dianteiras na periferia (LPDP = 12%) comparada as fêmeas do grupo isolamento (IC = 7%, LPDC = 9%, CP = 19%, IP = 6%, LPDP = 8%). O inverso acontece para os comportamentos de caminhar no centro (CC = 5%), limpeza de patas traseiras no centro (LPTC = 9%), limpeza de asas no centro (LAC = 10%), limpeza de patas traseiras na periferia (LPTP = 6%) e limpeza das asas na periferia (LAP = 21%), se comparada as fêmeas controle (CC = 4%, LPTC = 8%, LAC = 9%, LPTP = 4%, LAP = 5%) (Fig. 13).

Na soma dos comportamentos, a permanência na periferia do aparato foi maior nas fêmeas isoladas (60%) que nas fêmeas controle (54%) e também na soma de todos os comportamentos de limpeza do centro mais os da periferia (controle = 49%, isolamento = 63%); mas foi inverso para permanência de caminhada em todo o aparato (controle = 27%, isolamento = 24%) e imobilidade (controle = 24%, isolamento = 13%) (Fig. 13).

Figura 13. Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos das fêmeas do IS 96h

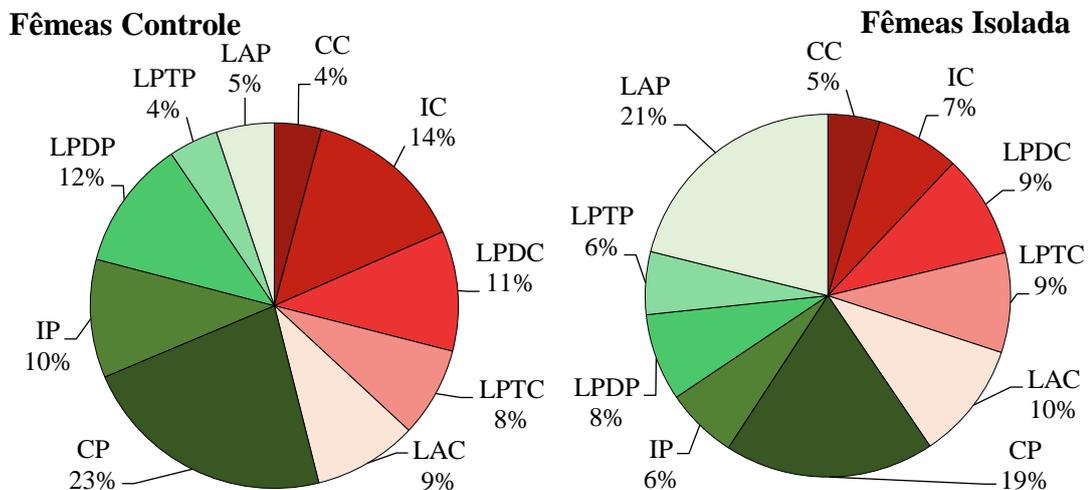


Figura 13: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência proporcional dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e das fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 96h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

4.1.4 Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas machos no campo aberto

Ao analisarmos a duração proporcional nos machos, observamos que os machos do grupo controle exibiram duração maior em todos os comportamentos no centro (CC = 10%, IC = 12%, LPDC = 3%, LPTC = 6%, LAC = 2%) se comparado aos machos do grupo isolamento (CC = 9%, IC

= 7%, LPDC = 2%, LPTC = 2%, LAC = 1%). Na periferia, isto acontece apenas nos comportamentos de limpeza de patas traseiras (LPTP = 3%) e na limpeza das asas (LAP = 2%), se comparado aos machos isolados (LPTP = 1%, LAP = 1%). Para limpeza de patas dianteiras na periferia (LPDP), a duração é igual (controle = 6%, isolamento = 6%) e nos comportamentos de caminhar na periferia (CP) e imobilidade na periferia (IP) os machos isolados tiveram duração maior (CP = 68%, IP = 3%) que os machos controle (CP = 55%, IP = 1%) (Fig. 14).

Se então somarmos todos os comportamentos exibidos pelos machos somente na região da periferia, observamos que ambos tiveram duração maior na periferia se comparado ao centro, porém, os machos isolados tiveram duração maior que os machos controle (periferia: controle = 67%, isolamento = 78%); somando a duração de caminhada no centro mais a duração de caminhada na periferia, novamente os machos isolados caminharam mais (79%) que os machos controle (67%); para os comportamentos de limpeza vemos o inverso, a soma de todos os comportamentos de limpeza na periferia e no centro mostra que os machos controle tiveram duração maior (22%) que os isolados (13%). Na soma da imobilidade da periferia mais centro os machos controle tem duração maior (13%) se comparado aos isolados (10%) (Fig. 14).

A frequência proporcional de caminhada na região do centro (CC) e na periferia (CP), é maior que os demais comportamentos, entretanto, os machos isolados tiveram frequência maior de CC (28%) comparado aos machos controle (19%), e o inverso foi visto para CP, os isolados reduziram a frequência (41%) comparada aos controle (39%). Os machos isolados apresentaram maior frequência para comportamentos de imobilidade no centro (IC = 7%) e na periferia (IP = 9%) que os machos controle (IC = 5%, IP = 1%). Para os comportamentos de limpeza, os controle tiveram frequência maior para todos eles: limpeza de patas dianteiras no centro (LPDC = 7%), limpeza de patas traseiras no centro (LPTC = 4%), limpeza de asas no centro (LAC = 2%), limpeza de patas dianteiras na periferia (LPDP = 10), limpeza de patas traseiras na periferia (LPTP = 9%) e limpeza de asas na periferia (LAP = 2%), quando comparado aos isolados (LPDC = 3%, LPTC = 3%, LAC = 1%, LPDP = 7%, LPTP = 2%, LAP = 1%) (Fig. 14).

Ao somarmos a frequência proporcional de todos os comportamentos exibidos na região da periferia, observamos que os machos do grupo controle possuem frequência maior na periferia (63%), que os machos do grupo isolamento (58%), conseqüentemente, a frequência no centro para os machos controle é de 37% e nos machos isolados de 42%. Na soma dos comportamentos de limpeza realizados no centro mais os da periferia, os controle também tiveram frequência maior (34%) que os isolados (17%) (Fig. 14).

Figura 14. Duração e frequência proporcional dos comportamentos dos machos do IS 96h

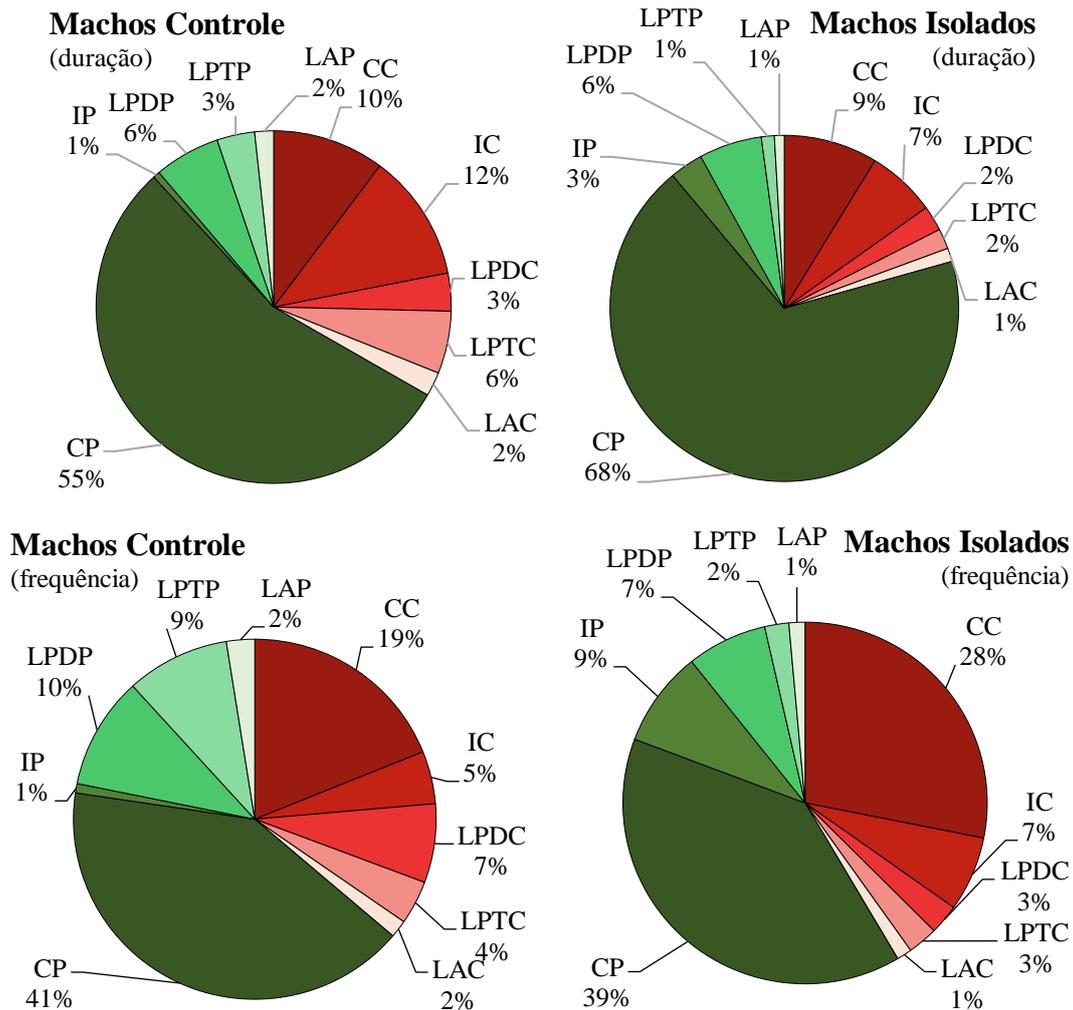


Figura 14: Dados expressos pela média da duração proporcional (painel superior) ou frequência proporcional (painel inferior) dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e dos machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 96h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

A análise da razão entre duração e frequência proporcional nos machos, demonstrou que os machos controle permanecerem mais em imobilidade no centro (IC = 26%), no comportamento de limpeza das patas dianteiras no centro (LPDC = 14%), limpeza das patas traseiras no centro (LPTC = 9%), limpeza das asas no centro (LAC = 12%) e na periferia (LAP = 9%), que os machos isolados (IC = 7%, LPDC = 10%, LPTC = 8%, LAC = 10%, LAP = 8%). Entretanto, para os demais comportamentos, os isolados tiveram a razão entre duração e frequência maior: caminhar no centro (CC = 5%), caminhar na periferia (CP = 26%), imobilidade na periferia (IP = 8%) limpeza das patas dianteiras na periferia (LPDP = 11%), se comparado aos machos controle (CC = 3%, CP = 11%, IP

= 5%, LPDP = 8%) (Fig. 15).

Na soma dos comportamentos, a permanência na periferia do aparato foi maior nos machos isolados (60%), que nos machos controle (36%). Os isolados caminharam mais (31%) que os controle (14%), entretanto, o inverso ocorreu na soma de todos os comportamentos de limpeza do centro mais os da periferia, apesar da diferença ser de apenas 1% (controle = 55%, isolamento = 54%). Em relação a permanência em imobilidade no centro mais a permanência em imobilidade na periferia, os machos controle é maior (31%), que os machos isolados (15%) (Fig. 15).

Figura 15. Razão duração:frequência proporcional dos comportamentos dos machos do IS 96h

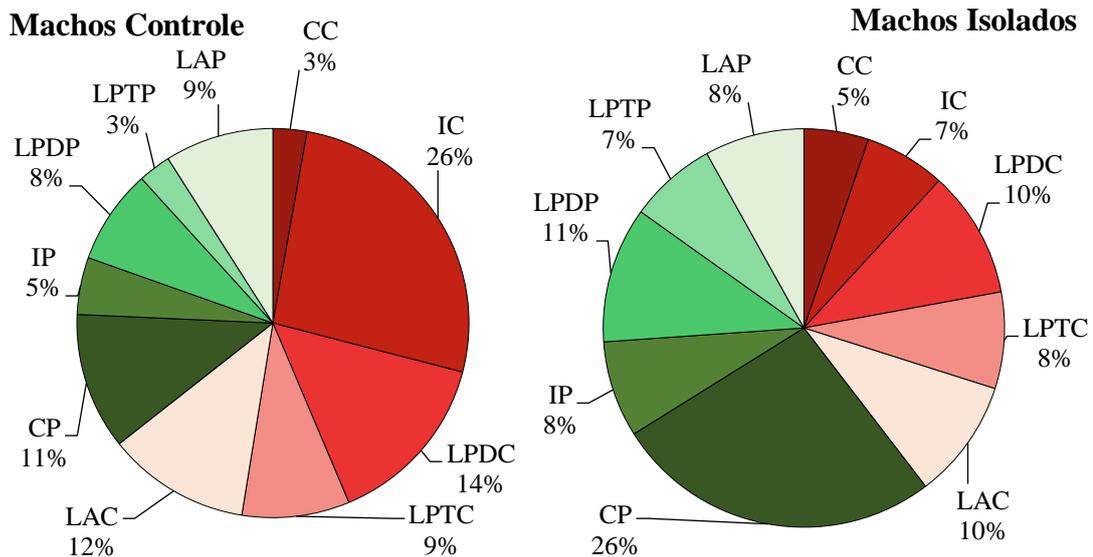


Figura 15: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência proporcional dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e dos machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 96h. Em tons de verde são os comportamentos realizados na periferia e em tons de vermelho os realizados no centro. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CP: Caminhar na periferia; IC: Imobilidade no centro; IP: Imobilidade na periferia; IS: Isolamento social; LAC: Limpar das asas no centro; LAP: Limpar das asas na periferia; LPDC: Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP: Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC: Limpar as patas traseiras no centro; LPTP: Limpar as patas traseiras na periferia.

4.1.5. Discussão sobre os efeitos do isolamento social sobre os comportamentos das moscas dos dois sexos no teste de campo aberto

Independentemente das condições as quais as moscas foram submetidas (controle e isolamento) e do tempo de isolamento (24h e 96h), elas permaneceram mais tempo na periferia comparado ao centro, sugerindo um comportamento de *tigmotaxia*: a atração ao toque da periferia da arena e *centrofobicidade*: evitação do centro (BESSON; MARTIN, 2005; LIU; DAVIS; ROMAN, 2007; GÖTZ; BIESINGER, 1985). Em outras espécies, como em roedores, a maior prevalência na periferia também é justificada pela *tigmotaxia* (TREIT; FUNDYTUS, 1988), sendo que nestes

animais, é possível modular com fármacos de propriedades ansiogênicos, que podem aumentar a resposta, ou com fármacos ansiolíticos, que diminuem (SIMON; DUPUIS; COSTENTIN, 1994). Estudos com moscas cegas e com a função dos corpos em cogumelo prejudicadas – uma região semelhante ao neocórtex de mamíferos – a evitação ao centro diminuiu em comparação a moscas selvagens, atribuindo aos corpos de cogumelo a funcionalização da centrofobicidade (BESSON; MARTIN, 2005; LIU; DAVIS; ROMAN, 2007). Entretanto, a relação desses parâmetros ainda não está bem definida.

Alguns trabalhos afirmam que as moscas não expressam centrofobicidade e *tigmotaxia*. Soibam et al. (2012), avaliaram moscas selvagens e mutantes com deficiência visual em arenas com diferentes formatos e ângulos para sustentar a conclusão de que o comportamento da *Drosophila* em permanecer na periferia é, na verdade, justificado pela busca por possíveis rotas de fuga. Uma vez que as moscas não possuem antenas grandes, muito menos vibrissas, que conseguem manter contato com a periferia para que haja atração pela estimulação tátil, além disso, os animais cegos diminuíram a esquiava ao centro.

De acordo com os resultados observados no nosso trabalho, demonstramos maior duração e permanência (razão entre duração e frequência) na periferia do aparato nas fêmeas controle do grupo de 24h, comparado aos machos controle do mesmo grupo, diferença maior ou igual a 4% (duração: fêmeas = 83%, machos = 79%; razão duração:frequência: fêmeas = 65%, machos = 59%); o mesmo ocorre para o grupo 96h controle, mas apenas para permanência (duração: fêmeas = 72%, machos = 78%; razão duração:frequência: fêmeas = 54%, machos = 60%). Na literatura é descrito que fêmeas controle tendem a permanecer mais na periferia que os machos controle (BESSON; MARTIN, 2005; LIU; DAVIS; ROMAN, 2007), o mesmo perfil comportamental é observado em roedores (SVOBODA *et al.*, 2012).

Já para os animais isolados, esse padrão aparece apenas em moscas submetidas ao isolamento de 24h e quando analisamos a razão entre duração e frequência (diferença de 6%), mas não aparece na duração (duração: fêmeas = 72%, machos = 72%; razão duração:frequência: fêmeas = 59%, machos = 53%). Para o grupo isolado durante 96h, a duração e a razão entre duração e frequência são idênticas entre fêmeas e machos isolados (duração: fêmeas = 78%, machos = 78%; razão duração:frequência: fêmeas = 60%, machos = 60%). Esses resultados indicam que o isolamento social pode ter interferido no padrão de permanência na periferia do aparato. Isolamento de 24h aumentou a permanência no centro e o de 96h diminuiu, no trabalho de Ramos-Hryb *et al.*, (2020), foi encontrado que moscas estressadas permaneciam mais tempo no centro do aparato que as moscas controle.

Outro padrão encontrado em todos os animais, foi a predominância em caminhar em relação aos demais comportamentos. Esse resultado pode ser explicado devido à necessidade de exploração dos animais em ambientes novos. Apesar de não ter feito esta análise, alguns trabalhos demonstram maior locomoção no início dos testes comportamentais, o que aumenta a duração total da caminhada (LIU; DAVIS; ROMAN, 2007; RAMOS-HRYB *et al.*, 2020). Interessantemente, os animais isolados por 96h tiveram duração de caminhada maior de 10% quando comparado aos animais isolados por 24h (24h: fêmeas = 46%, machos = 61%; 96h: fêmeas = 66%, machos = 77%), a razão entre duração e frequência também foi maior, apesar da diferença entre as fêmeas ser de apenas 4% e nos machos de 11% (24h: fêmeas = 20%, machos = 20%; 96h: fêmeas = 24%, machos = 31%). Na literatura, trabalhos trazem o aumento na atividade locomotora em animais estressados (RAMOS-HRYB *et al.*, 2020) e aumento da atividade locomotora e interação social em animais em isolamento social por 5 e 6 dias (LIU, *et al.*, 2018). Para os animais controle, nossos resultados demonstram um perfil comportamental inverso, ao passo que os animais do grupo de isolamento social de 24h aumentaram em mais de 4% a duração de caminhada em relação ao grupo de isolamento social de 96h (24h: fêmeas = 69%, machos = 69%; 96h: fêmeas = 61%, machos = 65%); o mesmo ocorre na razão entre duração e frequência de caminhada, com diferença maior de 10% (24h: fêmeas = 30%, machos = 58%; 96h: fêmeas = 27%, machos = 14%).

Valente; Golani; Mitra (2007) discutiram sobre imobilidade de animais controle no campo aberto e afirmam que as moscas têm duração maior de imobilidade no centro do aparato quando comparada à periferia. Entretanto, neste trabalho essa medida foi encontrada em apenas 37,5% dos animais e todos machos (machos isolados por 24h, 96h e machos controle 96h). Independentemente, não houve um padrão, isso poderia ser justificado porque os autores analisaram apenas o *tracking* dos animais, nesse caso, as moscas poderiam estar paradas, realizando comportamentos de limpeza, o que no *tracking* é interpretado como imobilidade. Se então olharmos a duração do comportamento de limpeza, apenas as fêmeas controle do isolamento social de 96h, tiveram a duração maior no centro do aparato do que na periferia com diferença de apenas 1% (controle: centro = 12%, periferia = 11%). Novamente, os nossos dados são contrários ao dos autores, outra possível explicação para esta divergência é a diferença do campo aberto utilizado – no qual os autores adotaram uma placa de Petri circular de 15 cm de diâmetro, bastante diferente do aparato utilizado neste trabalho.

Adicionalmente, os animais do grupo de isolamento por 24h, aumentaram igual ou maior de 5% a duração do comportamento de limpeza total (centro mais periferia) após o isolamento social (fêmeas: controle = 20%, isolamento = 30%, machos: controle = 18%, isolamento = 23%). Para o

grupo de isolamento por 96h vemos o inverso, os animais isolados diminuíram igual ou menor de 5% a duração dos comportamentos de limpeza (fêmeas: controle = 23%, isolamento = 18%, machos: controle = 22%, isolamento = 13%). Entretanto, quando analisamos a razão entre duração e frequência, os animais isolados por 24h aumentaram igual ou maior de 5% a permanência de auto-limpeza (fêmeas: controle = 53%, isolamento = 58%, machos: controle = 48%, isolamento = 60%). Nos animais isolados por 96h, com exceção dos machos que diminuíram a permanência de limpeza (apesar da diferença ser de apenas 1%), as fêmeas aumentaram em 14% após o isolamento social (fêmeas: controle = 49%, isolamento = 63%, machos: controle = 55%, isolamento = 54%).

Meichtry et al. (2020) observaram que moscas expostas a uma dieta rica em gordura saturada e gordura vegetal hidrogenada aumentaram o tempo de limpeza se comparados a animais com a dieta habitual; sugerindo um fenótipo ansioso. Não somente, o padrão do comportamento de limpeza é extremamente sensível nos roedores, sendo muito utilizado para avaliar qualquer alteração ambiental que os animais são expostos (SMOLINSKY *et al.*, 2009). De qualquer maneira, o grupo isolado por 96h produziu um padrão de limpeza diferente do grupo isolado por 24h, sendo necessário um número amostral maior e diferentes períodos de isolamento social para que seja possível identificar melhor as diferenças.

De acordo com a literatura, alguns trabalhos observam maior frequência de entradas no centro do aparato nos machos em relação às fêmeas (BESSON; MARTIN, 2005; MARTIN, 2003). Nós avaliamos a frequência para vários comportamentos em cada região, nesse caso, as moscas poderiam estar em um local no aparato e realizando diferentes comportamentos, o que culmina no aumento da frequência. De qualquer maneira, com exceção dos machos controle do grupo de isolamento social por 96h que ficaram 7% a menos, os demais machos apresentaram frequência maior ou igual a 4% no centro se comparado as fêmeas (24h: controle: fêmeas = 29%, machos = 38%, isolamento: fêmeas = 39%, machos = 43%; 96h: controle: fêmeas = 44%, machos = 37%, isolamento: fêmeas = 37%, machos = 42%).

O campo aberto utilizado nesse projeto apresenta algumas vantagens em relação aos já descritos na literatura. A primeira vantagem seria o tamanho mais adequado para o animal, o que possibilita visualizar a maioria dos comportamentos exibidos pelas moscas, além disso, o tamanho interferiu menos na atividade exploratória ao longo do teste (LIU; DAVIS; ROMAN, 2007). A segunda vantagem é a forma circular: em aparatos quadrados, os cantos levam a maior prevalência do animal nestas regiões (LIU; DAVIS; ROMAN, 2007; SOIBAM *et al.*, 2012). Finalmente, a terceira vantagem é uma periferia inclinada e não reta, com isso não temos pontos cegos como ocorre

em aparatos com parede retas (SIMON; DICKINSON, 2010).

Entretanto, o aparato também precisa de melhorias: a inclinação da periferia faz com que o ângulo entre o chão e o teto da periferia (na região mais externa do aparato), seja pequeno demais ao ponto das moscas não conseguirem acessar com seu corpo inteiro, o que não significa que elas não consigam colocar suas patas neste espaço. Isso é um problema quando pensamos, que o cálculo da área de cada região do aparato é feito imaginando que as moscas possuem o espaço inteiro para circular, o que não é verdade na periferia, ou seja, mesmo tendo realizado o cálculo da área para tornar a permanência da mosca em cada região mais precisa, o espaço total que elas realmente possuem para circular na periferia não é de 100%, como ocorre no centro. Outro problema, é que a periferia tem cor mais clara em relação ao centro, podendo ter interferido nos testes comportamentais. Para futuros experimentos é necessário a homogeneização da cor entre periferia e centro.

Em resumo, todas as moscas permaneceram mais na periferia do aparato, sendo que o isolamento social interferiu neste padrão fazendo com que as moscas isoladas ficassem mais no centro em relação aos controle. Os animais isolados por 96h caminharam mais em comparação aos isolados por 24h. Por fim, o isolamento social aumentou o padrão de auto-limpeza (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo dos principais achados no campo aberto

	FÊMEAS ISOLADAS		MACHOS ISOLADOS	
	24h	96h	24h	96h
Prevalência na periferia	↑	↑↑	↑	↑↑
Caminhada	↑	↑↑	↑	↑↑
Autolimpeza	↑↑	↑	↑↑	↑

Tabela 4: Na tabela se encontram os principais resultados encontrados no aparato campo aberto para os animais isolados.

4.2. LABIRINTO EM CRUZ

Abaixo se apresentam os resultados dos testes no labirinto em cruz na forma de duração proporcional, frequência proporcional e razão entre a duração e frequência proporcionais – usado como um índice de permanência em moscas fêmeas ou machos dos grupos experimentais controle ou isolamento social. No apêndice C e D se encontram as tabelas com os dados brutos da duração, frequência e razão entre duração e frequência proporcional que cada animal obteve para cada comportamento, tanto para o grupo isolamento social por 24h (Tabela 11, 12 e 13) quanto para o grupo isolamento social por 96h (Tabela 14, 15 e 16) respectivamente.

4.2.1 Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no labirinto em cruz

Se somarmos a duração de caminhada e imobilidade nas 5 regiões do aparato (os 4 braços mais o centro), notamos que o isolamento social diminui a duração de caminhada em todo o aparato, (controle = 63%, isolamento: 40%); nas fêmeas controle caminhar no braço ágar 3 (C3 = 20%) foi o que mais se destacou. Em contrapartida, as fêmeas isoladas tiveram duração maior na imobilidade (controle = 37%, isolamento = 60%), sendo o principal responsável a imobilidade na banana (IB = 23%). Quando analisamos a soma da duração de caminhada mais a duração da imobilidade em cada região do aparato individualmente, vemos que o isolamento também aumentou a duração no centro (controle = 17%, isolamento = 31%) e no braço banana (controle = 20%, isolamento = 34%). Finalmente, as fêmeas isoladas diminuíram a duração nos demais braços (ágar 1 = 10%, ágar 2 = 8%, ágar 3 = 17%) se comparada as fêmeas controle (ágar 1 = 12%, ágar 2 = 23%, ágar 3 = 28%) (Fig. 16).

É possível analisar a duração retirando os dados obtidos no centro. Com isso observamos que na soma dos comportamentos de caminhada e imobilidade apenas no braço banana, o isolamento aumentou a duração quando comparado ao controle (controle = 24%, isolamento = 49%), principalmente para o comportamento de imobilidade na banana (IB = 23%). Além disso, as fêmeas controle apresentam alta duração para o comportamento de caminhada no braço ágar 3 (C3 = 24%) (Fig. 16).

Figura 16. Duração dos comportamentos das fêmeas do IS 24h

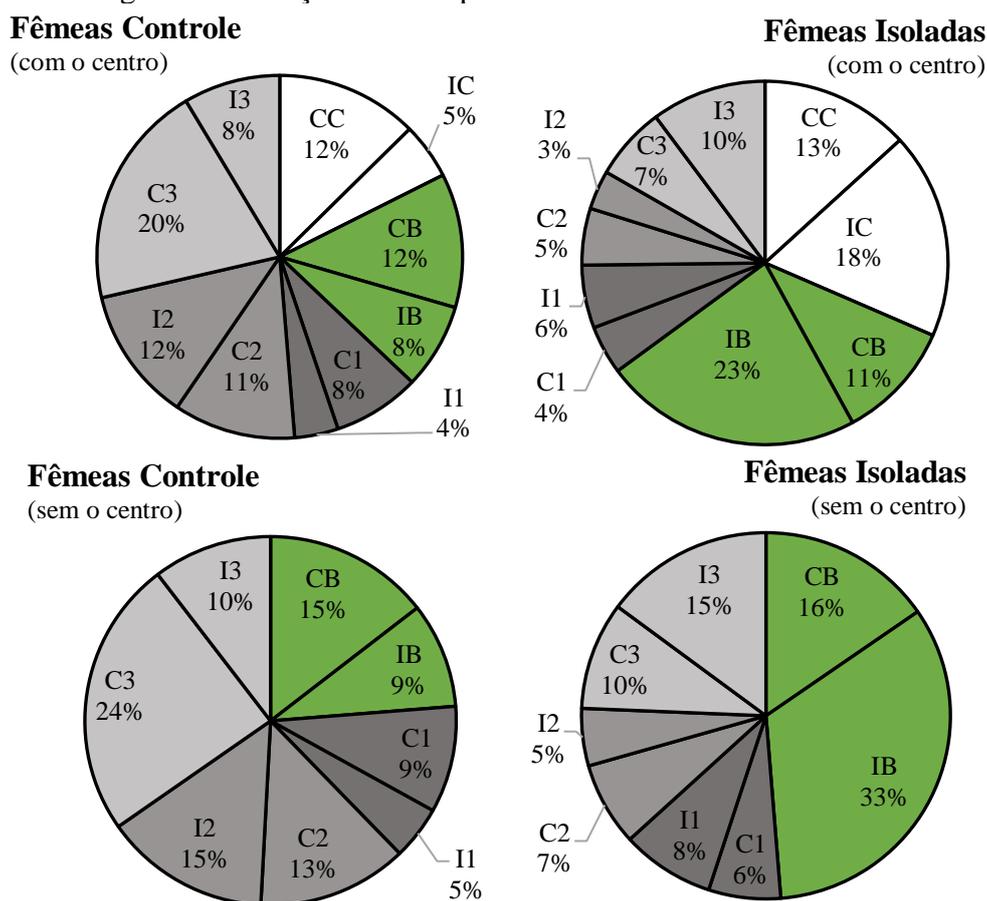


Figura 16: Dados expressos pela média da duração dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 24h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

Quanto a frequência, se somarmos a frequência de caminhada e imobilidade em cada região do aparato (os quatro braços mais o centro), observamos ser maior no centro (controle = 27%, imobilidade = 39%), principalmente o comportamento de caminhar no centro (CC: controle = 22%, isolamento = 27%), comparado aos braços (braço banana: controle = 22%, isolamento = 23%; ágar 1: controle = 11%, isolamento = 12%; ágar 2: controle = 24%, isolamento = 11%; ágar 3: controle = 16%, isolamento = 15%). Ainda assim, as fêmeas isoladas tiveram frequência maior no centro, no braço banana e no braço ágar 1 se comparada as fêmeas controle, que tiveram frequência maior no braço ágar 2 e 3 (Fig. 17).

Ao analisarmos a frequência sem a influência dos dados encontrados no centro, observamos que na soma do comportamento de caminhada e imobilidade na banana teve um aumento nas fêmeas

isoladas (38%) se comparado as fêmeas controle (31%). Nas fêmeas controle, a frequência no braço ágar 2 é maior que no braço banana (33%) e maior que nas isoladas (18%) (Fig. 17).

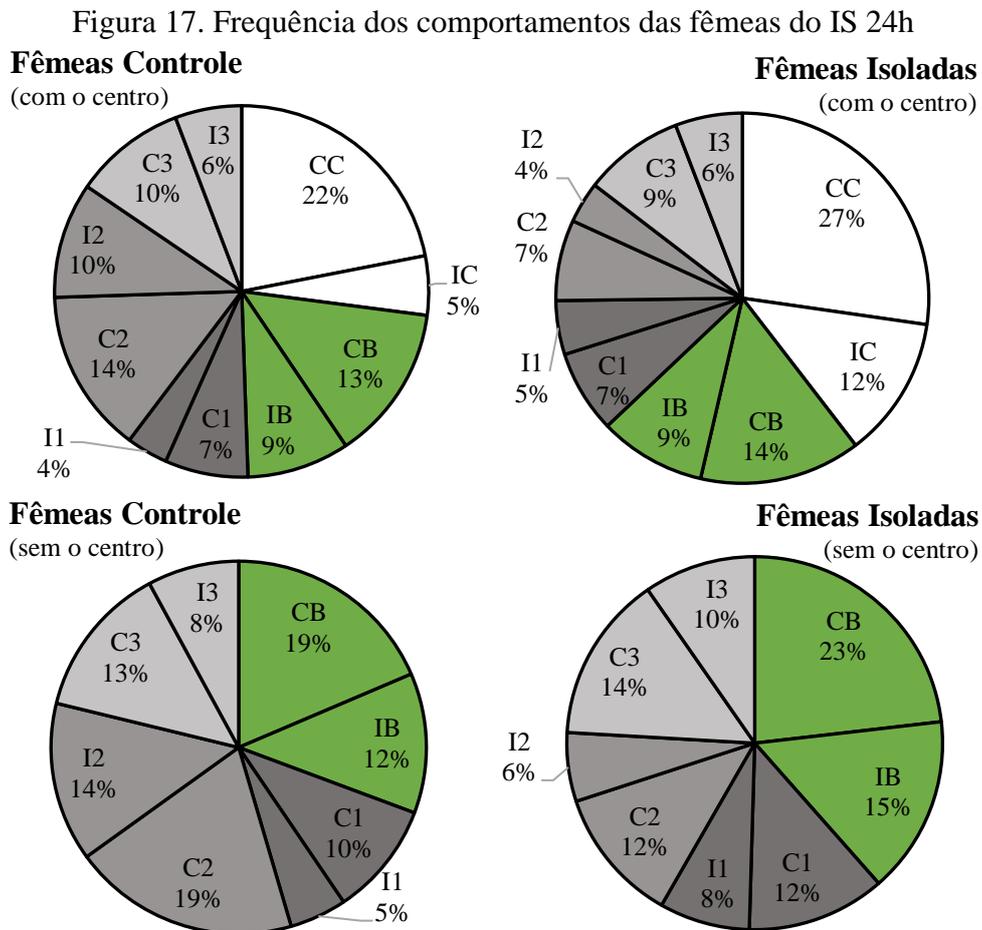


Figura 17: Dados expressos pela média da frequência dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 24h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

A partir dos dados da razão entre duração e frequência, nota-se que ao somarmos a caminhada e imobilidade na banana, a permanência é maior nas fêmeas isoladas (30%) se comparado as fêmeas controle (15%), sendo o principal responsável nas isoladas o comportamento de imobilidade na banana (IB = 23%). Logo, por mais que as fêmeas tiveram a frequência parecida no braço banana, a duração das fêmeas isoladas foi maior, com isso sua permanência nesta região aumentou. O inverso acontece no braço ágar 3, em que as fêmeas controle ficaram com permanência maior (35%) que as isoladas (19%), aqui, novamente o comportamento de caminhar no ágar 3 teve bastante influência

(C3 = 22%). Por fim, as isoladas caminharam menos somando as 5 regiões do aparato (31%) se comparado as moscas controle (54%) (Fig. 18).

Retirando os valores do centro na razão entre duração e frequência, a diferença entre os grupos na permanência no braço banana foram mais altos para o grupo isolado (38%), se comparado ao grupo controle (18%), o oposto observado na permanência no braço ágar 3 (controle = 40%, isolamento = 24%) (Fig. 18).

Figura 18. Razão duração:frequência dos comportamentos das fêmeas do IS 24h

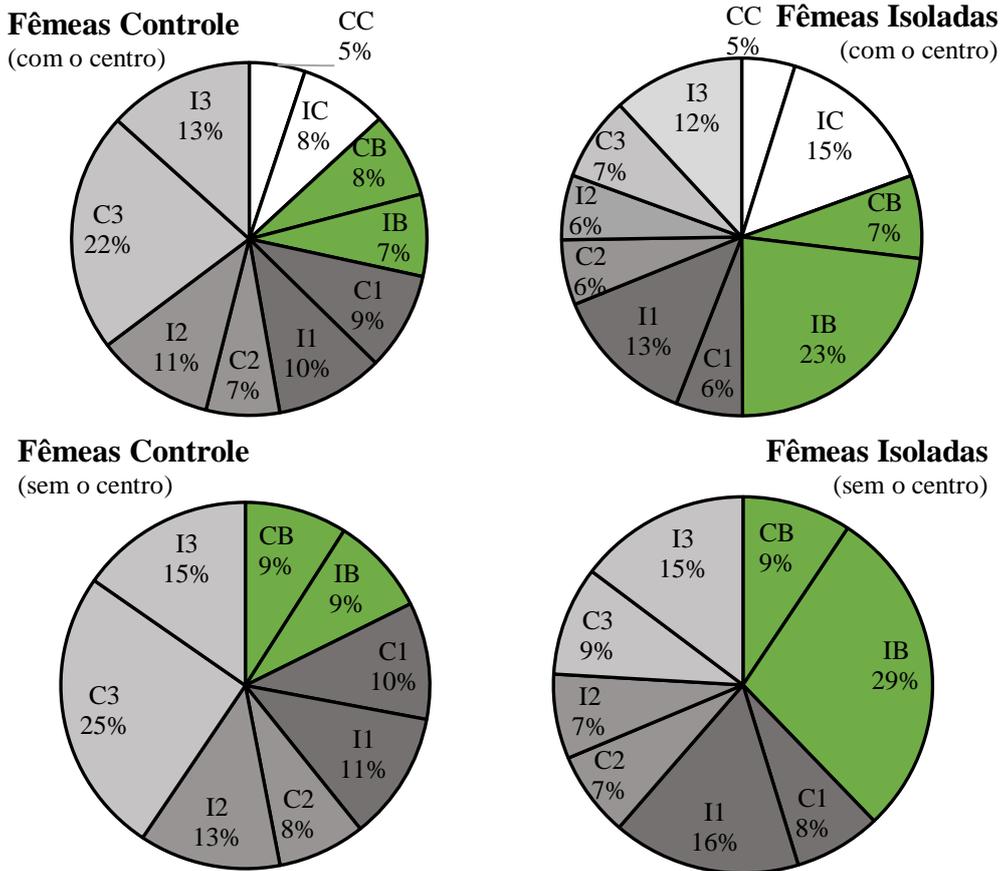


Figura 18: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 24h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

4.2.2 Efeitos do isolamento social durante 24h sobre os comportamentos de moscas machos no labirinto em cruz

Se somarmos a duração de caminhada e imobilidade nas 5 regiões do aparato (os 4 braços mais o centro), notamos que nos machos o isolamento aumentou a duração de caminhada em todo o

aparato (controle = 47%, isolamento = 61%) e diminui a duração da imobilidade (controle = 53%, isolamento = 39%). Quando analisamos a soma da duração de caminhada mais a duração da imobilidade em cada região do aparato, o isolamento social diminui a duração no centro dos machos isolados (controle = 34%, isolamento = 25%), sendo que nos machos controle a imobilidade no centro aumentou (IC: controle = 20%, isolamento = 9%). Os machos controle também aumentaram a duração total no braço banana (controle = 31%, isolamento = 24%). Finalmente, os isolados aumentaram a duração nos demais braços (ágar 1 = 14%, ágar 2 = 22%, ágar 3 = 16%), se comparado ao controle (ágar 1 = 11%, ágar 2 = 13%, ágar 3 = 11%) (Fig. 19).

Sem os dados do centro, a soma dos dois comportamentos analisados (caminhada e imobilidade), em cada região do aparato individualmente, observamos que isolamento em machos resultou em menor duração no braço banana comparado ao controle (controle = 47%, isolamento = 32%), principalmente nos machos controle o comportamento de imobilidade na banana (IB: controle = 25%, isolamento = 13%). Enquanto nos demais braços, os machos isolados tiveram duração maior (ágar 1 = 19%, ágar 2 = 30%, ágar 3 = 19%), se comparado aos machos controle (ágar 1 = 17%, ágar 2 = 20%, ágar 3 = 18%) (Fig. 19).

Figura 19. Duração dos comportamentos dos machos do IS 24h

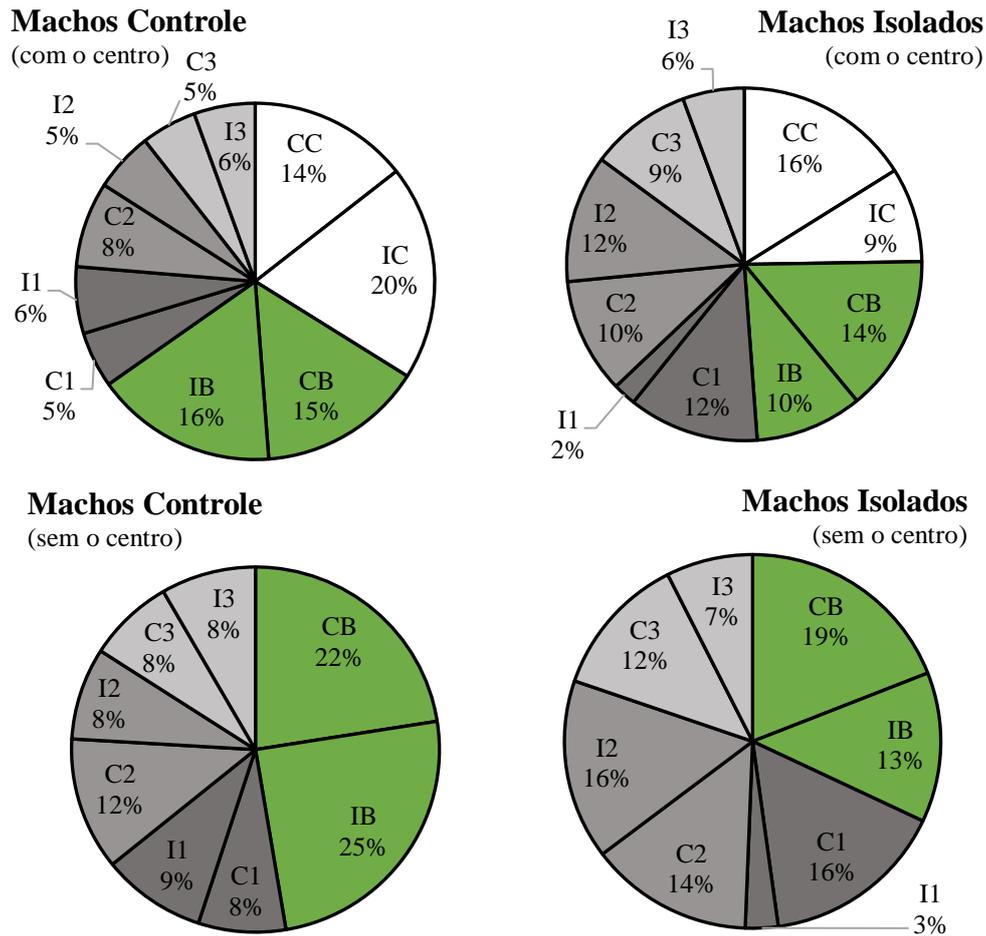


Figura 19: Dados expressos pela média da duração dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 24h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

Quanto a frequência, se somarmos a frequência de caminhada e imobilidade em cada região do aparato (os quatro braços mais o centro), observamos ser maior no centro (controle = 43%, isolamento = 40%), se comparado aos braços (braço banana: controle = 27%, isolamento = 19%; ágar 1: controle = 9%, isolamento = 14%; ágar 2: controle = 12%, isolamento = 14%; ágar 3: controle = 9%, isolamento = 13%). Em ambos os machos, a frequência de caminhar no centro (CC) é bastante alta (CC: controle = 30%, isolamento = 32%) em relação à imobilidade no centro (IC: controle = 13%, imobilidade = 8%) e ao restante do aparato. Os machos isolados também tiveram frequência maior nos braços ágar (1, 2 e 3) se comparado aos machos controle, que tiveram frequência maior no centro e no braço banana (Fig. 20).

Excluindo os valores do centro, na soma dos comportamentos em cada região, a diferença da

frequência no braço banana aumentou entre os grupos (controle = 47%, imobilidade = 32%), mesmo assim, os machos controle tiveram frequência maior no braço banana. Já entre os demais braços, a frequência é menor se comparado ao braço banana, mesmo assim, os machos isolados tiveram frequência maior que os machos controle (ágar 1: controle = 16%, isolamento = 23%; ágar 2: controle = 22%, isolamento: 24%; ágar 3: controle = 15%, isolamento 21%) (Fig. 20).

Figura 20. Frequência dos comportamentos machos do IS 24h

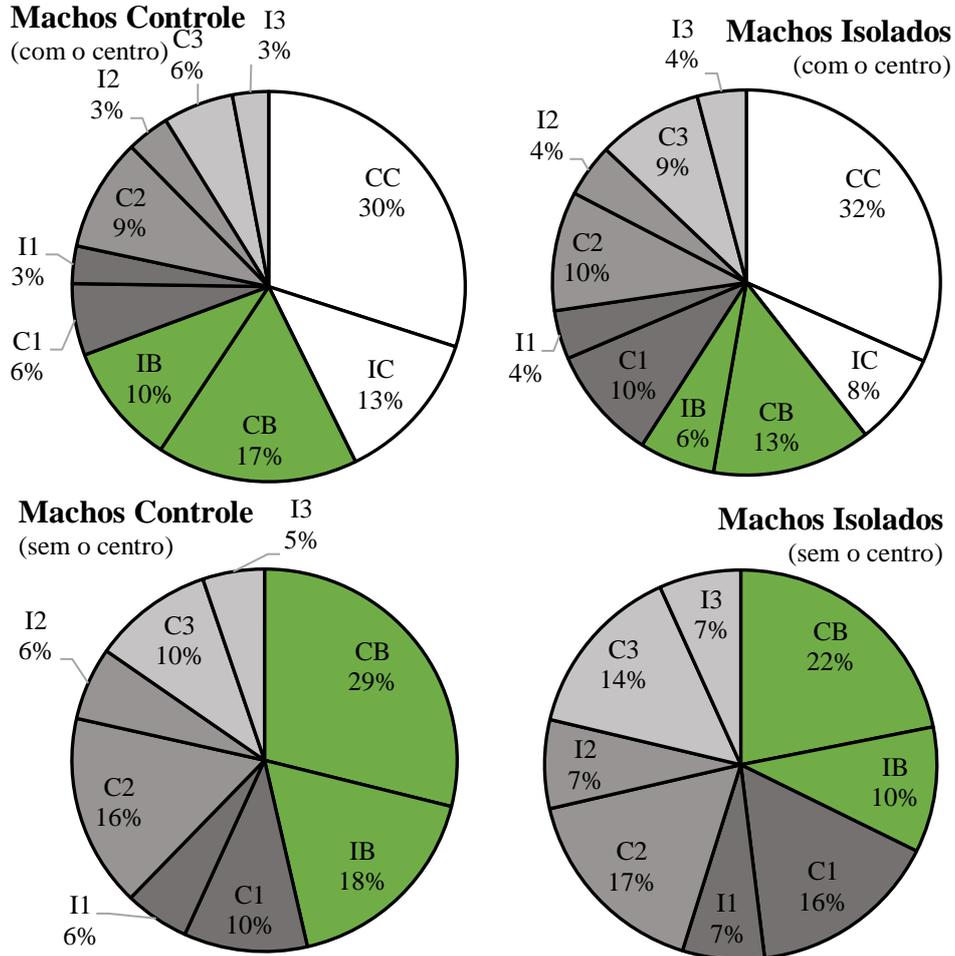


Figura 20: Dados expressos pela média da frequência dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 24h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

De acordo com a soma dos comportamentos realizados em cada região do aparato individualmente, notamos que a razão entre duração e frequência na diferença da permanência no braço banana, é igual entre os machos controle e isolados (controle = 20%, isolamento = 20%). Os

machos isolados, permaneceram mais tempo caminhando no aparato comparado aos machos controle (controle = 36%, isolamento = 38%). Os machos isolados também tiveram permanência maior no braço ágar 2 e 3 (ágar 2 = 25%, ágar 3 = 28%) se comparado ao controle (ágar 2 = 21%, ágar 3 = 23%), que teve permanência maior no centro e no ágar 1 (centro = 16%, ágar 1 = 20%), que os isolados (centro = 13%, ágar 1 = 14%) (Fig. 21).

Excluindo os dados do centro, percebemos que na soma dos dois comportamentos analisados (caminhada e imobilidade) em cada braço individualmente, os machos controle permaneceram mais no braço banana (24%) e no braço ágar 1 (24%), se comparado aos machos isolados (banana = 22%, ágar 1 = 16%). Entretanto, os machos isolados permaneceram mais no braço ágar 2 (controle = 24%, isolamento = 29%) e no braço ágar 3 (controle = 28%, isolamento = 33%) (Fig. 21).

Figura 21. Razão duração:frequência dos comportamentos machos do IS 24h

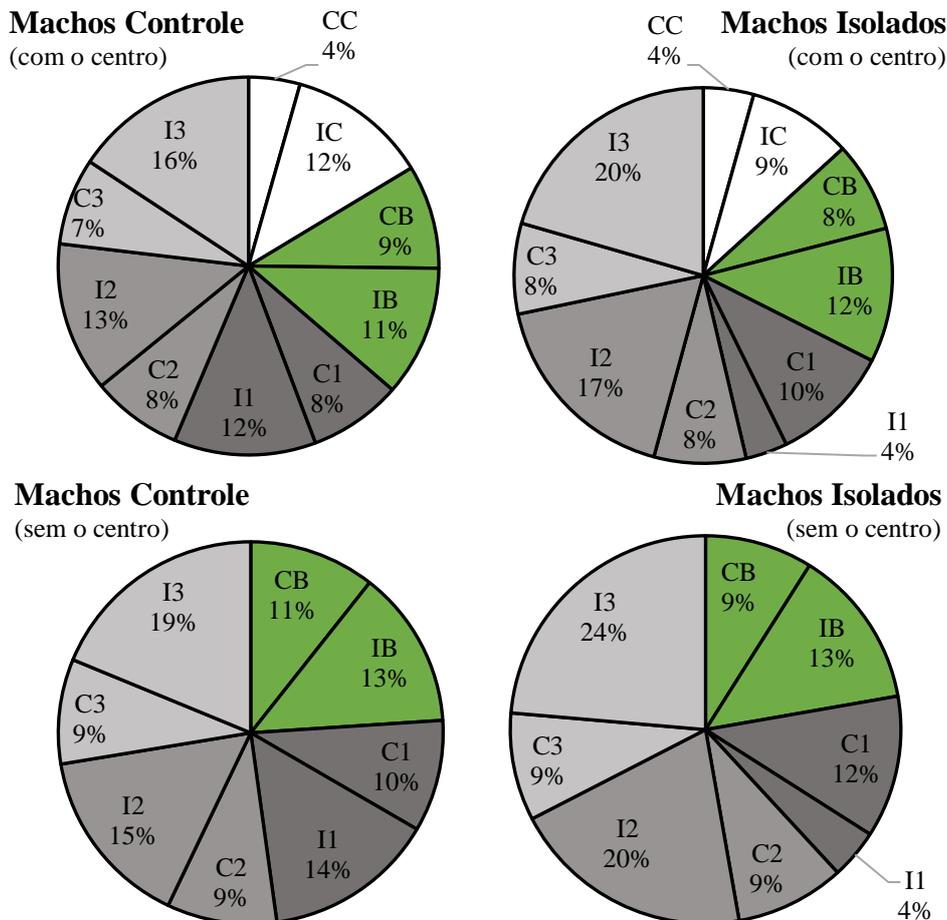


Figura 21: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 24h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

4.2.3 Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas fêmeas no labirinto em cruz

A soma da duração de caminhada e imobilidade nas 5 regiões do aparato (os 4 braços mais o centro), culminou na diminuição da caminhada das fêmeas isoladas comparada as fêmeas controle (controle = 62%, isolamento = 59%) e no aumento da imobilidade (controle = 38%, isolamento = 41%). Entretanto, quando analisamos a soma da duração de caminhada mais a duração da imobilidade em cada região do aparato, vemos que as fêmeas isoladas apresentaram uma diminuição na duração no centro do aparato (controle = 23%, isolamento = 21%) e no braço banana (controle = 22%, isolamento = 19%). Porém, as isoladas aumentaram a duração nos braços ágar 1 (controle = 18%, isolamento = 22%) e ágar 2 (controle = 17%, isolamento = 18%), mas para o ágar 3 a duração foi idêntica (controle = 20%, isolamento = 20%) (Fig. 22).

Retirando os valores do centro, ao somarmos os dois comportamentos realizados (caminhada e imobilidade) em cada braço individualmente, é possível visualizar que o isolamento resultou em menor duração no braço banana se comparado ao grupo controle (controle = 28%, isolamento = 24%). Em contrapartida, a duração no braço ágar 1 e 2 são maiores nas fêmeas isoladas se comparada as fêmeas controle (ágar 1: controle = 24%, isolamento = 27%; ágar 2: controle = 22%, isolamento = 23%). No braço ágar 3, o valor é igual (controle = 26%, isolamento = 26%), porém, quando olhamos cada comportamento neste mesmo braço vemos que não é idêntico: caminhar no ágar 3 (C3: controle = 16%, isolamento = 13%), imobilidade no ágar 3 (I3: controle = 10%, imobilidade = 13%). (Fig. 22).

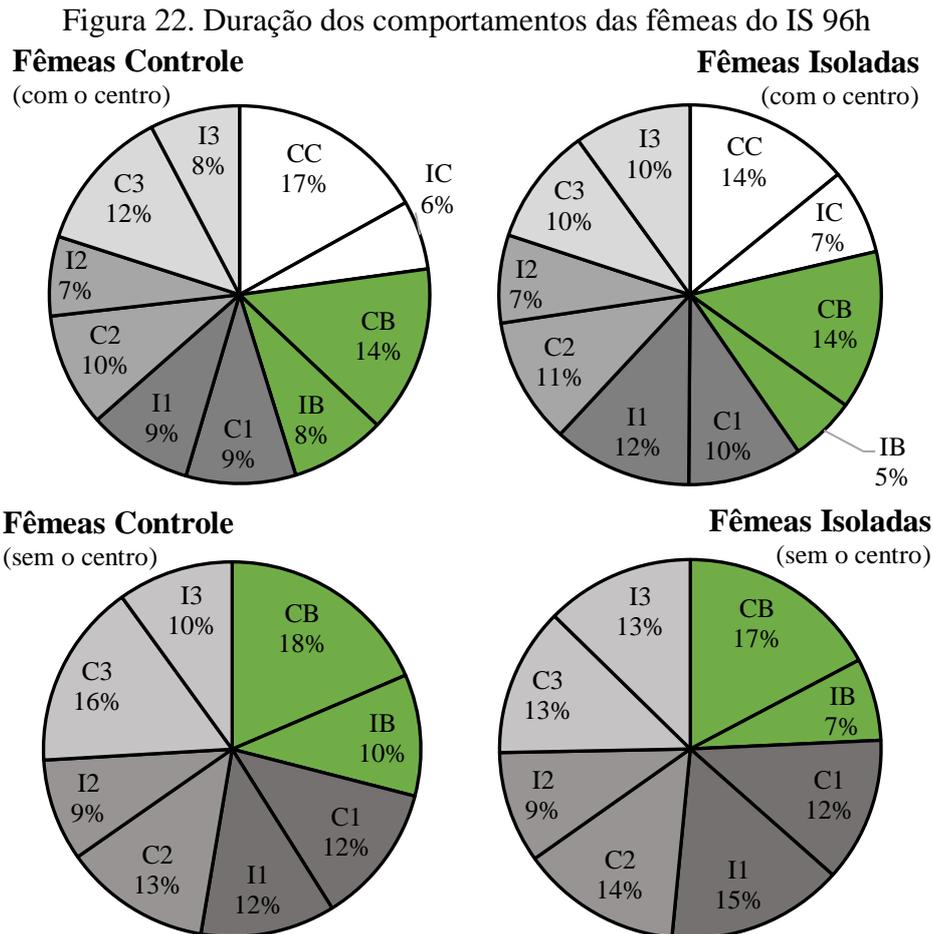


Figura 22: Dados expressos pela média da duração dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 96h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

Quanto a frequência dos comportamentos, se somarmos a frequência de caminhada e imobilidade em cada região do aparato, observamos ser maior no centro para ambas as fêmeas (controle = 31%, isolamento = 30%), se comparado aos demais braços (braço banana: controle = 22%, isolamento = 16%; ágar 1: controle = 13%, isolamento = 16%; ágar 2 controle = 17%, isolamento = 18%; ágar 3: controle = 17%, isolamento = 20%), isso é esperado por se tratar da região que liga os quatro braços. Mesmo assim, as fêmeas isoladas apresentaram frequência menor no centro e no braço banana se comparado ao controle (Fig. 23).

Na ausência dos dados encontrados no centro, a frequência no braço banana é maior nas fêmeas controle do que nas fêmeas isoladas (controle = 32%, isolamento = 24%). As fêmeas isoladas

tiveram frequência maior nos demais braços (ágar 1: controle = 18%, isolamento = 22%; ágar 2: controle = 25%, isolamento = 26%; ágar 3: controle = 25%, isolamento = 28%) (Fig. 23).

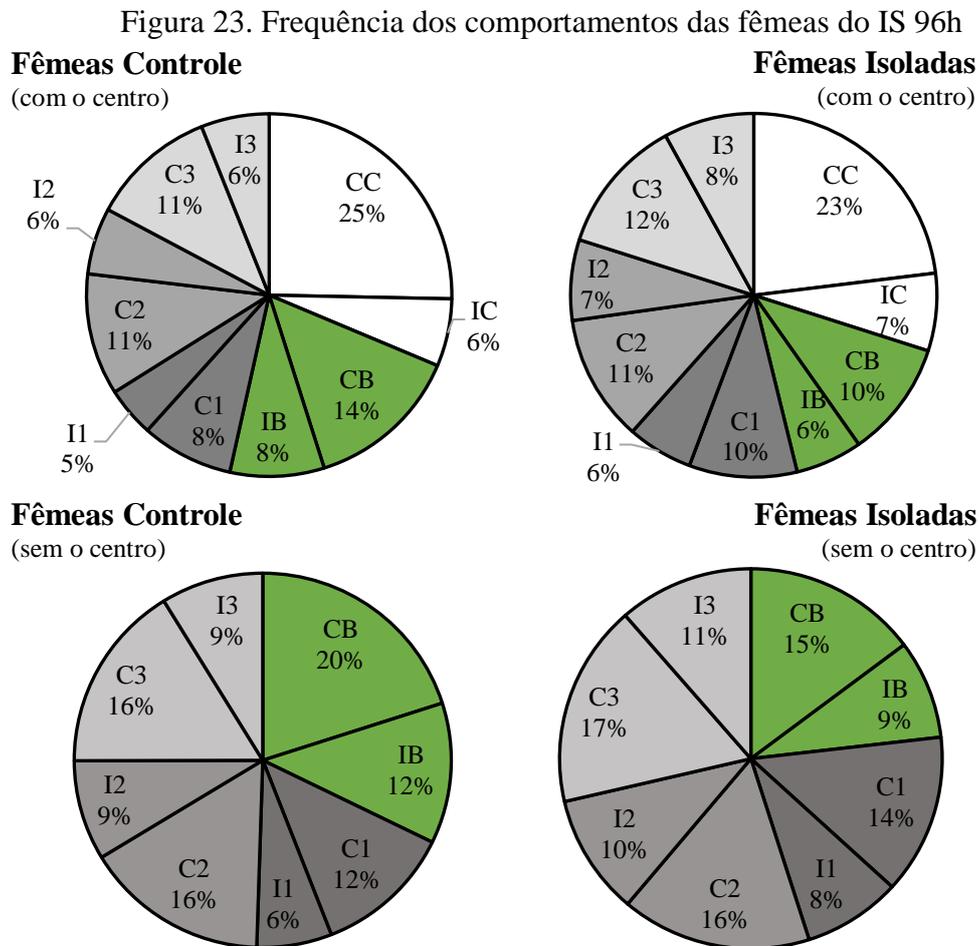


Figura 23: Dados expressos pela média da frequência dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 96h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

De acordo com a soma dos comportamentos realizados em cada região do aparato individualmente, notamos que a razão entre duração e frequência na diferença da permanência no braço banana, não chega a ser maior que o braço ágar 1 (braço banana: controle = 16%, isolamento = 21%; ágar 1: controle = 33%, isolamento = 28%). De qualquer maneira, as fêmeas isoladas permanecerem mais no braço banana que as fêmeas controle. A permanência no braço ágar 2 foi igual nas fêmeas (controle = 18%, isolamento = 18%), e no braço ágar 3 as fêmeas controle tiveram permanência maior que as fêmeas isoladas (controle = 21%, isolamento = 19%). Novamente, o

isolamento social de 96h, aumentou a permanência de caminhada em todo o aparato para fêmeas isoladas (46%) comparado ao grupo controle (42%) (Fig. 24).

Na ausência dos valores do centro, a diferença de permanência nos braços foi mais evidente, as fêmeas isoladas permaneceram mais tempo no braço banana comparado as fêmeas controle (controle = 19%, isolamento = 25%), e o oposto foi observado no braço ágar 1 (controle = 38%, isolamento = 32%) (Fig. 24).

Figura 24. Razão duração:frequência dos comportamentos das fêmeas do IS 96h

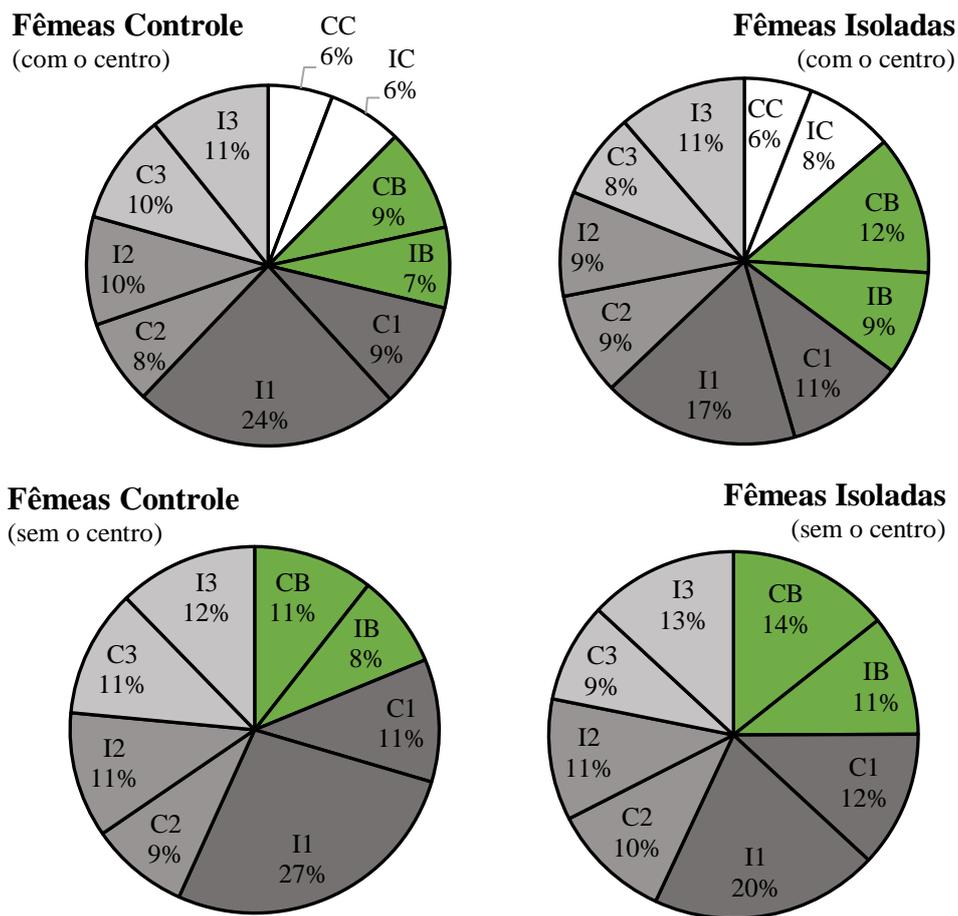


Figura 24: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência dos comportamentos das fêmeas controle (à esquerda) e fêmeas isoladas (à direita) do grupo de isolamento de 96h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

4.2.4 Efeitos do isolamento social durante 96h sobre os comportamentos de moscas machos no labirinto em cruz

A soma da duração de caminhada e imobilidade nas 5 regiões do aparato (os 4 braços mais o centro), mostra que os machos isolados aumentaram a duração de caminhada comparado aos machos controle (controle = 49%, isolamento = 66%), e diminuíram a imobilidade (controle = 51%, isolamento = 34%). Entretanto, quando analisamos a soma da duração de caminhada mais a duração da imobilidade em cada região do aparato, vemos que o grupo isolado apresentou uma diminuição na duração no centro do aparato (controle = 34%, isolamento = 25%), e no braço banana (controle = 29%, isolamento = 24%). Em contrapartida, os machos isolados aumentaram a duração nos demais braços (ágar 1: controle = 6%, isolamento = 16%; ágar 2: controle = 11%, isolamento = 24%; ágar 3: controle = 19%, isolamento = 11%) (Fig. 25).

Na ausência dos dados encontrados no centro, a duração no braço banana e ágar 3 foi maior nos machos controle comparado aos machos isolados (banana: controle = 45%, isolamento = 31%; ágar 3: controle = 19%, isolamento = 11%). Enquanto a duração no braço ágar 1 e 2 aumentou comparado ao controle (ágar 1: controle = 10%, isolamento = 21%; ágar 2: controle = 16%, isolamento = 33%) (Fig. 25).

Figura 25. Duração dos comportamentos dos machos do IS 96h

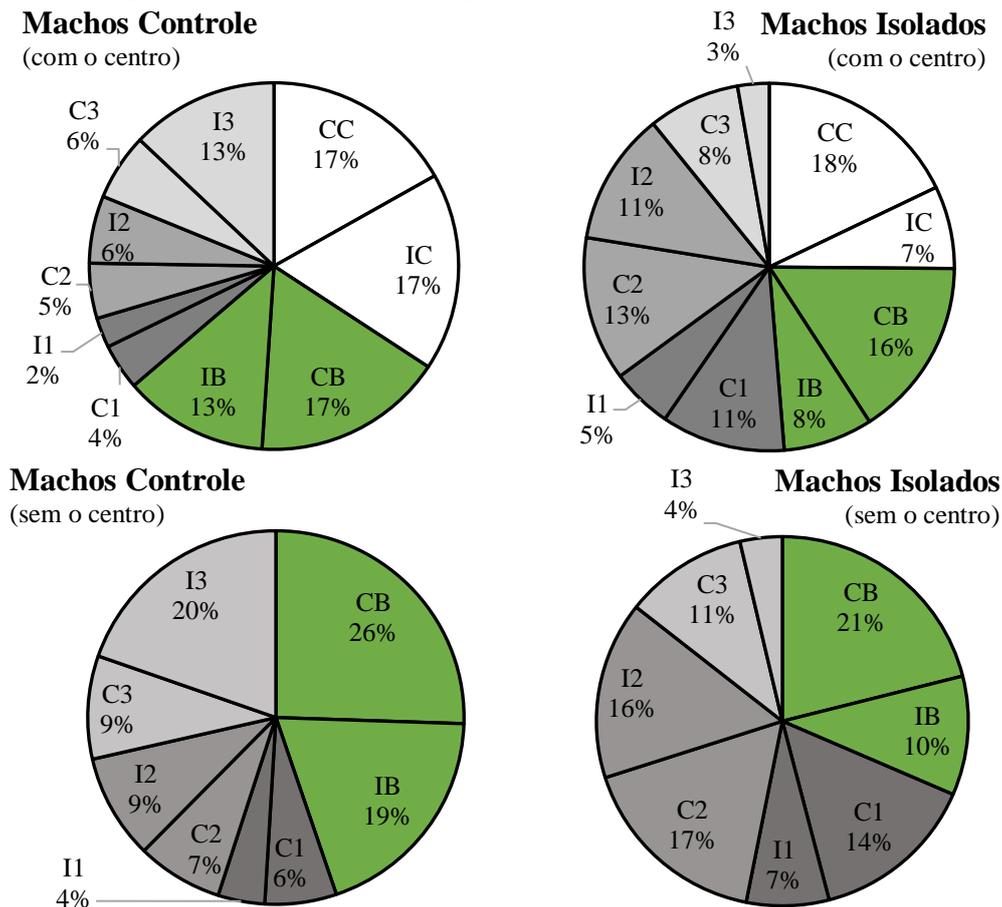


Figura 25: Dados expressos pela média da duração dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 96h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

A respeito da frequência dos comportamentos, se somarmos a frequência de caminhada e imobilidade em cada região do aparato, observamos ser maior no centro (controle = 40%, isolamento = 32%), principalmente no comportamento de caminhar no centro (CC: controle = 28%, isolamento = 25%), comparado aos demais braços (braço banana: controle = 24%, isolamento = 21%; ágar 1: controle = 8%, isolamento = 17%; ágar 2: controle = 11%, isolamento = 20%; ágar 3: controle = 17%, isolamento = 8%). Mesmo assim, os machos isolados apresentaram frequência menor no centro e no braço banana comparado ao controle (Fig. 26).

Sem os valores do centro, a diferença entre os tratamentos fica mais evidente na frequência no braço banana, os machos controle tiveram frequência maior no braço banana que os machos isolados (controle = 38%, isolamento = 24%) (Fig. 26).

Figura 26. Frequência dos comportamentos dos machos do IS 96h

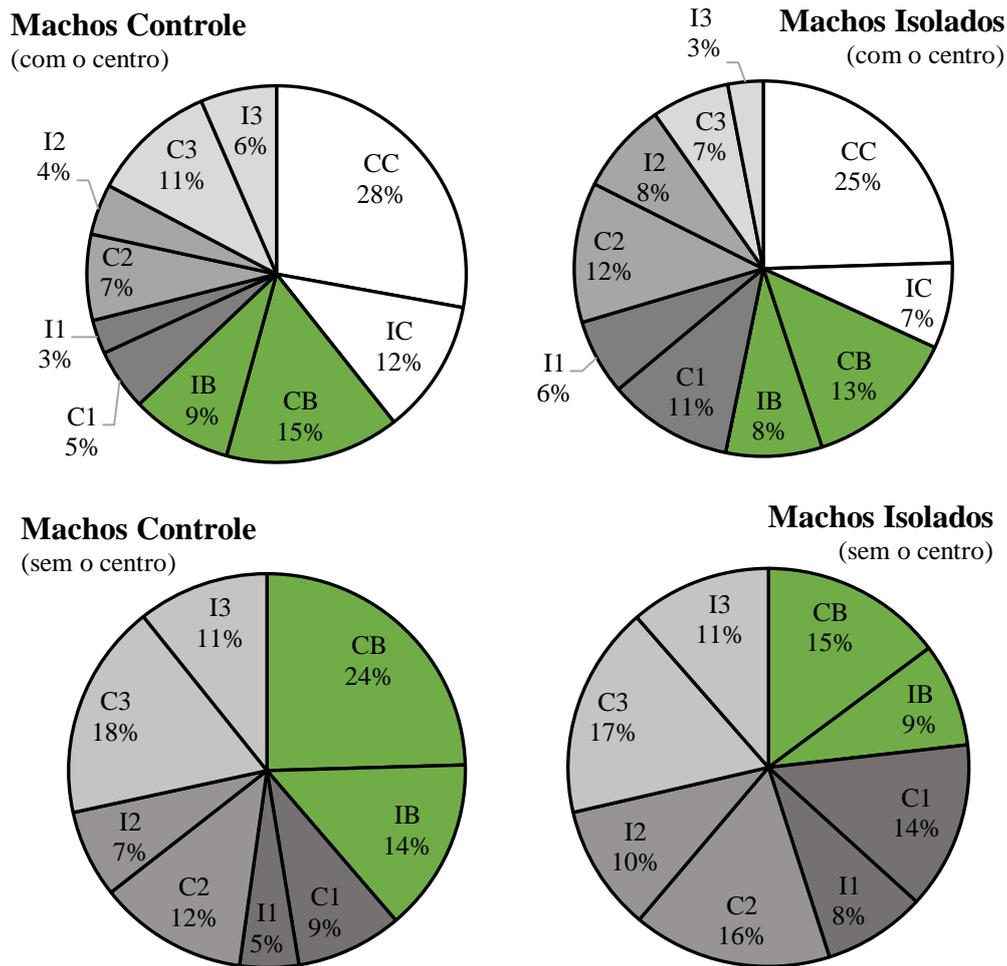


Figura 26: Dados expressos pela média da frequência dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 96h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

De acordo com a soma dos comportamentos realizados em cada região do aparato individualmente, notamos que a razão entre duração e frequência na permanência no braço banana, é menor nos machos isolados (20%) se comparado aos machos controle (23%), o mesmo ocorre no centro (controle = 20%, isolamento = 16%). Os machos controle e os machos isolados tiveram a mesma permanência no braço ágar 2 (controle = 22%, isolamento = 22%); no braço ágar 1 e 3 os machos isolados tiveram maior permanência (ágar 1: controle = 15%, isolamento = 18%; ágar 3: controle = 20%, isolamento = 24%). Por fim, os machos controle caminharam mais no aparato comparado aos machos isolados, apesar de a diferença ser baixa (controle: 52%, isolamento: 51%)

(Fig. 27).

Na ausência dos dados encontrados no centro, a diferença da razão entre duração e frequência no braço banana foi mais evidente, os machos controle permanecerem mais tempo no braço banana comparado aos machos isolados (controle = 30%, isolamento = 23%) (Fig. 27).

Figura 27. Razão duração:frequência dos comportamentos dos machos do IS 96h

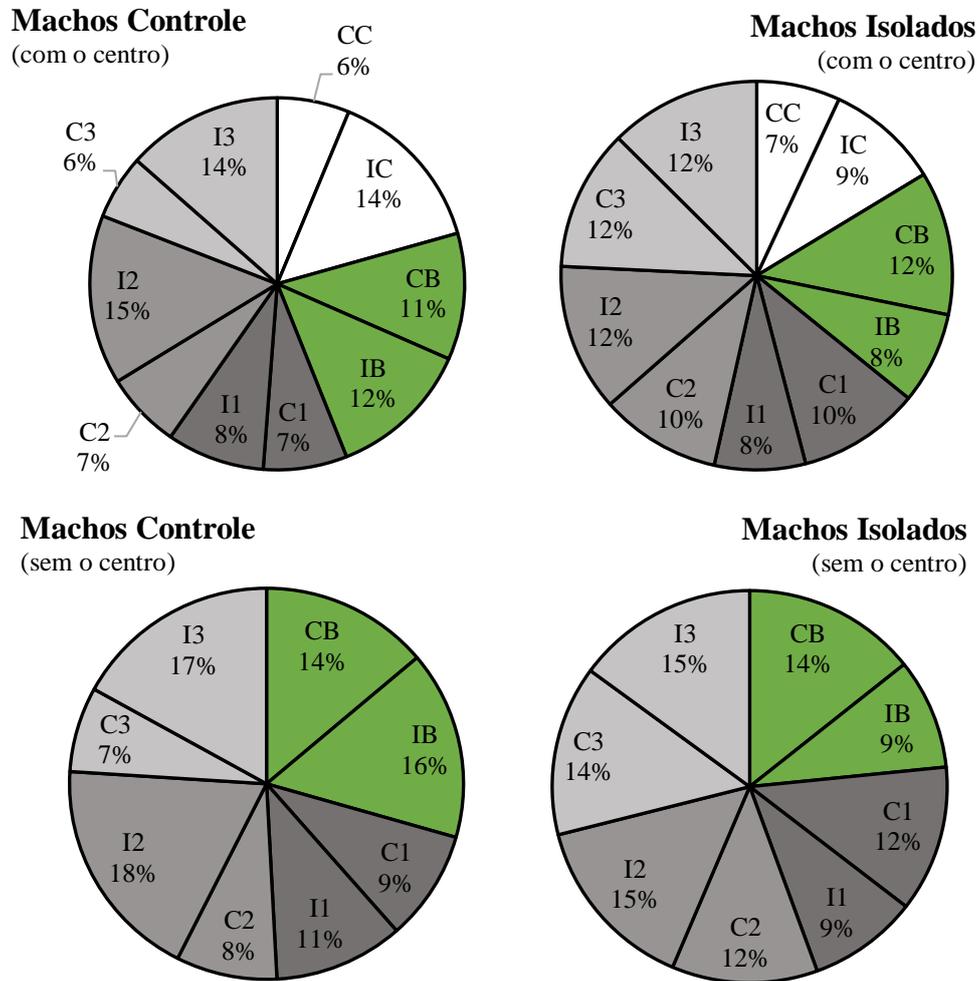


Figura 27: Dados expressos pela média da razão entre duração e frequência dos comportamentos dos machos controle (à esquerda) e machos isolados (à direita) do grupo de isolamento de 96h com (painel superior) ou sem (painel inferior) os dados do centro. Em tons de cinza são os comportamentos realizados nos braços ágar, em branco no centro e em verde no braço banana. Legenda das abreviaturas: CC: Caminhar no centro; CB: Caminhar no braço banana; C1: Caminhar no no braço ágar 1; C2: Caminhar no braço ágar 2; C3: Caminhar no braço ágar 3; IB: Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3: Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3; IS: Isolamento social.

4.2.5. Discussão sobre os efeitos do isolamento social sobre o comportamento das moscas dos dois sexos no teste de labirinto em cruz.

Nas fêmeas o isolamento social resultou no aumento de 14% da duração no braço banana apenas para as isoladas do grupo de 24h, para as isoladas do grupo de 96h houve redução de 3% (24h: controle = 20%, isolamento = 34%; 96h: controle = 22%, isolamento = 19%). Os machos de ambos os grupos de isolamento social (24h e 96h) reduziram em mais de 5% a duração no braço banana (24h: controle = 31%, isolamento = 24%; 96h: controle = 29%, isolamento = 24%). As análises da permanência (razão entre duração e frequência), demonstraram que as fêmeas de ambos os grupos de isolamento social (24h e 96h) aumentaram a permanência na banana, sendo nas fêmeas do grupo de 24h a diferença de 15% e no grupo de 96h apenas de 5% (24h: controle = 15%, isolamento = 30%; 96h: controle = 16%, isolamento = 21%). Já nos machos, o grupo de isolamento de 24h a permanência foi igual e para os machos do grupo de 96h houve a diminuição de somente 3% (24h: controle = 20%, isolamento = 20%; 96h: controle = 23%, isolamento = 20%).

Em suma, a análise apenas da duração nos diz que, com exceção das fêmeas isoladas por 24h, os demais animais diminuíram o tempo no braço banana. Agora, analisando a permanência vemos que as fêmeas isoladas, de ambos os grupos de isolamento social (24h e 96h), permanecerem mais na banana e os machos isolados, houve a diminuição ou o valor permaneceu igual. Na literatura encontramos que moscas machos diminuíram a preferência por sacarose quando submetidas ao estresse crônico imprevisível (ARAÚJO *et al.*, 2018). Sendo que em camundongos, foi observado que machos diminuíram a preferência por sacarose enquanto as fêmeas aumentaram após o isolamento social (OLIVER *et al.*, 2020). Não somente, também foi descrito na literatura o aumento da busca por sacarose após períodos de estresse variável de curto prazo (RAMOS-HRYB *et al.*, 2020). Todavia, ainda é pouco debatido na literatura os efeitos apenas do isolamento social na busca por alimento açucarado em moscas fêmeas e machos, separadamente, o que dificulta a interpretação dos resultados.

De qualquer maneira, no presente experimento, a maioria das moscas apresentaram maior duração e permanência (razão entre duração e frequência) no braço banana em relação aos demais braços, evidenciando que o braço banana foi mais buscado em relação aos braços contendo ágar. Sendo um forte indício que mesmo na ausência do jejum – que atenua a busca por alimento açucarado (ECKERT, 2017; RAMOS-HRYB *et al.*, 2020) – as moscas tenderam a preferir a banana, independente do tempo de estresse aplicado.

Quando olhamos o efeito do isolamento social na frequência no braço banana em ambos os tempos de isolamento e sexo, temos redução da frequência em 5% ou mais nas moscas isoladas em relação ao controle, com exceção das fêmeas do grupo de isolamento social de 24h que aumentou 1% (24h: fêmeas controle = 22%, fêmeas isoladas = 23%, machos controle = 27%, machos isolados = 19%; 96h: fêmeas controle = 22%, fêmeas isoladas = 16%, machos controle = 24%, machos isolados = 19%).

Ainda analisando a frequência, notou-se que para todos os grupos de moscas, a frequência de exploração do centro do aparato foi proporcionalmente mais alta que a duração, ou seja, as moscas não permaneceram no centro por muito tempo. A curta permanência no centro indica que as moscas usaram a região apenas como passagem para alcançar os braços do aparato. Se então retirarmos os valores do centro, deixando apenas os valores dos braços, fica mais evidente a diferença de exploração entre eles. Em todos os casos, as figuras da duração, frequência e razão entre duração e frequência sem os valores do centro reforçaram os resultados apresentados com os valores do centro.

Outro parâmetro analisado foi a soma da duração de caminhada em todo o aparato, sendo o resultado dimórfico entre os sexos. As fêmeas apresentaram a duração de caminhada menor quando isoladas, principalmente as fêmeas do grupo de 24h, em que a diferença foi de 23%, e nas fêmeas do grupo de 96h, a diferença foi de apenas 3% (24h: controle = 63%, isolamento = 40%; 96h: controle = 62%, isolamento = 59%). Nos machos isolados dos dois grupos de isolamento social (24h e 96h), a duração de caminhada é maior depois do isolamento, em mais de 10% (24h: controle = 47%, isolamento = 61%; 96h: controle = 49%, isolamento = 66%).

Além disso, comparando a duração de caminhada dos animais isolados por 24h com os isolados por 96h, nota-se um aumento do tempo caminhando. Como já discutido no campo aberto, na literatura trabalhos mostram aumento da atividade locomotora após períodos de estresse, como o isolamento social (RAMOS-HRYB *et al.*, 2020) e aumento da interação social em animais em isolamento social por mais dias (5 e 6 dias) (LIU, *et al.*, 2018). Este padrão não seria observado caso se utiliza-se somente a razão entre duração e frequência dos comportamentos.

Ainda que o labirinto em cruz tenha sido eficiente para vermos diferença entre os animais isolados e controle na busca pelo braço banana e também na locomoção, é de extrema importância que nos próximos experimentos alguns fatores sejam corrigidos. Dentre eles: 1-deixar o aparato como primeiro e único teste, sem passar por outro anteriormente; 2- discriminar entre os comportamentos de limpeza e imobilidade que por causa das gotículas de água que se formavam na tampa do aparato (as gotículas surgiam a partir da evaporação dos meios utilizados) não foram visíveis; 3- uniformizar

a cor dos meios oferecidos às moscas, o braço banana era mais escuro que os braços ágar, por causa da banana. Uma possível solução é ao fazer o meio ágar adicionar corante alimentício amarelo para padronizar a cor entre os braços.

A falta de literatura utilizando um labirinto em cruz similar ao utilizado aqui e a falta de evidências do tamanho ideal do labirinto em cruz, mostrou a necessidade do desenvolvimento de um novo projeto com labirinto em cruz de diferentes tamanhos com objetivo de identificar qual seria o ideal para testes comportamentais em *D. melanogaster*. Assim, sugerimos que em experimentos futuros se possa investigar labirinto em cruz que seja pelo menos 5x maior que as moscas (na fase adulta as moscas chegam a 0,1 cm), depois 10x, 15x, 20x, até chegar a 45x, tamanho bastante grande em relação do seu tamanho.

Em resumo, o isolamento social levou as fêmeas de ambos os grupos (24h e 96h) a buscarem mais o braço banana e caminharem menos; sendo o inverso encontrado nos machos. Além disso, os animais isolados diminuíram a frequência no braço banana, com exceção das fêmeas isoladas do grupo de isolamento social de 24h (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo dos principais achados no labirinto em cruz.

	FÊMEAS		MACHOS	
	24h	96h	24h	96h
Prevalência no braço banana	↑↑	↑	↑	↑
Caminhada	↑	↑↑	↑	↑↑

Tabela 5: Resumo dos principais resultados encontrados no aparato labirinto em cruz para os animais isolados

5. PERSPECTIVAS FUTURAS

O campo aberto e o labirinto em cruz permitiram avaliar os comportamentos e diferenciar o comportamento espontâneo das moscas dos dois sexos em uma situação controle e uma situação de isolamento social. Apesar destas qualidades, os testes e situações experimentais necessitam de ajustes e correções. O primeiro ajuste diz respeito ao número amostral, que deve ser aumentado para que a diferença entre os grupos seja mais evidente e que possibilitaria a análise estatística. O segundo é a densidade luminosa durante os experimentos: a luz pode ter interferido nos comportamentos exibidos durante os testes, uma vez que as moscas possuem preferência por densidade luminosa de 10 lux e aversão por densidades maiores que 500 lux (RIEGER *et al.*, 2007) – densidade aqui usada, ver secção 3.4. Um novo projeto pode ser desenvolvido no intuito de padronizar a quantidade de lux ideal durante experimentos comportamentais. Para tal, podemos desenvolver experimentos com os aparatos atuais,

porém, com o ambiente experimental com diferentes valores de lux para identificar se os comportamentos das moscas alteram em função da luminosidade. Para completar, com esse desenho experimental podemos também desenvolver experimentos com o lux atual, mas mudando as dimensões dos aparatos, ainda pensando em identificar a preferência luminosa. No caso do teste de campo aberto, as gradações de luminosidade poderiam ser obtidas por tingimento das superfícies do aparato, por exemplo: 1-campo aberto todo branco, 2-o todo preto, 3- centro branco e a periferia preta, 4- centro estaria preto e a periferia branca. No labirinto em cruz, a preferência pela luminosidade poderia ser testada pintando os braços do aparato. Com os aparatos modificados seria possível também fazer testes comportamentais com indivíduos estressados com o isolamento social e controle, a fim de investigar se a preferência por ambientes iluminados muda após períodos de estresse.

Importante ressaltar que alguns outros fatores são extremamente importantes quando discutimos a relação da densidade luminosa com as moscas em testes comportamentais. Fatores como estado físico (GOROSTIZA; COLOMB; BREMBS, 2016), idade (SIMON; LIANG; KRANTZ, 2006) e a orientação da luz (WERNET *et al.*, 2012) interferem diretamente no comportamento exibido por estes animais. No desenvolvimento de qualquer projeto animais em bom estado físico, com idade similares e a homogeneidade da luz precisam ser levados à risca.

Por fim, a anestesia é outro fator comum entre os testes e que pode ter interferido no comportamento dos animais, sobretudo nos testes do labirinto em cruz em que os animais foram submetidos a anestesia duas vezes. Para solucionar este problema, podemos desenvolver formas de transferência do recipiente que estão para o aparato comportamental sem utilizar a anestesia. Uma ideia é os aparatos terem um furo que permita a passagem de uma mosca apenas, assim que a mosca entra no aparato, se fecharia a tampa para impedir sua fuga ou a entrada de moscas adicionais.

6. CONCLUSÃO

Dentro da perspectiva da substituição parcial dos animais em pesquisas médicas, a *D. melanogaster* se mostrou uma alternativa viável para verificar os efeitos de situações estressantes, como o isolamento social. O isolamento social vem com a proposta de ser um método barato, de fácil aplicabilidade e com potencial para afetar os comportamentos das moscas dos dois sexos. Adicionalmente, o isolamento social de 24h causa efeitos diferentes do isolamento social por 96h. Aparatos comportamentais, como o campo aberto e o labirinto em cruz, podem ser utilizados para medir os efeitos do isolamento social e de outros causadores de estresse nas moscas – assim como em roedores. Com esses aparatos, conseguimos analisar comportamentos pouco explorados na literatura, a exemplo o de auto-limpeza. Ambos os aparatos comportamentais adaptados às moscas, surgem com o intuito de serem baratos, de fácil produção e de fácil manuseio, sendo possível a utilização dos mesmos para diversos fins e em diversas situações. Diante destes achados, é possível afirmar que os objetivos do presente trabalho foram alcançados. A discussão dos resultados usando a duração, frequência e a razão entre duração e frequência (populares na literatura), se mostrou bastante útil para a descrição dos comportamentos e interpretação dos dados. Além disso, para a análise do labirinto em cruz, retirar os valores do centro atenuou os resultados da exploração dos animais apenas nos braços, podendo ser bastante útil quando o intuito é apenas a análise da exploração dos braços do aparato. Vários fatores podem ter interferido nos testes de ambos os aparatos comportamentais, como o número amostral, a anestesia e a luminosidade. Percebemos que a padronização desses pontos são de extrema urgência para a continuidade do projeto. Para tal, novos trabalhos podem ser desenvolvidos a fim de padronizar esses fatores ainda pouco debatidos para estudo de comportamento em *D. melanogaster*.

REFERÊNCIAS

- ABSTRACTS II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE NEUROPSICOFARMACOLOGIA FLORIANÓPOLIS-SC 15 a 17 de maio de 2019. (2019). *Acta Neuropsychiatrica*, 31(S2), 1-54. doi:10.1017/neu.2019.38
- AGRAWAL, Pavan et al. The neuropeptide Drosulfakinin regulates social isolation-induced aggression in *Drosophila*. **Journal of Experimental Biology**, 2020.
- AGRAWAL, Pavan et al. Enabling cell-type-specific behavioral epigenetics in *Drosophila*: a modified high-yield INTACT method reveals the impact of social environment on the epigenetic landscape in dopaminergic neurons. **BMC biology**, v. 17, n. 1, p. 1-19, 2019.
- ARAUJO, Stéfani Machado et al. Chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behavior and dysregulation of brain levels of biogenic amines in *Drosophila melanogaster*. **Behavioural Brain Research**, v. 351, p. 104-113, 2018.
- BESSON, Morgane; MARTIN, Jean-René. Centrophobism/thigmotaxis, a new role for the mushroom bodies in *Drosophila*. **Journal of neurobiology**, v. 62, n. 3, p. 386-396, 2005.
- BRENES, Juan C.; FORNAGUERA, Jaime. The effect of chronic fluoxetine on social isolation-induced changes on sucrose consumption, immobility behavior, and on serotonin and dopamine function in hippocampus and ventral striatum. **Behavioural brain research**, v. 198, n. 1, p. 199-205, 2009.
- BROWN, Marishka K.; STRUS, Ewa; NAIDOO, Nirinjini. Reduced sleep during social isolation leads to cellular stress and induction of the unfolded protein response. **Sleep**, v. 40, n. 7, 2017.
- BURNET, Barrie et al. A genetic analysis of locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. **Heredity**, v. 61, n. 1, p. 111-119, 1988.
- BURKE, C. J.; WADDELL, S. Remembering nutrient quality of sugar in *Drosophila*. **Current Biology**, v. 21, n. 9, p. 746–750, 2011.
- CRISPIM JUNIOR, C.F. et al. ETHOWATCHER: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals. **Computers in Biology and Medicine**, v. 42, n. 2, p.257-264. 2012. Elsevier BV.
- DANKERT, Heiko. et al. Pietro. Automated monitoring and analysis of social behavior in *Drosophila*. **Nature methods**, v. 6, n. 4, p. 297, 2009.
- DJORDJEVIC, Jelena. et al. Effects of chronic social isolation on Wistar rat behavior and brain plasticity markers. **Neuropsychobiology**, v. 66, n. 2, p. 112-119, 2012.
- ECKERT, Fabiola Boz. **CRIAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DE MÉTODOS PARA ANÁLISES ETOLÓGICAS DE DROSOPHILA MELANOGASTER**. 2017. 90 f. TCC - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/176847>. Acesso em: 11 maio 2020.

FEBINGER, Heidi Y. et al. Effects of housing condition and cage change on characteristics of sleep in mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 29-37, 2014.

FERGUSON, Christopher J. et al. Social isolation, impulsivity and depression as predictors of aggression in a psychiatric inpatient population. **Psychiatric quarterly**, v. 76, n. 2, p. 123-137, 2005.

FRIEDMAN, Elliot M. Sleep quality, social well-being, gender, and inflammation: an integrative analysis in a national sample. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1231, p. 23, 2011.

GRØNLI, Janne et al. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. **Physiology & behavior**, v. 84, n. 4, p. 571-577, 2005.

GOROSTIZA, E. Axel; COLOMB, Julien; BREMBS, Björn. A decision underlies phototaxis in an insect. **Open biology**, v. 6, n. 12, p. 160229, 2016.

GÖTZ, Karl G.; BIESINGER, Roland. Centrophobism in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 156, n. 3, p. 329-337, 1985.

HIRTH, Frank; REICHERT, Heinrich. Conserved genetic programs in insect and mammalian brain development. **Bioessays**, v. 21, n. 8, p. 677-684, 1999.

JENNINGS, Barbara H. *Drosophila - a versatile model in biology & medicine*. **Materials Today**, v. 14, n. 5, p. 190-195, 2011.

JOCA, Sâmia Regiane L.; PADOVAN, Cláudia Maria; GUIMARÃES, Francisco Silveira. Stress, depression and the hippocampus. **Revista brasileira de psiquiatria**, v. 25, p. 46-51, 2003.

KAUR, Kulbir et al. Effect of bisphenol A on *Drosophila melanogaster* behavior—A new model for the studies on neurodevelopmental disorders. **Behavioural brain research**, v. 284, p. 77-84, 2015.

KENT, Clement et al. Social context influences chemical communication in *D. melanogaster* males. **Current Biology**, v. 18, n. 18, p. 1384-1389, 2008.

KIM, John W.; KIRKPATRICK, Brian. Social isolation in animal models of relevance to neuropsychiatric disorders. **Biological Psychiatry**, v. 40, n. 9, p. 918-922, 1996.

KOIKE, Hiroyuki et al. Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. **Behavioural brain research**, v. 202, n. 1, p. 114-121, 2009.

KRASHES, Michael J.; WADDELL, Scott. Rapid consolidation to a radish and protein synthesis-dependent long-term memory after single-session appetitive olfactory conditioning in *Drosophila*. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 12, p. 3103-3113, 2008.

KRUPP, Joshua J. et al. Social experience modifies pheromone expression and mating behavior in

male *Drosophila melanogaster*. **Current Biology**, v. 18, n. 18, p. 1373-1383, 2008.

LIU, Guangda et al. A simple computer vision pipeline reveals the effects of isolation on social interaction dynamics in *Drosophila*. **PLoS computational biology**, v. 14, n. 8, p. e1006410, 2018.

LIU, Lingzhi; DAVIS, Ronald L.; ROMAN, Gregg. Exploratory activity in *Drosophila* requires the kurtz nonvisual arrestin. **Genetics**, v. 175, n. 3, p. 1197-1212, 2007.

MARTIN, Ciara A.; KRANTZ, David E. *Drosophila melanogaster* as a genetic model system to study neurotransmitter transporters. **Neurochemistry international**, v. 73, p. 71-88, 2014.

MARTIN, Jean-René. Locomotor activity: a complex behavioural trait to unravel. **Behavioural Processes**, v. 64, n. 2, p. 145-160, 2003.

MATSUMOTO, Kinzo et al. Social isolation stress-induced aggression in mice: a model to study the pharmacology of neurosteroidogenesis. **Stress**, v. 8, n. 2, p. 85-93, 2005.

MEICHTRY, Luana Barreto et al. Addition of Saturated and Trans-fatty Acids to the Diet Induces Depressive and Anxiety-like Behaviors in *Drosophila melanogaster*. **Neuroscience**, v. 443, p. 164-175, 2020.

MINEUR, Yann S.; BELZUNG, Catherine; CRUSIO, Wim E. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice. **Behavioural brain research**, v. 175, n. 1, p. 43-50, 2006.

MOHAMMAD, Farhan et al. Ancient anxiety pathways influence *Drosophila* defense behaviors. **Current Biology**, v. 26, n. 7, p. 981-986, 2016.

MUSACHIO, Elize Aparecida Santos et al. Bisphenol A exposure is involved in the development of Parkinson like disease in *Drosophila melanogaster*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 137, p. 111128, 2020.

O'KANE, Cahir J. *Drosophila* as a model organism for the study of neuropsychiatric disorders. In: **Molecular and functional models in neuropsychiatry**. Springer, Berlin, Heidelberg, v. 7, p. 37-60, 2011.

OLIVER, David K. et al. Chronic social isolation exerts opposing sex-specific consequences on serotonin neuronal excitability and behaviour. **Neuropharmacology**, p. 108015, 2020.

OSORIO, Affe Mrad de. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel: una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. Universidad Nacional de Colombia. Coordinadora Red de Bioética de la Universidad Nacional de Colombia. **Revista colombiana de Bioética**. Colombia, v. 1, n. 1, p.163-183, 2006.

RAMOS-HRYB, Ana Belén et al. Stress-mediated hyperactivity and anhedonia resistant to diazepam and fluoxetine in *drosophila*. **Stress**, p. 1-11, 2020.

RIEGER, Dirk et al. The fruit fly *Drosophila melanogaster* favors dim light and times its activity peaks to early dawn and late dusk. **Journal of biological rhythms**, v. 22, n. 5, p. 387-399, 2007.

RUAN, Hongyu; WU, Chun-Fang. Social interaction-mediated lifespan extension of *Drosophila* Cu/Zn superoxide dismutase mutants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 21, p. 7506-7510, 2008.

SENE, Fábio de Melo. Effect of social isolation on behavior of *Drosophila silvestris* from Hawaii. **Department of Genetics, University of Hawaii**, Honolulu, Hawaii, v. 22, n. 3, p. 469-474, 1977.

SIMON, Anne F.; LIANG, Debbie T.; KRANTZ, David E. Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. **Mechanisms of ageing and development**, v. 127, n. 7, p. 647-651, 2006.

SIMON, Jasper C.; DICKINSON, Michael H. A new chamber for studying the behavior of *Drosophila*. **Plos one**, v. 5, n. 1, p. e8793, 2010.

SIMON, P.; DUPUIS, R.; COSTENTIN, J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. **Behavioural brain research**, v. 61, n. 1, p. 59-64, 1994.

SMOLINSKY, Amanda N. et al. Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression. In: **Mood and anxiety related phenotypes in mice**. Humana Press, Totowa, NJ, 2009. p. 21-36.

SOIBAM, Benjamin et al. Open-field arena boundary is a primary object of exploration for *Drosophila*. **Brain and behavior**, v. 2, n. 2, p. 97-108, 2012.

SVOBODA, Jan et al. Comparison of male and female rats in avoidance of a moving object: more thigmotaxis, hypolocomotion and fear-like reactions in females. **Physiological research**, v. 61, n. 6, p. 659, 2012.

THE 3Rs. Disponível em: <https://www.nc3rs.org.uk/the-3rs>. Acesso em: 04 set. 2020.

TREIT, Dallas; FUNDYTUS, Marian. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 31, n. 4, p. 959-962, 1988.

TRICHES, Francieli; Lima, Helder Geovane Gomes. **Reamat / PreCalculo**. 2020. Disponível em: <https://github.com/reamat/PreCalculo>. Acesso em: 04 ago. 2020.

UGUR, Berrak; CHEN, Kuchuan; BELLEN, Hugo J. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. **Disease models & mechanisms**, v. 9, n. 3, p. 235-244, 2016.

VALENTE, Dan; GOLANI, Ilan; MITRA, Partha P. Analysis of the trajectory of *Drosophila melanogaster* in a circular open field arena. **PloS one**, v. 2, n. 10, 2007.

VAN ALPHEN, Bart; VAN SWINDEREN, Bruno. *Drosophila* strategies to study psychiatric disorders. **Brain research bulletin**, v. 92, p. 1-11, 2013.

ZHU, Shenghua et al. Unpredictable chronic mild stress not chronic restraint stress induces depressive behaviours in mice. **Neuroreport**, v. 25, n. 14, p. 1151-1155, 2014.

WALKER, Deena M. et al. Long-term behavioral effects of post-weaning social isolation in males and females. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 13, p. 66, 2019.

WERNET, Mathias F. et al. Genetic dissection reveals two separate retinal substrates for polarization vision in *Drosophila*. **Current biology**, v. 22, n. 1, p. 12-20, 2012.

WILLNER, Paul et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. **Psychopharmacology**, v. 93, n. 3, p. 358-364, 1987.

WILKINSON, Lawrence S. et al. Social isolation in the rat produces developmentally specific deficits in prepulse inhibition of the acoustic startle response without disrupting latent inhibition. **Neuropsychopharmacology**, v. 10, n. 1, p. 61-72, 1994.

APÊNDICE A – DADOS BRUTOS DO CAMPO ABERTO PARA 24h DE ISOLAMENTO SOCIAL

Tabela 6. Duração proporcional no campo aberto para 24h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	LPDC	LPTC	LAC	CP	IP	LPDP	LPTP	LAP
1	F	Controle	7,48	2,53	0,00	0,12	0,00	19,52	11,49	1,07	2,37	0,51
2	F	Controle	5,67	2,40	2,12	2,01	0,43	26,43	2,20	2,64	1,12	0,00
3	F	Controle	0,27	0,00	0,49	0,34	1,34	29,22	0,47	10,00	2,48	0,95
4	F	Controle	3,23	0,96	1,84	1,75	1,94	29,87	2,88	2,01	0,33	0,41
5	F	Controle	2,36	0,12	0,21	0,00	0,00	33,83	1,55	5,65	1,59	0,35
Média	F	Controle	3,80	1,20	0,93	0,84	0,74	27,77	3,72	4,28	1,58	0,44
DPM	F	Controle	2,82	1,21	0,98	0,96	0,86	5,32	4,43	3,63	0,90	0,34
1	F	Isolamento	2,04	2,58	0,00	0,14	0,22	33,10	1,10	2,78	2,91	0,66
2	F	Isolamento	3,71	8,70	3,13	0,84	2,37	18,78	3,04	2,98	0,13	0,94
3	F	Isolamento	4,05	0,72	1,37	1,43	0,85	25,01	0,92	4,89	4,04	1,99
4	F	Isolamento	7,54	0,56	1,53	5,20	4,39	20,83	0,32	0,85	3,01	0,34
5	F	Isolamento	4,21	3,92	2,13	2,61	0,00	6,35	9,65	3,22	10,42	2,47
Média	F	Isolamento	4,31	3,30	1,63	2,04	1,56	20,82	3,00	2,95	4,10	1,28
DPM	F	Isolamento	2,00	3,32	1,14	1,98	1,83	9,77	3,85	1,44	3,82	0,91
1	M	Controle	1,86	1,49	0,00	0,89	0,08	27,08	1,81	3,47	7,20	1,56
2	M	Controle	4,70	4,85	3,57	0,93	1,21	23,83	1,98	3,11	0,60	0,00
3	M	Controle	3,18	0,96	0,17	0,26	2,97	29,66	1,94	2,68	2,32	1,25
4	M	Controle	5,01	1,23	0,86	0,59	0,37	23,64	7,80	4,17	1,66	0,00
5	M	Controle	7,11	3,90	0,45	0,00	0,79	28,75	2,47	1,27	0,28	0,00
Média	M	Controle	4,37	2,49	1,01	0,53	1,08	26,59	3,20	2,94	2,41	0,56
DPM	M	Controle	1,99	1,77	1,47	0,40	1,14	2,77	2,58	1,08	2,80	0,78
1	M	Isolamento	1,72	8,58	2,29	2,42	0,00	8,79	6,60	6,69	6,24	1,40
2	M	Isolamento	5,11	3,10	1,61	0,19	0,94	24,69	2,68	3,21	1,03	2,55
3	M	Isolamento	6,98	2,06	0,00	0,98	0,00	25,77	0,40	3,76	3,87	1,38
4	M	Isolamento	6,17	0,00	0,62	1,21	0,16	33,52	3,12	0,45	0,06	0,00
5	M	Isolamento	7,99	6,23	2,87	2,22	0,94	17,33	2,93	0,71	3,31	0,00
Média	M	Isolamento	5,59	3,99	1,48	1,40	0,41	22,02	3,14	2,96	2,91	1,07
DPM	M	Isolamento	2,41	3,41	1,18	0,92	0,49	9,36	2,22	2,55	2,44	1,08

Tabela 6: Na tabela encontra-se a duração proporcional de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 24h no aparato campo aberto. Legenda dos comportamentos se encontra na tabela 4. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CP Caminhar na periferia; IC Imobilidade no centro; IP Imobilidade na periferia; LPDC Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC Limpar as patas traseiras no centro; LPTP Limpar as patas traseiras na periferia.

Tabela 7. Frequência proporcional no campo aberto para 24h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	LPDC	LPTC	LAC	CP	IP	LPDP	LPTP	LAP
1	F	Controle	3	1	0	0	0	4	2	0	1	0
2	F	Controle	4	1	0	1	0	4	1	1	1	0
3	F	Controle	0	0	0	0	0	3	0	3	1	0
4	F	Controle	2	0	0	1	0	3	1	1	0	0
5	F	Controle	2	0	0	0	0	4	1	1	1	0
Média	F	Controle	2,01	0,34	0,20	0,34	0,14	3,38	0,89	1,12	0,61	0,12
DPM	F	Controle	1,25	0,31	0,19	0,34	0,15	0,36	0,53	1,03	0,31	0,09
1	F	Isolamento	2	0	0	0	0	3	1	1	1	0
2	F	Isolamento	2	1	0	0	0	2	0	1	0	0
3	F	Isolamento	3	0	1	0	0	4	0	1	1	0
4	F	Isolamento	3	1	0	1	1	3	0	0	1	0
5	F	Isolamento	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0
Média	F	Isolamento	2,22	0,59	0,34	0,42	0,22	2,63	0,52	0,64	0,83	0,26
DPM	F	Isolamento	0,75	0,48	0,20	0,29	0,20	1,08	0,20	0,44	0,50	0,15
1	M	Controle	2	0	0	0	0	4	1	2	2	0
2	M	Controle	3	1	1	0	0	3	1	1	0	0
3	M	Controle	2	0	0	0	0	4	1	1	1	0
4	M	Controle	2	1	0	0	0	2	1	1	0	0
5	M	Controle	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0
Média	M	Controle	2,51	0,66	0,22	0,22	0,23	3,53	0,87	0,87	0,64	0,18
DPM	M	Controle	0,88	0,40	0,23	0,18	0,14	0,75	0,27	0,41	0,58	0,25
1	M	Isolamento	1	1	0	0	0	2	2	2	1	0
2	M	Isolamento	3	1	1	0	0	3	1	1	0	0
3	M	Isolamento	6	0	0	0	0	7	0	1	1	1
4	M	Isolamento	4	0	0	0	0	5	1	0	0	0
5	M	Isolamento	3	1	0	0	0	3	1	0	1	0
Média	M	Isolamento	3,43	0,75	0,34	0,30	0,07	3,87	1,04	0,69	0,66	0,24
DPM	M	Isolamento	1,72	0,59	0,22	0,11	0,07	1,93	0,58	0,54	0,45	0,26

Tabela 7: Na tabela encontra-se a frequência proporcional de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 24h no aparato campo aberto. Legenda dos comportamentos se encontra na tabela 4. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CP Caminhar na periferia; IC Imobilidade no centro; IP Imobilidade na periferia; LPDC Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC Limpar as patas traseiras no centro; LPTP Limpar as patas traseiras na periferia.

Tabela 8. Razão entre duração e frequência proporcional no campo aberto para 24h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	LPDC	LPTC	LAC	CP	IP	LPDP	LPTP	LAP
1	F	Controle	0,19	0,23	0,00	0,06	0,00	0,42	0,50	0,54	0,24	0,25
2	F	Controle	0,12	0,34	0,42	0,17	0,22	0,54	0,27	0,38	0,16	0,00
3	F	Controle	0,09	0,00	0,49	0,11	0,45	0,70	0,09	0,28	0,19	0,32
4	F	Controle	0,13	0,24	0,31	0,25	0,39	0,81	0,32	0,22	0,17	0,20
5	F	Controle	0,10	0,06	0,11	0,00	0,00	0,74	0,12	0,30	0,20	0,35
Média	F	Controle	0,13	0,18	0,27	0,12	0,21	0,64	0,26	0,34	0,19	0,22
DPM	F	Controle	0,04	0,14	0,21	0,10	0,21	0,16	0,16	0,12	0,03	0,14
1	F	Isolamento	0,10	1,29	0,00	0,14	0,22	0,74	0,16	0,25	0,16	0,17
2	F	Isolamento	0,11	0,48	0,52	0,21	0,59	0,63	0,51	0,43	0,13	0,94
3	F	Isolamento	0,12	0,36	0,20	0,29	0,28	0,53	0,15	0,29	0,31	0,99
4	F	Isolamento	0,17	0,07	0,26	0,43	0,63	0,55	0,08	0,28	0,38	0,09
5	F	Isolamento	0,21	0,36	0,43	0,37	0,00	0,53	0,88	0,81	0,74	0,41
Média	F	Isolamento	0,14	0,51	0,28	0,29	0,34	0,59	0,35	0,41	0,34	0,52
DPM	F	Isolamento	0,05	0,46	0,20	0,12	0,26	0,09	0,34	0,23	0,25	0,43
1	M	Controle	0,09	0,50	0,00	0,18	0,08	0,49	0,15	0,17	0,34	0,26
2	M	Controle	0,12	0,35	0,45	0,16	0,40	0,58	0,22	0,28	0,20	0,00
3	M	Controle	0,11	0,19	0,17	0,26	0,49	0,62	0,18	0,22	0,23	0,21
4	M	Controle	0,15	0,15	0,43	0,20	0,19	0,74	0,97	0,52	0,33	0,00
5	M	Controle	0,13	0,24	0,11	0,00	0,20	0,52	0,15	0,21	0,09	0,00
Média	M	Controle	0,12	0,29	0,23	0,16	0,27	0,59	0,33	0,28	0,24	0,09
DPM	M	Controle	0,02	0,14	0,20	0,10	0,17	0,10	0,36	0,14	0,10	0,13
1	M	Isolamento	0,12	0,50	0,38	0,48	0,00	0,35	0,26	0,33	0,42	0,47
2	M	Isolamento	0,11	0,19	0,20	0,10	0,47	0,57	0,22	0,32	0,17	0,51
3	M	Isolamento	0,09	0,69	0,00	0,25	0,00	0,29	0,07	0,42	0,28	0,17
4	M	Isolamento	0,10	0,00	0,16	0,30	0,08	0,53	0,39	0,11	0,06	0,00
5	M	Isolamento	0,20	0,39	0,48	0,37	0,94	0,51	0,17	0,36	0,47	0,00
Média	M	Isolamento	0,12	0,35	0,24	0,30	0,30	0,45	0,22	0,31	0,28	0,23
DPM	M	Isolamento	0,04	0,27	0,19	0,14	0,41	0,12	0,12	0,12	0,17	0,25

Tabela 8: Na tabela encontra-se a razão entre duração e frequência proporcional de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 96h no aparato campo aberto. Legenda dos comportamentos se encontra na tabela 4. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CP Caminhar na periferia; IC Imobilidade no centro; IP Imobilidade na periferia; LPDC Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC Limpar as patas traseiras no centro; LPTP Limpar as patas traseiras na periferia.

APÊNDICE B – DADOS BRUTOS DO CAMPO ABERTO PARA 96h DE ISOLAMENTO SOCIAL

Tabela 9. Duração proporcional no campo aberto para 96h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	LPDC	LPTC	LAC	CP	IP	LPDP	LPTP	LAP
1	F	Controle	3,55	15,34	4,65	4,02	1,55	6,75	4,47	2,63	0,98	0,00
2	F	Controle	4,84	1,42	0,88	0,74	1,11	34,31	1,36	0,57	0,03	0,00
3	F	Controle	1,70	1,53	0,45	2,00	0,00	14,24	7,59	5,28	11,29	1,39
4	F	Controle	3,42	13,57	2,66	1,59	1,14	15,19	3,52	1,80	0,87	0,54
5	F	Controle	3,73	0,00	0,60	0,48	0,10	37,08	0,25	2,14	0,89	0,25
Média	F	Controle	3,45	1,53	0,88	1,59	1,11	15,19	3,52	2,14	0,89	0,25
DPM	F	Controle	1,12	7,43	1,80	1,40	0,69	13,39	2,86	1,74	4,76	0,58
1	F	Isolamento	2,63	3,77	2,73	2,02	0,27	12,14	13,14	4,30	1,31	2,74
2	F	Isolamento	2,42	1,29	0,96	0,00	0,50	31,99	3,98	3,40	0,33	0,67
3	F	Isolamento	4,70	4,24	7,12	1,86	3,21	20,33	0,90	0,94	0,57	0,57
4	F	Isolamento	3,85	1,29	0,17	0,69	2,97	33,39	2,13	0,33	0,38	0,00
5	F	Isolamento	5,86	1,79	0,22	0,08	0,00	9,30	13,47	8,09	3,71	2,78
Média	F	Isolamento	3,89	1,79	0,96	0,69	0,50	20,33	3,98	3,40	0,57	0,67
DPM	F	Isolamento	1,44	1,42	2,92	0,96	1,56	11,06	6,11	3,09	1,42	1,31
1	M	Controle	0,23	26,88	6,42	11,40	1,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	M	Controle	11,24	16,74	9,03	5,66	3,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	M	Controle	5,10	0,00	1,41	0,69	0,31	32,49	0,25	2,45	2,04	1,15
4	M	Controle	1,48	4,75	1,03	2,33	0,90	22,31	1,97	5,86	2,88	2,32
5	M	Controle	2,70	1,96	1,21	0,50	0,65	25,63	8,07	2,95	1,40	0,70
Média	M	Controle	4,15	4,75	1,41	2,33	0,90	22,31	0,25	2,45	1,40	0,70
DPM	M	Controle	4,35	11,43	3,68	4,56	1,16	15,14	3,46	2,43	1,27	0,96
1	M	Isolamento	0,14	38,50	3,04	0,88	0,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	M	Isolamento	6,17	9,45	0,85	0,32	0,67	18,35	6,23	1,47	0,43	0,62
3	M	Isolamento	2,33	0,40	0,38	1,32	0,77	30,85	1,12	2,10	5,81	0,36
4	M	Isolamento	3,21	2,31	0,91	0,68	0,40	24,60	4,85	6,32	1,74	0,33
5	M	Isolamento	3,84	0,76	0,11	0,40	0,00	34,35	1,08	4,96	0,00	0,00
Média	M	Isolamento	3,14	2,31	0,85	0,68	0,45	24,60	1,12	2,10	0,43	0,33
DPM	M	Isolamento	2,20	16,19	1,16	0,40	0,30	13,55	2,72	2,60	2,46	0,26

Tabela 9: Na tabela encontra-se a duração proporcional de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 96h no aparato campo aberto. Legenda dos comportamentos se encontra na tabela 4. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CP Caminhar na periferia; IC Imobilidade no centro; IP Imobilidade na periferia; LPDC Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC Limpar as patas traseiras no centro; LPTP Limpar as patas traseiras na periferia.

Tabela 10. Frequência proporcional no campo aberto para 96h de isolamento social

n	sexo	tratamento	CC	IC	LPDC	LPTC	LAC	CP	IP	LPDP	LPTP	LAP
1	F	Controle	2	1	1	1	0	2	0	0	1	0
2	F	Controle	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0
3	F	Controle	2	0	0	1	0	3	2	1	3	1
4	F	Controle	2	1	1	1	0	2	0	1	0	0
5	F	Controle	3	0	0	1	0	4	0	1	1	0
Média	F	Controle	2,15	0,36	0,22	0,50	0,22	2,45	0,46	0,61	0,69	0,08
DPM	F	Controle	0,71	0,61	0,27	0,13	0,14	1,00	0,87	0,39	0,99	0,22
1	F	Isolamento	2	0	0	0	0	2	0	0	1	0
2	F	Isolamento	2	0	0	0	0	4	2	1	0	0
3	F	Isolamento	2	2	1	1	0	3	1	0	0	0
4	F	Isolamento	3	2	0	0	0	6	2	0	0	0
5	F	Isolamento	2	1	0	0	0	6	3	3	1	0
Média	F	Isolamento	2,08	1,08	0,29	0,22	0,14	3,98	1,53	0,46	0,38	0,23
DPM	F	Isolamento	0,47	0,71	0,30	0,24	0,16	1,82	0,93	1,19	0,27	0,17
1	M	Controle	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0
2	M	Controle	1	2	1	2	1	0	0	0	0	0
3	M	Controle	5	0	1	0	0	7	0	1	1	0
4	M	Controle	2	0	0	0	0	4	1	2	1	1
5	M	Controle	2	0	0	0	0	7	3	1	2	0
Média	M	Controle	1,72	0,43	0,65	0,36	0,14	3,75	0,08	0,92	0,84	0,23
DPM	M	Controle	1,85	1,00	0,50	0,62	0,31	3,35	1,49	0,69	0,75	0,22
1	M	Isolamento	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	M	Isolamento	4	3	0	0	0	3	1	0	0	0
3	M	Isolamento	3	0	0	1	0	4	1	1	1	0
4	M	Isolamento	3	1	0	0	0	5	1	2	1	0
5	M	Isolamento	3	1	0	0	0	4	1	2	0	0
Média	M	Isolamento	3,01	0,72	0,29	0,29	0,14	4,20	0,92	0,76	0,23	0,15
DPM	M	Isolamento	1,47	0,95	0,16	0,13	0,08	2,05	0,52	0,87	0,56	0,08

Tabela 10: Na tabela encontra-se a frequência proporcional de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 96h no aparato campo aberto. Legenda dos comportamentos se encontra na tabela 4. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CP Caminhar na periferia; IC Imobilidade no centro; IP Imobilidade na periferia; LPDC Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC Limpar as patas traseiras no centro; LPTP Limpar as patas traseiras na periferia.

Tabela 11. Razão entre duração e frequência proporcional no campo aberto para 96h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	LPDC	LPTC	LAC	CP	IP	LPDP	LPTP	LAP
1	F	Controle	0,15	0,90	0,66	0,40	0,52	0,26	0,75	2,63	0,11	0,00
2	F	Controle	0,16	0,36	0,88	0,15	0,37	1,07	0,23	0,29	0,03	0,00
3	F	Controle	0,08	0,31	0,23	0,29	0,00	0,33	0,26	0,48	0,33	0,20
4	F	Controle	0,10	0,71	0,27	0,20	0,23	0,56	1,17	0,23	0,17	0,54
5	F	Controle	0,08	0,00	0,20	0,07	0,10	0,65	0,25	0,18	0,09	0,13
Média	F	Controle	0,10	0,36	0,27	0,20	0,23	0,56	0,26	0,29	0,11	0,13
DPM	F	Controle	0,04	0,36	0,31	0,13	0,21	0,32	0,42	1,05	0,12	0,22
1	F	Isolamento	0,12	1,89	0,46	0,34	0,27	0,53	4,38	0,86	0,15	0,55
2	F	Isolamento	0,08	0,21	0,24	0,00	0,25	0,62	0,17	0,26	0,07	0,22
3	F	Isolamento	0,17	0,19	0,65	0,23	0,53	0,48	0,05	0,16	0,29	0,57
4	F	Isolamento	0,10	0,05	0,17	0,23	1,48	0,43	0,11	0,17	0,13	0,00
5	F	Isolamento	0,17	0,12	0,22	0,08	0,00	0,12	0,36	0,20	0,37	0,56
Média	F	Isolamento	0,12	0,19	0,24	0,23	0,27	0,48	0,17	0,20	0,15	0,55
DPM	F	Isolamento	0,04	0,78	0,20	0,13	0,58	0,19	1,89	0,30	0,12	0,26
1	M	Controle	0,07	0,76	0,32	0,67	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	M	Controle	0,55	0,68	0,94	0,23	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	M	Controle	0,07	0,00	0,15	0,13	0,14	0,37	0,25	0,20	0,19	0,38
4	M	Controle	0,06	0,89	0,96	0,44	0,42	0,46	0,12	0,28	0,15	0,33
5	M	Controle	0,08	0,31	0,38	0,16	0,31	0,29	0,18	0,25	0,07	0,23
Média	M	Controle	0,07	0,68	0,38	0,23	0,31	0,29	0,12	0,20	0,07	0,23
DPM	M	Controle	0,22	0,37	0,38	0,23	0,10	0,21	0,11	0,14	0,09	0,18
1	M	Isolamento	0,14	6,42	0,76	0,22	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	M	Isolamento	0,11	0,26	0,21	0,16	0,34	0,56	0,42	0,29	0,14	0,31
3	M	Isolamento	0,06	0,13	0,38	0,19	0,39	0,54	0,16	0,21	0,34	0,18
4	M	Isolamento	0,07	0,13	0,15	0,14	0,20	0,37	0,29	0,23	0,17	0,16
5	M	Isolamento	0,11	0,08	0,11	0,10	0,00	0,62	0,09	0,25	0,00	0,00
Média	M	Isolamento	0,11	0,13	0,21	0,16	0,20	0,54	0,16	0,23	0,14	0,16
DPM	M	Isolamento	0,03	2,80	0,26	0,05	0,15	0,25	0,16	0,11	0,14	0,13

Tabela 11: Na tabela encontra-se a razão entre duração e frequência proporcional de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 24h no aparato campo aberto. Legenda dos comportamentos se encontra na tabela 4. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CP Caminhar na periferia; IC Imobilidade no centro; IP Imobilidade na periferia; LPDC Limpar as patas dianteiras no centro; LPDP Limpar as patas dianteiras na periferia; LPTC Limpar as patas traseiras no centro; LPTP Limpar as patas traseiras na periferia.

APÊNDICE C – DADOS BRUTOS DO LABIRINTO EM CRUZ PARA 24h DE ISOLAMENTO SOCIAL

Tabela 12. Duração no labirinto em cruz para 24h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	CB	IB	C1	I1	C2	I2	C3	I3
1	F	Controle	86,77	11,73	94,00	19,60	47,10	16,33	144,43	61,00	81,87	38,53
2	F	Controle	145,33	40,00	93,41	43,10	84,00	30,50	54,00	38,33	476,34	38,00
3	F	Controle	73,60	14,33	106,53	62,13	84,47	50,27	65,73	61,60	45,80	37,73
4	F	Controle	58,07	37,93	55,27	24,17	27,83	17,57	63,73	203,60	32,80	80,60
5	F	Controle	69,80	68,27	63,07	113,73	22,60	18,60	43,87	46,27	55,13	100,53
Média	F	Controle	86,71	34,45	82,45	52,55	53,20	26,65	74,35	82,16	138,39	59,08
DPM	F	Controle	34,33	22,95	22,07	38,13	29,76	14,37	40,13	68,61	189,78	29,60
1	F	Tratado	95,13	92,10	83,63	96,83	52,50	81,10	34,00	2,80	29,03	33,37
2	F	Tratado	65,20	81,87	50,03	39,00	17,80	9,57	39,17	9,43	59,13	228,87
3	F	Tratado	123,30	100,83	78,20	52,27	48,53	27,07	32,87	19,63	84,83	34,57
4	F	Tratado	20,89	31,67	31,00	453,00	2,50	50,17	0,00	0,00	8,50	3,33
5	F	Tratado	92,07	244,70	73,73	45,17	8,67	0,57	45,77	72,43	14,13	5,43
Média	F	Tratado	79,32	110,23	63,32	137,25	26,00	33,69	30,36	20,86	39,13	61,11
DPM	F	Tratado	38,60	79,81	22,16	177,96	23,08	32,57	17,72	29,80	32,23	94,94
1	M	Controle	115,87	78,60	120,80	11,27	45,60	79,07	52,40	29,13	54,00	15,73
2	M	Controle	77,60	106,20	73,73	111,80	37,00	19,73	44,20	74,20	15,40	41,33
3	M	Controle	114,03	191,60	93,53	73,13	6,20	0,00	65,80	27,20	18,93	11,90
4	M	Controle	77,60	201,10	41,57	6,77	35,23	76,23	45,20	21,83	24,63	72,30
5	M	Controle	48,16	9,56	118,04	290,52	28,60	7,12	26,04	9,72	37,52	24,60
Média	M	Controle	86,65	117,41	89,53	98,70	30,53	36,43	46,73	32,42	30,10	33,17
DPM	M	Controle	28,50	80,27	33,00	115,88	14,89	38,30	14,43	24,55	15,79	24,64
1	M	Tratado	120,27	47,07	110,00	20,87	54,53	18,67	56,73	17,33	113,73	41,20
2	M	Tratado	109,52	69,52	51,36	25,00	95,04	18,76	110,04	71,68	26,04	24,48
3	M	Tratado	121,37	106,40	76,27	119,37	32,40	17,03	37,27	39,03	29,60	22,47
4	M	Tratado	100,35	35,86	165,64	7,67	112,25	1,17	74,65	1,27	88,50	12,75
5	M	Tratado	31,23	1,87	27,03	120,33	63,23	7,87	39,40	222,27	20,27	67,43
Média	M	Tratado	96,55	52,14	86,06	58,65	71,49	12,70	63,62	70,32	55,63	33,67
DPM	M	Tratado	37,51	38,94	54,06	56,24	32,01	7,87	30,02	88,94	42,60	21,47

Tabela 12: Na tabela encontra-se a duração total de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 24h no aparato labirinto em cruz. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CB Caminhar no braço banana; C1 Caminhar no braço ágar 1; C2 Caminhar no braço ágar 2; C3 Caminhar no braço ágar 3; IB Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3.

Tabela 13. Frequência no labirinto em cruz para 24h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	CB	IB	C1	I1	C2	I2	C3	I3
1	F	Controle	41	8	22	13	14	7	38	31	24	11
2	F	Controle	45	11	29	18	17	9	19	11	12	6
3	F	Controle	26	6	21	15	13	7	14	10	11	7
4	F	Controle	44	8	24	14	10	3	30	20	14	8
5	F	Controle	27	10	17	14	6	4	18	12	20	16
Média	F	Controle	36,60	8,60	22,60	14,80	12,00	6,00	23,80	16,80	16,20	9,60
DPM	F	Controle	9,34	1,95	4,39	1,92	4,18	2,45	9,91	8,87	5,59	4,04
1	F	Tratado	62	29	32	17	22	15	8	3	15	9
2	F	Tratado	37	10	14	8	6	3	11	4	25	18
3	F	Tratado	56	21	25	15	18	11	17	9	11	5
4	F	Tratado	11	7	15	14	4	3	0	0	3	2
5	F	Tratado	31	22	15	13	2	2	15	10	9	8
Média	F	Tratado	39,40	17,80	20,20	13,40	10,40	6,80	10,20	5,20	12,60	8,40
DPM	F	Tratado	20,43	9,09	7,98	3,36	8,99	5,85	6,69	4,21	8,17	6,02
1	M	Controle	45	19	15	4	11	8	12	5	10	4
2	M	Controle	45	20	27	22	12	5	16	9	8	4
3	M	Controle	62	25	26	9	2	0	20	6	7	3
4	M	Controle	40	22	11	4	12	6	12	3	8	5
5	M	Controle	20	4	38	32	5	3	6	2	8	5
Média	M	Controle	42,40	18,00	23,40	14,20	8,40	4,40	13,20	5,00	8,20	4,20
DPM	M	Controle	15,04	8,15	10,69	12,38	4,62	3,05	5,22	2,74	1,10	0,84
1	M	Tratado	53	21	20	11	16	10	12	7	26	17
2	M	Tratado	42	8	15	8	16	6	24	12	9	3
3	M	Tratado	60	26	28	16	14	8	12	6	11	6
4	M	Tratado	89	6	33	8	24	3	22	3	21	5
5	M	Tratado	12	2	11	8	7	6	11	8	4	2
Média	M	Tratado	51,20	12,60	21,40	10,20	15,40	6,60	16,20	7,20	14,20	6,60
DPM	M	Tratado	27,98	10,33	9,07	3,49	6,07	2,61	6,26	3,27	9,04	6,02

Tabela 13: Na tabela encontra-se a frequência total de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 24h no aparato labirinto em cruz. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CB Caminhar no braço banana; C1 Caminhar no no braço ágar 1; C2 Caminhar no braço ágar 2; C3 Caminhar no braço ágar 3; IB Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3.

Tabela 14. Razão entre duração e frequência no labirinto em cruz para 24h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	CB	IB	C1	I1	C2	I2	C3	I3
1	F	Controle	2,12	1,47	4,27	1,51	3,36	2,33	3,80	1,97	3,41	3,50
2	F	Controle	3,23	3,64	3,22	2,39	4,94	3,39	2,84	3,48	39,70	6,33
3	F	Controle	2,83	2,39	5,07	4,14	6,50	7,18	4,70	6,16	4,16	5,39
4	F	Controle	1,32	4,74	2,30	1,73	2,78	5,86	2,12	10,18	2,34	10,08
5	F	Controle	2,59	6,83	3,71	8,12	3,77	4,65	2,44	3,86	2,76	6,28
Média	F	Controle	2,42	3,81	3,72	3,58	4,27	4,68	3,18	5,13	10,47	6,32
DPM	F	Controle	0,73	2,09	1,05	2,74	1,47	1,92	1,06	3,20	16,35	2,39
1	F	Tratado	1,53	3,18	2,61	5,70	2,39	5,41	4,25	0,93	1,94	3,71
2	F	Tratado	1,76	8,19	3,57	4,88	2,97	3,19	3,56	2,36	2,37	12,71
3	F	Tratado	2,20	4,80	3,13	3,48	2,70	2,46	1,93	2,18	7,71	6,91
4	F	Tratado	1,90	4,52	2,07	32,36	0,63	16,72	0,00	0,00	2,83	1,67
5	F	Tratado	2,97	11,12	4,92	3,47	4,33	0,28	3,05	7,24	1,57	0,68
Média	F	Tratado	2,07	6,36	3,26	9,98	2,60	5,61	2,56	2,54	3,28	5,14
DPM	F	Tratado	0,56	3,24	1,08	12,55	1,33	6,47	1,66	2,80	2,52	4,86
1	M	Controle	2,57	4,14	8,05	2,82	4,15	9,88	4,37	5,83	5,40	3,93
2	M	Controle	1,72	5,31	2,73	5,08	3,08	3,95	2,76	8,24	1,92	10,33
3	M	Controle	1,84	7,66	3,60	8,13	3,10	0,00	3,29	4,53	2,70	3,97
4	M	Controle	1,94	9,14	3,78	1,69	2,94	12,71	3,77	7,28	3,08	14,46
5	M	Controle	2,41	2,39	3,11	9,08	5,72	2,37	4,34	4,86	4,69	4,92
Média	M	Controle	2,10	5,73	4,25	5,36	3,80	5,78	3,71	6,15	3,56	7,52
DPM	M	Controle	0,37	2,70	2,16	3,22	1,18	5,32	0,69	1,58	1,44	4,70
1	M	Tratado	2,27	2,24	5,50	1,90	3,41	1,87	4,73	2,48	4,37	2,42
2	M	Tratado	2,61	8,69	3,42	3,13	5,94	3,13	4,59	5,97	2,89	8,16
3	M	Tratado	2,02	4,09	2,72	7,46	2,31	2,13	3,11	6,51	2,69	3,74
4	M	Tratado	1,13	5,98	5,02	0,96	4,68	0,39	3,39	0,42	4,21	2,55
5	M	Tratado	2,60	0,93	2,46	15,04	9,03	1,31	3,58	27,78	5,07	33,72
Média	M	Tratado	2,13	4,39	3,82	5,70	5,07	1,76	3,88	8,63	3,85	10,12
DPM	M	Tratado	0,61	3,07	1,37	5,79	2,60	1,01	0,73	11,00	1,02	13,40

Tabela 14: Na tabela encontra-se a razão entre duração e frequência total de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 24h no aparato labirinto em cruz. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CB Caminhar no braço banana; C1 Caminhar no braço ágar 1; C2 Caminhar no braço ágar 2; C3 Caminhar no braço ágar 3; IB Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3.

APÊNDICE D – DADOS BRUTOS DO LABIRINTO EM CRUZ PARA 96h DE ISOLAMENTO SOCIAL

Tabela 15. Duração no labirinto em cruz para 96h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	CB	IB	C1	I1	C2	I2	C3	I3
1	F	Controle	103,43	112,30	93,97	83,50	25,57	21,07	56,67	38,30	50,10	16,47
2	F	Controle	120,87	14,90	113,00	7,80	42,83	40,57	90,47	70,77	80,20	19,80
3	F	Controle	107,77	0,67	88,03	19,87	81,73	126,70	55,07	26,53	66,20	27,77
4	F	Controle	103,63	13,90	92,10	28,77	97,43	15,30	50,43	52,87	85,20	61,83
5	F	Controle	72,03	36,13	42,93	103,40	32,73	64,17	39,57	16,07	89,53	104,30
Média	F	Controle	101,55	35,58	86,01	48,67	56,06	53,56	58,44	40,91	74,25	46,03
DPM	F	Controle	17,96	44,73	25,93	42,14	31,70	45,14	19,11	21,59	16,10	37,22
1	F	Tratado	67,00	8,00	65,00	8,87	67,00	150,67	82,83	36,00	64,17	51,33
2	F	Tratado	49,60	111,06	28,83	44,00	34,33	146,00	44,88	43,33	20,50	77,67
3	F	Tratado	109,13	85,93	118,03	64,23	40,87	16,63	76,67	11,53	56,63	21,17
4	F	Tratado	114,00	6,50	93,47	28,37	92,70	16,47	52,13	51,93	79,83	64,50
5	F	Tratado	82,67	6,83	101,67	20,83	56,00	23,50	65,50	82,13	78,67	83,33
Média	F	Tratado	84,48	43,67	81,40	33,26	58,18	70,65	64,40	44,98	59,96	59,60
DPM	F	Tratado	27,41	50,84	35,11	21,49	23,14	70,99	15,99	25,64	24,14	24,79
1	M	Controle	116,30	149,20	134,80	103,47	17,63	8,00	17,50	41,87	10,77	1,00
2	M	Controle	112,67	144,07	194,03	158,57	12,63	5,40	12,20	26,63	19,63	15,13
3	M	Controle	120,83	150,50	55,83	37,00	29,73	21,33	51,22	37,50	36,00	59,67
4	M	Controle	68,64	52,33	29,17	0,83	17,67	16,17	44,50	67,83	59,33	244,17
5	M	Controle	102,84	45,33	106,67	93,00	48,00	31,00	25,50	10,83	56,33	80,83
Média	M	Controle	104,26	108,29	104,10	78,57	25,13	16,38	30,18	36,93	36,41	80,16
DPM	M	Controle	20,98	54,38	65,16	61,23	14,25	10,36	16,98	21,02	21,57	97,23
1	M	Tratado	102,17	77,27	123,00	103,93	51,07	33,10	29,10	26,27	33,83	20,70
2	M	Tratado	98,80	74,10	86,20	54,83	41,40	8,57	128,53	54,67	34,77	18,93
3	M	Tratado	89,17	5,20	50,03	2,50	95,23	22,50	103,60	163,90	50,50	18,77
4	M	Tratado	126,97	29,13	92,93	51,30	67,13	46,53	60,33	30,43	83,70	13,20
5	M	Tratado	119,80	32,43	121,80	22,10	70,47	50,63	59,40	74,80	38,50	10,87
Média	M	Tratado	107,38	43,63	94,79	46,93	65,06	32,27	76,19	70,01	48,26	16,49
DPM	M	Tratado	15,58	31,11	30,02	38,48	20,61	17,31	39,50	56,02	20,90	4,22

Tabela 15: Na tabela encontra-se a duração total de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 96h no aparato labirinto em cruz. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CB Caminhar no braço banana; C1 Caminhar no braço ágar 1; C2 Caminhar no braço ágar 2; C3 Caminhar no braço ágar 3; IB Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3.

Tabela 16. Frequência no labirinto em cruz para 96h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	CB	IB	C1	I1	C2	I2	C3	I3
1	F	Controle	54	25	33	25	10	7	29	19	16	10
2	F	Controle	39	8	22	11	10	5	23	13	15	9
3	F	Controle	58	1	24	7	19	5	23	9	18	7
4	F	Controle	50	17	25	16	23	15	18	12	32	22
5	F	Controle	51	9	33	24	19	12	15	6	30	12
Média	F	Controle	50,40	12,00	27,40	16,60	16,20	8,80	21,60	11,80	22,20	12,00
DPM	F	Controle	7,09	9,22	5,22	7,89	5,89	4,49	5,37	4,87	8,14	5,87
1	F	Tratado	67	5	18	4	34	19	33	15	29	14
2	F	Tratado	47	35	23	18	20	18	22	18	22	19
3	F	Tratado	43	18	30	23	9	3	19	12	21	15
4	F	Tratado	46	13	24	15	23	15	21	15	27	19
5	F	Tratado	51	5	19	5	19	9	29	19	34	21
Média	F	Tratado	50,80	15,20	22,80	13,00	21,00	12,80	24,80	15,80	26,60	17,60
DPM	F	Tratado	9,50	12,38	4,76	8,28	8,97	6,72	5,93	2,77	5,32	2,97
1	M	Controle	33	20	31	22	8	6	8	7	5	3
2	M	Controle	44	29	25	15	5	3	5	3	9	5
3	M	Controle	56	31	20	12	9	5	17	9	17	11
4	M	Controle	49	10	11	2	11	6	26	17	38	24
5	M	Controle	63	13	46	26	14	6	10	3	27	15
Média	M	Controle	49,00	20,60	26,60	15,40	9,40	5,20	13,20	7,80	19,20	11,60
DPM	M	Controle	11,47	9,34	13,09	9,32	3,36	1,30	8,41	5,76	13,46	8,41
1	M	Tratado	46	30	24	21	16	11	12	9	11	7
2	M	Tratado	40	12	32	23	10	5	22	14	7	2
3	M	Tratado	45	5	13	3	29	18	40	28	15	5
4	M	Tratado	80	10	45	25	35	20	29	14	28	11
5	M	Tratado	57	24	29	18	27	17	29	21	12	8
Média	M	Tratado	53,60	16,20	28,60	18,00	23,40	14,20	26,40	17,20	14,60	6,60
DPM	M	Tratado	16,01	10,40	11,67	8,77	10,16	6,14	10,31	7,40	8,02	3,36

Tabela 16: Na tabela encontra-se a frequência total de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 96h no aparato labirinto em cruz. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CB Caminhar no braço banana; C1 Caminhar no braço ágar 1; C2 Caminhar no braço ágar 2; C3 Caminhar no braço ágar 3; IB Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3.

Tabela 17. Razão entre duração e frequência no labirinto em cruz para 96h de isolamento social

n	Sexo	Tratamento	CC	IC	CB	IB	C1	I1	C2	I2	C3	I3
1	F	Controle	1,92	4,49	2,85	3,34	2,56	3,01	1,95	2,02	3,13	1,65
2	F	Controle	3,10	1,86	5,14	0,71	4,28	8,11	3,93	5,44	5,35	2,20
3	F	Controle	1,86	0,67	3,67	2,84	4,30	25,34	2,39	2,95	3,68	3,97
4	F	Controle	2,07	0,82	3,68	1,80	4,24	1,02	2,80	4,41	2,66	2,81
5	F	Controle	1,41	4,01	1,30	4,31	1,72	5,35	2,64	2,68	2,98	8,69
Média	F	Controle	2,07	2,37	3,33	2,60	3,42	8,57	2,74	3,50	3,56	3,86
DPM	F	Controle	0,62	1,79	1,40	1,39	1,21	9,74	0,74	1,39	1,06	2,83
1	F	Tratado	1,00	1,60	3,61	2,22	1,97	7,93	2,51	2,40	2,21	3,67
2	F	Tratado	1,06	3,17	1,25	2,44	1,72	8,11	2,04	2,41	0,93	4,09
3	F	Tratado	2,54	4,77	3,93	2,79	4,54	5,54	4,04	0,96	2,70	1,41
4	F	Tratado	2,48	0,50	3,89	1,89	4,03	1,10	2,48	3,46	2,96	3,39
5	F	Tratado	1,62	1,37	5,35	4,17	2,95	2,61	2,26	4,32	2,31	3,97
Média	F	Tratado	1,74	2,28	3,61	2,70	3,04	5,06	2,67	2,71	2,22	3,31
DPM	F	Tratado	0,74	1,69	1,48	0,88	1,24	3,14	0,79	1,27	0,78	1,09
1	M	Controle	3,52	7,46	4,35	4,70	2,20	1,33	2,19	5,98	2,15	0,33
2	M	Controle	2,56	4,97	7,76	10,57	2,53	1,80	2,44	8,88	2,18	3,03
3	M	Controle	2,16	4,85	2,79	3,08	3,30	4,27	3,01	4,17	2,12	5,42
4	M	Controle	1,40	5,23	2,65	0,42	1,61	2,69	1,71	3,99	1,56	10,17
5	M	Controle	1,63	3,49	2,32	3,58	3,43	5,17	2,55	3,61	2,09	5,39
Média	M	Controle	2,26	5,20	3,97	4,47	2,61	3,05	2,38	5,33	2,02	4,87
DPM	M	Controle	0,84	1,43	2,26	3,76	0,76	1,63	0,48	2,19	0,26	3,63
1	M	Tratado	2,22	2,58	5,13	4,95	3,19	3,01	2,43	2,92	3,08	2,96
2	M	Tratado	2,47	6,18	2,69	2,38	4,14	1,71	5,84	3,90	4,97	9,47
3	M	Tratado	1,98	1,04	3,85	0,83	3,28	1,25	2,59	5,85	3,37	3,75
4	M	Tratado	1,59	2,91	2,07	2,05	1,92	2,33	2,08	2,17	2,99	1,20
5	M	Tratado	2,10	1,35	4,20	1,23	2,61	2,98	2,05	3,56	3,21	1,36
Média	M	Tratado	2,07	2,81	3,59	2,29	3,03	2,26	3,00	3,68	3,52	3,75
DPM	M	Tratado	0,33	2,04	1,22	1,61	0,83	0,77	1,61	1,38	0,82	3,37

Tabela 17: Na tabela encontra-se a razão entre duração e frequência total de cada comportamento para cada sexo e tratamento de todos os animais. Além da média e do desvio padrão da média (DPM) para o grupo de isolamento social de 96h no aparato labirinto em cruz. Legenda das abreviaturas: CC Caminhar no centro; CB Caminhar no braço banana; C1 Caminhar no no braço ágar 1; C2 Caminhar no braço ágar 2; C3 Caminhar no braço ágar 3; IB Imobilidade ou limpeza no braço banana; I1 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 1; I2 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 2; I3 Imobilidade ou limpeza no braço ágar 3.