

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

Letícia Mercêdes Gomes Correia Martins

**PADRONIZAÇÃO DE TESTES NEUROCOMPORTAMENTAIS
PARA INVESTIGAÇÃO DA IMPORTÂNCIA FUNCIONAL DO
WULST VISUAL EM CORUJAS BURAQUEIRAS (*Athene
cunicularia*).**

BELO HORIZONTE

2012

LETÍCÍCIA MERCÊDES GOMES CORREIA MARTINS

**PADRONIZAÇÃO DE TESTES NEUROCOMPORTAMENTAIS
PARA INVESTIGAÇÃO DA IMPORTÂNCIA FUNCIONAL DO
WULST VISUAL EM CORUJAS BURAQUEIRAS (*Athene
cunicularia*).**

**Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Neurociências do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito à
obtenção do título de Mestre em
Neurociências.**

Orientador: Jerome Baron

Co-orientador: André Luiz Freitas Dias

BELO HORIZONTE

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
www.ufmg.br/neurociencias

Ata da Sessão Pública de defesa da dissertação de Leticia Mercedes Gomes Correia Martins nº de registro 2009710783 aluna do Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais. Aos dez dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e doze, às quinze horas, na Sala Prof. Moacyr Gomes de Freitas nº 208, Bloco F1, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, realizou-se a sessão pública de defesa da dissertação de Leticia Mercedes Gomes Correia Martins, intitulada **“Padronização de testes neurocomportamentais para investigação da importância funcional do wulst visual em corujas buraqueiras”**. A Banca Examinadora, aprovada no dia 07/11/2011, foi constituída pelos professores: Jerome Baron (Orientador) – Departamento de Fisiologia e Biofísica – ICB – UFMG; André Luiz Freitas Dias (Co-orientador) – Departamento de Psicologia – FAFICH / UFMG; Grace Schenatto Pereira – Departamento de Fisiologia e Biofísica - ICB – UFMG e Adriana Cunha Cruvinel – Centro Universitário UNA. A defesa constou da apresentação de seminário versando sobre o assunto da dissertação, seguida de arguição da candidata pelos membros da banca. Posteriormente, a Banca Examinadora reuniu-se em sala fechada para o julgamento final, tendo sido considerada aprovada a dissertação de Leticia Mercedes Gomes Correia Martins. O resultado foi comunicado ao público presente pelo prof. Jerome Baron que, em seguida, declarou encerrada a sessão. Nada mais havendo a tratar, eu, Vanessa Aparecida de Oliveira Bastos (Secretária auxiliar), lavrei a presente Ata, que dato e assino após a assinatura dos membros da Banca Examinadora. Belo Horizonte, 10 de fevereiro de 2012.

Prof. Jerome Baron (orientador)

Prof. André Luiz Freitas Dias (co-orientador)

Profa. Adriana Cunha Cruvinel

Profa. Grace Schenatto Pereira

Vanessa Aparecida O. Bastos (Secretária auxiliar)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
www.ufmg.br/neurociencias

“Padronização de testes neurocomportamentais para investigação da importância funcional do wuslt visual em corujas buraqueiras”

Aluna: Letícia Mercedes Gomes Correia Martins

Dissertação defendida em 10/02/2012.

Resultado: *Aprovada,*

Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



Prof. Jerome Baron
(orientador)
UFMG



Prof. André Luiz Freitas Dias
(Co-orientador)
UFMG



Prof. Adriana Cunha Cruvinel
UNA



Prof. Grace Schenatto Pereira
UFMG

AGRADECIMENTOS

São muitas pessoas às quais tenho que agradecer pelo incentivo, apoio, cuidados, ajudas, conselhos, enfim, por tudo o que me fez acreditar que seria possível concluir mais uma etapa da minha vida. Para quem acompanhou de perto esta trajetória, sabe que não foi fácil chegar até aqui, e é por isto que minha gratidão se estende acima de tudo a Deus por me manter firme e por me capacitar a cada dia. Sim, eu creio em Deus e nunca vou renunciar a minha fé no meu criador apesar de toda ciência e razão. Agradeço ao meu orientador Jerome Baron pelos conhecimentos transmitidos que me fizeram crescer intelectualmente e pessoalmente. Ao meu co-orientador André Luiz pelos conselhos e sugestões que tornaram este trabalho mais rico. Agradeço aos colegas do Laboratório de Neurodinâmica, dos quais muitos se tornaram amigos, em especial à Cíntia, Léo e Geanne pela contribuição nos experimentos. Mere, Cláudio Pedro e Mozar, a contribuição de cada um, de diferentes formas, foi fundamental para este mestrado. Ao meu esposo, por sempre estar ao meu lado e me apoiar mesmo nos momentos mais difíceis. À minha família, em especial a vovó Lourdes, a tia Ivone, a minha mãe, ao meu pai e Samuel. Agradeço aos irmãos da Comunidade Cristã de Adoradores pelas orações e à pastora Marilda Berg pelo apoio. Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos, mais chegados que irmãos: Rafael, Carol e Aline. Agradeço também aos professores, colegas e funcionários do Programa de Pós- Graduação em Neurociências. Em especial quero agradecer às corujas que fizeram parte deste experimento, sem vocês seria impossível concluir este estudo e espero ter dado o devido valor à vida entregue em favor da ciência. A todos meus sinceros agradecimentos!

"Não há poder de controle sobre o universo maior do que o poder que nos controla."

Galileu Galilei

RESUMO

As aves têm sido utilizadas em numerosos estudos envolvendo habilidades visuo-cognitivas, constituindo um excelente modelo para a neurobiologia comparativa. Vários estudos já demonstraram que na maioria das aves, principalmente as de olhos laterais, a via visual principal é a retinotetofugal ao contrário dos mamíferos cuja via visual principal é a retinotalamofugal. As corujas, entretanto, possuem como principal via a retinotalamofugal cujas projeções neuronais terminam no wulst que é uma região telencefálica particularmente desenvolvida nessas aves. O presente projeto visa estabelecer uma bateria de testes adaptados para avaliar as consequências comportamentais de uma lesão no wulst visual na coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) e o papel funcional desta região utilizando uma abordagem neurocomportamental, uma vez que existem vários dados relativos à organização morfológica e fisiológica dessa região telencefálica em corujas, mas ainda não houve uma investigação direta da função do wulst nessas aves. Dentre os testes realizados, o equilíbrio dos animais foi avaliado por meio de um aparato especialmente desenvolvido para esse teste. Além disso, a preferência pelo claro e escuro também foi avaliada através da adaptação do teste claro/escuro utilizado com ratos e camundongos. Já o repertório comportamental foi analisado por meio de um etograma onde foram destacados comportamentos visuomotores. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para estes testes antes e após a lesão do wulst. A pupilometria, por sua vez, mostrou diferenças no reflexo pupilar antes e após a lesão de 2 corujas. Observou-se que após a lesão as respostas pupilares são estatisticamente mais lentas. A tarefa de discriminação visual revelou o limiar de uma coruja na discriminação de estímulos compostos por grades senoidais dispostos horizontalmente (limiar de $0,96^\circ$) e verticalmente (limiar de $2,03^\circ$). Uma coruja submetida ao teste de discriminação visual com estímulos de faces e não faces mostrou um bom desempenho nessa tarefa, todavia não respondeu ao teste após a lesão.

Palavras-chave: Coruja-buraqueira, telencéfalo visual de aves, lesão, testes neurocomportamentais.

ABSTRACT

Birds have been used in numerous researches involving visual-cognitive skills and is an excellent model for comparative neurobiology. Several researches have shown in most birds, especially those with lateral eyes, that the main visual pathway is retinotectofugal unlike mammals whose main visual pathway is retinotalamofugal. Owls, however, have as main pathway retinotalamofugal with neuronal projections terminate in a telencephalic region called wulst and particularly developed in these birds. There are many data on the morphological and physiological organization of visual wulst owls, although the functional role of this structure has not yet been proven. This project aims to establish a battery of suitable tests for assessing the behavioral consequences of a lesion in the visual wulst burrowing owl (*Athene cunicularia*) and the functional role of this region using a neurobehavioral approach. Among the tests performed, the balance of animals was assessed through an apparatus especially developed for this test. Beyond that, the preference light-dark was evaluated by adjusting the test light / dark used with rats and mice. The behavioral repertoire was analyzed by an ethogram where they were highlighted visual-motor behaviors. There was no statistically significant difference ($p > 0.05$) for these tests before and after the injury wulst. The pupillometry showed differences in pupillary reflex before and after the lesion of 2 owls. It was observed that after injury pupillary responses were statistically slower. The visual discrimination task revealed the threshold of an owl in the discrimination of stimulus consisting of sinusoidal gratings arranged horizontally (threshold of 0.96°) and vertically (threshold of 2.03°). An owl subjected to discrimination visual with stimulus test of faces and no faces showed a good performance in this task, however, did not respond to the test after the injury.

Key- words: Burrowing owl, avian visual telencephalon, lesion, neurobehavioral tests.

LISTA DE ABREVIATURAS

CRT – tubo de raio catódico

E- entopálio

EC- Ectostriatum

ECCA- Ectostriatum caudal

ECD- Ectostriatum dorsal

HA - hiperpalio apical

HI - hiperpalio intercalado

HD - hiperpalio densocelular

IHAex - núcleo intersticial externo de HA

IHAin - núcleo intersticial interno de HA

LGN- Núcleo geniculado lateral

NR- Núcleo rotundos

OPT- teto óptico

S+- estímulo positivo

S- estímulo negativo

ZI- Zona intermediária

V1- córtex visual primário

W- wulst

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 Vista lateral e dorsal de peça anatômica da coruja-buraqueira e corte coronal do wulst	6
Figura 1.2 Proporção do wulst em relação ao volume total do cérebro de algumas aves	7
Figura 4.1 Aparato do teste de equilíbrio	14
Figura 4.2 Coruja no aparato do teste de equilíbrio	15
Figura 5.1 Caixa claro/escuro	22
Figura 5.2 Visão da câmera em relação à caixa e divisões dos compartimentos internos	22
Figura 6.1 Coruja no setup experimental para registro da pupilometria	30
Figura 6.2 Parâmetros extraídos da curva da pupila	31
Figura 6.3 Exemplos do reflexo pupilar à flashes de diferentes níveis de luminância antes da lesão	32
Figura 6.4 Exemplos do reflexo pupilar à flashes de diferentes níveis de luminância depois da lesão	33
Figura 6.5 Comparação das medianas da latência antes e depois da lesão da coruja 1	34

Figura 6.6 Comparação das medianas da latência antes e depois da lesão da coruja 2	34
Figura 6.7 Comparação das médias do tamanho da pupila antes e depois da lesão da coruja 1	35
Figura 6.8 Comparação das médias do tamanho da pupila antes e depois da lesão da coruja 2	35
Figura 6.9 Comparação das médias do tempo de constrição antes e depois da lesão da coruja 1	36
Figura 6.10 Comparação das médias do tempo de constrição antes e depois da lesão da coruja 2	36
Figura 6.11 Comparação das médias do tempo de dilatação antes e depois da lesão da coruja 1	37
Figura 6.12 Comparação das médias do tempo de dilatação antes e depois da lesão da coruja 2	37
Figura 6.13 Comparação das médias da velocidade de constrição antes e depois da lesão da coruja 1	38
Figura 6.14 Comparação das médias da velocidade de constrição antes e depois da lesão da coruja 2	38
Figura 6.15 Comparação das médias da velocidade de dilatação antes e depois da lesão da coruja 1	39
Figura 6.16 Comparação das médias da velocidade de dilatação antes e depois da lesão da coruja 2	39
Figura 7.1 Coruja buraqueira (<i>Athene cunicularia</i>)	42

Figura 7.2 Representação da freqüência relativa das categorias comportamentais da coruja 1 em porcentagem	47
Figura 7.3 Representação da freqüência relativa das categorias comportamentais da coruja 2 em porcentagem	48
Figura 7.4 Representação da freqüência relativa das categorias comportamentais da coruja 3 em porcentagem antes da lesão	49
Figura 7.5 Representação da freqüência relativa das categorias comportamentais da coruja 3 em porcentagem depois da lesão	50
Figura 8.1 Estímulos positivos e negativos apresentados à coruja 1	54
Figura 8.2 Estímulos positivos e negativos apresentados à coruja 2	54
Figura 8.3 Ilustração das divisórias colocadas para coruja 1	55
Figura 8.4 Ilustração da gaiola adaptada à parte externa do viveiro da coruja 2	56
Figura 8.5 Ilustração do procedimento e aparato experimental do condicionamento operante	59
Figura 8.6 Curva de aprendizagem da coruja 1	61
Figura 8.7 Reposta da coruja 1 antes da lesão	62
Figura 8.8 Curva de aprendizagem da coruja 2	63
Figura 8.9 Curva ajustada representando o limiar dos estímulos dispostos horizontalmente	63
Figura 8.10 Curva ajustada representando o limiar dos estímulos dispostos verticalmente	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Alguns exemplos de efeitos de lesões em regiões das vias visuais em aves	5
Tabela 4.1 Tabela para anotação do ângulo de desequilíbrio de cada sessão do teste	15
Tabela 4.2 Resultados dos ângulos de desequilíbrio para as 13 corujas utilizadas na parametrização do teste, pendendo para o lado esquerdo	16
Tabela 4.3 Resultados dos graus de desequilíbrio para as 13 corujas utilizadas na parametrização do teste, pendendo para o lado direito	17
Tabela 4.4 Resultados da frequência relativa dos graus de desequilíbrio para os dados reunidos das 3 corujas	17
Tabela 4.5 Frequência relativa dos graus de desequilíbrio da coruja 3 antes da lesão	18
Tabela 4.6 Frequência relativa dos graus de desequilíbrio da coruja 3 depois da lesão	18
Tabela 5.1 Tempo de permanência em porcentagem em cada compartimento da caixa das 13 corujas utilizadas na parametrização do teste claro/escuro – Sessões iniciando no claro	23
Tabela 5.2 Tempo de permanência em porcentagem em cada compartimento da caixa das 13 corujas utilizadas na parametrização do teste claro/escuro – Sessões iniciando no escuro	24
Tabela 5.3 Mediana do tempo de permanência das 13 corujas em porcentagem em cada compartimento da caixa nas sessões iniciando no claro e no escuro	24

Tabela 5.4 Mediana do tempo de permanência em porcentagem das 5 sessões em cada condição dos dados reunidos das 3 corujas	25
Tablela 5.5 Mediana do tempo de permanência em porcentagem da coruja antes e após a lesão .	25
Tabela 7.1 Etograma da coruja buraqueira (<i>Athene cunicularia</i>) com as siglas e descrição de cada comportamento analisado	43
Tabela 7.2 Repertório comportamental da coruja 1	45
Tabela 7.3 Repertório comportamental da coruja 2	46
Tabela 7.4 Repertório comportamental da coruja 3 antes da lesão	48
Tabela 7.5 Repertório comportamental da coruja 3 depois da lesão	49

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Visão e vias visuais	1
1.2 Lesões nas vias visuais de primatas	2
1.3 Lesões nas vias visuais de aves	4
1.4 A coruja como modelo experimental	5
2 OBJETIVOS	9
2.1 Objetivo geral	9
2.2 Objetivos específicos	9
3 MÉTODO	10
3.1 Sujeito experimental	10
3.2 Procedimentos	10
3.2.1 Testes Neurocomportamentais	10
3.2.2 Lesão do wulst visual	11
3.2.3 Implante do pino	12
4 TESTE DE EQUILÍBRIO	13
4.1 Apresentação	13
4.2 Procedimento	14

4.3 Resultados	16
4.3.1 Parametrização do teste	16
4.3.2 Comparação pré e pós lesão	18
4.4 Discussão	19
5 TESTE CLARO/ ESCURO	20
5.1 Apresentação	20
5.2 Procedimento	21
5.3 Resultados	23
5.3.1 Parametrização do teste	23
5.3.2	25
5.4 Discussão	25
6 PUPILOMETRIA	27
6.1 Apresentação	27
6.2 Procedimento	29
6.2.1 Pupilometria	29
6.3 Resultados	32
6.3.1 Comparação dos resultados antes e após a lesão	33
6.4 Discussão	39
7 ETOGRAMA	41
7.1 Apresentação	41

7.2 Procedimento	43
7.3 Resultados	44
7.3.1 Descrição do repertório comportamental da Coruja 1	45
7.3.2 Descrição do repertório comportamental da Coruja 2	46
7.3.3 Descrição do repertório comportamental da Coruja 3	47
7.4 Discussão	50
8 DISCRIMINAÇÃO VISUAL	52
8.1 Apresentação	52
8.2 Procedimento	53
8.2.1 Estímulos	53
8.2.2 Local dos experimentos	55
8.2.3 Reforço positivo	56
8.2.4 Punição negativa	56
8.2.5 Condicionamento operante	57
8.3 Resultados	61
8.3.1 Coruja 1- Catarina	61
8.3.2 Coruja 2- Zuleica	62
8.4 Discussão	64
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1 INTRODUÇÃO

1.1 Visão e vias visuais

A neurociência visual tem se esforçado para compreender como os mecanismos cerebrais dão origem à percepção visual (LIVINGSTONE e HUBEL, 1988). Nessa busca, o telencéfalo tem sido alvo de numerosos estudos pelo fato dessa região exercer funções importantes nas habilidades visuais e visuo-cognitivas dos vertebrados. Várias evidências sugerem que áreas visuais telencefálicas compartilham características funcionais semelhantes ao se comparar mamíferos; aves; répteis e anfíbios, apesar das aparentes diferenças anatômicas (JAGER, 1997; SHIMIZU e BOWERS, 1999).

Nos amniotas há duas vias principais que partem da retina para o telencéfalo: a colotalâmica ou retinotetofugal e a lemnotalâmica ou retinotalamofugal. Nos primatas a via retinotalamofugal parte da retina, passa pelo núcleo geniculado lateral (LGN) e chega ao córtex visual primário (V1) do qual projeções são estabelecidas para diversas áreas corticais visuais. Esta via tem como principal função a discriminação visual incluindo a detecção de detalhes finos e cor. Por sua vez a via retinotetofugal parte da retina em direção ao colículo superior, passa pelo núcleo pulvinar do tálamo e vai em direção ao córtex extra-extriado. Esta via, em contraste com a via retinotalamofugal, está envolvida com comportamentos visuomotores, tais como orientação e atenção ao estímulo visual (SHIMIZU e BOWERS, 1999; LENNIE, 1998; NASSI e CALLAWAY, 2009).

Em aves, os padrões de conexão das duas vias são semelhantes aos dos mamíferos embora as funções sejam diferentes. Especialmente em espécie de aves com olhos laterais, a principal via de processamento da imagem é a retinotetofugal. As maiorias das fibras que deixam a retina enervam o teto óptico localizado no mesencéfalo. Este envia projeções ao núcleo rotundus, o maior núcleo dorsal do tálamo, cujos neurônios conectam-se com o entopallium no telencéfalo. As fibras nervosas da outra via, a retinotalamofugal, partem da retina em direção ao núcleo geniculado lateral na parte dorsal do tálamo e termina em uma região telencefálica chamada wulst ou *hyperpallium* (HODOS e KARTEN, 1970; SHIMIZU e BOWERS, 1999; HELLMAN e GÜNTÜRKÜN, 2001; SHIMIZU *et.al.*, 2010).

A visão é provavelmente mais importante para as aves do que para outras classes de vertebrados. Elas usam este apurado sentido para migração, captura de presas, fuga de predadores e execução de elaborados comportamentos sociais (SHIMIZU e BOWERS, 1999).

Sendo assim, as aves são animais que apresentam desenvolvida capacidade visual. Algumas possuem acuidade visual e discriminativa comparável, ou até mesmo superior a dos humanos (HODOS, 1993; WATANABE *et al.*, 1995; EMERY, 2006; SHIMIZU *et al.*, 2010). Há também um grande volume de evidências comportamentais que as aves têm, de fato, excelentes: acuidade visual, visão de cores, habilidades de discriminação e memória visual (COOK, 2001).

As aves têm sido utilizadas em numerosos estudos envolvendo habilidades visuo-cognitivas, constituindo um excelente modelo para a neurologia comparativa. Estudos comportamentais e neurais podem ser integrados a fim de compreender como estes animais têm desenvolvido um incrível sistema visual ao longo de 150 milhões de anos de evolução (SHIMIZU *et al.*, 2010).

1.2 Lesões nas vias visuais de primatas

Grande parte das evidências que levaram à conclusão da existência dessas duas vias principais foi obtida por estudos neuropsicológicos. Essa ciência surgiu da convergência entre Neurologia e Psicologia, e tem como objetivo principal o estudo das modificações comportamentais resultantes de lesão cerebral, seja através da observação de pacientes, ou de animais experimentais lesionados. Por exemplo, em 1909, Bálint descreveu a condição hoje conhecida como ataxia óptica, na qual pacientes têm uma lesão no córtex parietal posterior, o que os impede de alcançar objetos por movimentos guiados visualmente, apesar de manterem uma percepção intacta do objeto (MILNER, 1998).

A síndrome de Riddoch se caracteriza, pela persistência da simples percepção de movimento no campo visual anóptico, sem a capacidade de determinar qualquer outro atributo do estímulo ou objeto que se move e foi descrita pela primeira vez em 1917 (FFYTCH e ZEKI, 2011).

Um paciente com lesão na região occipitotemporal sofre das chamadas agnosias visuais, condição na qual ele é incapaz de reconhecer um objeto, independente do tipo de contorno utilizado, apesar de conseguir alcançar tal objeto sem dificuldade alguma (GOODALE, 1996; MILNER, 1998).

Pacientes com lesão no córtex visual primário persistem com a habilidade de discriminar a presença de estímulos visuais se movimentando rapidamente em hemisferos "cegos". O paciente G.Y. foi o primeiro a ser estudado, desde 1998. Ele sofreu uma grande lesão na região occipital medial esquerda e uma lesão menor na região parietal direita causadas por um acidente de trânsito aos 8 anos de idade (FFYTCHÉ e ZEKI, 2011).

Lesões no córtex visual primário (V1) geralmente resultam em cegueira total ou parcial um fenômeno conhecido como "blindsight" ou cegueira cortical. Este quadro de cegueira pode ser descrito como perda bilateral da visão com resposta pupilar normal, com exame ocular sem anormalidades e presença de visão residual. Pacientes com defeitos no campo visual causados por danos no córtex occipital, mantêm a habilidade de detectar, localizar e discriminar estímulos visuais (COWEY, 2010 a e b; TOVEE, 2008, p.73).

Segundo alguns autores citados por Benson *et al* (1998), a capacidade visual residual inclui: localização de padrão de flashes de luz, detecção de alvos parados, detecção e discriminação de velocidade e direção do movimento, orientação espacial e resolução da estrutura espacial, discriminação de cor e comprimento de onda. A visão residual se conserva na ausência do córtex estriado devido a estruturas subcorticais que recebem sinais da retina e projetam para áreas do córtex extra-estriado (STOERIG e COWEY, 1997).

Alguns estudos têm sido realizados em macacos a fim de se entender este fenômeno de cegueira cortical do ponto de vista anatômico, fisiológico e comportamental. Os animais experimentais são submetidos à remoção do córtex visual primário e testados através de métodos comportamentais, psicofísicos, de neuroimagem funcional, dentre outros. Posteriormente é feita uma comparação dos resultados com os casos clínicos em humanos e uma investigação de como a cegueira cortical surge, se estabelece, quais partes do sistema visual estão envolvidas e quais regiões são comprometidas com a lesão do córtex estriado (STOERIG e COWEY, 1997; COWEY, 2010 a e b; WEISKRANTZ, 1996; HUMPHREY, 1974).

1.3 Lesões nas vias visuais de aves

As vias retinotalamofugal e retinotetofugal são diferentes não apenas na organização, mas também desempenham diferentes funções no processamento visual e no controle de comportamentos visualmente guiados (DENG, 2006).

No grupo das aves, a maior parte dos conhecimentos sobre as vias visuais deriva de experimentos realizados com pombos. Tais experimentos mostram que a via retinotalamofugal aparenta desempenhar um papel de menor importância na visão das aves de olhos laterais, uma vez que lesões em centros da mesma geram déficits pouco expressivos em muitas tarefas de discriminação visual (SHIMIZU e HODOS, 1989; GÜNTÜRKÜN e HAHMANN, 1999). Em contrapartida, lesões na via retinotetofugal provocam efeitos mais amplos no desempenho em diversas tarefas visuais (HODOS, 1993, DENG, 2006).

Quando há uma combinação de lesão nas duas vias, o comprometimento resultante é ainda maior se a via lesionada é apenas a retinotetofugal (HODOS e BONBRIGHT, 1974). Assim, para a discriminação de estímulos, a contribuição da via retinotalamofugal para o processamento visual e os efeitos interativos das duas vias, pode ser melhor observado em indivíduos lesionados em ambas vias (RILEY *et al.*, 1988).

Segundo Bessete e Hodos (1989), lesões no núcleo rotundos e no ectoestriatum (estruturas da via tectofulgal) de pombos, causam severos déficits na intensidade visual e na discriminação de padrões de cor, porém lesões similares no núcleo geniculado lateral dorsal e no wulst tem pouco ou nenhum efeito na realização destas tarefas. Entretanto lesões no wulst em aves de olhos laterais prejudicam algumas funções cognitivas, tais como categorização de alimentos (DENG e ROGERS, 1997), aprendizagem associativa (BUDZYNSKI *et al.*, 2002) e aprendizagem reversa (STETTNER e SCHULTZ, 1967).

Em estudos feitos por Powers (1989), tarefas de discriminação entre tiras horizontais e verticais foram ensinadas a pombos e depois estes animais foram treinados a reversão. Os resultados deste experimento mostraram que pombos com lesões no wulst foram prejudicados na aquisição do aprendizado reverso, enquanto que aqueles que foram lesionados no ectostriatum não tiveram prejuízo na reversão do aprendizado.

Tabela 1.1: Alguns exemplos de efeitos de lesões em regiões das vias visuais em aves.

Espécie	Região Lesionada	Déficits	Autores
Codorna (<i>Colinus virginianus</i>)	Porção dorsal do wulst	Reversão do aprendizado	STETTNER e SCHULTZ, 1967.
Galo (<i>Gallus domesticus</i>)	Wulst	Aprendizagem de estímulo	MAEKAWA <i>et al</i> , 2006.
Mandarim (<i>Taeniopygia guttata</i>)	Wulst(W) Entopálio (E)	Discriminação espacial(W) Padrão de discriminação (E)	WATANABE <i>et al</i> , 2011.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Ectostriatum (Entopálio)	Reversão do aprendizado de cores	CHAVES e HODOS, 1998.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Wulst	Reversão do aprendizado	SHIMIZU e HODOS, 1989.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Wulst	Aumento do limiar	PASTERNAK e HODOS, 1977.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Teto óptico (OPT) Núcleo rotundos (NR)	Aprendizagem e reversão do aprendizado	CHAVES <i>et al</i> , 1993.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Wulst	Aumento da latência de discriminação	PARKER e DELIUS, 1980.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Ectostriatum e neostriatum lateral	Dificuldade de aprendizagem	HODOS e KARTEN, 1970.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Wulst(W) Ectostriatum (EC)	Interrompeu a aquisição do aprendizado.	WATANABE, 2003.
Pombo (<i>Columbia livia</i>)	Ectostriatum caudal (ECCA); Ectostriatum dorsal (ECD)	Déficit em tarefa de movimento (ECCA); Déficit em tarefas com <i>grating</i> (ED)	NGUYEN <i>et al</i> , 2004.

1.4 Coruja como modelo experimental

Apesar de fascinante, o conhecimento sobre as habilidades visuo-cognitivas das aves ainda é incipiente, haja vista que um pequeno número de espécies de aves, principalmente pombos e galinhas, tem sido utilizado para elucidar questões relativas ao seu sistema visual (SHIMIZU *et al.*, 2010).

Dentre as aves, as corujas se destacam por suas excepcionais habilidades visuais. Por terem olhos frontais e visão binocular desenvolvida, possuem alto desempenho em tarefas de localização espacial, mesmo em condições de visibilidade desfavoráveis (VAN DER WILLIGEN *et al.*, 2002). Diversas evidências mostram que seu sistema visual opera de forma incrivelmente análoga ao de

primatas e felinos, que constituem os modelos animais clássicos da neurofisiologia da visão (PETTIGREW, 1979; BARON et. al., 2007).

Dentre as estruturas visuais do cérebro das corujas, o wulst visual é de particular interesse (PETTIGREW, 1979; MEDINA e REINER, 2000). O wulst ou *hyperpallium* fica localizado na superfície dorsal do telencéfalo e possui de 3 a 4 lâminas dependendo do tamanho do wulst (figura 1.1). A camada mais superficial é a supragranular, chamada de hiperpalio apical (HA), ocupando cerca de 40% da espessura total do wulst (KARTEN et al., 1973). Abaixo de HA estão as camadas granulares conhecidas como núcleo intersticial externo de HA (IHAex, mais dorsal) e núcleo intersticial interno de HA (IHAin). As camadas mais profundas do wulst são chamadas de hiperpalio intercalado (HI) e hiperpalio densocelular (HD, KARTEN et al., 1973; SHIMIZU e BOWERS, 1999).

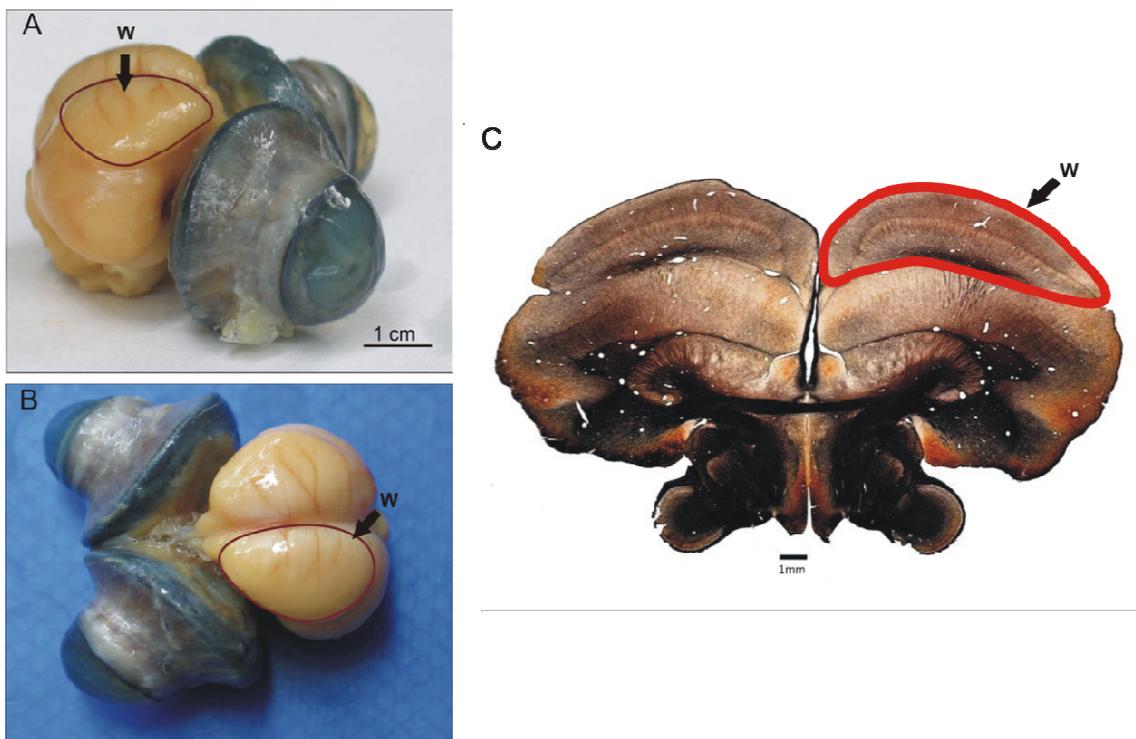


Figura 1.1. O wulst (W) visual da coruja buraqueira pode ser observado na peça anatômica em vista lateral (A) e em vista dorsal (B). E em C, corte coronal com coloração de Gallyas, onde é possível visualizar o wulst e suas camadas.

O wulst visual de corujas é uma estrutura desenvolvida (figura 1.2) e ocupa quase um quarto do volume do cérebro dessas aves (IWANIUK e HURD, 2005; IWANIUK e WYLIE, 2006; IWANIUK et al., 2008).

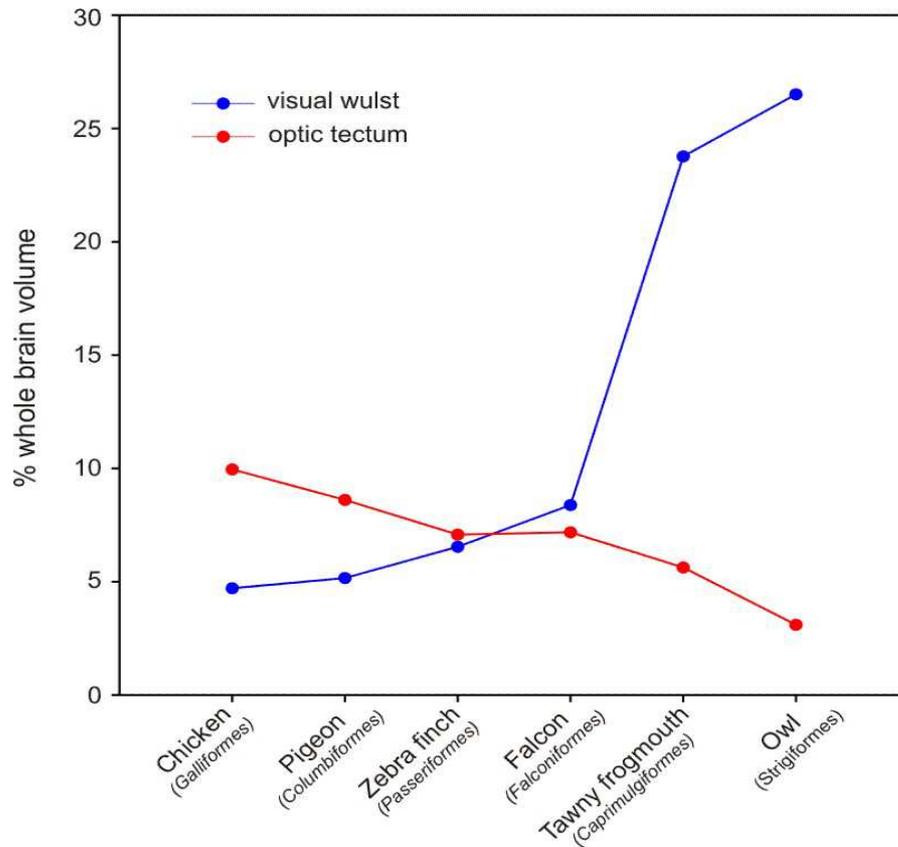


Figura 1.2: Proporção do wulst (azul) e do teto óptico (vermelho) em relação ao volume total do cérebro em aves com diferentes graus de lateralização do olhos (adaptado de IWANIUK e HURD, 2005).

Do ponto de vista funcional, o wulst visual da coruja apresenta propriedades de resposta neuronal muito mais elaboradas de que as encontradas no wulst de outras aves e são muito similares às do córtex estriado. Assim como V1, possui neurônios com pequenos campos receptores organizados retinotopicamente e seletividade para disparidade binocular (WAGNER e FROST, 1993; NIEDER e WAGNER, 2000, 2001a, b). Outras evidências fisiológicas da semelhança entre V1 e wulst são a seletividade à orientação do estímulo e à velocidade do movimento (PETTIGREW e KONISHI 1976; PETTIGREW, 1979; BARON et al., 2007).

A literatura apresenta alguns estudos caracterizando as habilidades visuais de corujas bem como os mecanismos neurofisiológicos que as sustentam. Tais habilidades têm sido demonstradas através de experimentos que abordam alguns aspectos do sistema visual como, por exemplo: sensibilidade ao contraste (HARMENING *et al*, 2009), acuidade (HARMENING *et al*, 2007), percepção e codificação neural de contornos subjetivos (NIEDER e WAGNER, 1999), visão tridimensional e paralaxe (VAN DER WILLIGEN *et al.*, 2002), segmentação figura-

fundo (VAN DER WILLIGEN *et al.*, 2003), discriminação cromática (MARTIN e GORDON, 1974).

Assim, essas considerações endossam a importância da coruja como modelo experimental para entendermos um pouco mais sobre o processo evolutivo subjacente ao desenvolvimento da percepção visual, bem como compreender o funcionamento do sistema visual das aves. Apesar das evidências acima descritas, a importância do wulst na função visual das corujas, ainda não foi investigada diretamente.

Dessa forma o presente trabalho se propôs a avaliar a função do wulst visual em corujas buraqueiras através de uma abordagem neurocomportamental. Testes para avaliação dessa abordagem foram desenvolvidos e padronizados e possíveis efeitos da lesão no wulst foram descritos para dois animais experimentais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Apesar da existência de diversos dados relativos à organização morfológica e fisiológica do wulst visual de corujas, o papel funcional dessa estrutura ainda não foi comprovado. Tendo isso em vista, o presente projeto visa estabelecer uma bateria de testes adaptados para avaliar: as consequências comportamentais de uma lesão abrangente e bilateral do wulst visual na coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) e o papel funcional desta região telencefálica utilizando uma abordagem neurocomportamental.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever repertórios neurocomportamentais das corujas buraqueiras relacionados à área da visão.
- Desenvolver e padronizar testes comportamentais para avaliar a função visual e visuo-motora dessas aves.
- Avaliar por meio desses testes a função de equilíbrio, a preferência pelo claro ou escuro, reflexo pupilar, repertório comportamental e discriminação visual.
- Analisar comparativamente por meio desses testes as possíveis alterações neurocomportamentais antes e após a lesão do wulst visual.

3 MÉTODO

3.1 Sujeito experimental

Os experimentos foram realizados utilizando como sujeito experimental a coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*), uma espécie de coruja comum da fauna brasileira.

Os animais foram obtidos por doação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A manutenção e uso das corujas foram autorizados pelo mesmo instituto por intermédio do Centro de Triagem Animal de Belo Horizonte (CETAS/BH), sob cadastro técnico federal nº 3076223, para criatório de fins científicos. Esses animais são mantidos em um aviário espaçoso com iluminação natural, que se localiza nas dependências do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

Por não apresentarem evidente dimorfismo sexual conforme ressaltam em seus estudos Thomsem (1971) e Martin (1973) não foi possível discriminar o sexo das corujas utilizadas nos experimentos.

Os animais utilizados são mantidos em um aviário localizado nas dependências do ICB-UFMG em frente ao Laboratório de Neurodinâmica. Todos os cuidados necessários para manutenção dos animais foram tomados, dentre eles pode-se destacar: alimentação equilibrada (roedores e suplementos vitamínicos), controle de ectoparasitas e controle de peso.

Os procedimentos adotados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, UFMG (protocolo 91/2010). Antes da realização dos testes, exames de fundo de olho foram feitos por meio de um aparelho oftalmoscópio a fim de verificar a existência de algum dano visual.

3.2 Procedimentos

3.2.1 Testes Neurocomportamentais

Os animais foram submetidos a testes neurocomportamentais, sendo que cada coruja serviu de controle de si própria quando submetidas aos testes pré e pós lesão. Os testes realizados foram: equilíbrio, preferência pelo claro ou escuro,

pupílometria, etograma (repertório comportamental) e discriminação visual. Cada teste será apresentado separadamente, incluindo os resultados antes e após a lesão para duas corujas, nos capítulos seguintes.

3.2.2 Lesão do wulst visual

A cirurgia de lesão foi realizada em duas corujas sob anestesia geral com Zoletil® 50 (uma mistura de 1:1 de tiletamina e zolazepam, Virbac, Carros, França), administrado por via intramuscular em uma dose de 20 mg/kg. Após a perda dos reflexos de retirada da pata, o animal foi envolvido por uma jaqueta de couro, e sua cabeça fixada em um aparelho estereotáxico (Modelo 1430, David Kopf Instruments, Tujunga, Califórnia, EUA).

Após anti-sepsia e retirada das penas, o crânio foi exposto através de uma incisão na pele de aproximadamente 4 cm de comprimento, e a posição da craniotomia foi marcada sobre a superfície óssea de acordo com coordenadas estereotáxicas definidas em nosso laboratório.

Com auxílio de uma trefina em T da ORTOP® (11 mm de diâmetro externo e 10 mm de diâmetro interno) foi feita uma craniotomia circular de 1 cm de diâmetro em ambos os hemisférios. A lesão bilateral do wulst foi feita com uma pipeta de sucção por aspiração. Para determinação do local da lesão, medidas dos eixos médio-lateral e ântero-posterior foram feitas com auxílio do aparelho estereotáxico a partir de um ponto zero de referência em uma angulação entre 25° e 30°. Para a profundidade da lesão utilizou-se uma agulha (25mmx 0.60 mm) presa a um suporte do aparelho estereotáxico. O suporte com a agulha na ponta foi colocado sobre o a superfície exposta do wulst e aprofundado até o desaparecimento do bisel da agulha, cuja medida era de 2,5mm correspondendo à profundidade da lesão.

O orifício da craniotomia foi fechado com o fragmento ósseo retirado do próprio animal, e local da lesão preenchido com esponja de gelatina absorvível (Spongostan® da Johnson e Johnson).

Após o fechamento e a limpeza da ferida cirúrgica, o animal foi retirado do dispositivo estereotáxico e antes do retorno anestésico, foram administrados intramuscularmente um antibiótico de largo espectro (50 mg/kg de Terramicina®, Pfizer, São Paulo, Brasil) e um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de Ketofen® 1%, Merial, São Paulo, Brasil) .

Durante quatro dias após a cirurgia, foram administrados 0,15ml de Ketofen® intramuscularmente e 0,20 ml de corticóide (Prelone®) via oral a fim de prevenir possíveis inflamações decorrentes da lesão. Durante o período de recuperação de uma semana, antes de submeter os animais novamente aos testes, as corujas foram monitoradas diariamente para verificação dos possíveis efeitos da lesão no bem-estar dos animais e também durante todo o período experimental.

3.2.3 Implante do pino

Para realização do teste de pupilometria foi necessária a implantação de um pino no crânio de cada coruja para fixação da cabeça do animal. O pino constitui-se de uma peça metálica com base de 10 mm e 20 mm de altura e massa de 2 g (~ 0.14% do peso do animal). Os procedimentos de anestesia e fixação do animal no aparelho estereotáxico foram iguais ao que foi descrito no item acima (3.2.2 - Lesão do wulst visual).

O crânio foi exposto através de uma incisão na pele com 25 a 30 mm de comprimento, e a posição do implante do pino foi marcado sobre a superfície óssea na distância de 1 cm de cada órbita ocular . O pino foi centralizado nesse ponto de referência e fixado ao crânio com resina odontológica (Vitro Fil®, DFL, Rio de Janeiro, Brasil). Previamente à fixação, pequenos orifícios foram feitos no crânio para permitir uma melhor aderência da resina. Procedeu-se, então, a sutura da pele e limpeza da região. As cirurgias tiveram duração média de 2 horas e foram realizadas sob condições assépticas. Após o tempo cirúrgico, foram administrados, intramuscularmente, um antibiótico de largo espectro (50 mg/kg de Terramicina®, Pfizer, São Paulo, Brasil) e um analgésico/anti-inflamatório (2 mg/kg de Ketofen® 1%, Merial, São Paulo, Brasil).

4 TESTE DE EQUILÍBRIO

4.1 Apresentação

A visão e a propriocepção são as principais fontes de informação sensorial que influenciam o controle do movimento coordenado. A informação visual propicia ao indivíduo à focalização de um ponto de referência quanto ao posicionamento do corpo em relação ao ambiente (MAGILL, 2000).

A visão exerce uma função importante na manutenção do equilíbrio corporal, todavia, quando esta função é alterada, seja pelo deslocamento do olhar ou pela diminuição da acuidade visual ocorre o aumento da oscilação corporal, existindo um prejuízo na manutenção do equilíbrio (BARELA, 2000; BANKOFF e BEKEDORF, 2007).

O equilíbrio se relaciona diretamente com a visão, pois mesmo após a destruição completa do sistema vestibular, um indivíduo pode utilizar de maneira efetiva o seu sistema visual para o controle do equilíbrio (GUYTON, 1987).

As imagens visuais auxiliam o indivíduo na manutenção do equilíbrio pela utilização da referência externa, sendo que a visão em habilidades motoras relacionadas ao equilíbrio é responsável pelo aumento da noção de tempo/espaço, e está diretamente relacionada à condição dos indivíduos se moverem e se orientarem no ambiente (GUYTON, 1987).

Segundo Guerraz e Bronstein (2008) quando o sistema vestibular ou somato-sensorial é prejudicado dando origem a uma significativa instabilidade postural a visão torna-se particularmente importante na manutenção do equilíbrio.

O equilíbrio é um processo complexo que envolve a recepção e a integração de estímulos sensoriais provenientes de 3 sistemas (somato-sensorial, vestibular e visual) aliados ao planejamento e à execução do movimento. O sistema nervoso central deve organizar as informações dos receptores sensoriais de todo o corpo antes que possa determinar a posição do corpo no espaço. Para tanto, é necessário que as informações periféricas dos sistemas somato-sensorial, vestibular e visual estejam disponíveis para detectar o movimento e a posição do corpo no espaço em relação à gravidade e ao ambiente (MAGILL, 2000).

As aves possuem um cerebelo bem desenvolvido e excelente visão. Estas características são integradas a fim de que haja um bom funcionamento do equilíbrio

que é uma função de grande importância para esses animais durante o voo (SICK, 1997).

Nesse capítulo é descrito um teste de equilíbrio que teve como objetivo descrever o padrão de equilíbrio das corujas buraqueiras e verificar se houve possíveis alterações desta função em uma coruja após a lesão do wulst visual.

4.2 Procedimento

Para testar o equilíbrio dos animais, foi desenvolvido um aparato (figura 4.1) que consiste em um poleiro de madeira, com 41 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro, acoplado a um suporte e sustentado por uma haste vertical cilíndrica (35cm x 1 cm) fixada a uma base triangular fabricada em ferro fundido pesado.

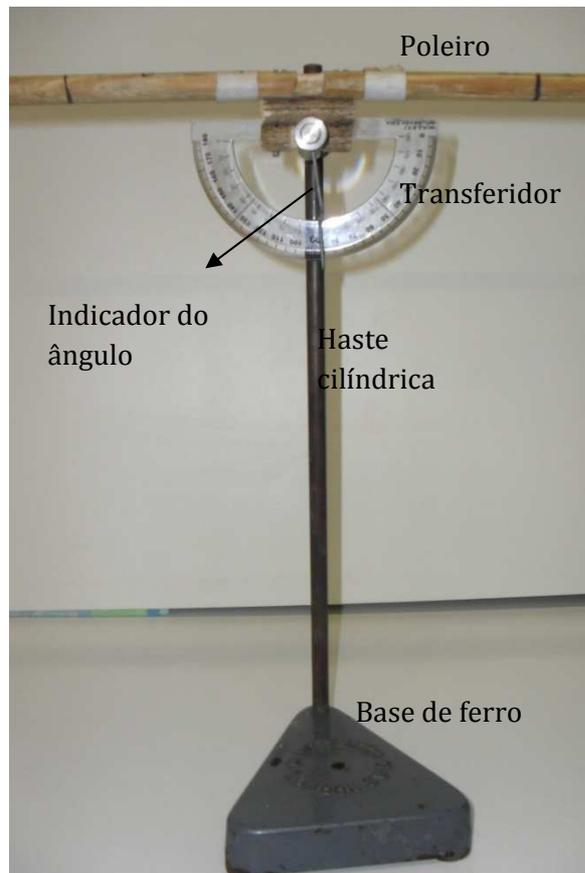


Figura 4.1: Aparato do teste de equilíbrio

O poleiro possuía um sistema de fixação que permitia rotações do mesmo de forma que as inclinações à direita e à esquerda realizadas durante os experimentos eram medidas por meio de indicador fixado ao ponto médio do poleiro, que deslizava sobre um transferidor angular cuja escala era de 180° e acurácia de 1°.

Para prender a coruja no aparato, foi colocada em cada animal uma peia de couro por onde foi passado um cordão cuja ponta não ultrapassa o orifício da peia (figura 4.2). Este cordão era amarrado na haste de ferro para evitar a fuga do animal durante o teste.



Figura 4.2: Coruja no aparato do teste de equilíbrio.

A coruja era posicionada no meio, no lado direito e esquerdo sempre na mesma posição previamente estabelecida. Em cada posição, o poleiro era movido, primeiramente para esquerda e posteriormente para direita de 10 em 10 graus, aproximadamente na mesma velocidade, ficando 5 segundos em cada angulação. A tabela abaixo (tabela 4.1) foi utilizada para anotação do ângulo de desequilíbrio em cada posição.

Tabela 4.1: Tabela para anotação do ângulo de desequilíbrio de cada sessão do teste.

Posição	Pendendo para esquerda	Pendendo para direita
Meio		
Lado Esquerdo		
Lado Direito		

Durante os testes as corujas abriam as asas para manter o equilíbrio à medida que a angulação do poleiro aumentava. O ângulo de desequilíbrio era anotado quando o animal começava a bater as asas para evitar a queda.

Primeiramente o teste foi padronizado a partir de experimentos feitos com 13 corujas, a fim de se obter dados que descrevessem a tendência do ângulo de desequilíbrio da espécie. Adicionalmente foram realizadas 5 sessões com 3 corujas para verificar a estabilidade e replicabilidade do teste. Uma das três corujas citadas foi lesionada e 5 sessões pós-lesão foram feitas para comparar com os dados das 5 sessões pré-lesão.

Os dados foram analisados estatisticamente por meio do teste não paramétrico de Wilcoxon ao nível de significância de 5%.

4.3 Resultados

4.3.1 Parametrização do teste

O ângulo necessário para induzir um desequilíbrio das 13 corujas testadas variou de 50° a 70° pendendo para o lado esquerdo (tabela 4.2) e pendendo para o lado direito (tabela 4.3), sendo a moda o ângulo de 60°.

Tabela 4.2: Resultados dos graus de desequilíbrio para as 13 corujas utilizadas na parametrização do teste, pendendo para o lado esquerdo.

Coruja	Meio	Lado	
		esquerdo	Lado direito
1	50°	50°	70°
2	50°	50°	60°
3	60°	50°	70°
4	70°	60°	60°
5	50°	50°	50°
6	50°	50°	60°
7	60°	60°	70°
8	60°	60°	60°
9	70°	60°	60°
10	60°	60°	60°
11	60°	50°	70°
12	70°	50°	60°
13	60°	60°	70°

Tabela 4.3: Resultados dos graus de desequilíbrio para as 13 corujas utilizadas na parametrização do teste, pendendo para o lado direito.

Coruja	Lado		
	Meio	esquerdo	Lado direito
1	50°	60°	50°
2	70°	60°	60°
3	60°	70°	70°
4	70°	70°	50°
5	60°	50°	60°
6	70°	70°	60°
7	80°	60°	60°
8	80°	60°	70°
9	60°	70°	60°
10	60°	50°	60°
11	60°	70°	70°
12	70°	50°	60°
13	70°	70°	60°

Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação dos ângulos de desequilíbrio entre as diferentes posições nas quais a corujas foram posicionadas ($p > 0,05$). Portanto, os resultados das 5 sessões realizadas com as 3 corujas foram agrupados na categoria pendendo para o lado esquerdo e pendendo para o lado direito resultando em 15 repetições para cada coruja. Os dados reunidos resultaram em 45 repetições pendendo para o lado esquerdo e 45 repetições pendendo para o lado direito. A tabela abaixo (tabela 4.4) mostra a frequência de cada ângulo de desequilíbrio para os dados reunidos das 3 corujas.

Tabela 4.4: Resultados da frequência relativa dos graus de desequilíbrio para os dados reunidos das 3 corujas. O número de vezes de desequilíbrio em cada grau foi dividido por 45 resultando o valor da frequência relativa em porcentagem (%). O * indica os valores de maior frequência.

Graus	Pendendo para o lado	Pendendo para o lado
	esquerdo	direito
40°	4%	2%
50°	40%*	24%
60°	31%	20%
70°	25%	43%*
80°	0%	11%

A coruja 1 (Zezinho) desequilibrou mais no ângulo de 70°, a coruja 2 (Diego) no ângulo de 50° e a coruja 3 (Clotilde) no ângulo de 60°. Os dados reunidos mostram que a frequência pendendo para o lado esquerdo e pendendo para o lado direito foi maior em 50° e 70°, respectivamente.

4.3.2 Comparação pré e pós lesão

A coruja 3 (Clotilde) foi submetida a lesão do wulst visual e a comparação dos dados pré e pós lesão mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa, sendo que esta se desequilibrou mais no ângulo de 60°, compatível com o resultado da parametrização do teste.

Tabela 4.5: Frequência relativa dos graus de desequilíbrio da coruja 3 antes da lesão. O número de vezes de desequilíbrio em cada grau foi dividido por 15 resultando o valor da frequência relativa em porcentagem (%).

Graus	Pendendo para o lado	
	esquerdo	direito
50°	27%	7%
60°	53%	60%
70°	20%	33%

Tabela 4.6 : Frequência relativa dos graus de desequilíbrio da coruja 3 depois da lesão. O número de vezes de desequilíbrio em cada grau foi dividido por 15 resultando o valor da frequência relativa em porcentagem (%).

Graus	Pendendo para o lado	
	esquerdo	direito
50°	34%	20%
60°	66%	54%
70°	0%	26%

4.4 Discussão

O equilíbrio corporal é definido como o estado em que todas as forças agindo sobre o corpo estão equilibradas, devido à integração funcional dos sistemas: vestibular (auditivo), visual e proprioceptivo (somato-sensorial), sob a coordenação do cerebelo (KANDEL *et al.*, 2000).

O teste de equilíbrio se enquadra em uma avaliação de grande importância para a verificação do equilíbrio após alteração da função de algum dos sistemas supracitados.

Vários testes foram desenvolvidos para análise do equilíbrio em animais de laboratório como ratos e camundongos (FUJIMOTO *et al.*, 2004). Como principais exemplos podem ser citados o teste *rota rod* (HAMM *et al.*, 1994) barra estreita suspensa - *beam balance* (DIXON *et al.*, 1987) e *rotating pole* (MATTIASSON *et al.*, 2000).

No caso de corujas, não se encontra na literatura testes que avaliem o equilíbrio destes animais. O teste de equilíbrio proposto, visando a análise da função visuomotora, mostrou-se eficiente para avaliar o equilíbrio de corujas, podendo servir como teste neurocomportamental em diversas situações. O teste desenvolvido foi bem adaptado às corujas buraqueiras uma vez que foi de fácil manuseio, exigiu pouco tempo para execução (em média 5 minutos para cada animal) e supostamente gerou pouco estresse para os animais. É importante ponderar que um fator facilitante foi a habituação da maioria das corujas testadas aos experimentadores.

Levando em consideração os resultados obtidos com a coruja lesionada, observa-se que esta não demonstrou maior perda do equilíbrio após a lesão do wulst visual, indicando que a mesma manteve supostamente a capacidade visuoespacial.

A lesão não foi suficiente para gerar uma perda visual ao ponto de alterar o equilíbrio do indivíduo, mas experimentos adicionais são necessários, a fim de se concluir se a lesão em uma região do cérebro diretamente envolvida com a visão é capaz de gerar déficits visuais que possam comprometer o equilíbrio corporal. É necessário avaliar a extensão da lesão bem como replicar o teste em um número maior de corujas, para se obter dados mais conclusivos na relação existente entre equilíbrio e visão.

5 TESTE CLARO/ ESCURO

5.1 Apresentação

O teste claro/escuro é amplamente usado com roedores e é baseado na aversão inata destes animais a ambientes iluminados e no comportamento exploratório espontâneo em resposta a leves fatores estressantes, como uma novidade no ambiente e à luz (CRAWLEY e GOODWIN, 1980).

Embora o teste claro/escuro tenha sido baseado inicialmente no modelo descrito por Crawley e Goodwin (1980), muitos autores tem usado este teste com várias modificações estruturais (SHIMADA *et al.*,1995; HASCOËT e BOURIN, 1998; MALMBERG-AIELLO *et al.*,2002).

Esse teste visa avaliar o comportamento de roedores colocados individualmente em uma caixa experimental contendo dois compartimentos que variam a luminosidade clara e escura, de tal forma que as transições feitas entre os compartimentos são quantificadas. O animal tem uma aversão natural pelo ambiente iluminado; deste modo, sua ansiedade é tanto resultante desta aversão quanto pelo conflito gerado pela tendência por explorar os dois compartimentos (CRUZ *et al.*, 1997).

A situação de conflito natural ocorre quando um animal é exposto a um ambiente desconhecido ou a novos objetos. O conflito é gerado pela tendência em explorar e a tendência inicial para evitar o desconhecido (neofobia). A atividade exploratória reflete o resultado combinado destas tendências em novas situações (BOURIN e HASCOET, 2003).

O paradigma claro/escuro tradicionalmente usado em pesquisas comportamentais com roedores, recentemente tem sido aplicado ao peixe paulistinha (*Danio rerio*), com base na preferência inata desse animal ao escuro (escotofilia) e está recebendo uma crescente popularidade em laboratórios no estudo das bases neurocomportamentais (STEWART *et al.*, 2010).

O labirinto em cruz elevado é outro teste amplamente utilizado para modelos animais de ansiedade e é considerado um instrumento útil e válido para medir ansiedade, investigando aspectos comportamentais, fisiológicos e farmacológicos (ANSELONI e BRANDÃO, 1997; CRUZ *et al.*, 1994; PELLOW *et al.*, 1985; MORATO, 2006).

Uma das situações que altera o comportamento exploratório no labirinto é a luminosidade da sala experimental. Jones e King (2001) relataram que níveis mais altos de luminosidade não alteraram o comportamento de ratos no campo aberto, na tábua de buracos (hole board) e no labirinto instável, mas, quando o teste era realizado no escuro, observou-se um aumento na atividade locomotora (total de entradas nos braços aberto e fechado e na distância total percorrida) e uma diminuição na esquivas dos braços abertos.

Alguns experimentos demonstram que, em ambientes escotópicos, os ratos exploram igualmente os braços abertos e fechados em um labirinto em cruz elevado. Isso mostra que, quando ratos são impedidos de enxergar, não havendo entrada de luz nem formação de imagens na retina, não há evidências que demonstrem medo e ansiedade (CARDENAS *et al.*, 2001; GARCIA *et al.*, 2005; JONES e KING, 2001; NASELLO *et al.*, 1998).

O teste claro/escuro foi desenvolvido para descrever o padrão neurocomportamental visual de corujas buraqueiras em uma caixa com ambientes claro e escuro, e avaliar se a lesão do wulst visual interferiu no comportamento de uma coruja lesionada.

5.2 Procedimento

Para realização deste teste foi construída uma caixa de madeira (figura 5.1) com as seguintes dimensões: 100 cm de comprimento x 50 cm de largura x 35 cm de altura. Metade da caixa foi coberta por madeira e pintada de preto na parte interior e a outra metade coberta por acrílico transparente com pequenos orifícios para permitir a entrada de ar e pintada de branco também internamente.

A luminosidade foi medida com auxílio de um fotômetro digital (Modelo 615, BK Precision, CA, EUA). No interior da caixa era a luminosidade era em média 61 lux no lado claro e 14.7 lux no lado escuro.

Cada coruja era colocada dentro da caixa a 20 cm da porta e era habituada ao local de experimento durante 5 minutos. Depois da habituação o animal era solto no lado claro e registrado durante 20 minutos, posteriormente era solto no lado escuro e registrado durante mais 20 minutos. Para não haver interferência do experimentador, este teste foi registrado com uma câmera modelo GZ-MS230 JVC com 30 Hz de frequência de captura para posterior observação e quantificação dos dados. A câmera

era apoiada sobre um tripé e posicionada no meio do aparato experimental possibilitando a visualização da coruja no lado claro e na zona intermediária (ZI) região entre a parte clara e escura da caixa. A não visualização do animal indicava que o mesmo estava no lado escuro (figura 5.2).



Figura 5.1: Caixa claro/escuro.

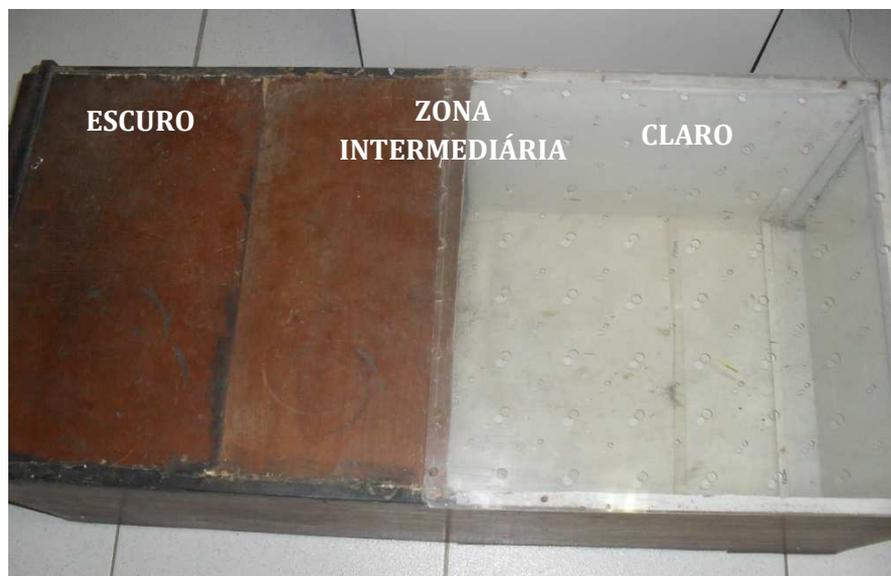


Figura 5.2: Visão da câmera em relação à caixa e divisões dos compartimentos internos.

Primeiramente o teste foi padronizado a partir de experimentos feitos com 13 corujas, a fim de se obter dados que descrevessem a preferência pelo lado claro ou escuro. Adicionalmente foram realizadas 5 sessões com 3 corujas para verificar a

estabilidade e replicabilidade do teste. Uma das três corujas foi lesionada e 5 sessões pós-lesão foram feitas para comparar com os dados das 5 sessões pré-lesão.

Para cada animal, foi quantificado o tempo de permanência em porcentagem no lado claro, no lado escuro e na zona intermediária iniciando no claro e no escuro. Os dados foram analisados estatisticamente por meio do teste não paramétrico de Wilcoxon ao nível de significância de 5%.

5.3 Resultados

5.3.1 Parametrização do teste

De acordo com os dados reunidos das 13 corujas para a parametrização desse teste, verificou-se que a tendência geral das corujas buraqueiras é a preferência pelo ambiente escuro. Das 13 corujas testadas, apenas 2 ficaram mais tempo no lado claro.

Tabela 5.1: Tempo de permanência em porcentagem, em cada compartimento da caixa, das 13 corujas utilizadas na parametrização do teste. Resultados das sessões iniciando no claro.

Coruja	Claro	Escuro	ZI
1	83%	8%	9%
2	17%	63%	20%
3	21%	67%	12%
4	13%	87%	0%
5	17%	72%	11%
6	92%	8%	0%
7	0%	93%	7%
8	0%	100%	0%
9	0%	100%	0%
10	0%	100%	0%
11	0%	100%	0%
12	0%	100%	0%
13	0%	100%	0%

Tabela 5.2: Tempo de permanência em porcentagem, em cada compartimento da caixa, das 13 corujas utilizadas na parametrização do teste. Resultados das sessões iniciando no escuro.

Coruja	Claro	Escuro	ZI
1	0%	100%	0%
2	19%	81%	0%
3	0%	100%	0%
4	0%	100%	0%
5	0%	100%	0%
6	0%	100%	0%
7	1%	99%	0%
8	2%	98%	0%
9	0	100%	0%
10	0	100%	0%
11	0%	100%	0%
12	0	100%	0
13	4%	96%	0%

Tabela 5.3: Mediana do tempo de permanência das 13 corujas em porcentagem em cada compartimento da caixa nas sessões iniciando no claro e no escuro.

Local de permanência	Iniciando no claro	Iniciando no escuro
Claro	0%	0%
Escuro	93%	100%
ZI	0%	0%

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as condições iniciar no claro e iniciar no escuro. Os dados mostram (tabela 5.3) que as corujas, em ambas as condições, ficam mais tempo no lado escuro.

Os dados das 5 sessões das 3 corujas foram agrupados (tabela 5.4). Da mesma forma que na parametrização, o teste não paramétrico de Wilcoxon mostrou que não há diferença estatisticamente significativa para estas duas condições iniciar no claro e iniciar no escuro ($p > 0,05$).

Houve diferença significativa na comparação escuro/claro, escuro/ZI ($p < 0,05$), mas não houve diferença entre claro/ZI ($p = 0,0625$).

Tabela 5.4: Mediana do tempo de permanência (%) das 5 sessões em cada condição dos dados reunidos das 3 corujas.

Local de permanência	Iniciando no claro	Iniciando no escuro
Claro	0%	0%
Escuro	93%	100%
ZI	0%	0%

5.3.2 Comparação pré e pós lesão

Para a coruja 3 (Clotilde), que foi lesionada, também não houve diferença entre iniciar as sessões no claro ou no escuro. Portanto os dados dessas duas condições foram reunidos em duas categorias: antes da lesão e depois da lesão. A tabela 5.5 mostra a mediana do tempo de permanência em porcentagem para os dados reunidos das 5 sessões pré e pós lesão. Não houve diferença comportamental na preferência pelo escuro após lesão e a coruja manteve as diferenças na comparação entre escuro/claro, escuro/ZI ($p < 0,05$), e sem diferença entre claro/ZI ($p = 1$).

Tabela 5.5: Mediana do tempo de permanência em porcentagem da Coruja 3 antes e após a lesão.

Local de permanência	Antes da lesão	Depois da lesão
Claro	0%	0%
Escuro	97%	100%
ZI	0%	0%

5.4 Discussão

Os dados obtidos mostram que as corujas buraqueiras preferem ficar no lado escuro da caixa, de forma similar aos resultados encontrados em testes claro/escuro realizados com ratos e camundongos, sendo que o objetivo desta abordagem em roedores é avaliar a ansiedade como comportamento.

Este comportamento de preferência pelo escuro pode ser explicado pelo hábito natural das corujas buraqueiras se abrigarem em buracos feitos no chão para fins reprodutivos e de proteção (BURTON, 1984).

Entretanto, uma questão que pode influenciar os dados obtidos é a história comportamental (COSTA *et al.*,2009). Como os animais são apreendidos pelo IBAMA e doados ao laboratório de neurodinâmica por intermédio do CETAS-BH, não se tem o controle do histórico de cada animal. Sugere-se então o uso de animais nascidos em cativeiro para um maior controle da história comportamental de cada indivíduo.

As análises mostram que o teste claro/escuro pode ser aplicado também em avaliações do comportamento visual que foi a principal abordagem do presente trabalho. Pacientes com visão residual podem perceber a diferença entre claro/escuro e luminosidade (CELESIA *et al.*,1991).

A coruja lesionada manteve um padrão comportamental semelhante após a lesão do wulst visual, podendo indicar que a percepção luminosa foi preservada. Todavia, um animal com visão residual poderia também ter seu comportamento alterado, exibindo mais comportamentos de esquiva, o que conseqüentemente faria com que este conservasse a preferência pelo ambiente escuro. Portanto, há a necessidade da aplicação do teste em outras corujas lesionadas para se obter dados mais conclusivos.

Uma questão a ser considerada, é avaliar a alternância de exposição no ambiente claro e escuro. De acordo com a metodologia adotada, os experimentos sempre se iniciavam no lado claro e os dados não mostraram diferença entre começar a sessão no claro e depois expor o animal ao ambiente escuro. Sugere-se então que as condições iniciar no claro e iniciar no escuro sejam randomizadas para uma melhor avaliação da interferência destes dois fatores no comportamento dos animais.

6 PUPILOMETRIA

6.1 Apresentação

A pupila é a parte do olho que está situada entre a córnea e o cristalino, no centro da íris, responsável pela passagem de luz do meio externo. É como um orifício de diâmetro regulável que ajuda a controlar a quantidade de luz incidente na retina (TOVÉE, 2008, p.21). O esfíncter da pupila, que é controlado pelos músculos da íris, faz a miose e a midríase. A miose ou constrição da pupila é realizada através da contração das fibras circulares do músculo, sob ação do sistema nervoso parassimpático envolvendo o núcleo Edinger Westphal do mesencéfalo. A midríase ou dilatação da pupila é feita pelo músculo ciliar através de suas fibras dispostas radialmente em torno da pupila e é provocada pelo sistema nervoso simpático (BARBUR, 2004).

A musculatura da íris em mamíferos é lisa, enquanto que nas aves é estriada, presumivelmente capaz de gerar respostas pupilares mais rápidas associadas a exigências visuais do voo (OLIPHANT *et al.*, 1983).

A pupila é sensível não apenas a mudanças na luminosidade, mas também a outros estímulos visuais, incluindo mudanças no padrão espacial, cor e movimento do alvo visual (SAHRAIE e BARBUR, 1997 *apud* CONWAY *et al.*, 2008; YOUNG e ALPERN 1980 *apud* Li e SAN, 2005).

As propriedades destes estímulos estão associadas com a atividade eletrofisiológica de neurônios corticais extra-estriados e, portanto pode haver uma modulação dos centros mesencefálicos pelo córtex. Além disso, há uma clara contribuição do córtex na resposta pupilar, pois a perda do córtex visual primário (V1) em humanos e macacos diminui a resposta do reflexo pupilar a luz (WEISKRANTZ *et al.*, 1998). No entanto, mesmo nesses casos, a resposta pupilar a estruturas espaciais e a cor permanece reduzida segundo WEISKRANTZ *et al.* (1999). Estas observações sugerem que o mesencéfalo é influenciado pelo processamento de estímulos específicos cujos atributos envolvem áreas visuais extra-estriadas (BARBUR *et al.*, 1999).

Muitos estudos clínicos, oftalmológicos e farmacológicos têm tentado estabelecer a utilidade da pupila em diagnóstico de lesões de vias visuais e do funcionamento normal da retina (LOEWENFELD, 1999 *apud* BARBUR, 2004).

A resposta pupilar para padrões de gratings (grades senoidais) tem sido relatada como uma medida objetiva de processamento espacial em indivíduos normais e em sujeitos com cegueira cortical. Segundo Trevethan *et al.* (2002), todos os sujeitos com clara resposta pupilar em campos cegos também mostraram cegueira cortical quando testados psicofisicamente, sugerindo que a pupilometria pode ser uma técnica útil para detecção de canais de processamento espaciais residuais e triagem para cegueira cortical.

Weiskrantz *et al.* (1998), examinou a freqüência espacial em hemicampos afetados no paciente G.Y com hemianopsia direita (indivíduo que sofreu uma grande lesão na região occipital medial esquerda e uma lesão menor na região parietal direita causadas por um acidente de trânsito aos 8 anos de idade) e também em dois macacos com o córtex estriado (V1) retirado unilateralmente.

Evidências do envolvimento cortical na geração de respostas pupilares estímulo-específicas vêm de resultados em que as respostas são reduzidas ou até mesmo ausentes quando os estímulos baseados em grades senoidais com variações de cor e movimento são apresentados no hemicampo cego de pacientes com lesões na região occipital do cérebro (BARBUR, 1995 *apud* CONWAY *et al.*, 2008). Por exemplo, o hemiánope, GY, não demonstrou resposta pupilar a gratings verde-vermelhos isoluminantes que foram apresentados no hemicampo cego, mas demonstrou uma considerável resposta pupilar quando o estímulo foi apresentado no hemicampo com visão (WEISKRANTZ *et al.*, 1998). Além disto, GY demonstrou sensibilidade reduzida, no hemicampo cego, a gratings acromáticos com freqüências espaciais mais altas, do que aqueles apresentados em campos visuais intactos (WEISKRANTZ *et al.*, 1998). GY também mostrou pequena, mas significativa resposta de movimento pupilar dentro do hemicampo cego (SAHRAIE e BARBUR, 1997 *apud* CONWAY *et al.*, 2008). Outra evidência do envolvimento cortical nas respostas pupilares vem de estudos de pacientes com lesões na área pré tectal dorsal (Síndrome de Paurinaud). Estes pacientes não mostram reflexos pupilares à luz, enquanto respostas a gratings e cores são tipicamente menores e tem latências mais longas do que àquelas apresentadas em sujeitos controle, sem lesão (WILHELM *et al.*, 2002).

A latência da resposta pupilar ao estímulo visual, isto é, o tempo entre o início do estímulo e o início da resposta pupilar, pode fornecer informações diretas sobre o nível do sistema visual no qual atributos particulares de estímulos são processados.

Por exemplo, pequenas respostas de latências podem indicar processamento subcortical, enquanto latências mais longas podem refletir processamento em níveis corticais mais altos (BARBUR *et al.*, 1998).

O teste de pupilometria foi usado no presente trabalho, para avaliar as respostas do reflexo pupilar em duas corujas buraqueiras antes e após a lesão do wulst visual, a fim de se estabelecer uma comparação entre as duas condições para verificação das mudanças da resposta pupilar após a lesão. O trabalho de pupilometria vem sendo desenvolvido por Pedro Gabrielle Vieira (doutorando do programa de pós-graduação em Fisiologia e Biofísica da UFMG) no laboratório de Neurodinâmica. Os principais achados deste trabalho, até o presente momento são: a saturação da resposta da pupila se dá em estímulos acima de 50cd/m²; a resposta de latência não varia em função da luminosidade e é duas vezes mais curta do que a latência mínima encontrada em macacos; o reflexo pupilar à luz é em média, seis vezes mais rápido em corujas buraqueiras do que em primatas; se essas diferenças podem ser explicadas pelo fato da musculatura da íris das corujas ser estriada, ao contrário de mamíferos cuja musculatura é lisa, permanece uma questão em aberto (SOUZA *et al.*, 2011).

6.2 Procedimento

6.2.1 Pupilometria

A pupilometria consiste na medição do tamanho da pupila por meio de um pupilômetro, e as variações em relação a diversos fatores (SOUZA *et al.*, 2012).

Os registros das respostas pupilares foram feitos em duas corujas buraqueiras (*Athene cunicularia*) antes e após lesão bilateral do wulst visual. Para isso, foi utilizado um pupilômetro descrito em detalhes em Souza *et al.* (2012). O pupilômetro é constituído por uma câmera, uma lente multifocal, um diodo emissor de luz (led) infravermelha e um software desenvolvido em Labview® (figura 6.1). As imagens foram capturadas em resolução temporal de 120 Hz. O disparo da captura foi realizado via software e sincronizado com um dispositivo de estimulação por meio de um *trigger* externo. Todos os dados, baseados no diâmetro da pupila, foram analisados usando software de aquisição pupilométrica, Matlab® (MathWorks, Natick, MA, USA) e o programa de processamento de imagem de domínio público

imageJ 1.44 (NIH, <http://rsd.info.nih.gov/ij/>). Os dados obtidos foram filtrados para descartar as repetições de cada sessão onde houve oclusão da pupila da coruja. Após o descarte, os dados foram convertidos de pixel para milímetro através da filmagem de uma régua para se obter a relação de quantos milímetros tem um pixel (SOUZA *et al.*,2011).

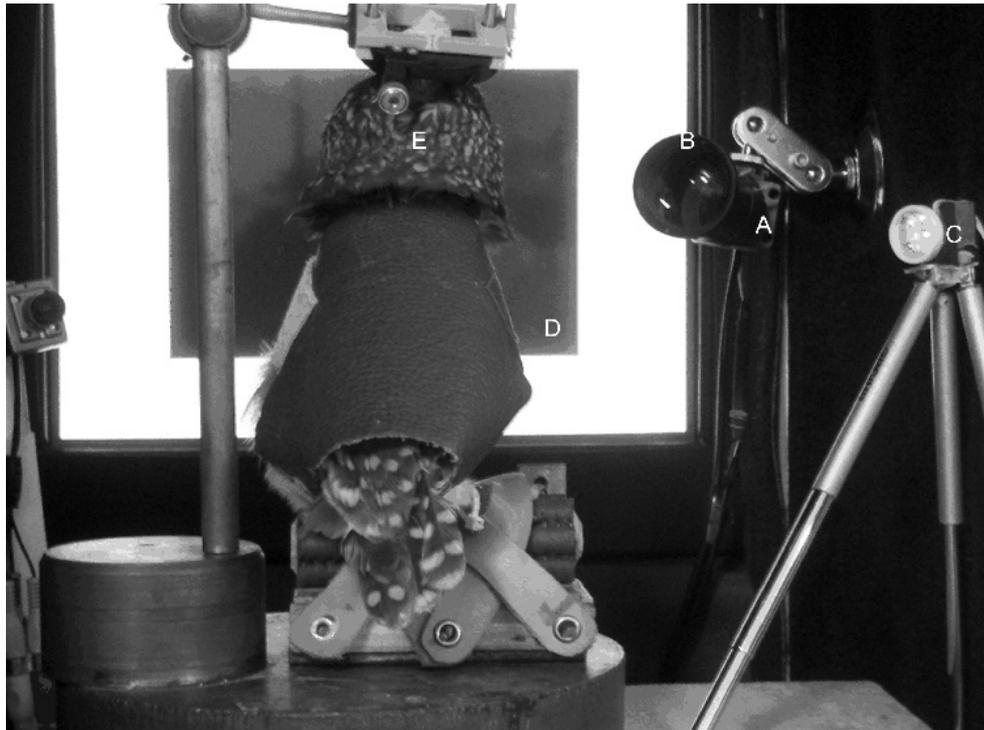


Figura 6.1: Coruja no setup experimental para registro da pupilometria. A- câmera; B- lente; C- luz infravermelha; D- estímulo; E- coruja buraqueira com a cabeça fixada para registro.

Os estímulos visuais foram apresentados por meio de um monitor CRT de 19 polegadas posicionado a 35 cm do olho do animal. As sessões foram realizadas no escuro e se iniciavam após 20 minutos de adaptação da coruja na condição de baixa luminosidade (0.60 cd/m^2). Tais estímulos consistiram de flashes de tamanho grande ($39.4^\circ \times 26.6^\circ$ de ângulo visual) e uniforme de luz acromática, cuja luminância variou randomicamente de 2.0 a 160 cd/m^2 . Flashes de 100ms foram apresentados binocularmente em quatro condições de luminosidade: (3.26; 15.45; 65.45; 160) cd/m^2 .

Medidas fotométricas foram feitas a partir de um colorímetro ColorCal (Cambridge Research Systems, Reino Unido) para verificar a estabilidade da calibração do monitor. Os estímulos foram preparados off-line em seqüências de imagens bitmap utilizando uma série de rotinas escritas pelo Prof. Dr. Jerome Baron

em LabView e apresentados como filmes utilizando o software ActiveStim (www.activestim.com), visando garantir a precisão do tempo baseado em quadros. O computador utilizado para a estimulação visual era controlado por outro terminal Windows, de onde um protocolo experimental específico podia ser rapidamente configurado, salvo e acionado pelo experimentador.

Os parâmetros medidos (figura 6.2) foram: latência que é o tempo entre o início do estímulo e o início da resposta pupilar; o tamanho da pupila que é o valor absoluto do diâmetro da pupila na constrição máxima; o tempo de constrição (midríase), medido a partir do início do estímulo até a constrição máxima; o tempo de dilatação (miose), medido da constrição máxima até a curva atingir o estado estável; a velocidade de constrição e velocidade de dilatação que é o vale e pico da derivada da curva respectivamente.

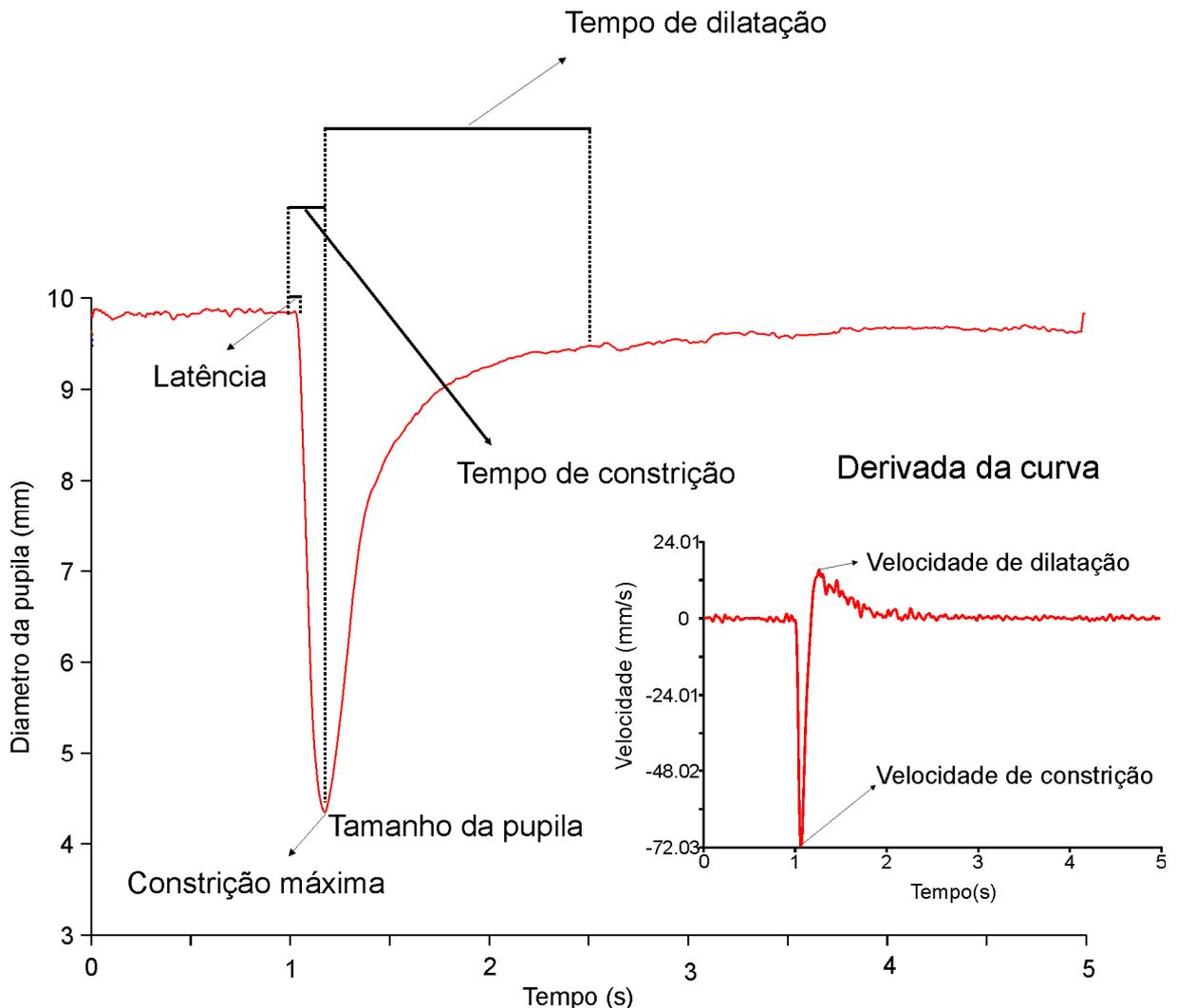


Figura 6.2: Parâmetros extraídos da curva da pupila (Adaptado de Souza *et al.*, em preparação).

Os valores obtidos antes e após lesão foram comparados por meio do Teste t de Student caso fossem paramétricos e de Wilcoxon caso fossem não paramétricos a um nível de significância de 5%.

No caso da coruja 1 (Catarina), houve a necessidade de aplicar o anestésico Zoletil® 50 na dose de 0,06ml e do uso de retrator de pálpebra, uma vez que este animal piscava muito durante as sessões e ficava inquieta dentro do local de registro, mesmo tendo a cabeça fixada com auxílio de um pino implantado sobre o crânio.

6.3 Resultados

Abaixo seguem curvas do reflexo pupilar para a coruja 2 antes (figura 6.3) e depois (figura 6.4) da lesão em função de diferentes níveis de luminância.

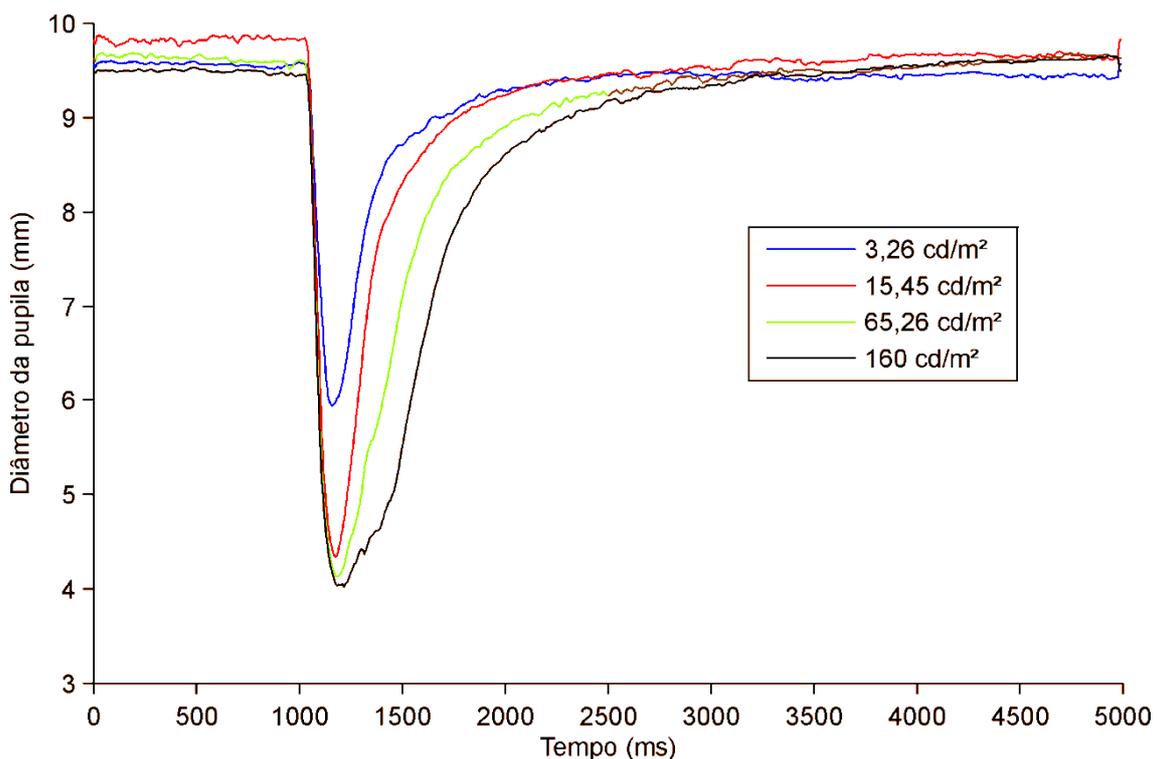


Figura 6.3: Exemplos do reflexo pupilar a flashes de diferentes níveis de luminância antes da lesão.

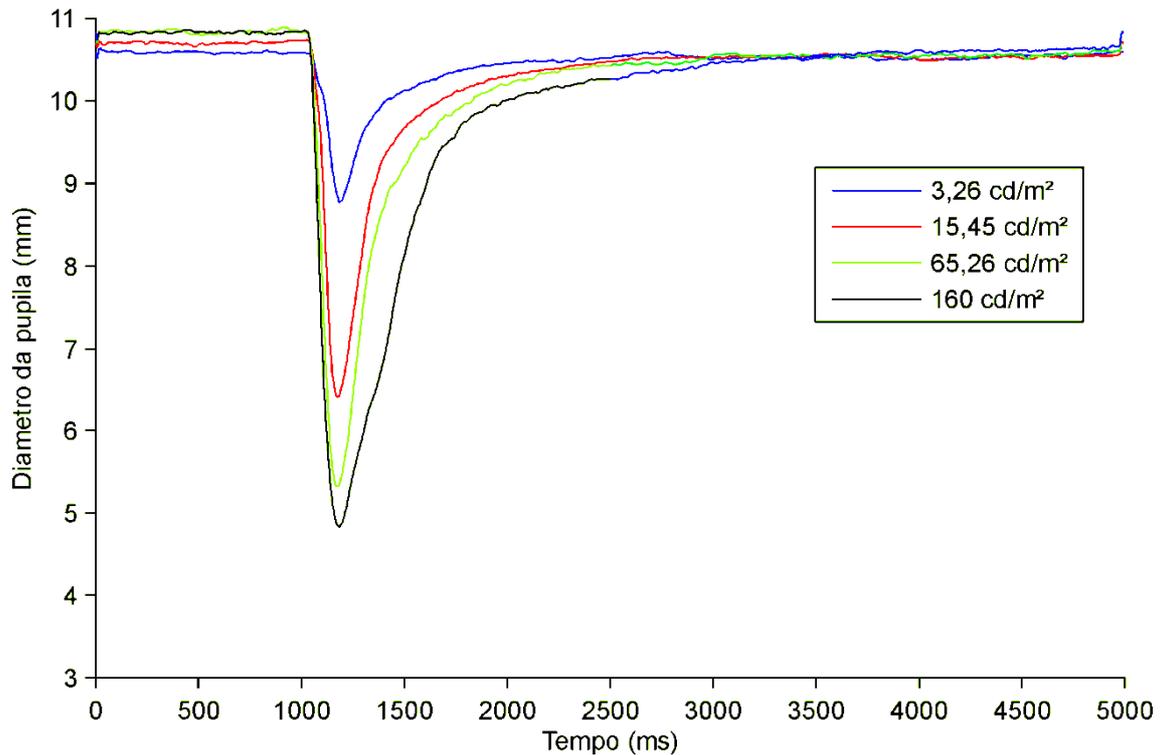


Figura 6.4: Exemplos do reflexo pupilar a flashes de diferentes níveis de luminância depois da lesão.

Os gráficos abaixo ilustram os resultados obtidos para cada parâmetro medido antes e depois da lesão e os * apontam as condições onde houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Nos valores de distribuição normal foram comparados as médias e os de distribuição não normal as medianas.

6.3.1 Comparação dos resultados antes e após a lesão

As figuras 6.5 e 6.6 mostram os valores de latência obtidos para as corujas 1 (Catarina) e 2 (Clotilde), respectivamente, antes e após a lesão do wulst. Como pode ser observado, para a coruja 1, as latências são significativamente maiores após a lesão nas 3 últimas condições testadas. Para a coruja 2, apenas as duas primeiras condições foram significativamente maiores após a lesão. Esses resultados sugerem que o wulst exerce influência no tempo de latência da pupila.

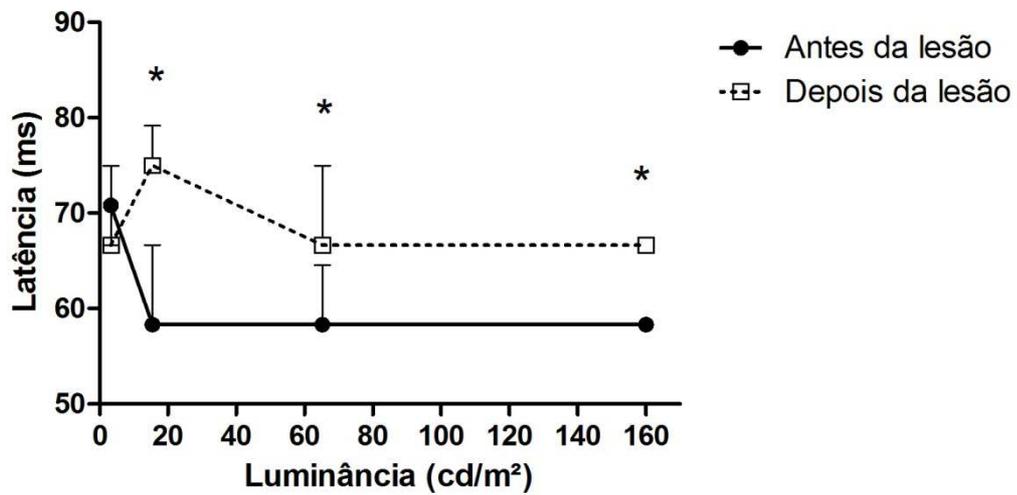


Figura 6.5: Comparação das medianas da latência antes e depois da lesão da coruja 1.

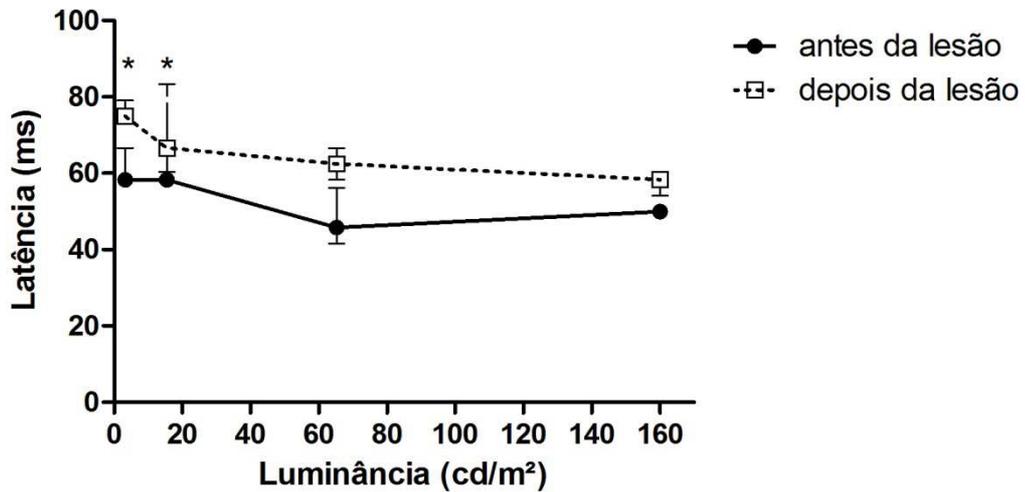


Figura 6.6: Comparação das medianas da latência antes e depois da lesão da coruja 2.

As figuras 6.7 e 6.8 mostram os valores obtidos do tamanho da pupila que são os valores de contração máxima obtidos em cada nível de luminância para as corujas 1 e 2, respectivamente, antes e após a lesão do wulst. Após a lesão a pupila ficou maior para as duas corujas como pode ser observado nos gráficos abaixo.

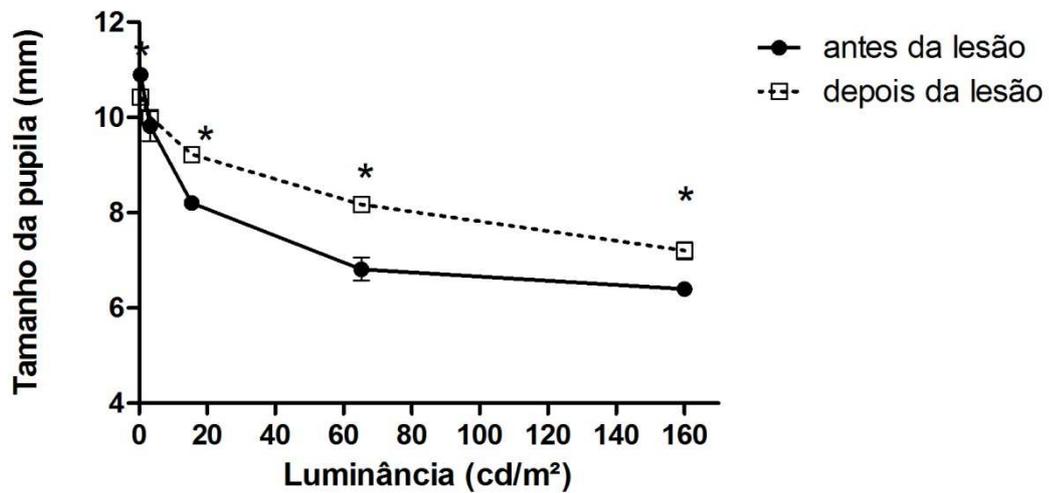


Figura 6.7: Comparação das médias do tamanho da pupila antes e depois da lesão da coruja 1.

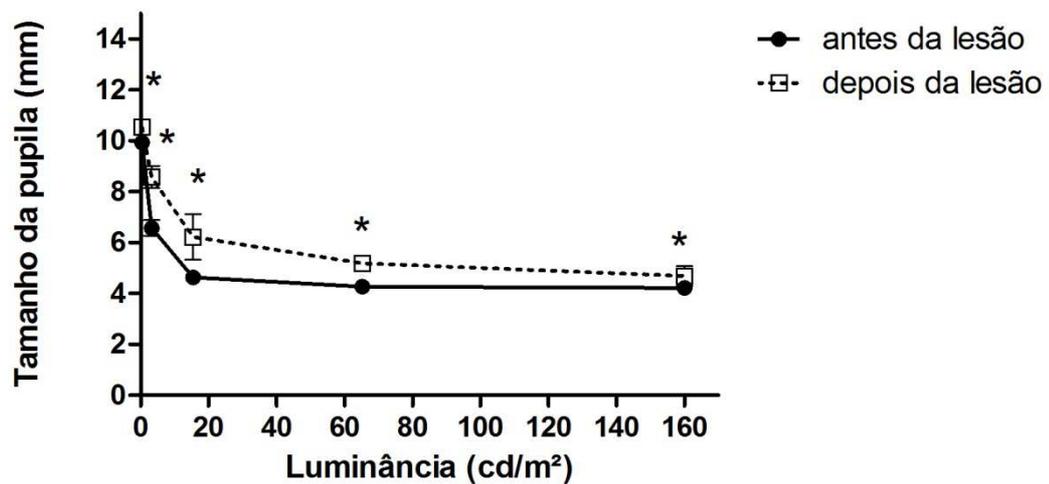


Figura 6.8: Comparação das médias do tamanho da pupila antes e depois da lesão da coruja 2.

As figuras 6.9 e 6.10 mostram os valores do tempo de constrição para as corujas 1 e 2, respectivamente, antes e após a lesão do wulst. Como pode ser observado, houve pouca diferença após a lesão neste parâmetro para as duas corujas lesionadas.

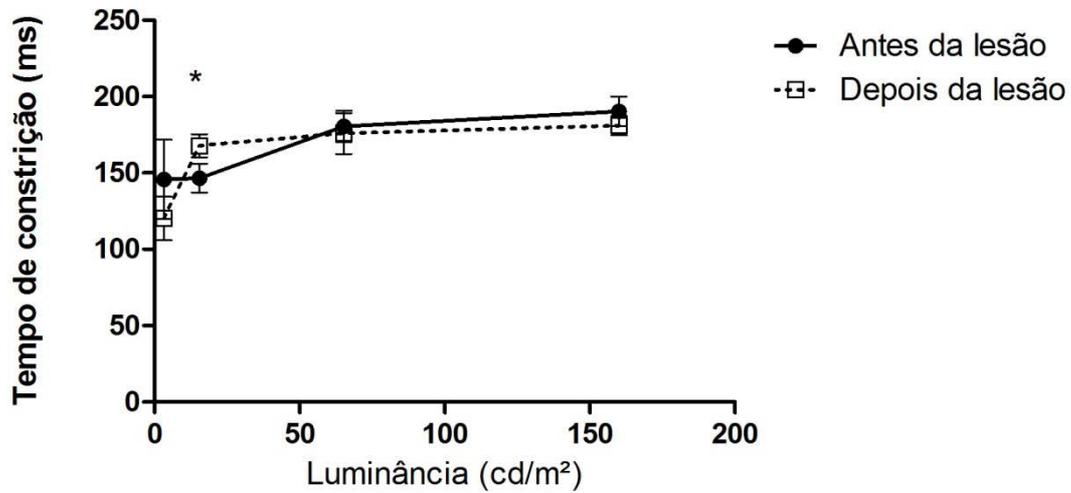


Figura 6.9: Comparação das médias do tempo de constrição antes e depois da lesão da coruja 1.

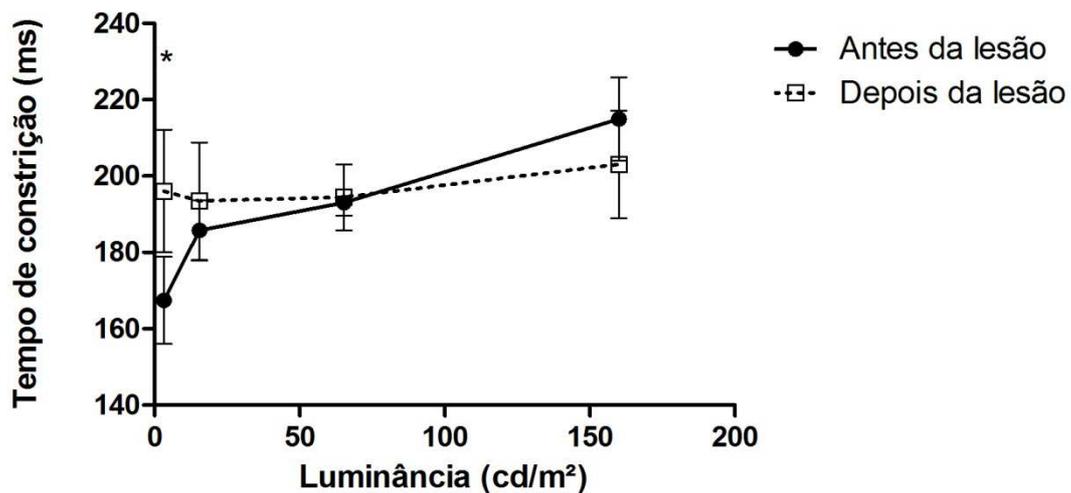


Figura 6.10: Comparação das médias do tempo de constrição antes e depois da lesão da coruja 2.

As figuras 6.11 e 6.12 mostram os valores do tempo de dilatação para as corujas 1 e 2, respectivamente, antes e após a lesão do wulst. Como pode ser observado, houve pouca diferença, após a lesão, neste parâmetro para as duas corujas lesionadas.

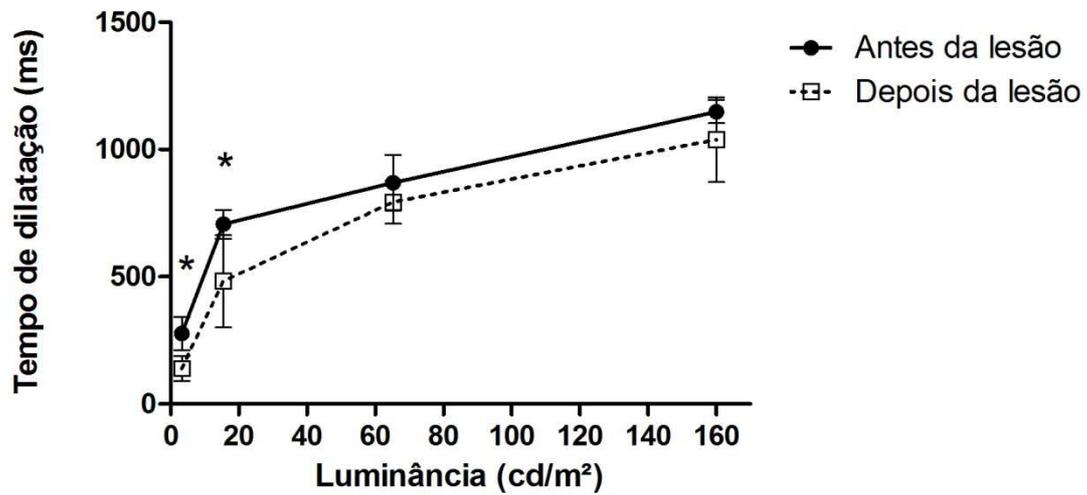


Figura 6.11: Comparação das médias do tempo de dilatação antes e depois da lesão da coruja 1.

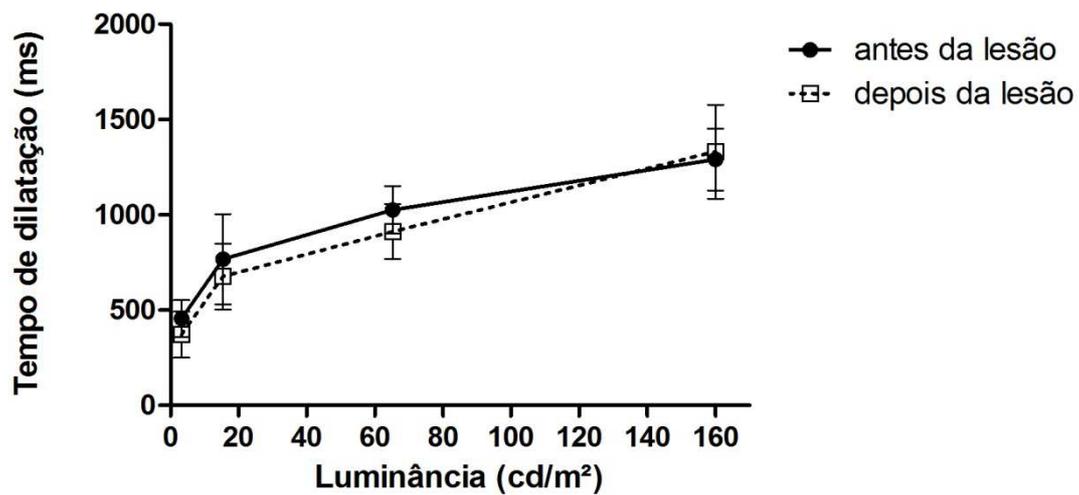


Figura 6.12: Comparação das médias do tempo de dilatação antes e depois da lesão da coruja 2.

As figuras 6.13 e 6.14 mostram os valores da velocidade de constrição para as corujas 1 e 2, respectivamente, antes e após a lesão do wulst. Como pode ser observado, após a lesão, a velocidade ficou mais baixa para ambas corujas.

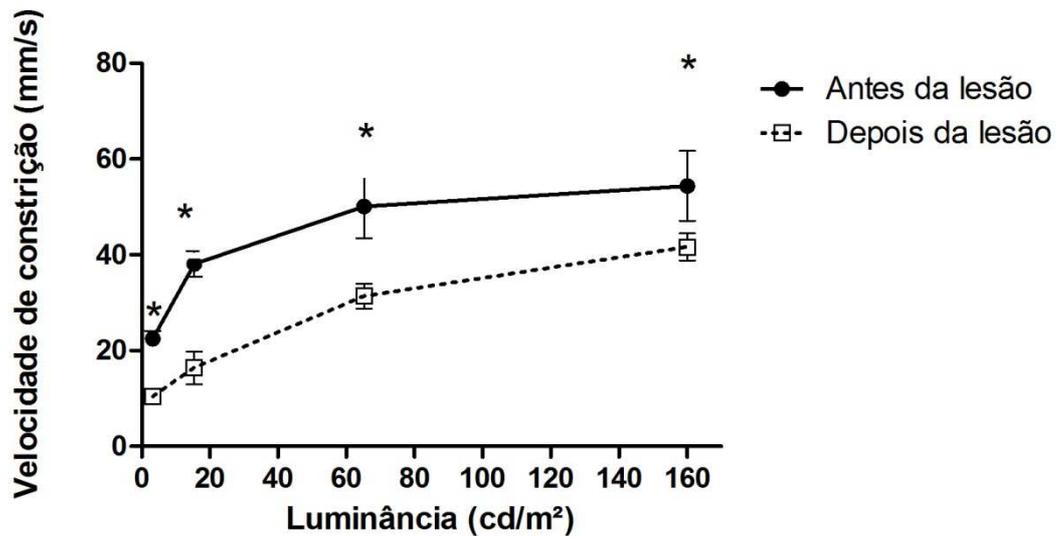


Figura 6.13: Comparação das médias da velocidade de constrição antes e depois da lesão da coruja 1.

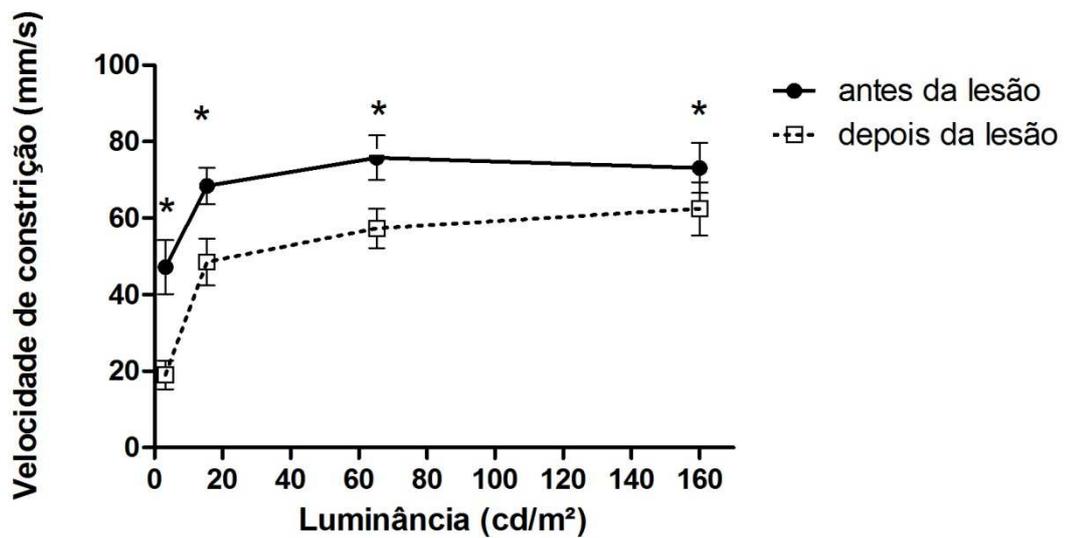


Figura 6.14: Comparação das médias da velocidade de constrição antes e depois da lesão da coruja 2.

As figuras 6.15 e 6.16 mostram os valores da velocidade de dilatação para as corujas 1 e 2, respectivamente, antes e após a lesão do wulst. Como pode ser observado, após a lesão, a velocidade ficou consideravelmente mais baixa para a coruja 1 nas 3 primeiras condições e nas 2 primeiras condições para a coruja 2.

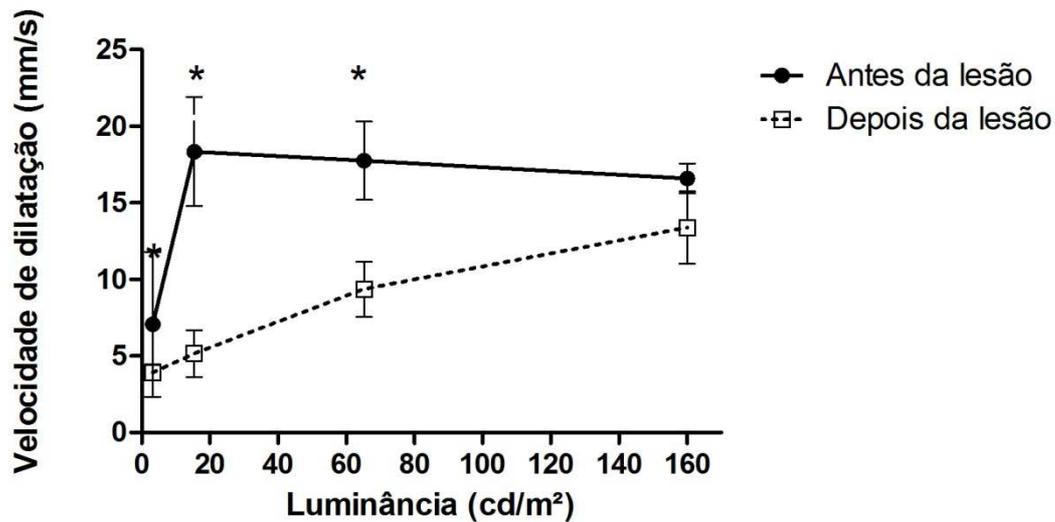


Figura 6.15: Comparação das médias da velocidade de dilatação antes e depois da lesão da coruja 1.

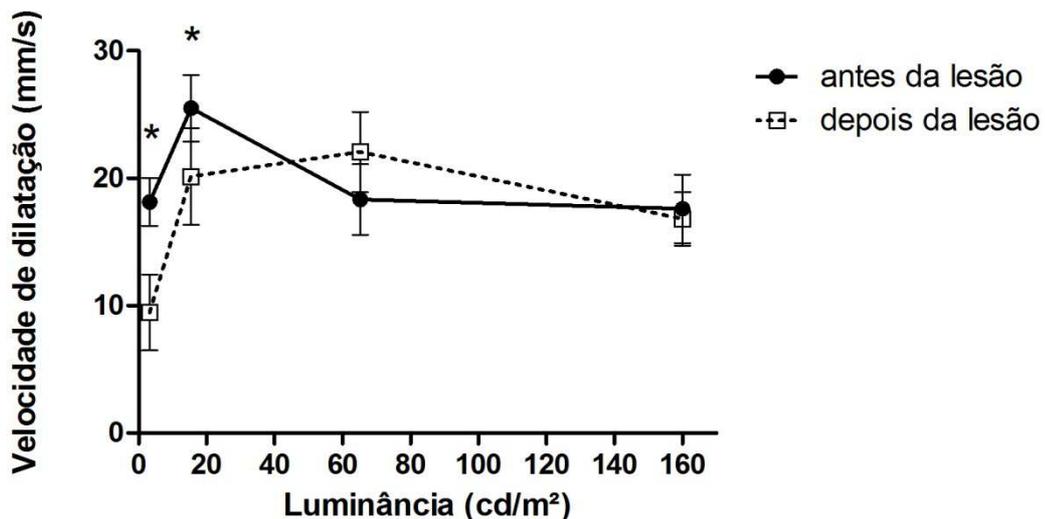


Figura 6.16: Comparação das médias da velocidade de dilatação antes e depois da lesão da coruja 2.

6.4 Discussão

Apesar dos avanços na investigação da visão residual em cegueira cortical por meio de métodos psicofísicos, é eminente a necessidade de métodos de análise indireta e objetiva. Entre os diversos métodos indiretos desenvolvidos para testes de visão residual, a pupilometria oferece uma oportunidade especial porque a constrição pupilar é sensível a parâmetros espaciais e temporais de estímulos visuais de forma quantitativamente precisa (WEISKRANTZ *et al.*, 1998). Portanto,

assim como em seres humanos e primatas é possível aplicar o teste de pupilometria em corujas buraqueiras como ferramenta para analisar possíveis efeitos de lesões em regiões do cérebro relacionadas a visão no reflexo pupilar.

Segundo Barbur (2004), as respostas da pupila em hemicampos visuais cegos são, em geral, reduzidas significativamente em comparação com os campos visuais normais. Esses achados sugerem que o reflexo pupilar requer um funcionamento normal das projeções do núcleo geniculado lateral e do córtex visual primário. Sendo o wulst visual análogo ao córtex visual primário, (KARTEN *et al.*, 1973) uma lesão nesta região, comprometendo seu funcionamento normal, pode gerar respostas pupilares também reduzidas. Portanto, os achados neste experimento pós-lesão, como o aumento da latência que implica em uma resposta pupilar mais lenta e a diminuição da velocidade de constrição e dilatação, corroboram com o que foi sugerido por Barbur (2004).

Após a lesão, a constrição ficou menor nas 2 corujas, ou seja, quando aplicamos os flashes de luz, a pupila não contraía até o ponto máximo, portanto, a contração da pupila ficava menor e conseqüentemente o tamanho da pupila maior.

Estes parâmetros foram extraídos a partir do tamanho da pupila em função do tempo e da variação da luminosidade (figura 6.3 e 6.4). Já que houve um aumento do diâmetro da pupila após a lesão, respostas pupilares mais lentas foram geradas, e assim, os dados da pupilometria encontrados em corujas buraqueiras se enquadraram nos resultados esperados após a lesão do wulst visual.

Comparando os resultados obtidos para a coruja 1 e 2, observa-se uma semelhança das respostas do reflexo pupilar nas duas corujas. Entretanto, para se confirmar essa informação, serão necessárias repetições do teste em outras corujas lesionadas.

7 ETOGRAMA

7.1 Apresentação

Atualmente muitas pesquisas têm sido realizadas sobre o comportamento dos animais mantidos em cativeiro (DAAN e ASCHOFF, 1974; SGARBIERO, 2009; REILLO *et al.*, 2011). A ciência que estuda o comportamento animal é denominada etologia e se aplica tanto aos comportamentos naturais, observados na natureza sem interferência humana, quanto aos observados em cativeiro, podendo também incluir experimentações comportamentais em laboratório (SNOWDON, 1999).

Todos consistem em estudos muito apurados, geralmente realizados através de observação referente ao repertório diário de movimentação e reações dos animais. O estudo do Comportamento Animal é uma ponte entre os aspectos moleculares e fisiológicos da biologia e da ecologia. O comportamento é a ligação entre organismos e o ambiente, e entre o sistema nervoso e o ecossistema, tendo um papel fundamental nas adaptações das funções biológicas, representando a parte de um organismo através do qual ele interage com o ambiente. A neuroetologia, a integração do comportamento animal e das neurociências, fornece bases teóricas importantes para a proposição de mecanismos neurais (SNOWDON, 1999).

As observações comportamentais são geralmente feitas por meio de etogramas, que são representações tabulares da qualificação e quantificação dos comportamentos exibidos por uma espécie. Eles compõem uma lista de atos comportamentais, acompanhada da descrição desses atos (DEL KLARO, 2004).

A *Athene cunicularia* (figura 7.1), popularmente conhecida como coruja buraqueira é uma das corujas mais comuns e conhecidas no Brasil (ARRUDA *et al.*, 2007). Segundo Sick (1997), é uma coruja adaptada a hábitos terrícolas; habita em campos, pastagens e gramados de áreas urbanas e fazem buracos no solo ou ocupam tocas abandonadas por outros animais. Possuem plumagem marrom, com pintas mais claras distribuídas por todo o corpo, ventre bege e um detalhe branco acima de seus grandes olhos amarelos e abaixo do bico. Pesa em média 170 gramas e mede cerca de 30 centímetros (ARRUDA *et al.*, 2007; SICK, 1997). Ocorre do Canadá à Terra do Fogo e em quase todo o Brasil (SICK, 1997). São animais integrados aos ecossistemas naturais e mesmo a ambientes já alterados. Mostram

grande habilidade na captura de presas como insetos e pequenos roedores, ocasionalmente anfíbios e outras aves dos quais dependem para sobreviver (MOTTA-JUNIOR e ALHO, 2000).



Figura 7.1: Coruja buraqueira (*Athene cunicularia*).

Essas aves não têm papo e a formação de pelotas é uma necessidade vital para sua sobrevivência. As partes não digeríveis dos animais consumidos não são defecadas e sim regurgitadas. Possuem hábitos diurnos e crepusculares, mas podem também apresentar atividade durante a noite, se diferenciando da maioria das corujas de sua família (Strigidae), onde geralmente os membros possuem pico de atividade somente à noite (SICK, 1997).

O repertório comportamental de três corujas buraqueiras foi descrito. Além disso, uma comparação antes e depois da lesão do wulst visual foi feita em uma das três corujas, a fim de avaliar se houve mudanças comportamentais significativas.

7.2 Procedimento

O etograma (tabela 7.1) da coruja buraqueira foi construído por meio de observações *ad libitum* (ALTMANN, 1974; MARTIN e BATESON, 1996). As corujas buraqueiras, de todos os viveiros, foram observadas durante no período da manhã e/ou tarde totalizando 6 horas de observação, e todos os comportamentos exibidos foram anotados e descritos. A partir dessas observações, foram listados os atos comportamentais mais importantes, para o estudo em questão, e esses classificados em distintas categorias comportamentais.

Tabela 7.1: Etograma da coruja buraqueira (*Athene cunicularia*) com as siglas e a descrição de cada comportamento analisado.

COMPORTAMENTO	SIGLA	DESCRIÇÃO
Repouso		
Ficar parado	Pa	O animal fica imóvel sobre 1 ou 2 pernas durante 5 segundos ou mais.
Bocejar	Bo	Abre o bico e ergue levemente a língua sem emitir nenhum som.
Alerta	Ale	Em repouso no poleiro ou no chão, no entanto com o ventre erguido em relação a estes, olha fixamente para algo, geralmente alguma movimentação ao redor.
Locomoção		
Andar	And	O animal se locomove batendo as asas ou usando as pernas para andar ou pular.
Voar	Vo	
Pular	Pu	
Pacing	Pc	O animal anda de um lado para o outro
Social		
"Grooming"	Gr	Faz limpeza com o bico em qualquer parte do corpo da outra coruja, como cabeça, pata e asa.
Agonístico de ameaça	AgA	Ameaça com o bico ou com as garras, podendo ocorrer vocalização.
Agonístico de bicada	AgB	Uma bicando a outra, podendo ocorrer vocalização
Manutenção		
Espreguiçar	Esp	Estica uma ou as duas asas para o lado, para cima ou para trás. Pode ocorrer também, conjuntamente ou não, com as pernas, de modo que estica uma delas para trás.
Coçar	Co	Leva a pata ou o bico ao local desejado e raspa várias vezes em velocidade variável.

Eriçar	Er	Eriça as penas para passagem de ar.
Limpar o bico	LB	Esfrega o bico no poleiro fazendo movimento para cima e para baixo com a cabeça.
Sacudir	Sc	O animal sacode o corpo
Regurgitar	Re	Regurgita restos alimentares não digeridos (pelotas).
Alimentação		
Forragear	Fo	O animal procura alimento no chão.
Alimentar	Al	Alimenta-se diretamente com o bico ou com o auxílio de uma das patas.
Vocalização		
Vocalizar	Vc	Emite sons de diferentes tipos.
Movimentação		
Mover a cabeça	MvC	Movimenta a cabeça em várias direções.
Mexer o corpo	Mcopr	Movimenta o corpo para cima e/ou para baixo e para os lados.
Erguer	Erg	O animal ergue o corpo.
Ajeitar no chão	Ajc	O animal movimenta no chão sem deslocar.
Ajeitar no poleiro	Ajp	O animal muda de posição no poleiro.

Para observação comportamental, gravações foram feitas por uma câmera modelo GZ-MS230 JVC com 30 Hz de frequência de captura. A câmera ficava posicionada de 2,5 a 3 metros de distância da grade do viveiro, em cima de um tripé, tendo foco e zoom alterados manualmente. Foram realizadas 10 gravações de 30 minutos cada, com 3 corujas e 10 gravações de 30 minutos cada com uma coruja após a lesão. A análise dos vídeos foi feita por meio do método focal contínuo (ALTMANN, 1974; MARTIN e BATESON, 1996), e as filmagens foram realizadas durante o período da manhã ou tarde uma vez que as corujas buraqueiras são diurnas (MARTIN, 1973) dentro de um dos viveiros que apresenta as seguintes dimensões (110cmx246cmx200cm).

O repertório comportamental da coruja 3 (Clotilde) foi comparado antes e após a lesão por meio do teste não paramétrico de Wilcoxon a um nível de significância de 5%.

7.3 Resultados

Com base no etograma descrito acima, houve um total de 24 comportamentos divididos em 7 categorias comportamentais. A ocorrência de cada comportamento

foi contabilizada por sessão e os dados foram somados resultando em um número total de ocorrências comportamentais em 5 horas de observação para cada animal.

7.3.1 Descrição do repertório comportamental da Coruja 1

A coruja 1 (Diego) exibiu 20 comportamentos com um número total de ocorrências de 5187. O comportamento de maior incidência foi movimentar a cabeça (2810 vezes), representando 54% de todo repertório comportamental.

Tabela 7.2: Repertório comportamental da coruja 1.

Atividades	Frequência absoluta de cada comportamento	Frequência relativa de cada comportamento (%)
Repouso		
Ficar parado	810	15,61
Alerta	225	4,33
Locomoção		
Andar	28	0,54
Voar	32	0,61
Pular	21	0,4
Social		
Grooming	12	0,23
Agonístico de ameaça	128	2,46
Agonístico de bicada	25	0,48
Manutenção		
Espreguiçar	1	0,02
Coçar	43	0,83
Eriçar	12	0,23
Sacudir	12	0,23
Regurgitar	2	0,03
Alimentação		
FORAGEAR	5	0,09
Alimentar	2	0,03
Vocalização		
Vocalizar	629	12,12
Movimentação		
Movimentar a cabeça	2810	54,17
Mexer o corpo	131	2,52

Erguer	119	2,29
Ajeitar no chão	52	1
Ajeitar no puleiro	88	1,69

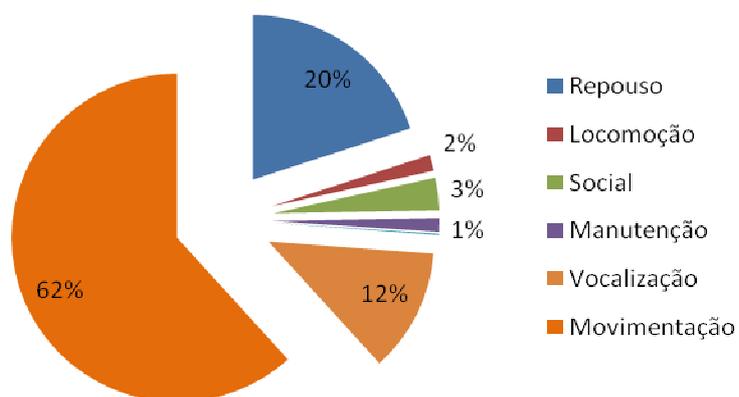


Figura 7.2: Representação da frequência relativa das categorias comportamentais da coruja 1 em porcentagem (%).

7.3.2 Descrição do repertório comportamental da Coruja 2

A coruja 2 (Zezinho) exibiu 19 comportamentos com um número total de ocorrências de 7024. O comportamento de maior frequência foi o movimentar a cabeça (5409 vezes) representando 70% de todo repertório comportamental.

Tabela 7.3: Repertório comportamental da coruja 2.

Atividades	Frequência absoluta de cada comportamento	Frequência relativa de cada comportamento (%)
Repouso		
Ficar parado	953	13,57
Bocejar	1	0, 01
Locomoção		
Andar	4	0,06
Voar	50	0,7
Pular	14	0,2
Social		
Grooming	1	0,01

Agonístico de ameaça	1	0,01
Manutenção		
Espreguiçar	5	0,07
Coçar	11	0,15
Eriçar	23	0,33
Sacudir	19	0,27
Regurgitar	4	0,06
Alimentação		
Alimentar	2	0,03
Vocalização		
Vocalizar	6	0,08
Movimentação		
Movimentar a cabeça	5409	77
Mexer o corpo	107	1,52
Erguer	117	1,66
Ajeitar no chão	4	0,06
Ajeitar no puleiro	293	4,17

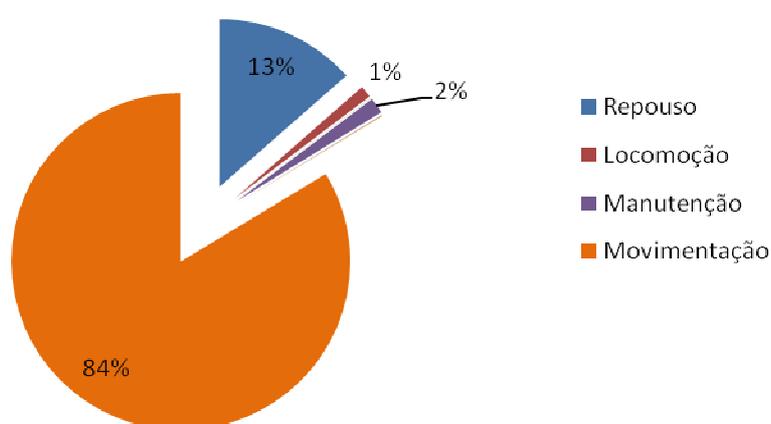


Figura 7.3: Representação da frequência relativa das categorias comportamentais da coruja 2 em porcentagem (%).

7.3.3 Descrição do repertório comportamental da Coruja 3 (antes e após lesão)

A coruja 3 (Clotilde) exibiu antes e depois da lesão 13 comportamentos. O número total de ocorrências comportamentais foi de 3551 antes da lesão e 4492 depois da lesão. O comportamento de maior frequência foi o movimentar a cabeça nas duas condições. Não houve diferença estatisticamente significativa do repertório comportamental antes e após a lesão ($p=0,2883$). Os comportamentos que

mostraram uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) foram: ficar parado, com maior frequência antes da lesão e vocalizar que foi exibido somente antes da lesão.

Tabela 7.4: Repertório comportamental da coruja 3 (antes da lesão). O * aponta os comportamentos com diferença estatística antes e após a lesão.

Atividades	Frequência absoluta de cada comportamento	Frequência relativa de cada comportamento (%)
Repouso		
Ficar parado*	726	20,44
Alerta	51	1,44
Locomoção		
Voar	103	2,9
Pular	3	0,08
Social		
Agonístico de ameaça	4	0,11
Agonístico de bicada	1	0,03
Manutenção		
Eriçar	3	0,08
Sacudir	3	0,08
Vocalização		
Vocalizar*	25	0,7
Movimentação		
Movimentar a cabeça	2233	62,88
Mexer o corpo	263	7,4
Erguer	32	0,9
Ajeitar no puleiro	104	2,93

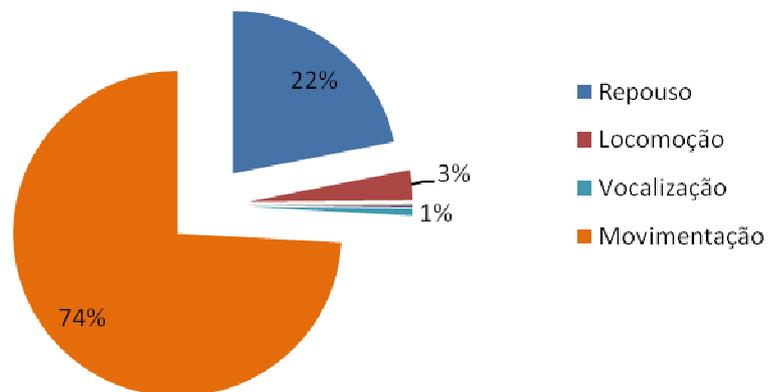


Figura 7.4: Representação da frequência relativa das categorias comportamentais da coruja 3 em porcentagem (%) antes da lesão.

Tabela 7.5: Repertório comportamental da coruja 3 (depois da lesão). O * aponta o comportamentos com diferença estatística antes e após a lesão.

Atividades	Frequência absoluta de cada comportamento	Frequência relativa de cada comportamento (%)
Repouso		
Ficar parado*	468	10,42
Alerta	41	0,91
Locomoção		
Voar	195	4,34
Pular	15	0,33
Social		
Agonístico de ameaça	3	0,06
Agonístico de bicada	3	0,06
Manutenção		
Coçar	3	0,06
Eriçar	4	0,08
Sacudir	14	0,31
Movimentação		
Movimentar a cabeça	3182	70,83
Mexer o corpo	367	8,17
Erguer	21	0,46
Ajeitar no puleiro	176	3,92

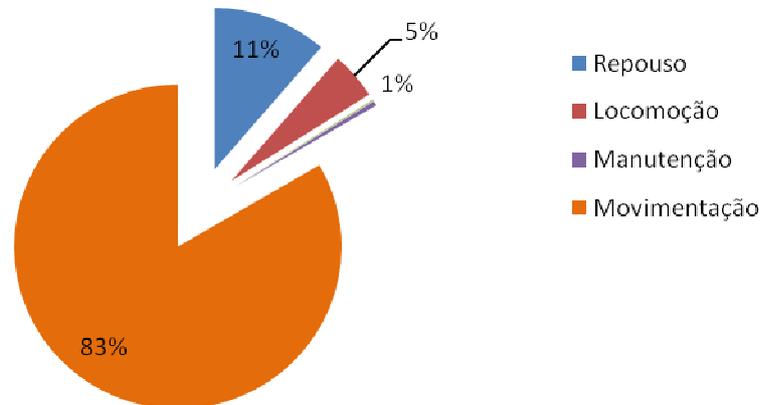


Figura 7.5: Representação da frequência relativa das categorias comportamentais da coruja 3 em porcentagem (%) depois da lesão.

7.4 Discussão

A análise do etograma permite a descrição comportamental tanto da espécie quanto do indivíduo, tornando-se uma ferramenta de extrema importância para a etologia e para a análise experimental do comportamento.

Em estudos etológicos são necessárias várias horas de observação da espécie e/ou do indivíduo visando uma descrição do repertório comportamental geral ou de um comportamento mais específico. A Análise do Comportamento, por sua vez, procura explicar o comportamento pelo estudo de relações funcionais interdependentes entre eventos ambientais (estímulos) e comportamentais (TOURINHO, 2006).

O presente trabalho usou a abordagem da Análise do Comportamento tendo como base um etograma, a fim de descrever o repertório comportamental de algumas corujas buraqueiras e avaliá-lo como uma possível ferramenta na análise de possíveis consequências no comportamento da coruja com lesão no wulst visual.

Os dados obtidos com a coruja lesionada mostraram que o animal manteve padrões comportamentais semelhantes antes e após a lesão, indicando que não houve comprometimento da noção visuoespacial do indivíduo, da capacidade de explorar o ambiente nem da interação social com as outras corujas e com os observadores. A quantidade de horas de observação neste estudo não permitiu a

descrição do comportamento da espécie mais foi suficiente para analisar comparativamente os efeitos da lesão em questão.

O comportamento mais expressivo para as 3 corujas analisadas foi movimentar a cabeça. A movimentação ocular nessas aves é muito pequena (STEINBACH *et al.*, 1974; KNUDSEN, 1982), alcançando uma amplitude máxima de 0.5° em *Athene cunicularia* (PETTIGREW e KONISHI, 1976; COOPER e PETTIGREW, 1979). Tal limitação é compensada pela grande capacidade de movimentação do pescoço, permitindo rápidos e amplos movimentos da cabeça (MASINO e KNUDSEN, 1990). Portanto as corujas buraqueiras fazem uso da rotação do pescoço para explorar visualmente o ambiente em que se encontram.

As observações foram feitas em um viveiro que se encontra em local aberto, onde pessoas e animais, como por exemplo, gatos, transitam livremente nas mediações do ambiente. Há também a presença de outras corujas nos viveiros adjacentes, além de falcões e gaviões que são predadores naturais de corujas buraqueiras. Portanto, não há um controle de estímulos externos, fatores esses, que podem influenciar diretamente na obtenção dos dados.

8 DISCRIMINAÇÃO VISUAL

8.1 Apresentação

Vários estudos sobre o comportamento e ecologia das aves destacam a grande relevância do sistema visual para o sucesso evolutivo desses animais. O sistema visual das aves é capaz de processar eficientemente as constantes mudanças que ocorrem dentro do seu contexto ecológico, uma vez que os estímulos ambientais devem ser visualizados em diferentes ângulos, níveis de luminância, distâncias e velocidade relativa (SHIMIZU e BOWERS, 1999). Logo, muitos aspectos de sua adaptação e sobrevivência dependem de discriminações visuais altamente refinadas (HODOS, 1993).

Estudos comportamentais objetivando a caracterização quantitativa estímulo-resposta são importantes para entender o funcionamento e a evolução do sistema visual. Para isso, métodos psicofísicos passaram a desempenhar um valioso papel a partir do século XIX. Atualmente, os testes psicofísicos são utilizados para estudar diversas habilidades perceptuais em humanos, crianças e animais. Desde a sua criação, a psicofísica têm sido baseada no pressuposto de que sistemas perceptivos são mensuráveis, instigando assim o desenvolvimento e emprego de métodos rigorosos para quantificar sistematicamente e parametricamente dados experimentais (SARRIS, 2006). Inicialmente, os testes psicofísicos tinham como objetivo principal a estimativa do limiar sensorial que é a medida da intensidade mínima que o estímulo deve ter para poder ser detectado pelo observador (BLACKWELL, 1952). Posteriormente, testes psicofísicos passaram também a abordar questões cognitivas através do controle e seleção de estímulos complexos de maneira a contribuir para entendimento de como os animais percebem o mundo (SHIMIZU *et al.*, 2010).

O uso da categorização para discriminar os estímulos ambientais não se restringe apenas aos seres humanos. Os animais são capazes de aprender regras para classificar diferentes tipos de estímulos e generalizá-las para lidar com as novidades e as variabilidades de uma determinada classe de estímulos (GHIRLANDA e ENQUIST, 2006).

Vários estudos demonstram que as aves são capazes de realizar tarefas de discriminação visual tanto para estímulos complexos (HERRNSTEIN e LOVELAND,

1964; AUST e HUBER, 2001, 2002, 2003, 2006; LOIDOLT *et al.*, 2006; BOGALE *et al.*, 2011) quanto para estímulos visuais simples (VETTER e HEARST, 1968; LOHMANN *et al.*, 1988; HARMENING *et al.*, 2009). Essa capacidade de discriminação visual é explorada em diversas pesquisas que avaliam déficits nos padrões de discriminação após lesão de certas regiões do cérebro envolvidas com o processamento visual (HODOS e KARTEN, 1970; CHAVES e HODOS, 1997; WATANABE, 1991, 2003).

No presente trabalho, duas corujas buraqueiras foram treinadas por meio do processo de condicionamento operante para realizarem tarefas de discriminação visual. Uma coruja foi lesionada para verificação dos possíveis déficits na discriminação visual após a lesão do wulst visual.

8.2 Procedimento

Os procedimentos descritos abaixo seguem os métodos utilizados por Garcia (2010), cujo trabalho de monografia foi desenvolvido no laboratório de Neurodinâmica (ICB-UFMG).

8.2.1 Estímulos

Dois tipos diferentes de estímulos foram usados na tarefa de discriminação visual. A coruja 1 (Catarina- C1) foi condicionada a discriminar estímulos complexos (figura 1.1) que consistiam em faces (estímulo positivo- S+) e não faces (estímulo negativo- S-). Estes estímulos (10x8cm) eram imagens coloridas, de faces humanas e figuras de objetos, retiradas de revistas de entretenimento. A coruja 2 (Zuleica - C2) foi condicionada a discriminar estímulos simples (figura 1.2) que consistiam em grades senoidais, que formavam um círculo pela diferença de orientação entre a figura e o fundo em S+ e o fundo sem a formação da figura (círculo) em S-, para cálculo do limiar de discriminação.



Figura 8.1: (A) Estímulos positivos utilizados na fase de treinamento com a coruja C1. (B) Estímulos negativos utilizados na fase de treinamento com a coruja C1.

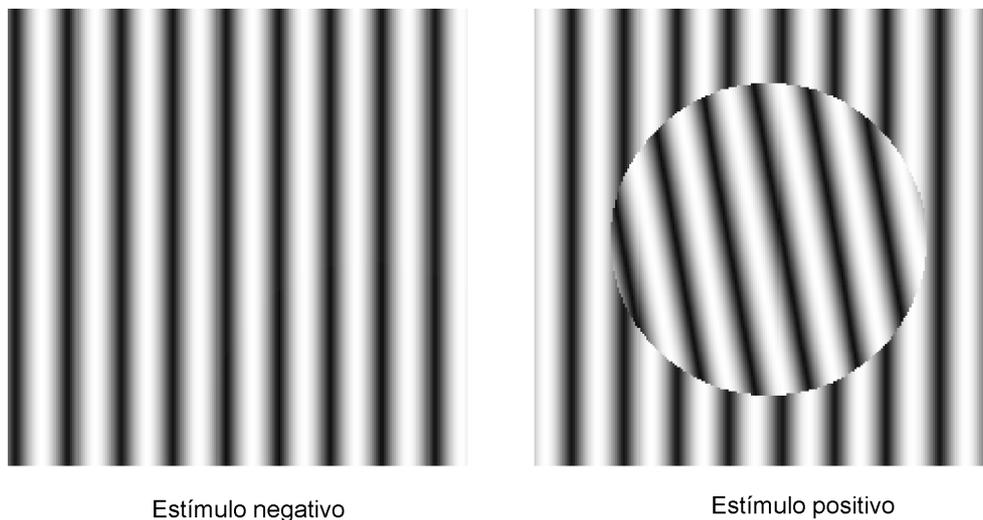


Figura 8.2: Estímulo negativo (fundo) e estímulo positivo (figura-fundo) usados no treinamento com C2.

Os estímulos eram afixados na parte superior de tubos de PVC com 17 cm de comprimento e 3,5 cm de diâmetro, separados por uma distância de 50 cm. Uma tábua de madeira com 58,5 cm de comprimento e 7 cm de largura, servia de apoio para os tubos de PVC, sendo que um dos tubos, aquele que representava o estímulo positivo, encobria um reforço que era um pequeno pedaço de carne de rato ou camundongo. Tais aparatos eram colocados no chão a 1,20 m de distância do poleiro no caso do procedimento realizado com a coruja 1. Para a coruja 2, o aparato foi posicionado a 60 cm de distância da entrada da gaiola. Em cada repetição, era apresentado um par de estímulos (S+: estímulo positivo e S-: estímulo negativo) conjugados de forma aleatória em um arranjo espacial pseudo-randômico,

isto é, um mesmo estímulo não era apresentado de um mesmo lado mais que três vezes consecutivas.

8.2.2 Local dos experimentos

Todos os experimentos foram realizados durante a manhã e/ou tarde dentro de um dos viveiros do aviário, o qual apresenta as seguintes dimensões (110cmx246cmx200cm). Para C1 um poleiro foi fixado no centro do recinto experimental a 18 cm de altura do chão e divisórias foram colocadas depois que a coruja foi condicionada à tarefa. Uma divisória (divisória 1) foi colocada a fim de ocultar a visão da coruja durante a colocação dos estímulos dentro do viveiro e a outra (divisória 2) disposta perpendicularmente a 60 cm de distância da outra divisória para que a partir de um determinado ponto a coruja não pudesse mais mudar a sua escolha (figura 8.1).



Figura 8.3: Ilustração das divisórias colocadas para coruja 1.

Para C2 uma gaiola medindo (70cmx58cm e 40cm de altura) foi adaptada a parte externa do viveiro, onde foi feita uma abertura para permitir a passagem da coruja de dentro do viveiro para a gaiola (figura 8.2). Essa abertura era fechada por uma porta que era aberta a cada repetição e fechada nos intervalos entre as

repetições. A parte da frente da gaiola e porta de passagem foram cobertas para impedir que a coruja visualizasse os estímulos antes de pousar na entrada da gaiola.



Figura 8.4: Ilustração da gaiola adaptada à parte externa do viveiro da coruja 2.

8.2.3 Reforço positivo

Um pequeno pedaço de carne de rato ou camundongo (~1g) foi escolhido como reforço positivo por ser um eliciador primário de alta magnitude dentro do contexto experimental, uma vez que a coruja era privada de se alimentar fora do horário em que o experimento acontecia. Um ponto importante a ser destacado refere-se ao controle de peso, o qual se baseava na medição da massa corporal da coruja antes de começar cada sessão experimental. Este controle permitiu a manutenção de um peso ideal (80 % do peso *ad libidum*) para que o animal estivesse sempre motivado a realizar as tarefas pré-estabelecidas.

8.2.4 Punição negativa

Quando a coruja escolhia o estímulo negativo, uma punição negativa (punição secundária) era aplicada. A punição negativa caracteriza-se por enfraquecer a

resposta que a produz e por eliminar o estímulo reforçador do ambiente. Nesse experimento, a punição negativa consistia em prolongar a duração do intervalo existente entre uma repetição e outra, isto é, o intervalo que geralmente apresentava um minuto de duração, passava a ter de dois a quatro minutos de duração, dependendo do contexto experimental. Sendo assim, na fase inicial de cada teste (primeiras sessões) as durações das punições eram mais curtas, a fim de evitar que o animal ficasse desmotivado em realizar a tarefa que ainda estava aprendendo. Ao passo que, o período de punição era maior quando a coruja já estava habituada em realizar a tarefa e ainda assim emitia uma resposta errada (escolher o estímulo negativo).

8.2.5 Condicionamento Operante

Antes de realizar os testes experimentais as corujas foram submetidas a uma fase de pré-treinamento que consistia em:

- ✓ familiarizar o animal com o experimentador;
- ✓ familiarizar o animal com aparato experimental;
- ✓ determinar o peso ideal do animal (80% do peso *ad libidum*);
- ✓ promover o condicionamento operante.

Durante o pré-treinamento algumas classes de respostas operantes foram selecionadas por meio da modelagem que se caracteriza pelo reforçamento diferencial de classes de respostas cada vez mais próximas de uma resposta final programada. Ressalta-se que a diferenciação de respostas refere-se apenas àquela que é feita reforçando algumas respostas já existentes na classe de respostas e não outras. Dessa forma, a modelagem propiciou a seleção de algumas respostas pré-existentes no repertório comportamental da coruja que se assemelhavam com a resposta final almejada. À medida que o animal aumentava a frequência de uma determinada classe de respostas diferenciadas, ela deixava de ser reforçada. Ao mesmo tempo, outras respostas ainda mais próximas da resposta final surgiam em consequência da modelagem que então eram reforçadas. A modelagem realizada durante o pré-treinamento pode ser descrita dividindo as classes de respostas diferenciadas como “operantes”, sendo que cada operante apresentava duas ou mais classes de respostas (R0 a R10) que produziam uma mesma consequência:

ganhar um pedaço de carne. Seguem-se os operantes selecionados e outrora extinguidos até a instalação da resposta final (Rf):

➤ Operante 1

R0: aproximar-se da tábua sem os tubos de PVC;

R1: pegar o pedaço de carne exposto em cima da tábua;

➤ Operante 2

R1: pegar o pedaço de carne exposto em cima da tábua;

R2: aproximar da tábua com os tubos de PVC, os tubos eram dispostos opostamente nas extremidades da tábua;

R3: pegar a carne próxima de um dos tubos de PVC (a partir desta condição a carne sempre era exibida de forma pseudo-aleatória em um dos lados)

➤ Operante 3

R3: pegar a carne próxima de um dos tubos de PVC (a partir desta condição a carne sempre era colocada de forma pseudo-aleatória em um dos lados)

R4: pegar a carne parcialmente escondida pelo tubo, sendo que neste momento o tubo era derrubado;

R5: pegar a carne parcialmente escondida (~50% encoberta) pelo tubo com a figura afixada em um dos tubos;

➤ Operante 4

R5: pegar a carne parcialmente escondida (~50% encoberta) pelo tubo com a figura afixada em um dos tubos;

R6: aproximar-se do poleiro (um pequeno pedaço de carne, >1g, era colocado em cima do poleiro)

R7: subir no poleiro;

➤ Operante 5

R7: subir no poleiro;

R8: subir no poleiro e pegar a carne parcialmente escondida (~ 70% encoberta) pelo tubo sendo que ambos os tubos apresentavam uma figura afixada (S+ e S-). Neste operante a coruja começou a olhar para as figuras;

R9: subir no poleiro, olhar para as figuras e pegar a carne que agora estava quase totalmente coberta pelo tubo (~ 90% encoberta)

➤ Operante 6

R10: subir no poleiro, olhar para as figuras e pegar a carne que agora estava quase totalmente coberta pelo tubo (~ 95% encoberta)

Rf: subir no poleiro, olhar para os dois estímulos (S+ e S-), derrubar apenas um dos dois estímulos e conseqüentemente pegar o pedaço de carne (100% encoberta).

O procedimento e o aparato experimental estão representados na figura 8.5:



Figura 8.5: (A) a coruja olha atentamente para os dois estímulos e faz uma escolha, (B) ela bica o estímulo escolhido (C) e derruba o tudo e tem acesso à recompensa.

A fase de treinamento iniciou-se com a apresentação de um par de estímulos (S+1 e S-1) escolhido aleatoriamente de um grupo de 5 imagens de faces humanas (figura 8.4-A), estímulos positivos e de um grupo de 5 figuras de objetos (figura 8.4-B), estímulos negativos- “não-faces”. O mesmo par de estímulos foi apresentado

várias vezes até que o animal acertasse 5 repetições consecutivas, sendo este o critério para que um novo estímulo fosse introduzido no procedimento. É importante elucidar que ao atingir este critério, um novo estímulo positivo, S+2, foi conjugado com o estímulo negativo, S-1, e após alcançar o critério de acertos para o par S+2/S-1, um novo estímulo agora negativo, S-2, foi conjugado ora com o S+1 ora com S+2.

Da mesma forma, os outros estímulos, S+3; S-3; S+4; S-4; S+5 e S-5, também foram inseridos no procedimento experimental. Os novos estímulos apresentados eram conjugados com os estímulos anteriormente exibidos e os pares de estímulos recém inseridos eram exibidos com maior frequência.

Um novo critério foi estabelecido após a apresentação de todas as combinações possíveis entre os 10 estímulos ($5 \times 5 = 25$ combinações possíveis). Este critério consistia em alcançar 80% de respostas corretas em cinco sessões consecutivas, dado que cada sessão apresentava uma média de 29 repetições e todas as combinações de estímulos eram apresentadas de forma pseudo-aleatória.

Ressalta-se que os estímulos eram apresentados por, no máximo, um minuto. Portanto, se o animal não respondesse dentro deste período, os estímulos eram retirados do recinto experimental e apresentados novamente após 1 minuto. Reitera-se que a sessão experimental era interrompida, caso o experimentador repetisse esse procedimento mais de 3 vezes e o animal não respondesse. A latência, isto é, o tempo que a coruja gastava para emitir uma resposta era medida por meio de um cronômetro.

No condicionamento da coruja 2, foram usados os estímulos apresentados abaixo (figura 8.5). Para os testes do cálculo do limiar, os estímulos positivos variaram nas seguintes angulações: 0.5° ; 1° ; 2° ; 3° ; 4° ; 5° e 6° , dispostos horizontalmente e verticalmente. A apresentação dos estímulos foi aleatória de forma que todos os estímulos fossem exibidos em uma mesma sessão no mínimo 2 vezes. A porcentagem das respostas corretas foi plotada, bem como o número de repetições para cada estímulo e os dados foram ajustados através do método paramétrico de bootstrap descrito por Wichmann e Hill (2001) usando a função pfit do Matlab®, gerando uma curva psicométrica por meio de uma função logística $\Psi(x)$:

$$\Psi(x) = Y + (1 - Y - \lambda) \frac{1}{1 + e^{\alpha - x/\beta}}$$

8.3 Resultados

8.3.1 Coruja 1 – Catarina

A fase de treinamento foi concluída após 18 sessões. Observa-se que a partir da 9ª sessão o desempenho da coruja ultrapassou 80% de respostas corretas. A estabilização da curva a partir da 11ª sessão indicou que a coruja havia aprendido a tarefa. Nota-se também que a partir desse ponto o número de repetições por sessão foi maior que 30, excetuando as sessões 13ª e 20ª, o que ilustra o bom desempenho da coruja em executar a tarefa (figura 8.6). Estes dados foram extraídos de Garcia (2010).

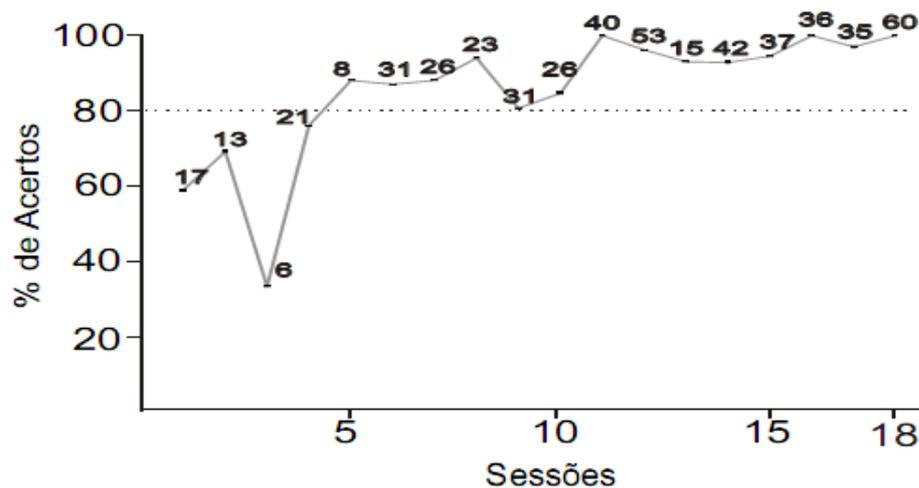


Figura 8.6: Curva de aprendizagem (coruja 1). Os valores plotados sobre cada ponto referem-se ao número de repetições de cada sessão.

A coruja 1, que já havia sido treinada para experimentos realizados por Garcia (2010), foi utilizada posteriormente, no atual trabalho, para verificação dos efeitos da lesão do wulst visual na distinção dos estímulos positivos (faces) e negativos (não faces). A fim de verificar se a coruja era capaz de realizar corretamente a mesma

tarefa pós lesão, a mesma foi submetida a sessões usando os mesmos procedimentos já descritos anteriormente, até atingir o critério de 80% de acerto em 5 sessões consecutivas (figura 8.7).

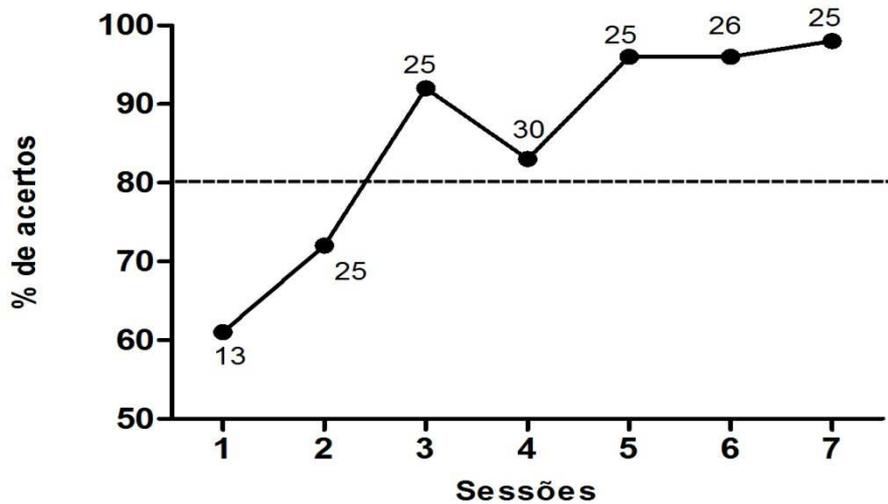


Figura 8.7: Resposta da coruja 1 antes da lesão. Os valores plotados sobre cada ponto referem-se ao número de repetições de cada sessão.

Após a lesão e período de recuperação de uma semana, esta coruja (coruja 1) foi submetida a mesma tarefa de discriminação. Entretanto, após várias tentativas, a coruja não respondeu às sessões e não se desviava das divisórias e ignorava o aparato experimental. Dentre as várias tentativas para verificação da resposta ao teste, a coruja ficou parada sem mostrar nenhum interesse em executar a tarefa a qual ela já estava bem condicionada.

8.3.2 Coruja 2 – Zuleica

A fase de treinamento da coruja 2 foi concluída após 37 sessões como pode ser observado no gráfico abaixo (figura 8.8). Pôde se observar que ela demorou mais tempo para aprender a tarefa de discriminação em relação à coruja1.

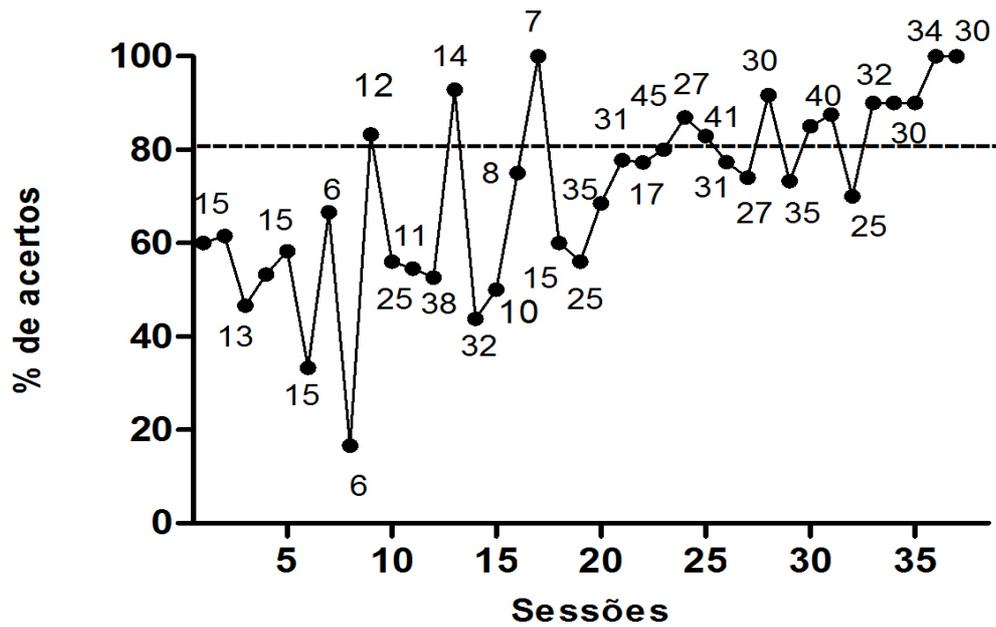


Figura 8.8: Curva de aprendizagem (coruja 2). Os valores plotados sobre cada ponto referem-se ao número de repetições de cada sessão.

O limiar de discriminação para os estímulos dispostos horizontalmente foi de $0,96^\circ$ (figura 8.9) e para os estímulos dispostos verticalmente foi de $2,03^\circ$ (figura 8.10). O limiar foi estabelecido como a metade da curva entre a assíntota superior e inferior da função psicométrica $\Psi(x)$.

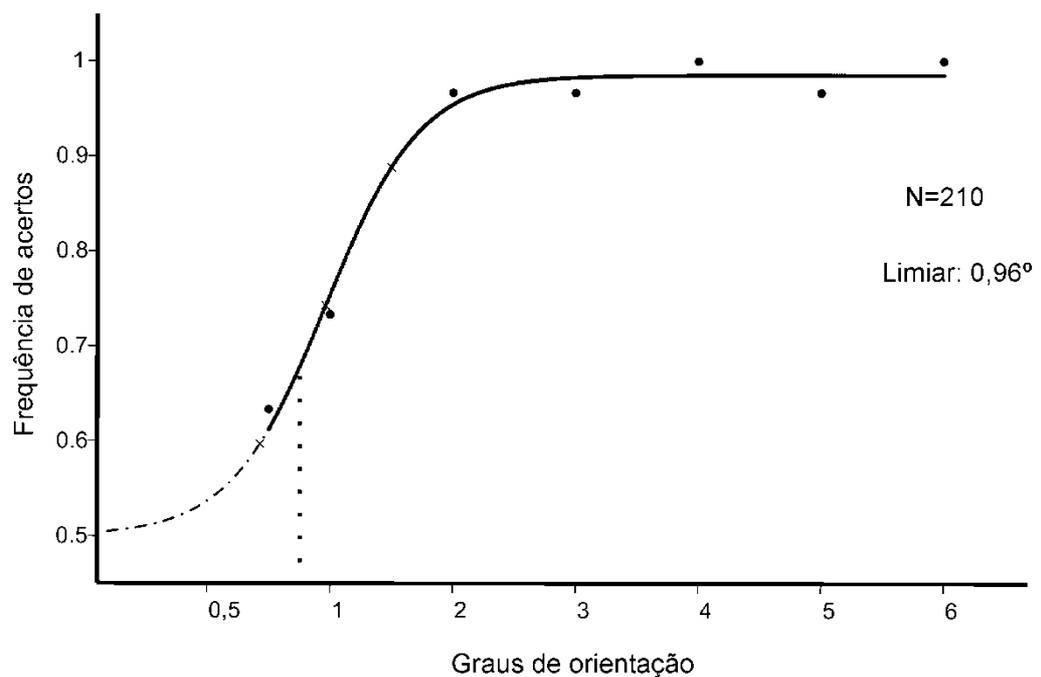


Figura 8.9: Curva ajustada representando o limiar dos estímulos dispostos horizontalmente.

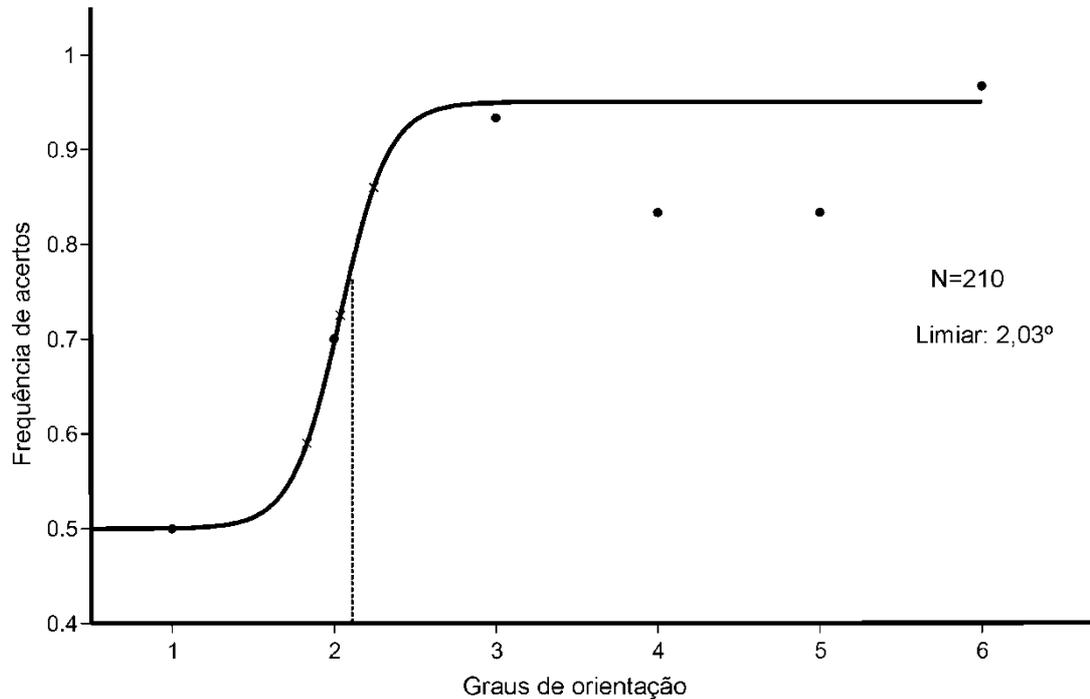


Figura 8.10: Curva ajustada representando o limiar dos estímulos dispostos verticalmente.

8.4 Discussão

O teste de discriminação visual é um tipo de tarefa amplamente usada em estudos neurocomportamentais para avaliação de déficits visuais gerados por uma lesão em áreas cerebrais relacionadas à visão. Esse teste pode qualificar e quantificar a perda visual de animais lesionados. Alguns estudos desse tipo já foram realizados em pombos, codornas, galinhas. Todavia não se encontram na literatura os possíveis déficits que podem ser gerados por meio da lesão do wulst visual em corujas.

No presente estudo, a coruja submetida à lesão não conseguiu executar a tarefa de discriminação visual por motivos ainda desconhecidos, entretanto algumas hipóteses podem ser levantadas. Pressupondo que o wulst das corujas é responsável pelo processamento de atributos visuais como contraste, contorno, orientação, (HARMENING e WAGNER, 2009; VAN DER WILLIGEN *et al.*, 2003) uma perda visual dessa magnitude poderia comprometer sua habilidade em realizar as tarefas aprendidas anteriormente.

Além disso, como já foi descrito em pombos, o wulst apresenta funções cognitivas, no que diz respeito, por exemplo, a testes de aprendizado reverso

(SHIMIZU e HODOS, 1989). Dessa maneira, uma lesão no wulst de corujas poderia interferir no bom desempenho de tarefas cognitivas. Se o wulst também desempenha um papel cognitivo em corujas, pode se levantar a hipótese de que a ausência de resposta ao teste pós-lesão foi supostamente desenvolvida por um déficit cognitivo.

Sujeitos com lesões amplas em estruturas telencefálicas, treinados em discriminação operante apresentam déficit maior em função da alteração da atenção do sujeito ao estímulo e também na inibição de responder como o bicar (BENOWITS e LEE TENG, 1973; ZEIGLER, 1963).

Devido à ausência de resposta da coruja lesionada, não foi possível avaliar a dimensão da perda visual do animal. Entretanto, a coruja lesionada mostrou uma certa perda visual ao não se desviar das divisórias colocadas em seu viveiro para realização do experimento de discriminação visual. Outra observação a ser considerada, é que a coruja também não se desviada da perna da experimentadora, quando essa entrava em seu viveiro para fazer controle de peso.

O limiar de discriminação dos estímulos dispostos horizontalmente foi menor, podendo indicar uma maior facilidade da coruja em discriminar estímulos em configuração horizontal. Esse fato pode ser supostamente explicado pela conformação da retina das corujas buraqueiras conforme achados em nosso laboratório. A retina da coruja buraqueira tem forma elíptica e está posicionada no eixo horizontal do olho, o que pode indicar uma visão mais definida no plano horizontal (CASTELLO-BRANCO *et al.*, 2009).

É importante ressaltar que o teste de discriminação seria melhor desenvolvido em um ambiente com maior controle de estímulos externos como barulho, movimento de pessoas que circulavam pela área onde está situado o corujário, presença de outras corujas nos viveiros subjacentes. Sugere-se que esses testes sejam realizados em ambientes com maior controle de luminosidade e fatores que possam interferir na atenção dos animais.

Entretanto, assim como nos outros testes, será necessária a avaliação da extensão da lesão bem como a realização do teste em outras corujas lesionadas para se obter dados mais conclusivos.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As limitações que um déficit visual impõe, são relativas à interação com o ambiente, ao domínio do corpo no espaço, aos comportamentos exibidos, à habilidade de distinções e à função cognitiva.

Os testes neurocomportamentais propostos no presente trabalho se relacionaram com aspectos que podem ser alterados por meio de uma lesão em uma área telencefálica altamente desenvolvida no grupo dos animais aqui estudados, as corujas.

Contudo, não havia sido descrito ainda na literatura os possíveis danos de lesões no wulst visual dessas aves, nem havia descrições de testes neurocomportamentais que avaliassem funções visuo-motoras em corujas.

O desenvolvimento, adaptação e aplicação de testes, sugeridos nesse trabalho, foram importantes para elucidar padrões neurocomportamentais relacionados à área da visão. O teste de equilíbrio foi desenvolvido e permitiu uma avaliação dessa função. O teste claro/escuro foi adaptado às corujas tendo uma nova proposta, a avaliação da percepção luminosa. A pupilometria, ao contrário dos outros testes, mostrou uma relação do reflexo pupilar em diversos parâmetros antes e após a lesão e foi o único teste onde não houve uma abordagem comportamental. O etograma descreveu repertórios comportamentais e permitiu a análise de comportamentos relacionados à visão. A tarefa de discriminação visual mostrou que as corujas buraqueiras aprendem por meio de condicionamento operante e que essas aves possuem grandes habilidades cognitivas.

Algumas considerações em relação a alguns testes devem ser ponderadas. No caso do teste do equilíbrio, há a necessidade de se fazer um controle positivo e negativo a fim de avaliar se a perda da visão e conseqüente alteração do equilíbrio são realmente aferidas por meio do teste proposto. Um procedimento que poderia ter sido realizado seria colocar os animais com os olhos tampados no aparato experimental para verificar se esses perderiam o equilíbrio em ângulos menores.

Em relação à lesão, outras técnicas podem ser aplicadas como a de resfriamento, por exemplo, que tem a vantagem de ser reversível. É uma técnica de inativação para análise comportamental ou eletrofisiológica de circuitos neurais, descrita por Lomber *et al.* (1999). Essa técnica está sendo desenvolvida no

laboratório de neurodinâmica e uma das perspectivas desse trabalho é a aplicação dessa técnica para estudos complementares.

Tanto através dos testes descritos, quanto como por meio de observações adicionais pôde-se perceber algum déficit visual nas corujas após a lesão. Logo após o procedimento cirúrgico de lesão e da volta da anestesia, durante alguns dias, as corujas não conseguiam se alimentar sozinhas, não respondiam a movimentos e mostravam modificações comportamentais. Porém, com o passar do tempo, por volta de uma semana que foi o período de recuperação das mesmas, elas exibiram uma recuperação rápida de algumas habilidades perdidas, como por exemplo, a de se alimentarem sozinhas. Esse fato nos remete à plasticidade cerebral regenerativa que explica o fato de certas regiões do cérebro poderem substituir as funções afetadas por lesões cerebrais. Como tal, uma função perdida devido a uma lesão cerebral pode ser recuperada por uma área vizinha da zona lesionada. Contudo, a recuperação de certas funções depende de alguns fatores como, por exemplo, a área da lesão, o tempo de exposição aos danos, a natureza da lesão, a quantidade de tecidos afetados, os mecanismos de reorganização cerebral envolvidos, além de fatores ambientais (KOLB e TESKEY, 2012). Sendo assim, não se sabe até que ponto houve interferência da neuroplasticidade nas corujas lesionadas, tornando-se necessário um estudo prévio dessa capacidade regenerativa do cérebro nesses animais, a fim de elucidar se os padrões neurocomportamentais foram mantidos por causa da plasticidade cerebral ou se foi em decorrência da lesão não ter sido suficiente para gerar modificações comportamentais.

Na tarefa de discriminação visual, pôde se perceber alguns aspectos cognitivos relevantes. Algumas corujas que foram submetidas ao condicionamento operante não aprendiam a tarefa mesmo após várias sessões realizadas, enquanto outras apresentavam uma maior facilidade em aprender as tarefas a serem executadas. Outro aspecto que pôde ser observado foi o fato de corujas já condicionadas a uma determinada tarefa, não conseguirem aprender novas tarefas. Além destas observações, as corujas mostraram que mesmo após vários meses sem executar uma tarefa já aprendida, elas respondiam com uma boa porcentagem de acertos em poucas sessões, o que nos leva a considerar o tempo de extinção do comportamento aprendido. Estes aspectos cognitivos são de extrema importância para a descrição comportamental de uma espécie e nos instiga a avaliá-los de uma

forma mais profunda por meio de testes cognitivos mais específicos para cada tipo de característica.

Para um estudo cognitivo mais aprofundado seria importante o desenvolvimento de uma caixa de Skinner adaptada para corujas, que possibilitaria dados mais precisos na discriminação visual em um ambiente mais controlado.

Em função do tempo, as análises histológicas para avaliação da extensão de cada lesão não foram realizadas, apesar de sua importância para um estudo como esse. Portanto, será uma tarefa a ser realizada posteriormente, para uma melhor compreensão dos dados obtidos.

Os testes propostos no presente trabalho permitiram uma descrição neurocomportamental da coruja buraqueira em vários aspectos, mas não foram suficientes para quantificar a perda visual das corujas lesionadas.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTMANN, J. Observation study of behaviour: Sampling methods. **Behaviour**. v.49, p.227–267, 1974.

ANSELONI, V. Z., BRANDÃO, M.L. Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. **Behavioural Pharmacology**, v. 8, p.533-540, 1997.

ARRUDA, C.M; OLIANI, S.R; VAROLI, F.M.F. Estudo do comportamento de *Athene cunicularia* (strigiformes: strigidae) na região de Araçoiaba da Serra- São Paulo, Brasil. In: Congresso de Ecologia do Brasil, 8, 2007, Caxambu.

AUST, U.; HUBER, L. The role of item- and category-specific information in the discrimination of people versus nonpeople images by pigeons. **Animal Learning & Behavior**, v.29, p.107-119, 2001.

AUST, U.; HUBER, L. Target-defining features in a "people-present/people-absent" discrimination task by pigeons. **Animal Learning & Behavior**. v30, p.165-176 ,2002.

AUST, U.; HUBER, L. Elemental versus configural perception in a people-present/people-absent discrimination task by pigeons. **Animal Learning & Behavior**, v.31, p.213-224, 2003.

AUST, U.; HUBER, L. Picture-object recognition in pigeons: evidence of representational insight in a visual categorization task using a complementary information procedure. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, v. 32, p.190-195 ,2006.

BANKOFF A.; BEKEDORF R. Bases Neurofisiológicas do equilíbrio corporal. *EFDeportes.com*, Revista Digital, Buenos Aires, v.11, 2007. Disponível em: <<http://www.efdeportes.com/efd106/bases-neurofisiologicas-do-equilibrio-corporal.htm>>. Acesso em: 10 set. 2011.

BARBUR, J.L.; WOLF, J.; LENNIE, P. Visual processing levels revealed by response latencies to changes in different visual attributes. **Proc. R. Soc. Lond.**, v.265, p.2321-2325, 1998.

BARBUR, J.L.; WEISKRANTZ, L. ; HARLOW, A. The unseen color aftereffect of na unseen stimulus: Insight from blindsight into mechanisms of color afterimages. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.96, p.11637-11641, 1999.

BARBUR, J.L. Learning from the Pupil: Studies of Basic Mechanisms and Clinical Applications. IN: CHALUPA, L.M e WERNER, J.S. **The visual Neurosciences**. Massachusetts: ----, 2004. P.641-656.

BARELA, J. A. Estratégias de controle em movimentos complexos: ciclo percepção-ação no controle postural. **Revista Paulista de Educação Física**. v.3, p.79-88, 2000.

BARON, J.; PINTO, L.; DIAS, M. O.; LIMA, B.; NEUENSCHWANDER, S. Directional responses of visual wulst neurones to grating and plaid patterns in the awake owl. **The European Journal of Neuroscience**, v.26, n.7, p. 1950-1968, 2007.

BENOWITZ, L.I.; LEE TENG, E. Contrasting effects of three forebrain ablations on discrimination learning and reversal in chicks. **Journal of Comparative Neurology**, v.150, p.391-397, 1973.

BENSON, P.J.; GUO, K.; BLAKEMORE, C. Direction discrimination of moving gratings and plaids and coherence in dot displays without primary visual cortex (V1). **European Journal of Neuroscience**, v.10, p.3767-3772, 1998.

BESSETE, B.B.; HODOS, W. Intensity, color, and pattern discrimination deficits after lesions of the core and belt regions of the ectostriatum. **Visual Neuroscience**, v.2, p.27-34, 1989.

BLACKWELL, H. R. Studies of psychophysical methods for measuring visual thresholds. **Journal of the Optical Society of America**. v.42, p.606-16, 1952.

BOGALE, B.A., AOYAMA, M., SUGITA, S. Categorical learning between male and female photographic human faces in jungle crows (*Corvus macrorhynchos*). **Behavioral Processes**, v.86, n.1, p.109-18, 2011.

BOURIN, M.; HASCOET, M. The mouse light/dark box test. **European Journal of Pharmacology**, v. 463 ,p. 55– 65, 2003.

BUDZYNSKI, C.A.; GAGLIARDO, A.; IOALÉ, P.; BINGMAN, V.P. Participation of the homing pigeon thalamofugal visual pathway in sun-compass associative learning. **Eur J Neurosci**, v.15, n.1, p.197-210, 2002.

BURTON, J. A. Owls of the world: their evolution, structure and ecology. Dover: Tanager Books, 1984, 208p.

CARDENAS, F.; LAMPREA, M.R.; MORATO, S. Vibrissal sense is not the main sensory modality in rat exploratory behavior in the elevated plus-maze. **Behavioural Brain Research**, v. 122, p.169–174, 2001.

CASTELLO-BRANCO, E. C.; MAHECHA, G. A. B.; BARON, J.; NOGUEIRA, J. C. Variação Celular da Retina de Duas Corujas em Abordagem Comparativa Funcional.

In:Terceiro Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Neurociências da UFMG, 2009.

CELESIA, G. G.; BUSHNELL, D.; TOLEIKIS S. C.; BRIGELL, M. G. Cortical blindness and residual vision: Is the “second” visual System in humans capable of more than rudimentary visual perception? **Neurology**, v. 41, p.862-869, 1991.

CHAVES, L.M.; HODOS, W.; GÜNTURKUN, O. Color-reversal learning: Effects after lesions of thalamic visual structures in pigeons. **Visual Neuroscience** , v.10, p.1099-110, 1993.

CHAVES, L.M.; HODOS, W. Hyperstriatum ventrale in pigeons: Effects of lesions on color-discrimination and color-reversal learning. **Visual Neuroscience**, v.14, p.1029-1041, 1997.

CONWAY,C.A; JONES, B.C; De BRUINE, L.M; LITTLE, A.C; SAHRAIE,A. Transient pupil constrictions to faces are sensitive to orientation and species. **Journal of vision**, v.8, n.3, p. 1-11, 2008.

COOK, R. G. (Ed.) **Avian Visual Cognition**, 2001. Disponível em: <<http://www.pigeon.psy.tufts.edu/avc>>. Acesso em: 26 out. 2010.

COOPER, M. L.; PETTIGREW, J. D. A neurophysiological determination of the vertical horopter in the cat and owl. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 184, n. 1, p. 1–26, 1979.

COSTA, C. E. ; CIRINO, S. D. ; CANÇADO, C. R. X. ; SOARES, P. G. Polêmicas sobre História Comportamental: Identificação de seus efeitos e sua duração. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, v.22, n.3, p.394-403, 2009.

COWEY, A. The blindsight saga. **Experimental Brain Research**, v.200, p.3-24, 2010 a.

COWEY, A. Visual System: How Does Blindsight Arise? **Current Biology**, v.20, n. 17, 2010 b.

CRAWLEY, J., GOODWIN, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 13, p. 167-70, 1980.

CRUZ, A. P. M., FREI, F., GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.49, p.171-176, 1994.

CRUZ, A.P.M.; ZANGROSSI, H.; GRAEFF, F.G.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos Animais de Ansiedade: Implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 13, n.3, p. 269 – 278, 1997.

DAAN, S.; ASCHOFF, J. Circadian rhythms of locomotor activity in captive birds and mammals: their variations with season and latitude. **Oecologia**, v.18, n.4, p.269-316, 1975.

DEL-CLARO, K. *Comportamento Animal: Uma introdução à ecologia comportamental*. Jundiaí: Livraria Conceito, 2004. 132 p.

DENG, C.; ROGERS, L.J. Differential contributions of the two visual pathways to functional lateralization in chicks. **Behavioral Brain Research**, v.87, n.2, p.173-182, 1997.

DENG, C. Relative contributions of the two visual pathways to avian behavior. **Acta Zoologica Sinica**, v.52, p.379-383, 2006.

DIXON, C.E.; LYETH, B.G.; POVLISHOCK, J.T.; FINDLING, R.L.; HAMM, R.J.; MARMAROU, A.; YOUNG, H.F.; HAYES, R.L. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat. **J. Neurosurg.**,v. 67 (1987), p. 110–119,1987.

EMERY, N. J. Cognitive ornithology: the evolution of avian intelligence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences*, v.361, p.23-43, 2006.

FFYTCH, D.H.; ZEKY, S. The primary visual cortex, and feedback to it, are not necessary for conscious vision. **Brain: a journal of neurology**, v.134, p. 247-257, 2011.

FUJIMOTO,S.T.; LONGHI,L.;SAATMANA,K.E.; MCINTOSHA,T.K. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews** , v.28 ,p. 365–378, 2004.

GARCIA, C.A.S. **Discriminação categórica de faces humanas pela coruja *Athene cunicularia***. 2010. 43 p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GARCIA, A.M.B; CARDENAS, F.P; MORATO, S. Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. **Physiology & Behavior**, v. 85 p. 265 – 270, 2005.

GUERRAZ, M; BRONSTEIN, A.M. Bronstein Ocular versus extraocular control of posture and Equilibrium. **Clinical Neurophysiology** .v. 38, p.391—398,2008.

GHIRLANDA, S.; ENQUIST, M. A century of generalization. **Animal Behavior**, v. 66, p.15-36, 2003.

GOODALE, M. Visuomotor modules in the vertebrate brain. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.74, p. 390-400, 1996.

GÜNTÜRKÜN, O.; HAHMANN, U. Functional subdivisions of the ascending visual pathways in the pigeon. **Behavioural Brain Research**, v 98. p.93–201, 1999.

GUYTON, A. C. Fisiologia humana e mecanismo das doenças. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 639p.

HAMM, R.J.; PIKE, B.R.; O'DELL, D.M.; LYETH, B.G; JENKINS, L.W. The rota rod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. **Journal of Neurotrauma**, v.11, n.2, p.187-196, 1994.

HARMENING, W.M.; GÖBBELS, K; WAGNER, H. Vernier acuity in barn owls. **Vision Research** , v.47, p. 1020–1026, 2007.

HARMENING, W.M.; NICOLAY, P.; ORLOWSKI, J.; WAGNER, H. Spatial contrast sensitivity and grating acuity of barn owls. **Journal of Vision**, v.9, n.7, p.1–12, 2009.

HASCOËT, M.; BOURIN, M. A New Approach to the Light/Dark Test Procedure in Mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 60, n. 3, p. 645–653, 1998.

HELLMANN, B.; GÜNTÜRKÜN, O. Structural Organization of Parallel Information Processing Within the Tectofugal Visual System of the Pigeon. **The Journal of Comparative Neurology**, v.429, p.94–112, 2001.

HERRNSTEIN, R.J.; LOVELAND, D.H. Complex visual concept in the pigeon. **Science**, v.146, p.549-551, 1964.

HODOS, W. The visual capabilities of birds; in Zeigler HP, Bischof HJ (eds): Vision, Brain and Behavior in Birds. Cambridge: MIT Press, p.63-76, 1993.

HODOS, W.; BONBRIGHT, J.C. Intensity difference thresholds in pigeons after lesions of the tectofugal and thalamofugal visual pathways. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v.87, n.6, p.1013-1031, 1974.

HODOS, W.; KARTEN, H.J. Visual intensity and pattern discrimination deficits after lesions of ectostriatum in pigeons. **The Journal of comparative Neurology**, v.140, p.53-68, 1970.

HUMPHREY, N.K. Vision in a monkey without striate cortex: a case study. **Perception**, v.3, p. 241-255, 1974.

IWANIUK, A. N.; HURD, P. L. The evolution of cerebrotypes in birds. **Brain, Behavior and Evolution**, v.65, n.4, p.215-230, 2005.

IWANIUK, A. N.; WYLIE, D. R. The evolution of stereopsis and the Wulst in caprimulgiform birds: A comparative analysis. **J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.**, v.192, n.12, p.1313-1326, 2006.

IWANIUK, A. N.; HEESY, C. P.; HALL, M. I.; WYLIE, D. R. Relative Wulst volume is correlated with orbit orientation and binocular visual field in birds. **J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.**, v.164, n.3, p.267-282, 2008.

JAGER, R. Separate channels for visuomotor transformations in the pigeon. **European Journal of Morphology** , v.35, p.277-289,1997.

JONES, N.; KING S.M. Influence of circadian phase and test illumination on pre-clinical models of anxiety. **Physiology & Behavior**, v.72, p. 99- 106, 2001.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ , J.H.; JESSEL, T.M. Posture. In:____. **Principles of neural science**. 2. ed. 2000. Cap.41, p.816-831.

KARTEN, H. J.; HODOS, W.; NAUTA, W. J.; REVZIN, A. M. Neural connections of the "visual wulst" of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). **The Journal of Comparative Neurology**, v.150, n.3, p. 253-278, 1973.

KNUDSEN, E. I. Auditory and visual maps of space in the optic tectum of the owl. **The Journal of Neuroscience**, v. 2, n. 9, p. 1177–1194, 1982.

KOLB, B.; TESKEY, G.C. Age, Experience, Injury, and the Changing Brain. **Developmental Psychobiology**, v. 54,p.311–325, 2012.

LENNIE, P. Single units and visual cortical organization. **Perception**, v.27, p. 889-935, 1998.

LI, Z.; SUN, F. Pupillary response induced by stereoscopic stimuli. **Experimental Brain Research**, v.160, p. 394-397, 2005.

LIVINGSTONE, M. S.; HUBEL, H.D. Segregation of form, color, movement, and depth: anatomy, physiology, and perception. **Science**, v.240, p.740-749, 1988.

LOIDOLT, M., AUST, U., STEURER, M., TROJE, N.F.; HUBER, L. Limits of dynamic object perception in pigeons: dynamic stimulus presentation does not enhance perception and discrimination of complex shape. **Learning & Behavior**, p.34, v.71-85 ,2006.

LOHMANN, A.; DELIUS, J. D.; HOLLARD, V.D.; FRIESEL, M. F. Discrimination of shape reflections and shape orientations by *Columba livia*. **Journal of Comparative Psychology**, v.102, n.1, p. 3-13, 1988.

LOMBER, S.G.; PAYNE, B.R.; HOREL, J.A. The cryoloop: an adaptable reversible cooling deactivation method for behavioral or electrophysiological assessment of neural function. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 86, p.179–194,1999.

MAEKAWA, F.; KOMINE, O.; SATO, K.; KANAMATSU, T.; UCHIMURA, M.; TANAKA, K.; OHKI-HAMAZAKI, H. Imprinting modulates processing of visual information in the visual wulst of chicks. **BMC Neuroscience**, v.7, n.75, p.1-13, 2006.

MAGILL, R.A. **Aprendizagem motora: conceitos e aplicações**. 5 ed. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2000.

MALMBERG-AIELLO, P.M.; IPPONI, A.; BARTOLINI, A.; SCHUNACK, W. Mouse light/dark box test reveals anxiogenic-like effects by activation of histamine H₁ receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** , v.71, p.313-318, 2002.

MARTIN, D.J. Selected aspects of burrowing owl ecology and behaviour. **The Condor**, v.45, p. 446-456 ,1973.

MARTIN, P.; BATESON, B. **Measuring behaviour: an introductory guide**. 2 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1996 .222p.

MARTIN, G.R.; GORDON, I. E. Increment- threshold spectral sensitivity in the Tawny owl (*Strix aluco*). **Vision research**, v.14, p.615-621, 1974.

MASINO, T.; KNUDSEN, E.I. Horizontal and vertical components of head movement are controlled by distinct neural circuits in the barn owl. **Nature**, v.345, p. 434 - 437, 1990.

MATTIASSON, G.J.; PHILIPS, M.F.; TOMASEVIC, G.; JOHANSSON, B.B.; WIELOCH, T.; MCINTOSH, T.K. The rotating pole test: evaluation of its effectiveness in assessing functional motor deficits following experimental head injury in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 95, p. 75–82, 2000.

MEDINA, L.; REINER, A. Do birds possess homologues of mammalian primary visual, somatosensory and motor cortices? **Trends of Neurosciences**, v. 23, p.1–12, 2000.

MILNER A.D. Neuropsychological studies of perception and visuomotor control. **Philos. Trans. R .Soc. Lond. B Biol. Sci.**, v.353, p.1375-1384, 1998.

MOTTA-JUNIOR, J. C.; ALHO, C J. R. Ecologia alimentar de *Athene cunicularia* e *Tyto alba* (Aves: Strigiformes) nas Estações Ecológica e Experimental de Luiz

Antônio, SP. In: SANTOS, J. E. ; PIRES, J. S. R. (eds.). **Estação Ecológica de Jataí**, Volume I. São Carlos: RIMA Editora, 2000. p. 303-315.

MORATO, S. Papel da visão na aversão aos espaços abertos no labirinto em cruz elevado. **Psicologia USP**, p. 17, n.4, p. 159-174, 2006.

NASELLO, A. G.; MACHADO, C.; BASTOS, J.F.; FELICIO, L.F. Sudden darkness induces a high activity-low anxiety state in male and female rats. **Physiology & Behavior**, v. 63, n. 3, p. 451–454, 1998.

NASSI, J.J.; CALLAWAY, E.M. Parallel processing strategies of the primate visual system. **Nature Reviews Neuroscience**, v.10, p.360-372, 2009.

NGUYEN, A. P.; SPETCH, M. L.; CROWDER, N. A.; WINSHIP, I.R.; HURD, P.L.; WYLIE, D. R.W. A Dissociation of Motion and Spatial-Pattern Vision in the Avian Telencephalon: Implications for the Evolution of “Visual Streams”. *The Journal of Neuroscience*, v.24, n.21, p.4962–4970, 2004.

NIEDER, A.; WAGNER, H. Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 7, 1999.

NIEDER, A.; WAGNER, H. Horizontal-disparity tuning of neurons in the visual forebrain of the behaving barn owl. **Journal of Neurophysiology**, v.83, n.5, p.2967-2979, 2000.

NIEDER, A. Seeing more than meets the eye: processing of illusory contours in animals. **Journal of Comparative Physiology**, v.188, p. 249–260, 2001.

NIEDER, A.; WAGNER, H. Encoding of both vertical and horizontal disparity in random-dot stereograms by Wulst neurons of awake barn owls. **Visual Neuroscience**, v.18, p. 541-547, 2001 a.

NIEDER, A.; WAGNER, H. Hierarchical processing of horizontal disparity information in the visual forebrain of behaving owls. **Journal of Neuroscience**, v.21, p.4514-4522, 2001 b.

OLIPHANT, L.W.; JOHNSON, M.R.; MURPHY, C.; HOWLAND, H. The Musculature and Pupillary Response of the Great Horned Owl Iris. **Experimental Eye Research**, v. 37, p.583-595, 1983.

PARKER, D.M.; DELIUS, J.D. The effects of wulst lesions on simple visual discrimination performance in the pigeon. **Behavioural Processes**, v. 5, p.151-159, 1980.

PASTERNAK, T.; HODOS, H. Intensity Difference Thresholds after lesions of the visual wulst in pigeons. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 91, n. 3, p.485-497, 1977.

PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S. E., BRILEY, M. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v.14, p.149-167, 1985

PETTIGREW, J. D. Binocular Visual Processing in the Owl's Telencephalon. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, v.204, n.1157, p.435-454, 1979.

PETTIGREW, J. D.; KONISHI, M. Neurons selective for orientation and binocular disparity in the visual Wulst of the barn owl (*Tyto alba*). **Science**, v.193, n.4254, p. 675-678, 1976.

POWERS, A.S. Wulst lesions in pigeons disrupt go/no-go reversal. **Physiology & Behavior**, v.46, p.337-339, 1989.

REILLO, P.R.; DURAND, S.; BURTON, M. First Captive Breeding of the Imperial Parrot (*Amazona imperialis*). **Zoo Biology**, v.30, p.328–341, 2011.

RILEY, N.M.;HODOS, W.; PASTERNAK, T. Effects of serial lesions of telencephalic components of the visual system in pigeons. *Visual Neuroscience*, v.1, p.387-394, 1988.

SARRIS, V. Relational psychophysics in humans and animals: a comparative developmental approach. USA and Canada: Psychology Press, p.5-53, 2006.

SGARBIERO, T. **Etograma como ferramenta de avaliação do enriquecimento ambiental para a conservação ex-situ de *Ara macao* e *Ara ararauna* (Linnaeus, 1758), no Zoológico Municipal de Piracicaba-SP**. 2009. 87. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, p.395-403, 1997.

SHIMADA, T.; MATSUMOTO,K.; OSANAI, M.; MATSUDA,H.; TERASAWA, K.; WATANABE, H. The Modified Light/Dark Transition Test in Mice: Evaluation of Classic and Putative Anxiolytic and Anxiogenic Drugs. **Gen. Pharmac.**, v.26, n.1, p.205-210, 1995.

SHIMIZU, T.; BOWERS, A.N. Visual circuits of the avian telencephalon: evolutionary implications. **Behavioural Brain Research**, v.98, p.183-191, 1999.

SHIMIZU, T.; HODOS, W. Reversal Learning in Pigeons: Effects of Selective Lesions of the Wulst. **Behavioral Neuroscience**, v.103, n.2, p. 262-272, 1989.

SHIMIZU, T.; PATTON, T.B.; HUSBAND, S.A. Avian Visual Behavior and the Organization of the Telencephalon. **Brain, Behavior and Evolution**, v.75, p.204-217, 2010.

SNOWDON, C.T. O significado da pesquisa em Comportamento Animal. **Estudos de Psicologia**. v. 4, n.2, p.365-373, 1999.

SOUZA, J.K.S.; VIEIRA, P.G.; TIERRA-CRIOLLO, C.J.; BARON, J. Pupillary light reflex in the Burrowing owl (*Athene cunicularia*). In:Fesbe (Federação de Sociedade de Biologia Experimental). Rio de Janeiro, 2011.

SOUZA, J.K.S.; BARON, J.; PINTO, M.A.D.; VIEIRA, P.G.; TIERRA-CRIOLLO, C.J. An open-source, FireWire camera-based, Labview-controlled image acquisition system for automated, dynamic pupillometry and blink detection. **Medical Engineering & Physics**. Em submissão, 2012.

SOUZA, J.K.S.; VIEIRA, P.G.; TIERRA-CRIOLLO, C.J.; BARON, J. Pupillary light reflex in the Burrowing owl (*Athene cunicularia*). Em preparação.

STEINBACH, M. J.; ANGUS, R. G.; MONEY, K. E. Torsional eye movements of the owl. **Vision Research**, v. 14, n. 8, p. 745–746, 1974.

STETTNER, L.J.; SCHULTZ, W.J. Brain lesions in birds: Effects on discrimination acquisition and reversal. **Science**, v.155, p.1689-1692, 1967.

STEWART *et al.* Neurophenotyping of adult zebrafish using the light/dark box paradigm. In: Kalueff AV, Cachat JM (Eds.), Zebrafish neurobehavioral protocols. New York: Humana Press, cap.13, 2010.

STOERIG, P.; COWEY, A. Blindsight in man and monkey. **Brain**, v.120, p.535–559, 1997.

THOMSEM, L. Behavior and ecology of burrowing owls on the Oakland Municipal Airport. **The Condor**,v.73, p.177-192 ,1971.

TOURINHO, E.Z. Relações comportamentais como objeto da Psicologia: algumas implicações. **Interação em Psicologia**, v.10, n.1, p. 1-8, 2006.

TOVEE, M.J. An Introduction to the Visual System. New York: Cambridge University Press, p.73, 2008.

TOVÉE, M.J. The eye and forming the image. In:_____. **An introduction to the visual system**. New York: Cambridge University Press, 2008. Cap.2, p.18-41.

TREVETHAN, C.T.; SAHRAIE, A. e WEISKRANTZ, L. Spatial vision in cortical blindness: a pupillometric investigation. **Perception**, v.31, 2002.

VAN DER WILLIGEN, R. F.; FROST, B. J.; WAGNER, H. Depth generalization from stereo to motion parallax in the owl. **J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol**, v.187, n.12, p.997-1007, 2002.

VAN DER WILLIGEN, R. F.; FROST, B. J.; WAGNER, H. How owls structure visual information. **Animal Cognition**, v.6, p.39–55, 2003.

VETTER, G.H.; HEARST, E. Generalization and discrimination of shape orientation in the pigeon. **Journal of the experimental analysis of behavior**, v.11, n.6, p.753-765, 1968.

WAGNER, H.; FROST, B. Disparity-sensitive cells in the owl have a characteristic disparity. **Nature**, v.364, n.6440, p.796-798, 1993.

WATANABE, S. Effects of ectostriatal lesions on natural concept, pseudoconcept, and artificial pattern discrimination in pigeons. **Visual Neuroscience**, v.6, p. 497-506, 1991.

WATANABE, S.; SAKAMOTO, J.; WAKITA, M. Pigeons' discrimination of paintings by Monet and Picasso. **Journal of the Experimental Analysis Behavior**, v.63, p.165-174, 1995.

WATANABE, S. Effects of ectostriatal lesions on discriminations of conspecific, species and familiar objects in pigeons. **Behavioural Brain Research**, v.81, p.183-188, 1996.

WATANABE, S. Effects of Wulst and ectostriatum lesions on repeated acquisition of spatial discrimination in pigeons. **Cognitive Brain Research**, v.17, p. 286–292, 2003.

WATANABE, S.; MAYERB, U.; BISCHOF, H.J. VisualWulst analyses “where” and entopallium analyses “what” in the zebra finch visual system. **Behavioural Brain Research**, v.222, p. 51–56, 2011.

WEISKRANTZ, L. Blindsight revisited. **Current Opinion in Neurobiology**, v.6, p.215-220, 1996.

WEISKRANTZ, L.; COWEY.A. ; LE MARE, C. Learning from the pupil: a spatial visual channel in the absence of V1 in monkey and human. **Brain**, v.121, p.1065-1072,1998.

WEISKRANTZ, L.; COWEY.A. ; BARBUR, J.L. Differential pupillary constriction and awareness in the absence of striate cortex. **Brain**, v.122,p.1533-1538,1999.

WICHMANN, F.; HILL, N. The psychometric function: I. Fitting, sampling, and goodness of fit. **Perception & Psychophysics**, v.63, p.1293–1313, 2001.

WILHELM, B.J; WILHELM, H.; MORO, S. e BARBUR, J.L. Pupil response components: studies in patients with Parinaud's syndrome. **Brain**, v.125, p.2296-2307, 2002.

ZEIGLER,P.H. Effects of endbrain lesion upon visual discrimination learning in pigeons. **Journal of Comparative Neurology**, v.120, p.161- 181, 1963.