

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE BAURU
FACULDADE DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E
APRENDIZAGEM

BRUNO RODRIGUES DOS SANTOS

EFEITOS DA INTOXICAÇÃO PROGRESSIVA E AGUDA DE CHUMBO
SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DO *BETTA SPLENDENS*:
ESCOTOTAXIA E DISPLAY AGRESSIVO

BAURU

2009

BRUNO RODRIGUES DOS SANTOS

**EFEITOS DA INTOXICAÇÃO PROGRESSIVA E AGUDA DE CHUMBO
SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DO *BETTA SPLENDENS*:
ESCOTOTAXIA E DISPLAY AGRESSIVO**

Dissertação apresentada como requisito à defesa do título de Mestre à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Programa de Pós-Graduação em Psicologia do Desenvolvimento e Aprendizagem, área de concentração Ensino e Aprendizagem, sob a orientação do Prof. Dr. Amauri Gouveia Júnior.

BAURU

2009

Santos, Bruno Rodrigues.

Efeitos da Intoxicação Progressiva e Aguda de Chumbo sobre Parâmetros Comportamentais do *Betta splendens*: escototaxia e display agressivo / Bruno Rodrigues dos Santos, 2009.

100 f.

Orientador: Amauri Gouveia Junior

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2009

1. Psicologia Experimental. 2. *Betta splendens* 3. Chumbo. 4. Preferência Claro-Escuro. 5. Display Agressivo. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE BRUNO RODRIGUES DOS SANTOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E APRENDIZAGEM, DO(A) FACULDADE DE CIÊNCIAS DE BAURU.

Aos 20 dias do mês de fevereiro do ano de 2009, às 14:00 horas, no(a) Centro de Ciências Biológicas - UFP, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. AMAURI GOUVEIA JUNIOR do(a) Centro de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Pará, Profa. Dra. REGINA CELIA SOUZA BRITO do(a) Departamento de Psicologia Experimental do Centro de Filosofia e Ciências Humanas / Universidade Federal do Para, Prof. Dr. OLAVO DE FARIA GALVÃO do(a) Programa de Pós-Graduação Em Teoria e Pesquisa do Comportamento / Universidade Federal do Para, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de BRUNO RODRIGUES DOS SANTOS, intitulado "EFEITOS DA INTOXICAÇÃO PROGRESSIVA E AGUDA DE CHUMBO SOBRE PARAMETROS COMPORTAMENTAIS DA BETTA SPLENDENS: ESCOTOTAXIA E DISPLAY AGRESSIVO". Após a exposição, o discente foi argüido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: aprovado . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. AMAURI GOUVEIA JUNIOR


Profa. Dra. REGINA CELIA SOUZA BRITO


Prof. Dr. OLAVO DE FARIA GALVÃO

À Sorte de ter tido sempre ao meu lado

peessoas tão queridas e amorosas.

Pessoas boas que sempre me apóiam

e sempre cuidam de mim.

Agradecimentos

À Juliane, minha esposa, companheira e mais precioso amor. Obrigado por estar ao meu lado neste momento de tanta ausência e mau humor. Dica: guarde o telefone do cardiologista, daqui a quatro anos, no final do doutorado, ele ainda pode ser muito útil!

Aos meus pais Augusto e Gilda, obrigado por todo apoio e principalmente por acreditarem nos meus sonhos. A distância, embora dolorida, sempre será muito pouca perto do amor que sinto por vocês.

À minha querida e velhinha avó Clarinha, que há dez anos que reclama que está fazendo hora extra no mundo. Eu te amo e agradeço por essas horas extras existirem.

Aos meus irmãos, Cintia e Henrique. Obrigado simplesmente por existirem. Agradeço também a paciência de minha irmã que, no ano de conclusão da faculdade de lingüística, revisou com tanto carinho esta dissertação.

À Lúcia e Juan, por todo apoio e consideração durante esse período de muitos acontecimentos.

Ao Tio Amauri, orientador, sambista, guia turístico, incentivador e amigo. Muito obrigado pela paciência neste período de enorme crescimento.

Aos meus amigos Rafael e Daniel, que estavam comigo no começo desta empreitada, em uma república de estudantes, em Bauru. Muita alegria e sucesso a nós três.

Aos meus muitos amigos de Bauru da Pós-Graduação da UNESP. Obrigado pela paciência e desculpe a impertinência de discutir processos básicos do comportamento (em modelos animais!) nas rodas e disciplinas voltadas a educadores, estudiosos do desenvolvimento humanos, psicólogos clínicos e psicólogos organizacionais.

Aos meus amigos do Laboratório de Psicobiologia e Psicopatologia Experimental da UNESP e do Laboratório de Neurociências e Comportamento da UFPA. Especialmente ao Caio Maximino, por toda ajuda e colaboração. Essa dissertação tem dedos, mãos e braços de cada um.

Ao Bruno Mansur, aluno disciplinado de iniciação científica que me ajudou na transcrição de dados. Se eu tivesse que dar um real para cada comportamento transcrito, pelas minhas contas, estaria devendo quase 1700 reais. Prometo que depois eu te pago umas cervejas!

À Capes que me deu apoio financeiro e viabilizou este mestrado. Com certeza, neste período, ela me diminuiu muito os dias que sobravam no final do dinheiro.

Santos, B.R.. **Efeitos da Intoxicação Progressiva e Aguda de Chumbo sobre Parâmetros Comportamentais do *Betta splendens*: escototaxia e display agressivo.** 2009. 101f. Dissertação (Defesa de Mestrado em Psicologia do Desenvolvimento e Aprendizagem) – UNESP, Faculdade de Ciências, Bauru, 2009.

RESUMO

Foram administradas doses progressivas (12, 24, 36, 48 e 60 µgPb/L) e agudas (60 µgPb/L) de chumbo no *Betta splendens* (N = 23) e testados os comportamentos de display agressivo e escototaxia em cinco testes consecutivos, com intervalos de 18 horas - para dosagem progressiva - e 24 horas - para dosagem aguda. Realizaram-se sete experimentos: (1) validação do teste de preferência claro-escuro; (2) teste e re-teste da preferência claro-escuro; (3) efeito de doses progressivas de chumbo sobre teste de preferência claro-escuro; (4) efeito de doses agudas de chumbo sobre teste de preferência claro-escuro; (5) teste e re-teste do display agressivo; (6) efeito de doses progressivas de chumbo sobre o display agressivo; (7) efeito de doses agudas de chumbo sobre o display agressivo, com exposição ao espelho.

Os experimentos (1) e (2) indicaram que o *Betta splendens* apresenta comportamento de escototaxia, sendo que não houve habituação ao re-teste da preferência claro-escuro. Nos experimentos (3) e (4) indicaram que o chumbo em doses progressivas e agudas não alterou o comportamento de escototaxia, mas provocou *déficits* de memória de longo-prazo no teste de preferência claro-escuro. O experimento (5) não apresentou habituação no re-teste do display agressivo. Os experimentos (6) e (7) indicaram que o chumbo em doses progressivas e agudas aumentou a frequência de comportamentos agressivos. Estes dados apontam para o teste de preferência claro-escuro como um novo modelo de ansiedade para o *Betta splendens* e que a exposição progressiva e aguda ao chumbo produz *déficits* de memória de longo-prazo e aumenta a agressividade deste.

Palavras-chave: Chumbo; *Betta splendens*; Display Agressivo; Escototaxia.

ABSTRACT

Betta splendens (N = 23) were treated with progressive (12, 24, 36, 48 e 60 µgPb/L) and acute (60 µgPb/L) lead poisoning. They were submitted to darkness preference and aggressive display test into five consecutive trials separated by 18 h to progressive poisoning and 24 h to acute poisoning between trials. Seven experiments were conducted so: (1) validation of darkness preference test; (2) exposition and re-exposition to darkness preference test; (3) effect of progressive lead doses on the darkness preference test; (4) effect of acute lead dose on the darkness preference test; (5) exposition and re-exposition to aggressive display test; (6) effect of progressive lead doses on aggressive display test; (7) effect of acute lead dose on aggressive display test. Experiments (1) and (2) data showed the darkness preference of *Betta splendens*, since there was no habituation to re-exposition to darkness preference test. Experiments (3) and (4) data showed deficits on long-term memory produced by progressive and acute lead poisoning. Experiment (5) data showed no habituation to re-exposition to aggressive display test. Experiments (6) and (7) data showed the increase of aggressiveness display produced by progressive and acute lead poisoning. Therefore, these seven experiments data showed how darkness preference test can be a possible anxiety model to *Betta splendens* and how progressive and acute lead exposition can produce deficits in long-term memory and aggressiveness display increased.

Key Words: Lead; *Betta splendens*; Aggressive Display; Darkness Preference

SUMÁRIO

Introdução	11
1. Chumbo	11
1.1 Chumbo e Saúde Pública.....	11
1.2 Chumbo e SNC.....	14
1.3 Chumbo e Comportamento de Seres Humanos	16
1.4 Chumbo e Comportamento em Modelos Animais Não Piscinos	20
1.5 Chumbo e Comportamento em Modelos Animais Piscinos	24
2. Modelos Animais Piscinos	25
2.1 Emoção e Cognição em Peixes.....	27
2.2 Escototaxia	27
3. Betta splendens e Display Agressivo	29
Objetivos.....	36
Método	37
Experimento 1 - Validação do Teste de Preferência Claro-Escuro	41
Experimento 2 – Efeito do Teste e Re-Teste de Preferência Claro-Escuro	42
Experimento 3 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro	43
Experimento 4 – Efeito da Intoxicação Aguda sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro.....	44
Experimento 5 - Efeito do Teste e Re-Teste do Display Agressivo	45
Experimento 6 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Display Agressivo	45
Experimento 7 - Efeito Intoxicação Aguda sobre o Teste de Display Agressivo	46
Resultados	48
Experimento 1 - Validação do Teste de Preferência Claro-Escuro	48
Experimento 2 – Efeito do Teste e Re-Teste de Preferência Claro-Escuro	50
Experimento 3 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro	52
Experimento 4 – Efeito da Intoxicação Aguda sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro.....	55
Experimento 5 - Efeito do Teste e Re-Teste do Display Agressivo	58
Experimento 6 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Display Agressivo	66
Experimento 7 - Efeito Intoxicação Aguda sobre o Teste de Display Agressivo	75
Discussão	83
Conclusão	90
Considerações Finais	92
Referências Bibliográficas	93
Anexos.....	103

INTRODUÇÃO

1. Chumbo

O chumbo é um elemento químico de símbolo Pb, número atômico 82 (82 prótons e 82 elétrons), com massa atômica igual a 207,2u. Na tabela periódica é classificado como um metal representativo, pertencente à família do carbono, grupo 14 e período 6 (IUPAC, 2009). É considerado um metal pesado, tóxico, macio, maleável, inodoro, sensível ao ar e um pobre condutor de eletricidade. Encontrado na forma sólida, apresenta coloração branco-azulada, quando recentemente cortado, ou acinzentada, quando exposto ao ar (PAOLIELLO E CHASIN, 2001).

O Pb é um dos elementos químicos mais encontrados no meio ambiente, inclusive no ar, nos mares e no solo (WHO, 2001). Este elemento é depositado basicamente por atividades industriais humanas e os seus principais modos de contaminação são por inalação ou ingestão.

Sendo extraído, industrializado e utilizado em larga escala, o chumbo é um dos contaminantes mais comuns do ambiente, podendo ser encontrado, como resultado da ampla exposição exógena, em todos os seres humanos (Moreira e Moreira, 2004). De acordo com o International Lead Zinc Study Group – ILZSG (PAOLIELLO, 2001) foram produzidos mundialmente aproximadamente 10 milhões de toneladas de chumbo só no ano de 2000.

1.1 Chumbo e Saúde Pública

Segundo o Comitê de Riscos Ambientais e o Comitê de Acidentes e Prevenção de Envenenamento (1987), as formas mais comuns de contaminação são através de comida, ar, água, poeira, tinta para pintar casas, contaminação do solo e das indústrias. Sendo que a tinta utilizada para pintura de casas e sua

remoção imprópria é historicamente a principal fonte responsável por médio ou alto grau de contaminação (CHISOLM & HARRISON, 1956). Outras formas de contaminação também podem ser gasolina, cerâmicas, baterias, máquinas de pão, cosméticos e medicamentos (FALK, 2003).

Após absorvido, o chumbo é distribuído pela corrente sangüínea para o fígado, pele, músculos, ossos, glândulas, pulmões, rins e trato digestivo. Sua eliminação se dá através de fezes, urina, suor e lágrimas. Porém, de todo chumbo absorvido pelo organismo, apenas 40% é eliminado. Os outros 60% ficam retidos no organismo (PAOLIELLO E CHASIN, 2001).

Sadao (2002) descreve que Hipócrates nomeou os sintomas da exposição ao chumbo de saturnismo. Sua primeira descrição moderna foi realizada por Tanqurel, em 1839, com base em 1200 casos. Os sintomas do saturnismo são: desvios comportamentais, irritabilidade, dificuldade de compreensão, baixo Q.I., retardamento mental, baixo rendimento escolar e disfunção de percepção sensório-motora.

Byers, em 1959, publicou uma revisão de 45 casos de pessoas que sofreram de saturnismo. O autor mostra que, já neste período, há estudos indicativos de encefalopatia em humanos causada por um alto grau de exposição ao chumbo e, também, uma tentativa de tratamento utilizando-se edathamil. Byers, conclui sua revisão alertando para os perigos do tratamento com edathamil, pois este facilita a absorção de chumbo pelo trato intestinal e o transporte do chumbo para o cérebro. Outro alerta refere-se à exposição dos sujeitos, que mesmo depois do tratamento medicamentoso, continuavam em contato com o chumbo em ambientes de risco.

O tratamento para a intoxicação por chumbo consiste na utilização de vitaminas, minerais e aminoácidos, além do uso de fibras, da penicilamina, DMSA e BAL, como agentes quelantes. De modo geral, o uso de nutrientes visa a sua reposição, bem como uma ação desintoxicante e antioxidante altamente benéfica ao organismo intoxicado. Entre as vitaminas destacam-se o complexo B, principalmente a tiamina (B), niacina (B) e peridixina (B), o ácido ascórbico e as vitaminas D e E. Os principais minerais utilizados são cálcio, ferro, zinco e selênio. A tiamina, nas doses de 200 mg/dia, demonstrou ser muito eficiente na redução dos níveis de chumbo no organismo (SADAO, 2002).

A preocupação com o tratamento e prevenção de contaminação por chumbo, devido ao número de casos, incentiva muitas outras publicações e pesquisas (MOREIRA E MOREIRA, 2004). Os efeitos do chumbo foram amplamente estudados, sendo que estes efeitos se revelam tanto sobre o comportamento, quanto sobre bases fisiológicas. Os danos fisiológicos se estendem praticamente a todos os órgãos e sistemas do corpo, incluindo o sistema nervoso (MOREIRA E MOREIRA, 2004).

Atualmente a CDC (Center of Diseases Control) considera como fator de risco a concentração, em humanos, maior ou igual a 10 μg de Pb por decilitro de sangue (CANFIELD *et al.*, 2003; LANPHEAR *et al.*, 2000; TELLEZ-ROJO *et al.*, 2006). Mas já existem estudos que detectam riscos para a saúde e *déficits* no desempenho neurocognitivo em concentrações menores de 10 $\mu\text{gPb/dL}$. Surkan *et al.* (2007) encontram esses resultados em concentrações maiores ou iguais a 5 μg de Pb por decilitro de sangue. Wigle e Lanphear (2005) indicam a inexistência de níveis seguros de contaminação por chumbo em humanos, sendo estes determinados pelo grau de tecnologias dos instrumentos de diagnósticos. Quanto mais sofisticado for o

instrumento de diagnóstico, menores são os níveis de concentração de chumbo no sangue necessário para a identificação de alterações comportamentais e fisiológicas.

1.2 Chumbo e SNC

No SNC, o chumbo apresenta impactos sobre os complexos de cálcio que medeiam as Potenciações de Longo-Prazo¹ (LTP, Long-Term Potentiation) que são fundamentais para a plasticidade neural (GILBERT E LASLEY, 2002). Estudos acerca da atividade-dependente da plasticidade são focados no hipocampo. Sendo assim, Vasquez e Ortis (2004) realizaram microinfusões de acetato de chumbo no hipocampo de ratos, seguido de teste espacial dependente do hipocampo. As medidas utilizadas foram desempenho de aprendizagem e memória no teste espacial e a indução de cálcio dependente da atividade de PKC (Proteína quinase C), necessária para a transição de memória de curto-prazo em LTP. Os resultados indicaram um bloqueio na ação do cálcio dependente da atividade do PKC, assim impedindo a indução de LTP.

Outros estudos indicam que o chumbo reduz a densidade de receptores do tipo NMDA. O NMDA é um receptor glutamatérgico importante para o LTP hipocampal (GILBERT E LASLEY, 2007; LASLEY, GREEN E GILBERT, 2001). Estes dados novamente indicam um efeito do chumbo sobre a plasticidade hipocampal e, conseqüentemente, na formação de memória de longo-prazo.

Munhoz *et al.* (1981) expuseram ratos a uma quantidade de 750 ppm de acetato de chumbo e lesionaram o hipocampo de outros sujeitos. Quando testados em um labirinto de oito braços, observou-se que apenas os sujeitos expostos ao

¹ LTP é uma alteração na força sináptica, produzida por estimulação elétrica, que induz a manutenção de um mapa espacial coerente ao longo do tempo. Sendo que sua lesão provoca déficits na memória espacial de longo prazo (KANDEL, SCHWARTS e JESSEL, 2003, p.1264-1267).

chumbo apresentaram *déficits* de aprendizagem, mas ambos os grupos apresentaram dificuldades em formação de memória de longo prazo. Indicando novamente uma relação entre os efeitos do chumbo e impedimento de LTP hipocampal.

Danos no hipocampo também foram encontrados por Meng *et al.* (2003). Os pesquisadores observaram, através de ressonância magnética e análises microscópicas em luz e em elétrons, lesões hipocampais produzidas por intoxicação de chumbo durante o desenvolvimento de ratos (17, 30 e 90 dias pós-natais). Os resultados indicam que os sujeitos com 17 e 30 dias apresentaram danos mais severos na região inferiores e que sujeitos de 90 dias não apresentam diferenças em relação às regiões danificadas (regiões esquerda, direita, superior e inferior). O retículo endoplasmático, complexo de Golgi, mitocôndrias do CA1 hipocampal e neurônios do giro dentado foram danificados. Estes dados demonstram que danos nos neurônios do hipocampo são dependentes da idade e que, portanto, estão relacionados ao o tempo de exposição.

Foram observados também efeitos do chumbo sobre a diminuição da substância branca em testes de ressonância magnética em humanos. Blecker *et al.* (2007) indicaram que *déficits* psicomotores estavam relacionados com essa alteração em concentrações de 29 μ gPb/dL de sangue.

Com relação à alteração celular, a exposição pós-natal de chumbo em doses moderadas e altas (250 ppm e 500 ppm) em ratos provocou a perda de neurônios dopaminérgicos (TAVAKOLI-NEZHAD, BARRON E PITTS, 2001). Em uma revisão, Marchetti (2003) indica a redução da atividade de neurônios dopaminérgicos relacionado a alterações na atividade da tirosina hidroxilase. Baixas concentrações também provocam *déficits* na inervação colinérgica hipocampal. A

expressão dos receptores de acetilcolinesterase e da acetilcolina em tecido neural de galinha *in vitro* também apresentou essa redução de neurônios.

No SNC, portanto, a contaminação por chumbo pode provocar alterações em receptores de NMDA, PCK, LTP hipocampal, no próprio hipocampo e na substância branca, bem como alterações celulares. Todas estas alterações são observadas em concentrações dose-dependentes.

1.3 Chumbo e Comportamento de Seres Humanos

Muitos estudos associam efeitos do chumbo à *déficits* de aprendizagem, memória, desenvolvimento motor (KOLLER *et al.*, 2004; BELLINGER, 2004; SCHAWARTZ, 1994; BYERS, 1959) e à agressividade (NEEDELEMAN *et al.*, 2002; DIETRICH *et al.*, 2001; STRETESKY E LYNCH , 2001)

O Comitê de Saúde Ambiental (2005) indica a associação entre chumbo e baixos *scores* em testes de QI. Estes índices tornam-se testáveis apenas a partir dos 5 anos de idade. A concentração de 10 μ gPb/dL de sangue resultam em *scores* de 2 a 3 pontos abaixo do esperado para a idade.

Contudo, existem controvérsias com relação aos índices de contaminação por chumbo relacionado a *déficits* cognitivos e motores, bem como com relação à idade na qual é possível detectar esses índices e efeitos. Lanphear *et al.* (2005) indicam que crianças de 5 a 10 anos com concentrações de chumbo a partir de 7.5 μ gPb/dL de sangue já apresentam *déficits* cognitivos no *Full-Scale IQ Score*.

Em outro estudo, Surkan *et al.* (2007) demonstraram que crianças de 6 a 10 anos com concentrações de chumbo entre 1-2 μ gPb/dL apresentaram 5.0 pontos a mais, quando comparadas a crianças com concentrações entre 5-10 μ gPb/dL, nos *scores* do WISC-III. Também no teste de WIAT, medidor de QI verbal, as crianças

com concentrações entre 1-12 μ gPb/dL apresentaram melhor desempenho. Sendo seus scores aproximadamente 7.4 pontos maior. Crianças com concentrações entre 5-10 μ gPb/dL apresentaram um pior desempenho nos testes de atenção e memória.

Min *et al.* (2007) obtiveram os resultados mais acurados em crianças coreanas de 7 a 16 anos com concentração média de 2.89 μ gPb/dL de sangue. Segundo os autores, crianças com concentrações inferiores a 5 μ gPb/dL apresentam *déficits* neurocomportamentais no SPES-K, versão coreana do SPES, teste que avalia atenção, velocidade perceptual, memória de curto-prazo e máxima taxa de comportamento repetitivo.

Télléz-Rojo *et al.* (2006) apresentaram resultados que diferem das determinações postuladas pelo Comitê de Saúde Ambiental (2005). Os autores apresentam uma pesquisa que indica, no Baley Scales of Infant Development II, *déficits* no desenvolvimento cognitivo e motor associados à concentrações de chumbo em crianças com 2 anos de idade e com concentrações inferiores a 10 μ gPb/dL de sangue.

Schannas *et al.* (2000) realizaram um estudo longitudinal com crianças de 3 a 5 anos avaliadas a cada 6 meses. As principais medidas são concentração de chumbo no sangue e desempenho no GCI (General Cognitive Index of the McCarthy Scale of Children's Abilities - GCI). Os resultados indicam que a concentração de chumbo de sangue decaiu de acordo com a idade dos participantes (6-18 meses, 10.1 μ gPb/dL; 24-36 meses 9.7 μ gPb/dL; 42-54 meses 8.4 μ gPb/dL). Os resultados do GCI apresentaram resultados negativos nos períodos de 6-18 meses e 24-36 meses. Entre os 42-54 meses não houve associação entre o efeito do chumbo e os resultados do GCI. Evidenciando uma associação entre diminuição da concentração de chumbo no sangue e melhora no desempenho deste teste.

Chuang, Chao e Tsai (2005) realizam estudos observando a intoxicação aguda de chumbo em trabalhadores de uma fábrica na China. O estudo avalia concentração de chumbo no sangue e desempenho no teste neurocomportamental *Chinese Edition of Neurobehavioral Evaluation System*. Os dados indicam que, em quatro anos, a concentração de chumbo no sangue destes trabalhadores caiu de 26.3µgPb/dL para 8.3µgPb/dL e houve melhora no desempenho neurocomportamental no decorrer do período de avaliação. Indicando o efeito dependente entre concentração de chumbo e desempenho no teste neurocomportamental.

Trabalhos relacionados com exposição crônica são mais comuns, já que a maior parte dos casos de contaminação por chumbo se dá por exposição crônica aos fatores ambientais (BLEECKER *et al.*, 2005). Sendo que *déficits* no desenvolvimento motor (BLEECKER, FORD E VAUGHAN, 2007; FRASER, MUCKLE E DEPRÉS, 2006; CORDEIRO, FILHO E SALGADO, 1996) e *déficits* no desenvolvimento postural (BHATTACHARYA *et al.*, 2006) estão dependentemente associados à contaminação de chumbo.

Alguns estudos também indicam a associação do chumbo com o aumento de comportamentos delinqüentes. Needeleman *et al.* (2002) compararam testes de concentração de chumbo no osso em adolescentes de uma penitenciária nos EUA e adolescentes que não apresentaram problemas com a justiça. Seus dados indicam que os adolescentes institucionalizados por comportamento violento apresentam maiores concentrações de chumbo no osso.

Dietrich *et al.* (2001) realizaram um estudo longitudinal verificando a exposição por chumbo pré- e pós-natal com relatos paternos e auto-relatos de emissão de comportamentos delinqüentes. Os resultados indicaram que

comportamentos delinquentes estão associados a altas concentrações de chumbo no sangue. Stretesky e Lynch (2001) relacionaram, entre 48 estados dos EUA, a concentração de chumbo no ar e no sangue com os índices de homicídio apresentados. Os autores encontraram indícios de que estados que apresentam uma maior concentração de chumbo no ar possuem um maior número de homicídios.

Desta maneira, observa-se que estudos em humanos indicam que se pode detectar efeitos do chumbo sobre o comportamento a partir dos 2 anos e em concentrações inferiores a 5 $\mu\text{gPb/dL}$ de sangue. Os principais resultados são que o chumbo está associado a *déficits* cognitivos, de aprendizagem, de memória, de desenvolvimento motor e postural e, possivelmente, ao aumento de comportamentos agressivos.

Para uma melhor identificação dos níveis seguros de chumbo no organismo, bem como nos efeitos de baixas concentrações de contaminação, estudos com humanos e modelos animais são comumente realizados. Estudos com humanos baseiam-se em observações diretas através de testes cognitivos e procedimentos fisiológicos não invasivos (Bellinger, 2004). Sendo características destes estudos a observação de medidas (ex. índice de chumbo no sangue e teste de Q.I., ou índice de chumbo no ar e número de homicídios) e a formação de causalidade (correlação) entre estas medidas. Estas correlações são muito importantes para a produção de hipóteses, mas elas pouco descrevem o fenômeno em termos funcionais. Por isso, a elaboração de modelos que descrevam as relações funcionais entre fenômenos são importantes para o entendimento dos efeitos do chumbo sobre o comportamento.

Delineamentos experimentais com uso de modelos animais buscam conhecimentos a partir de controle experimental (ambiental e genético), procedimentos invasivos e medidas comportamentais (Bellinger, 2004). Desta forma, contribuindo para um melhor entendimento das relações funcionais entre intoxicação de chumbo e seus efeitos comportamentais. O uso destes modelos ajuda, inclusive, na confirmação ou refutação de hipóteses formuladas em estudos com humanos.

1.4 Chumbo e Comportamento em Modelos Animais Não Piscinos

Em modelos animais observam-se dados parecidos com aqueles encontrados em humanos. Sheng, Hang e Ruan (2005) expuseram ratos machos ao acetato de chumbo do primeiro dia perinatal até o último dia de amamentação. Observou-se déficit de aprendizagem na tarefa de esquiva inibitória. Microdialise *in vivo* do nível de aminoácidos extracelulares no giro dentado do hipocampo, durante o pré e pós-treino (50 dias) de esquiva inibitória, indicou que os sujeitos contaminados por chumbo apresentaram, no pós-treino, aumento de 222.6% de glutamato e diminuição de 49.4% de GABA, quando comparado ao pré-treino. Enquanto que o grupo controle (sem contaminação) apresentou no pós-treino um aumento de 164.2% de glutamato e diminuição de 44.3% de GABA. Estes resultados associam a contaminação por chumbo com a alteração de neurotransmissores durante o processo de aprendizagem. Indicando que esta alteração pode produzir *déficits* de aprendizagem.

Efeitos sobre a memória também foram encontrados. Yang *et al.* (2003) expuseram ratos machos a doses altas, médias e baixas de chumbo. Os resultados indicaram que concentrações altas, médias e baixas provocam um *déficit* de aprendizagem e memória dose-dependente em um teste de aprendizagem espacial.

Como dito anteriormente, a memória de longo-prazo no teste espacial é dependente da indução de LTP no hipocampo. O chumbo altera as concentrações de cálcio e a densidade do receptor glutamérgico NMDA, assim impedindo a formação de memória de longo-prazo dependente do hipocampo (GILBERT E LASLEY, 2002; VASQUEZ E ORTIS, 2004; GILBERT E LASLEY, 2007; LASLEY, GREEN E GILBERT, 2001; MUNHOZ *et al.*, 1981; MENG *et al.*, 2003).

Mantovani, Mateussi e Rodrigues (1999) também estudaram o efeito do chumbo sobre o receptor de NMDA em um teste de nado forçado. Observou-se que o chumbo está associado ao efeito inibitório do receptor de NMDA nos sujeitos, desta forma alterando o desempenho destes na tarefa de nado forçado e indicando um efeito antidepressivo do chumbo.

Poucos são os estudos em modelos animais que observam o efeito do chumbo sobre o desenvolvimento motor, mas existem pesquisas que avaliam o desempenho locomotor. A contaminação por chumbo está associada ao aumento da atividade locomotora (MARCO, HALPERN E BARROS, 2005; VIRGOLINI *et al.*, 2004; ADHAMI *et al.*, 2000).

Moreira, Vassilieff e Vassilieff (2001), expuseram ratos machos ao acetato de chumbo durante o período perinatal até o final da amamentação. Os sujeitos foram testados aos 23 e 70 dias. Os testes realizados foram de atividade locomotora, comportamento exploratório, ansiedade (teste de labirinto em cruz), aprendizagem, memória e concentração de chumbo no sangue e nas regiões hipocámpicas e estriadas. Os resultados indicam que, nos sujeitos com 23 dias e concentração de 21 ± 3 $\mu\text{g/dL}$ de sangue, o chumbo está associado à hiperatividade, diminuição do comportamento exploratório e déficits de aprendizagem e memória.

Nos sujeitos com 70 dias e com concentração no sangue indetectável, o chumbo está associado ao aumento da ansiedade.

Com relação ao desempenho de sujeitos contaminados no teste de campo aberto, Salinas e Huff (2002a) expuseram ratos machos contaminados, via oral, por chumbo (250 ppm) dissolvido em água aproximadamente 103 dias antes do início dos experimentos. Foram realizados testes de espaciais em campo aberto e testes de campo aberto com dicas. Os resultados demonstram que o chumbo está associado ao aumento da atividade locomotora e à diminuição do tempo despendido na periferia do labirinto em ambos os testes, indicando efeito ansiolítico. Estes mesmo autores (SALINAS E HUFF, 2002b) também realizaram um estudo sobre o efeito do chumbo sobre o medo condicionado. Ratos machos Fischer sofreram contaminação oral por chumbo (250 ppm) dissolvido em água 90 dias antes do início dos experimentos e foram testados em tarefas de medo condicionado e contraste consumatório. Os resultados indicam que a contaminação por chumbo não teve efeito no teste de contraste consumatório, mas impede a extinção do medo condicionado.

Estudos com fêmeas de macacos Rhesus (LASKY E LAUGHLIN, 2001) indicaram que os sujeitos contaminados por chumbo apresentaram um maior medo, maior agitação e maior rapidez em tarefa de escapar de uma jaula. Estes animais foram contaminados com acetato de chumbo, por via oral, a partir do oitavo dia de vida (as concentrações de chumbo no sangue mantiveram-se em 35 e 40 μ g/dL durante todo o período do experimento).

Efeitos do chumbo sobre o aumento do comportamento agressivo também foram encontrados. Delville (1999) expôs Hamsters machos ao chumbo do oitavo dia perinatal até o quadragésimo segundo dia pós-natal. Os sujeitos foram testados em

lutas diretas com coespecíficos nos dias 19, 20 e 42 de vida. Os comportamentos agressivos foram medidos e os resultados indicam que os sujeitos expostos ao chumbo durante seu desenvolvimento apresentaram uma maior taxa de comportamentos agressivos. Cervantes *et al.* (2005) também expuseram Hamsters machos ao acetato de chumbo do último mês perinatal até o dia 56 de vida (final dos experimentos). O acetato de chumbo (0, 25, 100 ou 400 ppm) foi diluído em água e administraram-se doses de 0, 25, 100 e 400 ppm nos hamsters filhotes e na mãe. Foram testados o comportamento agonístico pré-desmame (dias 19, 20 e 21), atividade locomotora e comportamento agonístico pós-desmame (dias 35, 45 e 56). Os resultados indicam que não houve diferenças significativas no teste de atividade locomotora. Em ambos testes de comportamento ofensivo, os sujeitos expostos a 25 ppm obtiveram uma maior rapidez e um aumento significativo na taxa de comportamentos agressivos, enquanto que os sujeitos expostos a 100 e 400 ppm não apresentaram diferenças com relação ao controle. Estes dados indicam que baixos níveis de contaminação por chumbo está associado à aceleração maturacional e ao aumento da agressividade.

Desta maneira, pode-se observar que em estudos do efeito da contaminação por chumbo sobre o comportamento de animais não-piscinos estão associados, em sua maioria, ao aumento da atividade locomotora, do medo condicionado e de comportamentos agressivos; às alterações no comportamento exploratório; e a *déficits* de aprendizagem e memória.

1.5 Chumbo e Comportamento em Modelos Animais Piscinos

São poucos os estudos realizados com o efeito de chumbo sobre comportamento de peixes. Atchison, Henry e Sandheinrich (1987) fazem uma revisão dos estudos realizados com metais em comportamento de peixes. Os autores apresentaram nesta revisão apenas quatro referências acerca do estudo do chumbo sobre o comportamento. Segundo estes autores, há controvérsias sobre o aumento de atividade locomotora em peixes. O chumbo está associado a *déficits* na memória de longo-prazo em trutas *Salmo gairdneri*. E o limiar de contaminação do *Carassius auratus* é de uma concentração de 70µgPb/L de água em um período de exposição de 48h.

Martinez et al (2004) realizaram estudos sobre o efeito morfológicos e fisiológicos de doses agudas de chumbo (24 e 71 mgPb/L) no peixe neotropical *Prochilodus lineatus*. Os animais foram avaliados durante 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Exames branquiais demonstraram que após 96h de exposição em ambas as concentrações, os sujeitos apresentaram maior incidência de lesões histopatológicas, elevação epitelial, hiperplasia e aneurisma. Peixes expostos a 71mgPb/L apresentaram decréscimo de sódio plasmático após 48h de exposição. Teste de hiperglicemia detectou que os sujeitos expostos a ambas concentrações apresentaram respostas clássicas dose-dependentes ao estresse associado à hipoglicemia e ao decréscimo de proteínas plasmáticas. Respostas apresentadas por sujeitos expostos a 24mgPb/L representam um processo adaptativo, enquanto que sujeitos expostos a 71mgPb/L apresentam respostas de exaustão.

A exposição de larvas de carpa (*Cyprinus carpio*) ao chumbo pode provocar em concentrações dose-dependente: (a) deformação do cordão espinal, diminuição na captação de cálcio, aumento de mortalidade e redução do sucesso de

saída da ova (STOUTHART, SPANINGS E WENDELAAR BONGA, 1994); (b) inibição na captação de sódio e cálcio também foram encontrados em trutas (ROGER, RICHARDS E WOOD, 2003); (c) efeitos na modulação sobre o aumento de MAPKs (Proteína Quinase de atividade Mitogênica – proteína responsável por expressão gênica, embriogênese, proliferação de células, diferenciação de células, morte de células e plasticidade sináptica em trutas) (LEAL *et al.* 2006); e (d) efeitos sobre aumento na regulação de serotonina e noradrenalina em *Pimephales promelas* (WEBER *et al.* 1991).

Estudos comportamentais com trutas (*Oncorhynchus mykiss*) indicam que sujeitos expostos ao chumbo tendem a manter a sua hierarquia. Indicando assim um aumento da capacidade de ganhar em confrontos agonísticos (SLOMAN, 2007) e, conseqüentemente, aumento da agressividade.

Grande parte dos poucos estudos relacionados ao efeito do chumbo em piscinos como modelo animal são desenvolvidos com base no mapeamento dos efeitos fisiológicos. Poucos são os estudos que buscam a associação do chumbo com bases comportamentais.

2. Modelos Animais Piscinos

Peixes são modelos emergentes em Neurociências. Os peixes apresentam padrões neurais, bioquímicos e comportamentais funcionalmente análogos aos mamíferos, incluindo humanos. Além disto, há várias vantagens no seu uso: são animais de pequeno porte, podem ser mantidos em grandes grupos, sua manutenção é simples e um peixe consome, em geral, menos que um mamífero (GOUVEIA JR., MAXIMINO E BRITO, 2006).

Os peixes representam as mais velhas e diversas classes de vertebrados, chegando a ser praticamente 48% das espécies conhecidas do subfilo *vertebrata*. Atualmente há muitos campos de estudos utilizando o peixe como modelo animal: pesquisas respiratórias e cardiovasculares, cultura de células, disruptores endócrinos, gerontologia em peixes, biomedicina, neurofarmacologia, biologia molecular (BOLIS *et al.* 2001) e análise do comportamento.

O telencéfalo do peixe é desenvolvido através da porção rostral do tubo neural embrionário, o qual forma-se com dois hemisférios. Além de telencéfalo, o SNC também possui mesencéfalo e diencéfalo tegmentar, cerebelo e corpo e válvula cerebelar. Pesquisas envolvendo bases olfatórias, visuais e paladar são realizadas devido ao alto grau de especialização destas funções no sistema nervoso (KOTRSCHAL, VAN STAADEN E HUBER, 1998).

Estudos indicam que existem estruturas telencefálicas homólogas entre mamíferos e peixes teleósteos. Existem indícios de que o pallium medial e o pallium lateral, estruturas telencefálicas dos teleósteos, podem ser homólogas às amígdalas e ao hipocampo dos mamíferos, respectivamente (VARGAS *et al.*, 2006; GOMEZ *et al.*, 2006; PORTAVELLA E VARGAS, 2005; PORTAVELLA, TORRES E SALAS, 2004; PORTAVELLA *et al.*, 2003; PORTAVELLA *et al.*, 2002).

A facilidade de armazenamento e custeio do peixe, assim como a especialização de seu sistema nervoso e os indícios de estrutura neurais homólogas entre peixes e mamíferos, torna os animais piscinos excelentes modelos para praticamente qualquer pesquisa.

2.1 Emoção e Cognição em Peixes

Galhardo e Oliveira (2005), em sua revisão de estudos sobre bem estar em peixes, apontam que existem pesquisas com diversas espécies de peixes. Estas pesquisas revelam comportamentos indicadores de atenção seletiva a estímulos, capacidade de respostas antecipatórias, capacidade de possuir expectativas e capacidade de direcionamento flexível e integrado das respostas comportamentais.

São exemplos destas características cognitivas: o uso de informações em interações sociais adquiridas a partir de observações entre coespecíficos; reconhecimento individual com subsequente alteração do comportamento (estratégias de luta e mudança de cor); memória espacial complexa, flexível e com recursos de diversas estratégias adaptativas (incluindo formação de mapas cognitivos); e associação de estímulos distintos e não emparelhados, evidenciando comportamento antecipatório e predição das conseqüências dos seus atos.

2.2 Escototaxia

A escototaxia é um comportamento natural de preferência por escuridão encontrada em algumas espécies de peixes. Assim como o labirinto em cruz elevado para ratos, o teste de preferência claro-escuro pode ser um método experimental para investigar ansiedade e ansiedade induzida por drogas em peixes, tendo em vista o fator ansiogênico do lado claro do aparato (GOUVEIA JR. *et al.*, 2005).

Em situações em que um animal é predado, ou se vê defronte de um perigo intenso, uma seqüência previsível de reações ocorre com mecanismos de deflagração, topografia e fisiologia correlata extremamente similares em todos os mamíferos (BLANCHARD *et al.*, 1993).

A reação de defesa é uma seqüência de 3 níveis: ansiedade, medo e pânico, todos dependentes da proximidade do estímulo aversivo (GRAEFF, 1994; BLANCHARD & BLANCHARD, 1988). Estes níveis estão relacionados com 4 estratégias comportamentais: imobilização, fuga, agressão defensiva ou submissão (ZANGROSSI JR., 1996; BLANCHARD E BLANCHARD, 1988).

Essas estratégias comportamentais são altamente dependentes da história de vida do organismo. Tal tipo de comportamento implica em uma base relacionada com a ação da serotonina (5-HT), um sistema dual de ativação de todos os comportamentos em função da proximidade do estímulo (McNaught e Corr, 2004)

Tal relação não ocorre somente no sistema nervoso central, mas implica em alterações hormonais não específicas, chamadas comumente de estresse, com ênfase nas alterações do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal e simpático-adrenomedular em vertebrados, relativas à necessidade de manutenção de homeostase do organismo e acompanhada de alterações comportamentais (imobilização, fuga, agressão defensiva ou submissão) e fisiológicas (GOUVEIA JR., MAXIMINO E BRITO, 2006).

Experimentos realizados (MAXIMINO *et al.*, 2007; GOUVEIA *et al.*, 2006; SERRA, MEDALHA E MATTIOLI, 1999), indicam uma preferência natural (não aprendida pelo sujeito) dos peixes Dourado (*Carassius auratus*), Paulistinha (*Danio rerio*), Lambari (*Axtyanax autiparanae*), Néon (*Paracheirodon axelrodi*), Tuvira (*Gymnotus carapo*) e Lebiste (*Poecilia reticulata*) por escuridão. A Tilapia (*Oreochromis niloticus*) não apresentou comportamento de escototaxia.

Brito *et al.* (2007) estudaram o efeito da re-exposição ao teste de preferência claro-escuro nas espécies de teleósteos *Danio rerio* e *Carassius auratus*. Seus resultados indicam a re-exposição não altera o comportamento de escototaxia

do *Carassius auratus*. Mas que o *Danio rerio* apresentou mudanças significativas frente à repetição do teste de preferência claro-escuro.

Embora o número de espécies estudadas pareça alto, em comparação com a quantidade de espécies de peixes existentes, poucos são os dados encontrados que validam o teste de preferência claro-escuro como um método global de ansiedade em modelos animais piscinos. Faltando para este, ainda, uma validação farmacológica que indique sua capacidade de ser modulado por fármacos moduladores de ansiedade.

3. *Betta splendens* e Display Agressivo

O peixe de briga do Sião (*Betta Splendens*) é uma espécie que tem sido bastante utilizada em estudos de agressão (GOUVEIA, MAXIMINO E BRITO, 2006). Devido à fácil observação de seus comportamentos agressivos (*display* agressivo), os estudos relacionados a esta espécie são, em sua grande maioria, referentes a estes comportamentos.

O *display* agressivo caracteriza-se pela movimentação em direção ao outro peixe estímulo, um aumento na coloração do corpo, e abertura do opérculo e abertura das nadadeiras dorsal e caudal (BRONSTEIN, 1994; EVANS, 1985).

Em 1932, Lissman apresenta um dos primeiros estudos acerca da influência do ambiente sobre a emissão do *display* agressivo, na época denominado como comportamento de fuga (*flight behavior*). Lissman indica que a resposta agressiva do *Betta* possui três fases: (1) aproximação acompanhada pelo aumento da coloração do corpo e abertura das nadadeiras; (2) um contato bem aproximado no qual o animal nada em paralelo ao objeto aversivo; e (3) o ataque. Neste estudo o autor sugere que a visão possui um importante controle sobre este comportamento

agressivo, indicando a emissão do *display* tanto na presença de um espelho, quanto na presença de outros machos. Na presença de fêmeas, os experimentadores sugerem a não ocorrência da terceira fase, indicando assim que a exibição do *display* pode também possuir uma alta funcionalidade sexual.

A funcionalidade sexual do *display* é observada por Doutrelant e McGregor (2000) em estudo no qual verificou-se que fêmeas, ao assistir as lutas, visitavam primeiro e permanecem mais tempo com os machos vencedores.

Muitos são os estudos acerca das condições de emissão do *display* (espelho, luta direta com coespecíficos e luta com barreira transparente com coespecíficos), hierarquia, habituação e condições determinantes para alteração da emissão do *display* agressivo. Existem três principais métodos de estudos acerca dos comportamentos agonísticos do *Betta splendens*, sendo estes o confronto direto com outro coespecífico, o encontro indireto separado por barreiras transparentes e a apresentação de espelho.

Estudos demonstram que tamanho do corpo e tempo de residência no aparato (aprendizagem de pistas ambientais) determinam macho dominante e submisso (BRONSTEIN, 1984; BRONSTEIN 1985a). Sujeitos dominantes apresentaram uma maior taxa de *displays* agressivos, um maior número de ataques e que constrói o maior ninho. Enquanto que sujeitos subordinados apresentaram uma maior taxa de esquivas. Portanto, animais com maiores taxas de *display* agressivo tornam-se tem uma maior probabilidade de tornarem-se dominantes. Existe uma estabilidade na taxa de *display* por até um mês, mas as exposições a situações de luta podem alterar esta estabilidade: sujeitos com alta taxa de *display* após um longo período de exposição diminuem a taxa de respostas agressivas e sujeitos com baixa taxa de *display* aumentam sua resposta agressiva (BRONSTEIN,

1994). Lembrando que sujeitos expostos ao espelho não alteram a taxa de comportamentos e nem indicam relação de dominância (BRONSTEIN, 1985b; WALLEN E WOJCIECHOWSKI-METZLAR, 1985)

A taxa de *display* pode ser alterada dependentemente à resposta de coespecíficos e ao estímulo apresentado. Hogan e Bols (1980) observaram que sujeitos que apresentam um maior número de *display*, em um teste de escolha entre um coespecífico, espelho e alimentos, são mais facilmente motivados quando em frente a outro coespecífico.

Bronstein (1981) observou em lutas diretas entre coespecíficos que o *display* agressivo é diretamente proporcional à persistência de ataque do oponente e é inversamente proporcional a distância entre os sujeitos. Em outro experimento, Bronstein (1983) observou que em lutas diretas entre coespecíficos os sujeitos emitem *display* a uma distância maior do que quando expostos ao estímulo espelho.

Referente à habituação dos comportamentos de *display*, Meliska e Meliska (1976) observaram que a taxa de emissão de *display* permaneceu a mesma tanto para sujeitos pré-expostos ao espelho, quanto pré-expostos a coespecíficos. Clayton e Hinde (1968) identificaram habituação após 24h de exposição ao espelho. Sendo que a quantidade de *display* emitido volta a ser alto entre o primeiro e segundo dias após a retirada do espelho, mas ainda são menores que a linha de base. Klein, Figler e Peeke (1975) em estudos acerca de lutas com barreira visual sugeriram que mesmo após 6h de contato visual não houve habituação do comportamento de *display*. Peeke e Peeke (1970) indicaram que houve habituação de mordidas após 90 min; e habituação do *display* após 105 min em sujeitos expostos a luta por contato visual durante 15 min durante 20 dias consecutivos. Houve também

habituação das mordidas após 270 min e habituação do *display* após 120 min em sujeitos expostos a luta por contato visual durante 60 min por 5 dias consecutivos.

Shapiro e Schuckman (1971) estudaram a habituação do *display* agressivo em seis *bettas*. Estes foram expostos a 6 exposições, de 2 min, durante 10 dias consecutivos, sendo que duas exposições foram realizados com espelho, duas com exposição visual a um estímulo vivo e duas a uma figura. Os resultados indicam que embora houvesse diferenças comportamentais entre os estímulos, não houve diminuição na taxa de emissão de *display* no decorrer das exposições.

Condições da água também não alteram a taxa de emissão do *display*. Simon (1971) estudou o efeito de quimiorreceptores na eliciação do *display*. Quatro sujeitos permaneceram durante 21 dias consecutivos em aquários individuais. Após esse período foram trocados entre si de aquários por 15 min e recolocados em seus aquários originais e observados novamente por mais 15 min. Os resultados indicam que quimiorreceptores não eliciam o comportamento de *display*. Dore, Lefebvre e Ducharme (1978) expuseram os animais a três tipos de água: (1) em que um outro *betta* havia previamente emitido o *display* agressivo , (2) em que houve uma luta entre dois animais e (3) em água limpa. Não houve diferenças entre a latência e frequência do *display* agressivo em nenhuma das três águas.

Alterações das taxas de emissão do *display* agressivo podem ocorrer de acordo com o ambiente e suas consequências. Abraham, Hobb & Hare (2005) estudaram a funcionalidade do comportamento de abertura de opérculo durante o *display*. Os autores realizaram testes de *display* com espelho em solução com concentrações normais de oxigênio e concentrações baixas de oxigênio. Os resultados indicaram que há uma diminuição da taxa do comportamento de abertura de opérculo em solução com baixa concentração de oxigênio, sugerindo assim que

este comportamento compromete a irrigação de oxigênio nas brânquias. Melvin *et al.* (1986) parearam choque a emissão do *display* agressivo em três níveis: intensidade (voltagem), duração e frequência (combinando dois níveis de intensidade) e observaram que menores intensidades, duração e frequências moderadas de choque aumentam a duração do *display* agressivo, enquanto que maiores intensidades, duração e frequências o suprimem.

Outros estudos indicam a ação da audiência sobre a taxa de emissão de *display*. Machos pré-expostos à audiência aumentam a taxa de agressividade independente da presença desta durante a luta (MATOS, PEAKE E MCGREGOR, 2003) e que o tipo de audiência (macho ou fêmea) altera a taxa de emissão do *display* (Matos e McGregor, 2002; Doutrelant, McGregor e Oliveira, 2001).

Experimentos com audiência indicam que o *display* pode ser aprimorado a partir de observações de lutas de outros coespecíficos. Oliveira, McGregor e Latruffe (1998) expuseram um sujeito ao centro de um aparato, no qual era possível observar uma luta com barreiras entre coespecíficos. O sujeito espião, ao ser exposto aos sujeitos da luta que observava, passa a comportar-se diferentemente de acordo com o desempenho de cada sujeito na luta. O espião, portanto, passa a emitir um maior número de *displays* para o sujeito que emitiu um maior número de *displays* na luta observada e um menor número de *displays* para o sujeito que emitiu menor número de *displays* na luta observada.

Mcgregor, Peake e Lampe (2001) também observaram os mesmos resultados, o espião responde com menores latências, maior tempo de proximidade e apresenta um maior número de batidas de cauda e mordidas para com os sujeitos que aparentaram vitória nas lutas posteriormente observadas. Clotflter e Paolino (2003) indicam que o espião torna-se dominante na maioria dos encontros.

Karino e Someya (2007) observaram a linhagem genética na taxa de emissão de *display* e o efeito de experiência de lutas anteriores na alteração desta taxa. Os sujeitos foram separados em linhagens: (1) macho vermelho e fêmea amarela; (2) macho verde e fêmea azul; e (3) macho azul e fêmea roxa. Neste caso as linhagens genéticas (1), (2) e (3) apresentam fenótipos diferentes para machos e fêmeas. Foram realizados os seguintes testes: linha de base com espelho em cada um dos sujeitos; interações diretas entre as linhagens (machos com machos e fêmeas com fêmeas); e re-teste com espelho após as interações. Os resultados indicam que cada linhagem apresentou a mesma taxa de agressividade entre seus sujeitos, sendo que machos foram mais agressivos que fêmeas. A primeira linhagem foi a menos agressiva. Nas interações entre linhagens, tanto machos quanto fêmeas da linhagem 1 apresentaram um maior número de derrotas. No re-teste com espelho, indivíduos que foram derrotados apresentaram uma menor taxa de abertura de opérculo, enquanto que os ganhadores apresentaram uma maior taxa, indicando assim influência de experiência de lutas anteriores na emissão do *display*.

Poucos são os estudos do efeito de drogas na emissão do *display*. Baenninger (1968) demonstrou que adrenalina e noradrenalina suprimem as taxas de *display* agressivo. Brown *et al.* (1984) demonstraram que sujeitos intoxicados intraperitonealmente por MIF-1, agente que aumenta a atividade e o comportamento defensivo em ratos e peixe dourado, apresentaram uma diminuição em sua atividade locomotora e aumento significativo na resposta agressiva.

Braud e Weibel (1969) associaram a taxa de comportamento agressivo sob efeito de morfina ou fenergan a um estímulo neutro (luz vermelha ou verde). O experimento realizou-se em três etapas: (1) pré-teste, exposição do sujeito ao espelho com luz verde ou vermelha; (2) treino, intoxicação hídrica e exposição ao

espelho com luz verde ou vermelha; e (3) pós-teste, exposição ao espelho com luz verde ou vermelha. Tanto no pré-teste como no pós-teste não há intoxicação. Os resultados indicaram que no treino os animais intoxicados com morfina aumentaram a taxa de comportamentos agressivos, enquanto que os sujeitos intoxicados por fenergan diminuíram a taxa. No pós-teste observou-se que mesmo sem a intoxicação, manteve-se a mesma taxa de agressividade encontrada no treino, indicando pareamento entre a luz e o efeito das drogas sobre a emissão do *display* agressivo.

Gouveia Jr. *et al.* (2007) publicaram o único trabalho que observa o efeito de metais pesados sobre a alteração da taxa de emissão do *display* agressivo. Foram ministradas doses de metilmercúrio em doses agudas (16 µg/kg) e repetidas (cinco doses de 16 µg/kg/dia) por via trófica (1g de artêmias/ 10g de *Betta*). Os animais eram colocados em luta por contato visual com barreira. Foram medidos 12 comportamentos do *display* em um etograma, sendo que estes comportamentos foram divididos em: componentes correlatos do *display* (boiar, descansar no fundo, emergir para engolir ar, mexer o corpo, arquear o corpo, carga e afastar), componentes de mobilidade do *display* (nadar lentamente com as nadadeiras peitorais, padrão de nado ondulatório, abertura de opérculos) e componentes próprios do *display* (*display* vertical e *display* horizontal). Observou-se que o metilmercúrio possui um efeito dose-dependente de intoxicação crônica e aguda sobre estas respostas, sendo este efeito mais severo na diminuição dos componentes de mobilidade do *display*.

Como se pode observar, a alteração do *display* pode se dar em função de pareamento, audiência, observação de lutas, acasalamento e por contaminação ou intoxicação de substâncias.

OBJETIVOS

1. Padronizar o uso do Teste e Re-Teste da Preferência Claro-Escuro e do Teste e Re-teste do *Display Agressivo* para o *Betta splendens*
2. Descrever o efeito da intoxicação progressiva e aguda de chumbo sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro do *Betta splendens*
3. Descrever o efeito da intoxicação progressiva e aguda de chumbo sobre o Teste de *Display Agressivo* do *Betta splendens*

MÉTODO

Sujeitos

Foram utilizados 23 peixes de briga do Sião (*Betta splendens*), todos machos, ingênuos, com peso médio de $1,42 \pm 0.2$ g mantidos em aquários individuais (14 x 6 x 11cm, 500ml de água), isolados visualmente uns dos outros, com luz natural, nível de Ph médio de 7.1 ± 0.2 e temperatura média de $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

Os animais foram comprados em *pet shop* local (Vitoria Regia, Belém) e adaptados por 15 dias antes do início dos experimentos em laboratório, com alimentação de ração Mini *Betta*, (Alcon, Brasil). Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Neurociências e Comportamento, do ICB, da UFPA².

Equipamento Geral

Para o *Teste de Preferência Claro-Escuro*, foram utilizados, de maneira geral, três aquários de acrílico de igual tamanho (15 x 10 x 45 cm). Todos eles tinham diferentes colorações, dependendo do teste ao qual foram submetidos: duas metades branco (BB), duas metades preto (PP) e metade branco e metade preto (BP). Uma coluna de água de 7 cm foi mantida durante todos os testes. Os aquários possuíam um compartimento central (15 x 10 x 10 cm) com duas comportas, ambas removíveis, que delimitavam a área central do aparato e possuíam a mesma coloração do lado do aquário que estavam delimitando.

² Belém do Pará localiza-se aproximadamente a 15' ao sul da Linha do Equador, apresentando ciclo de luz de 12/12h e temperatura de aproximadamente $28 \pm 4^\circ\text{C}$.

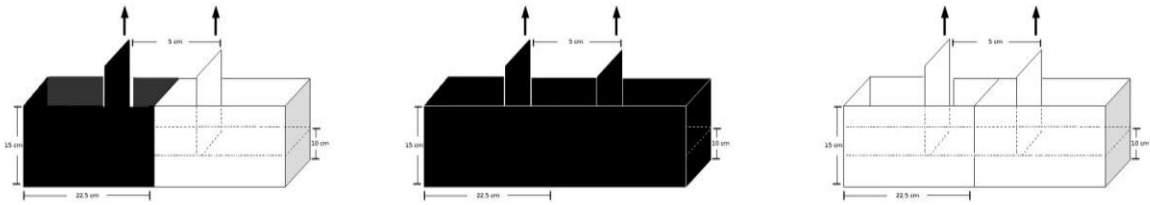


Figura 1. Caixas utilizadas como aparato nos Experimentos (1), (2), (3) e (4). Da esquerda para a direita: Caixa Branco/Preto (BP), Caixa Preto/Preto (PP) e Caixa Branco/Branco (BB).

Para registro do *Teste de Display Agressivo*, foram utilizados aquários próprios para *Betta* (14 x 6 x 11 cm), um espelho (15 x 7 cm) e uma barreira de papel opaco com as mesmas medidas do espelho.

Intoxicação

A Intoxicação foi realizada por via hídrica (a solução de chumbo era misturada à água do aquário em que o sujeito estava armazenado), foi utilizado Citrato de Chumbo ($\text{CH}_3(\text{OO})_2\text{Pb}_3\text{H}_2\text{O}$) em doses corrigidas pelo peso atômico (grau de correção de 1,796). 0,215 citrato de chumbo era dissolvido em 120 ml de água bidestilada. Um mililitro desta solução colocada em 500 ml de água caracterizava-se em uma dose igual a $12\mu\text{g}$ de chumbo por litro de água do aquário ($12\mu\text{gPb/L}$). Cada grupo foi submetido a um de dois procedimentos: (1) Grupo Intoxicação Progressiva, composta de cinco intoxicações repetidas de $12\mu\text{g/l}$ em intervalos de 24h; (2) Grupo Intoxicação aguda, composta de uma única intoxicação de $60\mu\text{g/l}$ com tempo de exposição de 24h.

Procedimento Geral

Os animais eram colocados no aparato no qual seriam submetidos aos testes: (1) Teste de Preferência Claro-Escuro e (2) Teste de *Display* Agressivo

No Teste de Preferência Claro-Escuro, cada animal era colocado individualmente no aparto, na área central, e, após 300 segundos, iniciavam-se os testes com a retirada das comportas do compartimento. O teste termina 900 segundos após seu início. Entre uma sessão e outra, os aquários eram preferencialmente girados em 180°, evitando a influência de sinais externos ou lateralidade do animal.

As medidas observadas foram: (1) Primeira Latência: período de tempo referente ao cruzamento do compartimento de primeira escolha para o outro compartimento do aquário; (2) Número de Alternâncias: número de vezes que o sujeito cruzava de um compartimento para o outro; (3) Tempo Total nos Compartimentos: tempo total de permanência em cada um dos compartimentos. Considerou-se o cruzamento de um compartimento para o outro quando a nadadeira anal ultrapassava o centro do aquário.

No Teste de *Display* Agressivo, cada animal era colocado individualmente em um aquário próprio para *Betta* e, após 300 segundos, iniciavam-se os testes com a retirada da barreira opaca e apresentação do espelho. O teste terminava após 300 segundos de exposição. Foi medida a frequência de emissão dos seguintes comportamentos:

Tabela 1. Comportamentos do *display* analisados por sessão.

Comportamentos do <i>Display</i>			
	Abrev.	Comportamento	Explicação
Componentes Próprios do <i>Display</i> (CPD)	DH	<i>Display</i> Horizontal	Movimento em eixo horizontal com abertura de nadadeiras dorsais, caudais e opérculo
	DV	<i>Display</i> Vertical	Movimento em eixo vertical com abertura de nadadeiras dorsais, caudais e opérculo
Componentes de Mobilidade do <i>Display</i> (CMD)	Ab	Abertura de Opérculo	Abertura de opérculo, sem DH ou DV
	NL	Nado Lento	Movimento lento, vertical ou horizontal, sem DH ou DV, usando as nadadeiras peitorais.
	NO	Nado Ondulado	Movimento rápido, vertical ou horizontal, sem DH ou DV, usando as nadadeiras caudais
Componentes Correlatos do <i>Display</i> (CCD)	B	Boiar	Sem movimento e sem nenhuma nadadeira aberta
	D	Descansar	Sem movimento, apoiado no fundo do aquário e sem nenhuma nadadeira aberta
	E	Emergir	Emergir a superfície e engolir ar
	Af	Afastar	Movimento de periférico, caracterizado pelo afastamento. Seguido de movimento rápido em direção ao espelho (geralmente carga)
	C	Carga	Movimento rápido em direção ao espelho

			em situação de DH ou DV
	MC	Mostrar o Corpo	Movimento ondulatório frente ao espelho em situação de DH
	Ar	Arquear	Posição diagonal (aprox. 45°) frente ao espelho, com ou sem movimento, sem situação de DH ou DV

Os testes foram filmados por uma câmera digital (Kodak EasyShare C613). Os comportamentos foram transcritos com o software Etholog 2.2 (Ottoni, 1999).

Procedimento Estatístico

Para o Teste de Preferência Claro-Escuro foram realizadas uma análise estatística dos dados com ANOVA (*two-way*) ou ANOVA (*one-way*), seguida de um pós-teste de Tukey quando necessário.

Para o Teste de *Display* Agressivo utilizou-se ANOVA (*one-way*), seguida do pós-teste de Tukey quando apropriado.

Experimento 1 - Validação do Teste de Preferência Claro-Escuro

O objetivo é identificar o comportamento de escototaxia para o *Betta splendens* e validar o Teste de Preferência Claro-Escuro.

Sujeitos

Foram submetidos 7 sujeitos machos ingênuos, mantidos nas mesmas condições descritas anteriormente.

Aparato

Foram utilizados os aquários branco/branco (BB), preto/preto (PP) e branco/preto (BP), com características descritas anteriormente.

Intoxicação

Não houve intoxicação

Procedimento

Os animais foram randomicamente submetidos aos aparatos BB, PP e BP. Todos sujeitos foram expostos uma vez a cada uma das caixas. Trinta minutos depois da primeira exposição, o mesmo animal era colocado em outra caixa na qual este ainda não havia sido exposto. Após outros 30 minutos, o animal era exposto à terceira caixa.

Seguiu-se o mesmo protocolo do Teste de Preferência Claro-Escuro anteriormente descrito.

Experimento 2 – Efeito do Teste e Re-Teste de Preferência Claro-Escuro

O objetivo é verificar o efeito de cinco exposições consecutivas ao Teste de Preferência Claro-Escuro sobre o comportamento de escototaxia do *Betta splendens*.

Sujeitos:

Os mesmos 7 sujeitos utilizados no experimento 1.

Aparato

Aquário branco/preto (BP).

Intoxicação

Não houve intoxicação.

Procedimento

Os sujeitos foram expostos ao aquário branco/preto por cinco vezes consecutivas, com um intervalo de 24h entre as exposições. O protocolo é o mesmo anteriormente descrito para o Teste de Preferência Claro-Escuro.

Experimento 3 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro

O objetivo é verificar o efeito da intoxicação progressiva de chumbo sobre o comportamento de escototaxia do *Betta splendens* no Teste de Preferência Claro-Escuro.

Sujeitos

Foram submetidos 8 sujeitos machos e ingênuos, armazenados nas mesmas condições anteriormente descritas.

Aparato

Aquário branco/preto (BP).

Intoxicação

Foram administradas cinco doses de 12 μ g/l de Pb, via hídrica, em intervalos de 24h. A água do aquário era trocada a cada nova dosagem.

Procedimento

Os sujeitos foram expostos a cinco testes de preferência claro-escuro com um intervalo de 24h entre testes. Cada teste ocorria após 18h de exposição do animal a cada dosagem. Cumulativamente, considerou-se que as doses administradas foram de 12 μ gPb/L para o teste 1, 24 μ gPb/L para o teste 2, 36 μ gPb/L para o teste 3, 48 μ gPb/L para o teste 4 e 60 μ gPb/L para o teste 5.

Como controle utilizou-se os dados do experimento 2. O protocolo é o mesmo descrito anteriormente.

Experimento 4 – Efeito da Intoxicação Aguda sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro

O objetivo é verificar o efeito da intoxicação aguda de chumbo sobre o comportamento de escototaxia do *Betta splendens* no Teste de Preferência Claro-Escuro.

Sujeitos

Foram submetidos 8 sujeitos machos e ingênuos, armazenados nas mesmas condições anteriormente descritas.

Aparato

Foi utilizado o aquário branco/preto (BP).

Intoxicação

Foi administrada, por via hídrica, uma dose de 60µg/l de Pb. A cada 24h a água do aquário era trocada.

Procedimento

Os sujeitos foram expostos a cinco testes de preferência claro-escuro com um intervalo de 24h entre testes. O primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto testes ocorreram, respectivamente, 24, 48, 72, 96, 120 horas após a intoxicação de 60µgPb/L.

Como controle utilizou-se os dados do experimento 2. O protocolo é o mesmo descrito anteriormente.

Experimento 5 - Efeito do Teste e Re-Teste do *Display Agressivo*

O objetivo é verificar o efeito de cinco exposições consecutivas ao Teste de *Display Agressivo* sobre o comportamento de *display* do *Betta splendens*.

Sujeitos

Foram utilizados os mesmos 7 sujeitos do experimento 2.

Aparato

Aquário próprio para *Betta*, um espelho e uma barreira de papel opaco.

Intoxicação

Não há intoxicação.

Procedimento

Os sujeitos foram expostos a cinco testes consecutivos de *display* agressivo com um intervalo de 24h entre testes. Somando ao todo 25 min de exposição para cada sujeito.

O protocolo é o mesmo descrito anteriormente.

Experimento 6 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de *Display Agressivo*

O objetivo é verificar o efeito da intoxicação progressiva de chumbo sobre o comportamento de *display* do *Betta splendens* no Teste de *Display Agressivo*.

Sujeitos

Foram utilizados os mesmos 8 sujeitos do experimento 3.

Aparato

Aquário próprio para *Betta*, um espelho e uma barreira de papel opaco.

Intoxicação

Foram administradas cinco doses de 12µg/l de Pb, via hídrica, em intervalos de 24h. A água do aquário era trocada a cada nova dosagem.

Procedimento

Os sujeitos foram expostos a cinco testes consecutivos de *display* agressivo, com um intervalo de 24h entre eles. Cumulativamente, considerou-se que as doses administradas foram de 12 µgPb/L para o teste 1, 24 µgPb/L para o teste 2, 36 µgPb/L para o teste 3, 48 µgPb/L para o teste 4 e 60 µgPb/L para o teste 5. Somou-se, ao todo, 25 min de exposição ao teste de *display* agressivo para cada sujeito.

Como grupo controle foram utilizados os dados do experimento 5. O protocolo é o mesmo descrito anteriormente.

Experimento 7 - Efeito Intoxicação Aguda sobre o Teste de *Display* Agressivo

O objetivo é verificar o efeito da intoxicação aguda de chumbo sobre o comportamento de *display* do *Betta splendens* no Teste de *Display* Agressivo.

Sujeitos

Foram utilizados os mesmos 8 sujeitos do experimento 4.

Aparato

Aquário próprio para *Betta*, um espelho e uma barreira de papel opaco.

Intoxicação

Foi administrada, por via hídrica, uma dose de 60µg/l de Pb. A cada 24h a água do aquário era trocada.

Procedimento

Os sujeitos foram expostos a cinco testes de *display* agressivo, com um intervalo de 24h entre testes. O primeiro, segundo, terceiro, quarto e quinto testes ocorreram, respectivamente, 24, 48, 72, 96, 120 horas após a intoxicação de 60µgPb/L. Somou-se, ao todo, 25 min de exposição ao teste de display agressivo para cada sujeito.

Como grupo controle foram utilizados os dados do experimento 5. O protocolo é o mesmo descrito anteriormente.

RESULTADOS

Experimento 1 - Validação do Teste de Preferência Claro-Escuro

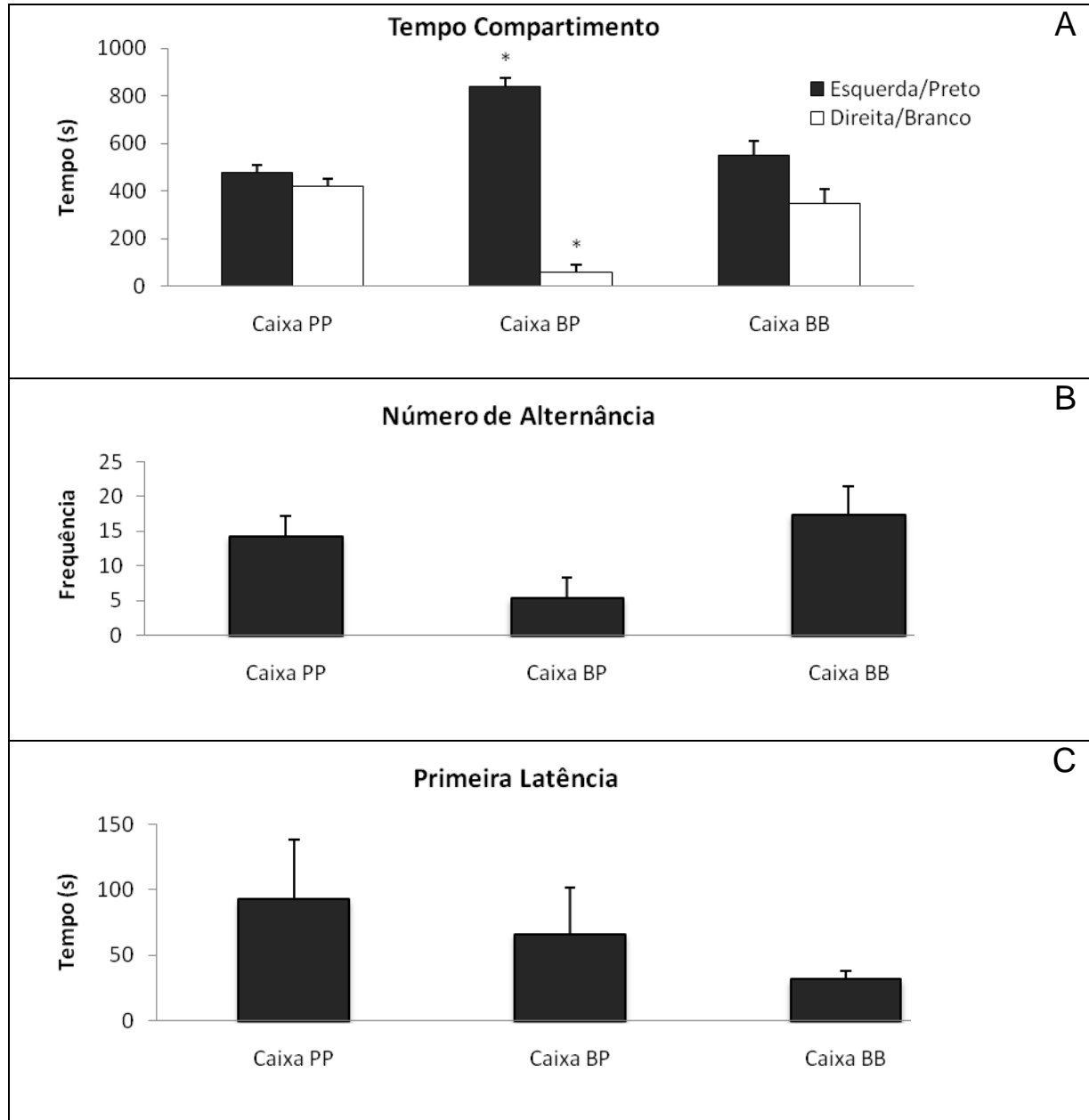


Figura 2. Experimento 1. Validação da preferência claro-escuro do *Betta splendens* (n=7, experimentalmente ingênuos). O painel A representa o tempo de permanência (Média \pm Erro Padrão) nos compartimentos branco e preto para a caixa BP (Branco/Preto) ou nos compartimentos esquerdo e direito para as caixas BB (Branco/Branco) e PP (Preto/Preto). O painel B representa a frequência do número de alternâncias (Média \pm Erro Padrão) entre caixas PP, BB e BP. O painel C representa a primeira latência (Média \pm Erro Padrão) entre caixas PP, BB e BP.

Tabela 2. Valores estatísticos do Experimento 1.

EXPERIMENTO 1						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	Tempo nos Compartimentos	Caixa	2,36	0	1	(BP) Preto*Branco..sim
		Ambiente	1,36	99,466	<0,001	(PP) Esq*Dir.....não
		Caixa*Ambiente	2,36	40,054	<0,001	(BB) Esq*Dir.....sim
						BP*PP.....sim BP*BB.....sim BB*PP.....não
2	Alternância	Caixa	2,18	3,297	0,060	---
3	Primeira Latência	Caixa	2,18	0,807	0,462	---

A Figura 2 apresenta os dados de validação do teste de preferência claro-escuro. Sendo que o painel A mostra o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto para a caixa BP, ou os compartimentos esquerdo e direito para as caixas BB e PP. O painel B mostra a frequência de alternâncias nas caixas BP, BB e PP. E o painel C mostra o tempo de primeira latência nas caixas BP, BB e PP.

Como indicado na Tabela 2, linha 1, os fatores analisados no painel A foram caixa (BP, BB ou PP) e ambiente (esquerda/direita ou preto/branco). Não houve diferença estatisticamente significativa no fator caixa, mas sim no fator ambiente e na interação entre fatores. Entretanto, o pós teste indicou diferenças tanto entre os ambientes branco e preto na caixa BP, quanto entre os ambientes esquerdo e direito da caixa BB. Houve também diferenças entre BP vs BB e caixas BP vs PP.

No painel B, linha 2, e painel C, linha 3, o fator analisado foi caixa. Não houve diferenças estatisticamente significativas, entre as caixas, em nenhuma das duas variáveis.

Experimento 2 – Efeito do Teste e Re-Teste de Preferência Claro-Escuro

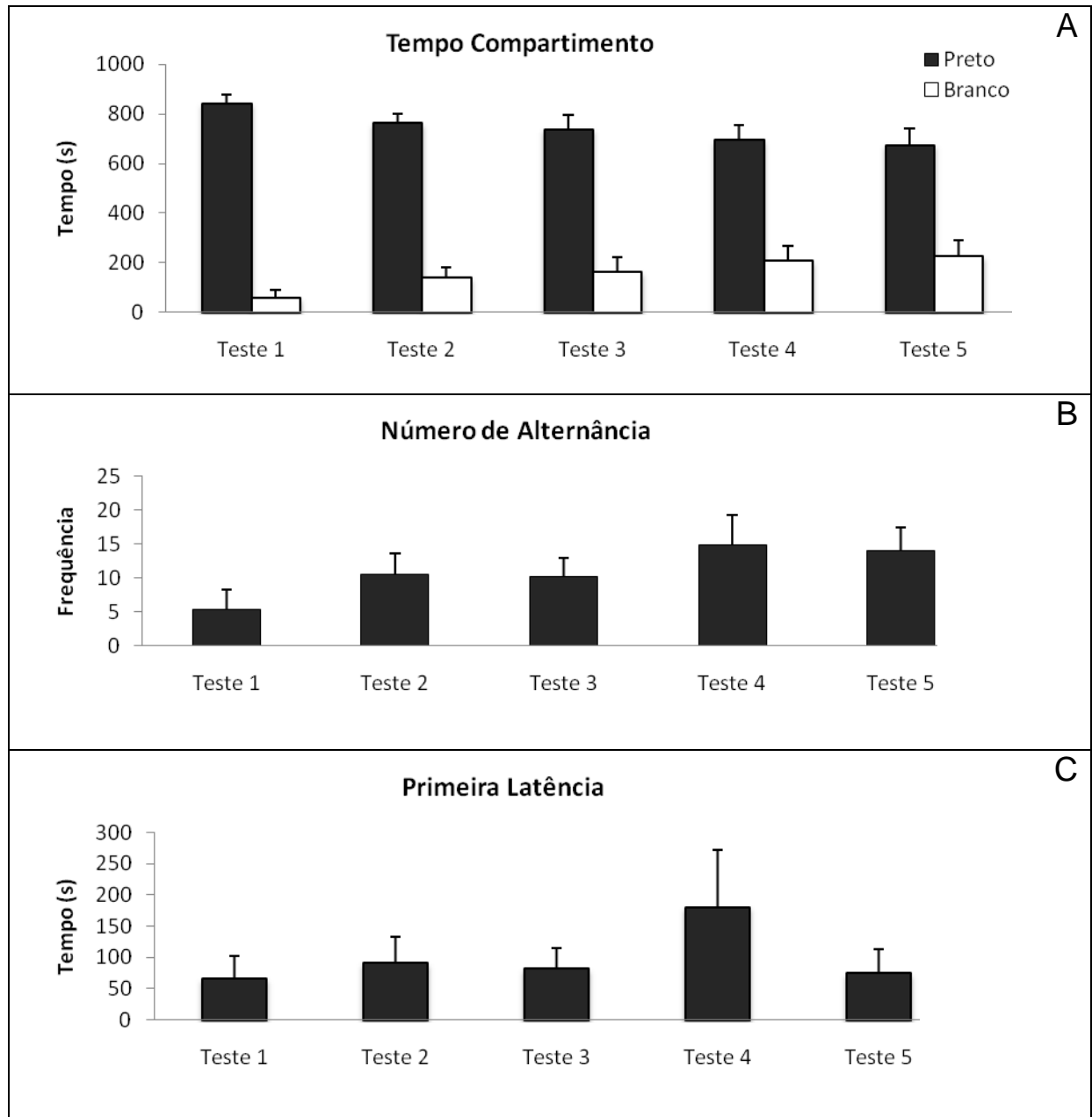


Figura 3. Experimento 2. Teste e re-teste da preferência claro-escuro do *Betta splendens* (n=7, mesmos sujeitos do Experimento 1). O painel A representa o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto (Média ± Erro Padrão) para a caixa BP (Branco/Preto) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência do número de alternâncias (Média ± Erro Padrão) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a primeira latência (Média ± Erro Padrão) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24 horas, ao Teste de Preferência Claro-Escuro.

Tabela 3. Valores estatísticos do Experimento 2.

EXPERIMENTO 2					
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey
1 Tempo Preto e Branco	Teste	2,36	0,503	0,734	(T1) Preto*Branco.....sim
	Ambiente	1,36	255,055	<0,001	(T2) Preto*Branco.....sim
	Teste*Ambiente	2,36	3,204	2,963	(T3) Preto*Branco.....sim (T4) Preto*Branco.....sim (T5) Preto*Branco.....sim
2 Alternância	Teste	4,30	1,175	0,342	---
3 Primeira Latência	Teste	4,30	0,757	0,561	---

A Figura 3 apresenta os dados da re-exposição ao teste de preferência claro-escuro. O painel A mostra o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de alternâncias nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel C mostra o tempo de primeira latência nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada um dos testes corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24h, ao Teste de Preferência Claro-Escuro.

Como indicado na Tabela 3, linha 1, os fatores analisados no painel A foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5) e ambiente (preto ou branco). Nota-se que não houve diferença estatisticamente significativa no fator teste, mas houve diferença no fator ambiente e na interação entre fatores. Sendo que o pós teste indicou diferenças entre os ambientes branco e preto nos testes 1, 2, 3, 4 e 5 e nos ambientes esquerdo e direito da caixa BB. Há também diferenças para o ambiente branco entre os testes 1 e 4.

No painel B, linha 2, e painel C, linha 3, o fator analisado foi teste e não houve diferenças estatisticamente significativas em nenhuma das duas variáveis.

Experimento 3 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Preferência

Claro-Escuro

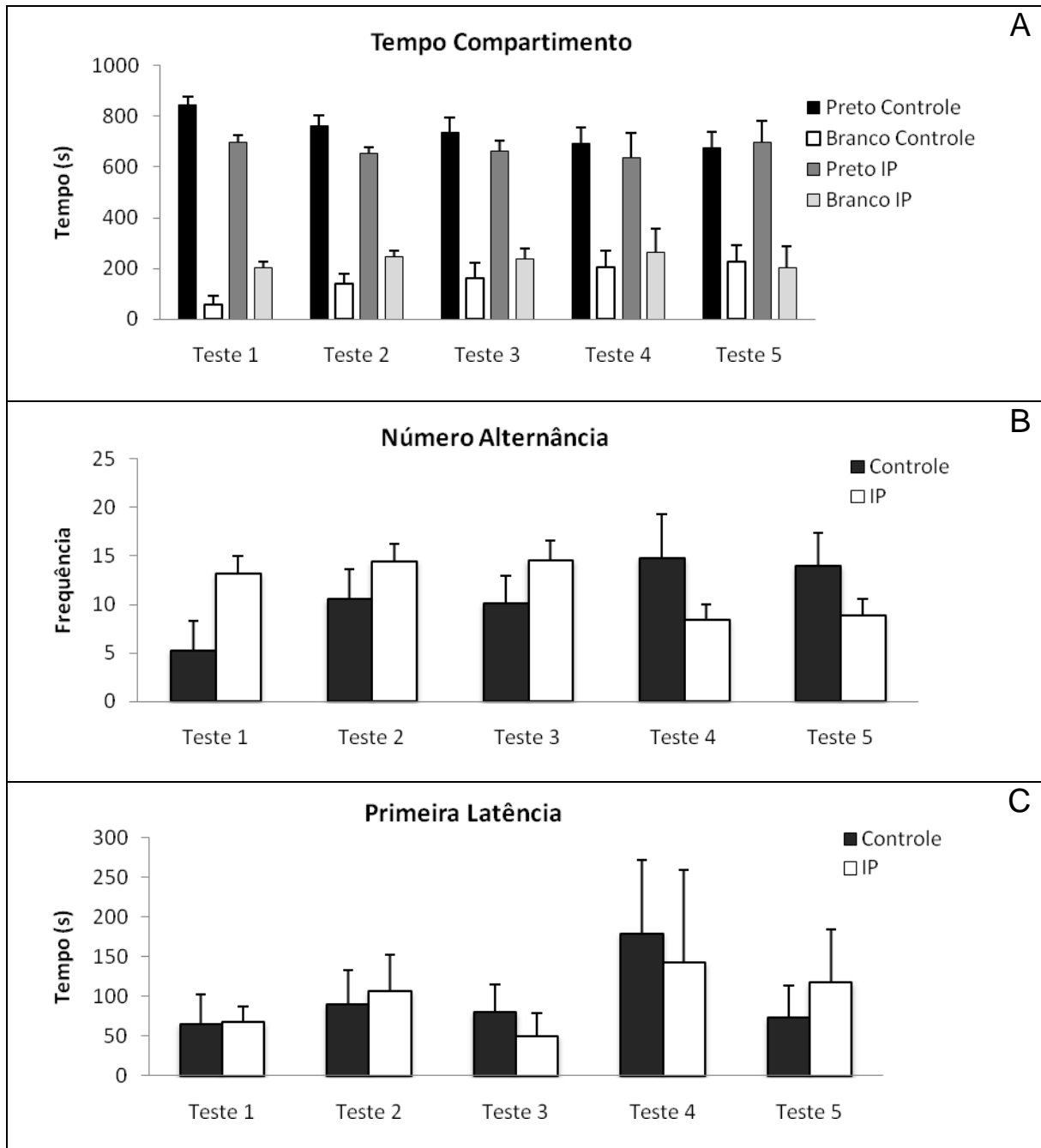


Figura 4. Experimento 3. Efeito da intoxicação progressiva sobre o teste de preferência claro-escuro do *Betta splendens* (n=8, experimentalmente ingênuos). O painel A representa o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto (Média \pm Erro Padrão) para a caixa BP (Branco/Preto), nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência do número de alternâncias (Média \pm Erro Padrão), nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a primeira

latência (Média \pm Erro Padrão), nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde à uma exposição do sujeito ao Teste de Preferência Claro-Escuro, na dosagem progressiva de 12, 24, 36, 48 e 60 $\mu\text{gPb/L}$, respectivamente.

Tabela 4. Valores estatísticos do Experimento 3.

EXPERIMENTO 3					
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey
1 Tempo Preto e Branco	Teste	4,194	0	1	Grupo Controle:
	Grupo	2,194	0	1	(T1) Preto*Branco.....sim
	Ambiente	1,194	327,725	<0,001	(T2) Preto*Branco.....sim
	Teste*Grupo	8,194	0	1	(T3) Preto*Branco.....sim
	Teste*Ambiente	4,194	1,552	0,191	(T4) Preto*Branco.....sim
	Grupo*Ambiente	2,194	6,413	0,013	(T5) Preto*Branco.....sim
	Teste*Ambiente*Grupo	8,194	0,990	0,416	Teste1*Teste2.....sim
					Teste1*Teste3.....sim
					Teste1*Teste4.....não
					Teste1*Teste5.....sim
				Teste2*Teste3.....não	
				Teste2*Teste4.....sim	
				Teste2*Teste5.....sim	
				Teste3*Teste4.....sim	
				Teste3*Teste5.....sim	
				Teste4*Teste5.....sim	
				Grupo IP:	
				(T1) Preto*Branco.....sim	
				(T2) Preto*Branco.....sim	
				(T3) Preto*Branco.....sim	
				(T4) Preto*Branco.....sim	
				(T5) Preto*Branco.....sim	
				Teste1*Teste2,3,4,5..não	
				Teste2*teste3,4,5.....não	
				Teste3*Teste4,5.....não	
				Teste4*Teste5.....não	
2 Alternância	Teste	4,97	0,425	0,790	
	Grupo	2,97	0,524	0,472	---
	Teste*Grupo	8,97	2,071	0,095	
3 Primeira Latência	Teste	4,97	2,053	0,093	
	Grupo	2,97	0,038	0,963	---
	Teste*Grupo	8,97	0,148	0,996	

A figura 4 apresenta os dados do efeito da intoxicação progressiva no teste de preferência claro-escuro. O painel A mostra o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de alternâncias nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel C mostra o tempo de

primeira latência nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada um dos testes corresponde, respectivamente, à exposição ao Teste de Preferência Claro-Escuro, nas dosagens progressivas de 12, 24, 36, 48 e 60 $\mu\text{gPb/L}$.

Como indicado na Tabela 3, linha 1, os fatores analisados no painel A foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5), grupo (controle ou intoxicação progressiva) e ambiente (preto ou branco). Não houve diferença estatisticamente significativa nos fatores teste e grupo, nem nas interações teste vs grupo, teste vs ambiente e teste vs grupo vs ambiente. Contudo, houve diferença no fator ambiente e na interação entre os fatores grupo vs ambiente. Já o pós teste indicou diferenças entre os ambientes branco e preto nos testes 1, 2, 3, 4 e 5, nos grupos controle e IP. Para o grupo controle há diferenças nos testes 1 e 2, 1 e 3, 1 e 5, 2 e 4, 2 e 5, 3 e 4, 4 e 5. Não havendo diferenças entre os testes 1, 2, 3, 4 e 5 do grupo IP.

No painel B, linha 2, e painel C, linha 3, os fatores analisados foram teste e grupo. Não houve diferenças estatisticamente significativas nos fatores teste e grupo, nem em sua interação, para as duas variáveis testadas.

Experimento 4 – Efeito da Intoxicação Aguda sobre o Teste de Preferência

Claro-Escuro

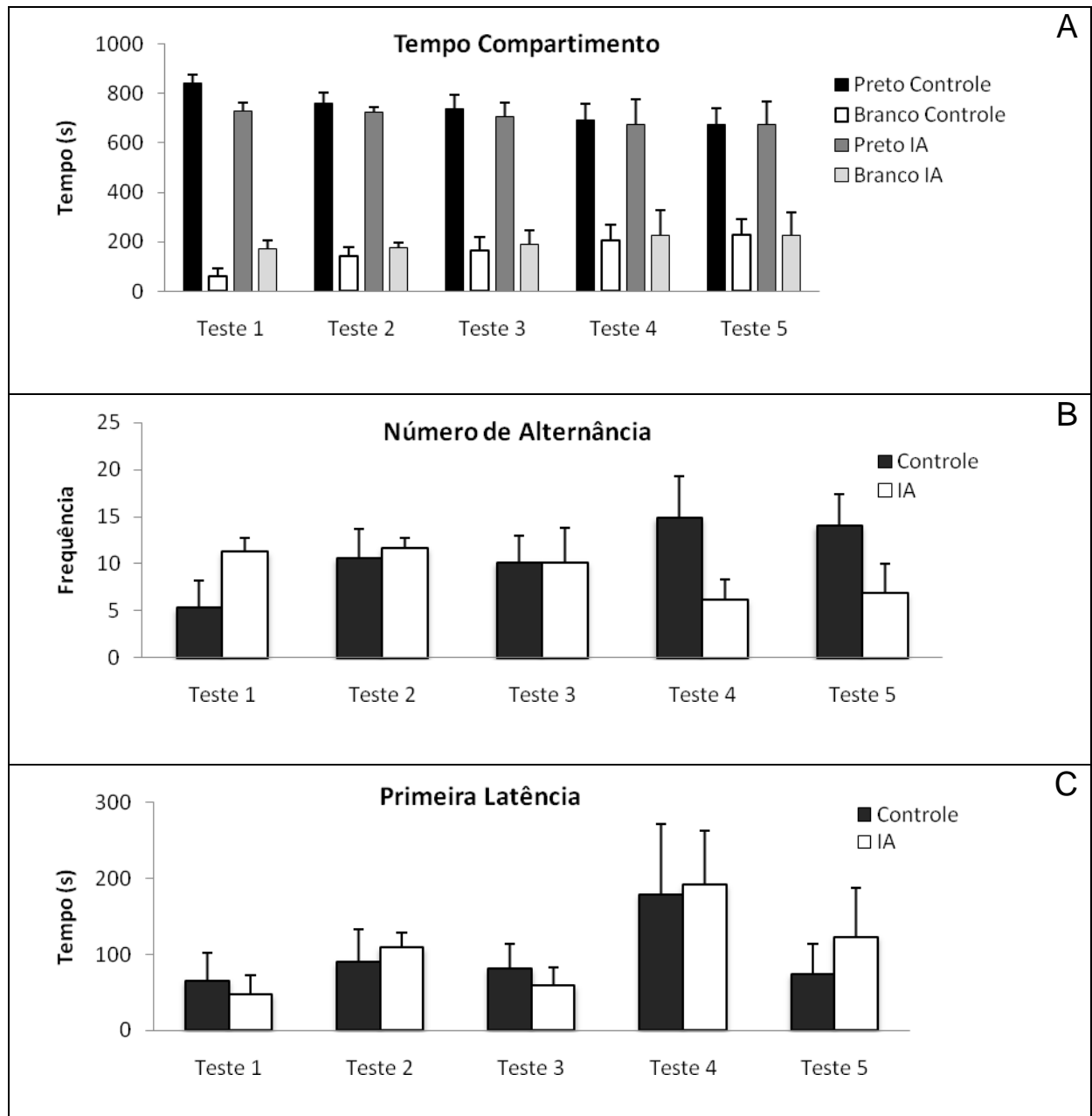


Figura 5. Experimento 4. Efeito da intoxicação aguda sobre o teste de preferência claro-escuro do *Betta splendens* (n=8, experimentalmente ingênuos). O painel A representa o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto (Média ± Erro Padrão), para a caixa BP (Branco/Preto), nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência do número de alternâncias (Média ± Erro Padrão), nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a primeira latência (Média ± Erro Padrão),

nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição do sujeito ao Teste de Preferência Claro-Escuro 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L, respectivamente.

Tabela 5. Valores estatísticos do Experimento 4

EXPERIMENTO 4					
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey
1 Tempo Preto e Branco	Teste	4,124	7,26E-33	1	Grupo Controle:
	Grupo	1,124	9,90E-32	1	Teste1*Ambiente....sim
	Ambiente	1,124	461,442	<0,001	Teste2*Ambiente....sim
	Teste*Grupo	4,124	1,19E-32	1	Teste3*Ambiente....sim
	Teste*Ambiente	4,124	2,258	0,041	Teste4*Ambiente....sim
	Grupo*Ambiente	1,124	2,466	0,119	Teste5*Ambiente....sim
	Teste*Ambiente*Grupo	4,124	0,596	0,667	Teste1*Teste2.....sim
					Teste1*Teste3.....sim
					Teste1*Teste4.....não
					Teste1*Teste5.....sim
				Teste2*Teste3.....não	
				Teste2*Teste4.....sim	
				Teste2*Teste5.....sim	
				Teste3*Teste4.....sim	
				Teste3*Teste5.....sim	
				Teste4*Teste5.....sim	
				Grupo IA:	
				Teste1*Ambiente....sim	
				Teste2*Ambiente....sim	
				Teste3*Ambiente....sim	
				Teste4*Ambiente....sim	
				Teste5*Ambiente....sim	
				Teste1*Teste2,3,4,5..não	
				Teste2*teste3,4,5.....não	
				Teste3*Teste4,5.....não	
				Teste4*Teste5.....não	
2 Alternância	Teste	4,62	0,347	0,845	
	Grupo	1,62	0,756	0,388	---
	Teste*Grupo	4,62	2,367	0,062	
3 Primeira Latência	Teste	4,62	1,484	0,218	
	Grupo	1,62	0,046	0,832	---
	Teste*Grupo	4,62	0,127	0,972	

A Figura 5 apresenta os dados do efeito da intoxicação aguda no teste de preferência claro-escuro. O painel A mostra o tempo de permanência nos compartimentos branco e preto nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de alternâncias nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel C mostra o tempo de primeira latência nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Sendo que cada um dos testes

corresponde, respectivamente, à exposição ao Teste de Preferência Claro-Escuro 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L.

Como indicado na Tabela 3, linha 1, os fatores analisados no painel A foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5), grupo (controle ou intoxicação aguda) e ambiente (preto ou branco). Não houve diferença estatisticamente significativa nos fatores teste e grupo, nem nas interações teste vs grupo, teste vs ambiente e teste vs grupo vs ambiente. Mas houve diferença no fator ambiente e na interação entre os fatores grupo vs ambiente. Sendo que o pós teste indicou diferenças entre os ambientes branco e preto nos testes 1, 2, 3, 4 e 5 nos grupos controle e IA. Para o grupo controle, há diferenças nos testes 1 e 2, 1 e 3, 1 e 5, 2 e 4, 2 e 5, 3 e 4, 4 e 5. Não havendo diferenças entre os testes 1, 2, 3, 4 e 5 do grupo IA.

No painel B, linha 2, e painel C, linha 3, os fatores analisados foram teste e grupo. Não houve diferenças estatisticamente significativas nos fatores teste e grupo, nem em sua interação, para as duas variáveis testadas.

Experimento 5 - Efeito do Teste e Re-Teste do *Display Agressivo*

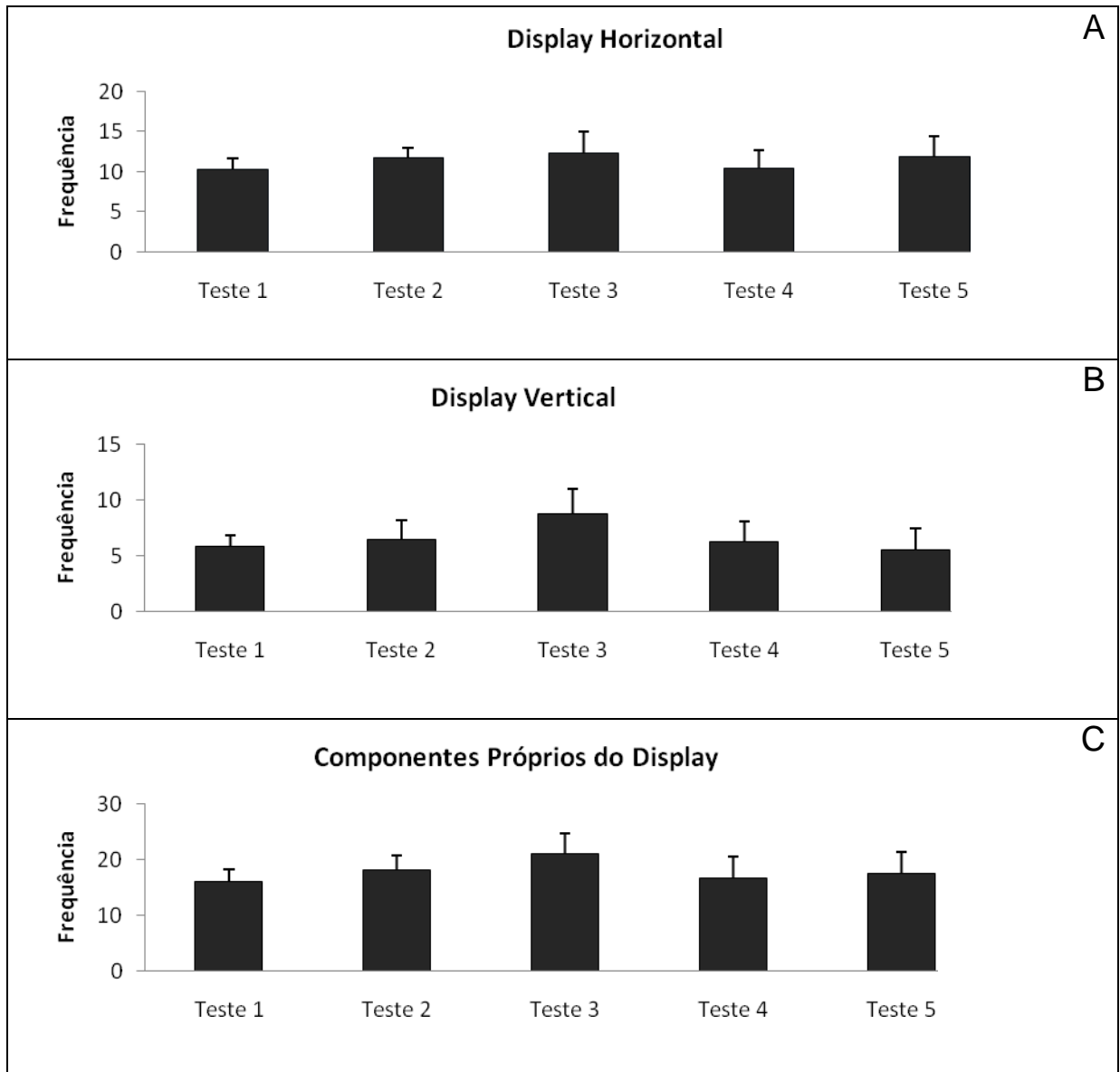


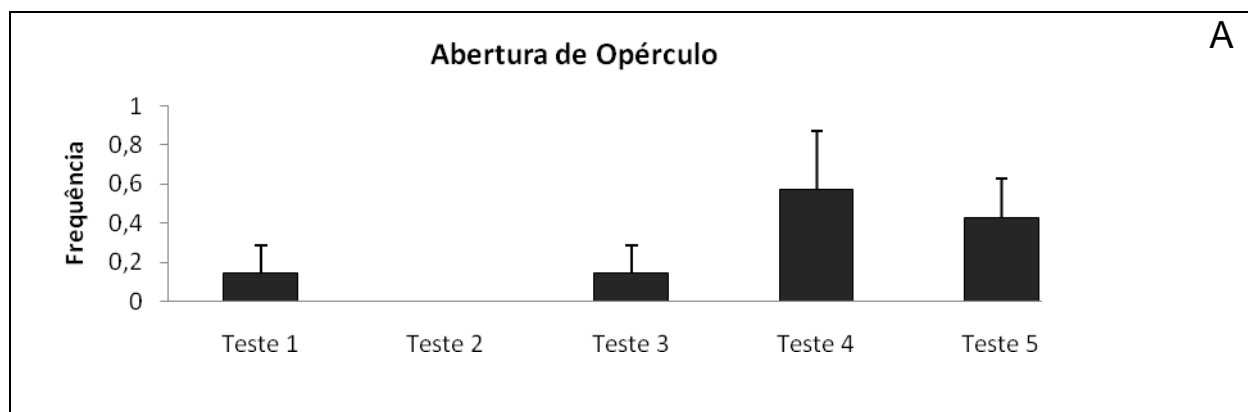
Figura 6. Experimento 5. Teste e re-teste do display agressivo do *Betta splendens* (n=7, mesmos sujeitos do Experimento 2). Dados dos Componentes Próprios do *Display* (Média ± Erro Padrão) do experimento 5. O painel A representa a frequência de *display* horizontal (DH) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de *display* vertical (DV) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência dos Componentes Próprios do *Display* (CPD=DH+DV) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24 horas, ao Teste de *Display Agressivo*.

Tabela 6. Valores estatísticos dos Componentes Próprios do *Display* no Experimento 5

EXPERIMENTO 5 – COMPONENTE PRÓPRIO DO <i>DISPLAY</i>						
	Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey
1	DH	Teste	4,30	0,186	0,944	---
2	DV	Teste	4,30	0,481	0,749	---
3	CPD	Teste	4,30	0,319	0,863	---

A Figura 6 apresenta os dados de re-exposição do teste de *display* agressivo para os componentes próprios do *display*. O painel A mostra a frequência de *display* horizontal (DH) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de *display* vertical (DV) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel C mostra a frequência dos componentes próprios do *display* ($CCP=DH+DV$) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E cada um dos testes corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24h, ao teste de *display* agressivo.

Como indicado na Tabela 6, linhas 1, 2 e 3, o fator analisado nos painéis A, B e C foi teste (1, 2, 3, 4 ou 5). Não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma das três variáveis.



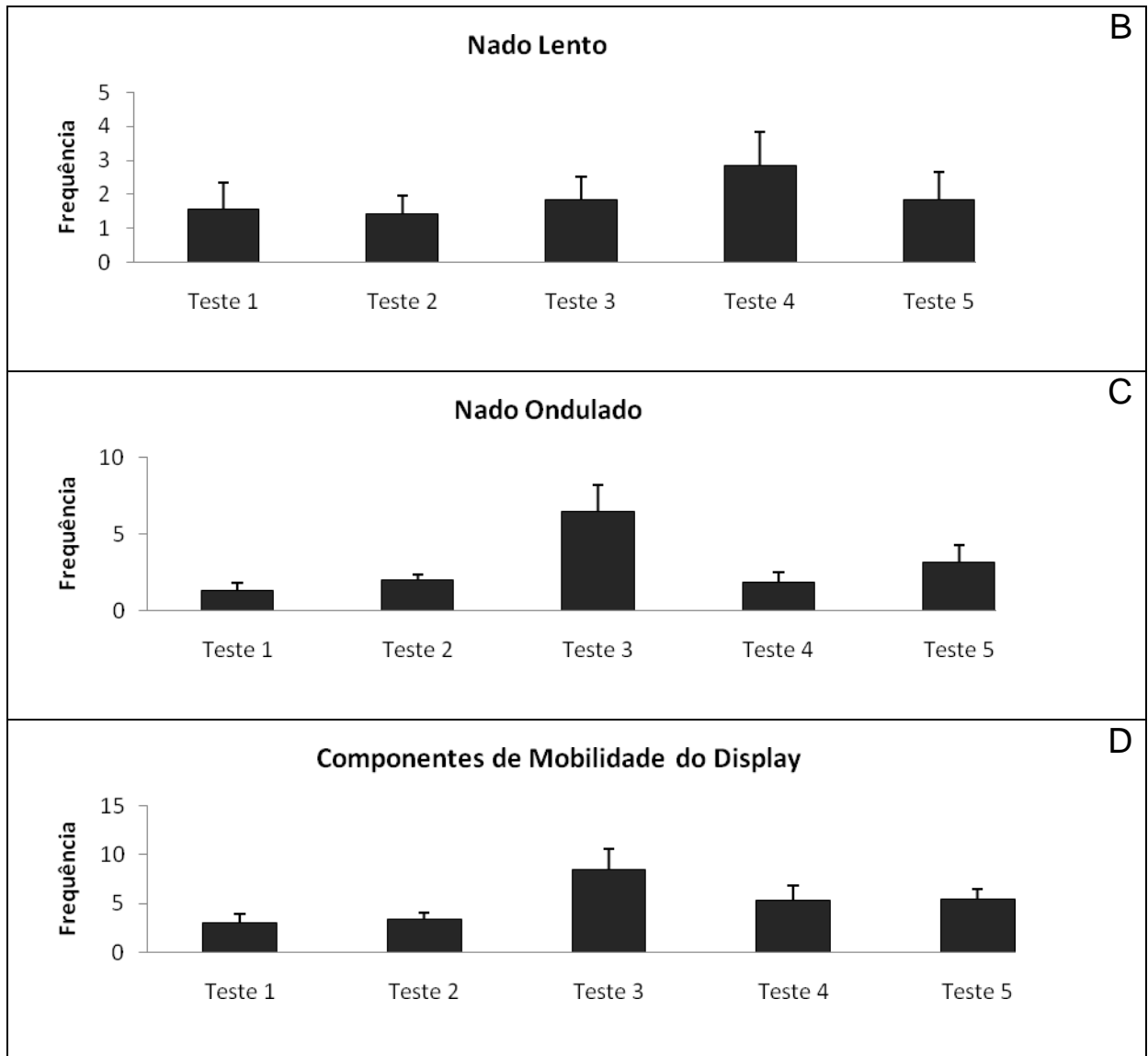


Figura 7. Experimento 5. Teste e re-teste do display agressivo do *Betta splendens* ($n=7$, mesmos sujeitos do Experimento 2). Dados dos Componentes de Mobilidade do *Display* (Média \pm Erro Padrão) do experimento 5. O painel A representa a frequência de Abertura de Opérculo (Ab) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Nado Lento (NL) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Nado Ondulado (NO) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência dos Componentes Próprios do *Display* ($CMD=Ab+NL+NO$) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24 horas, ao Teste de *Display* Agressivo.

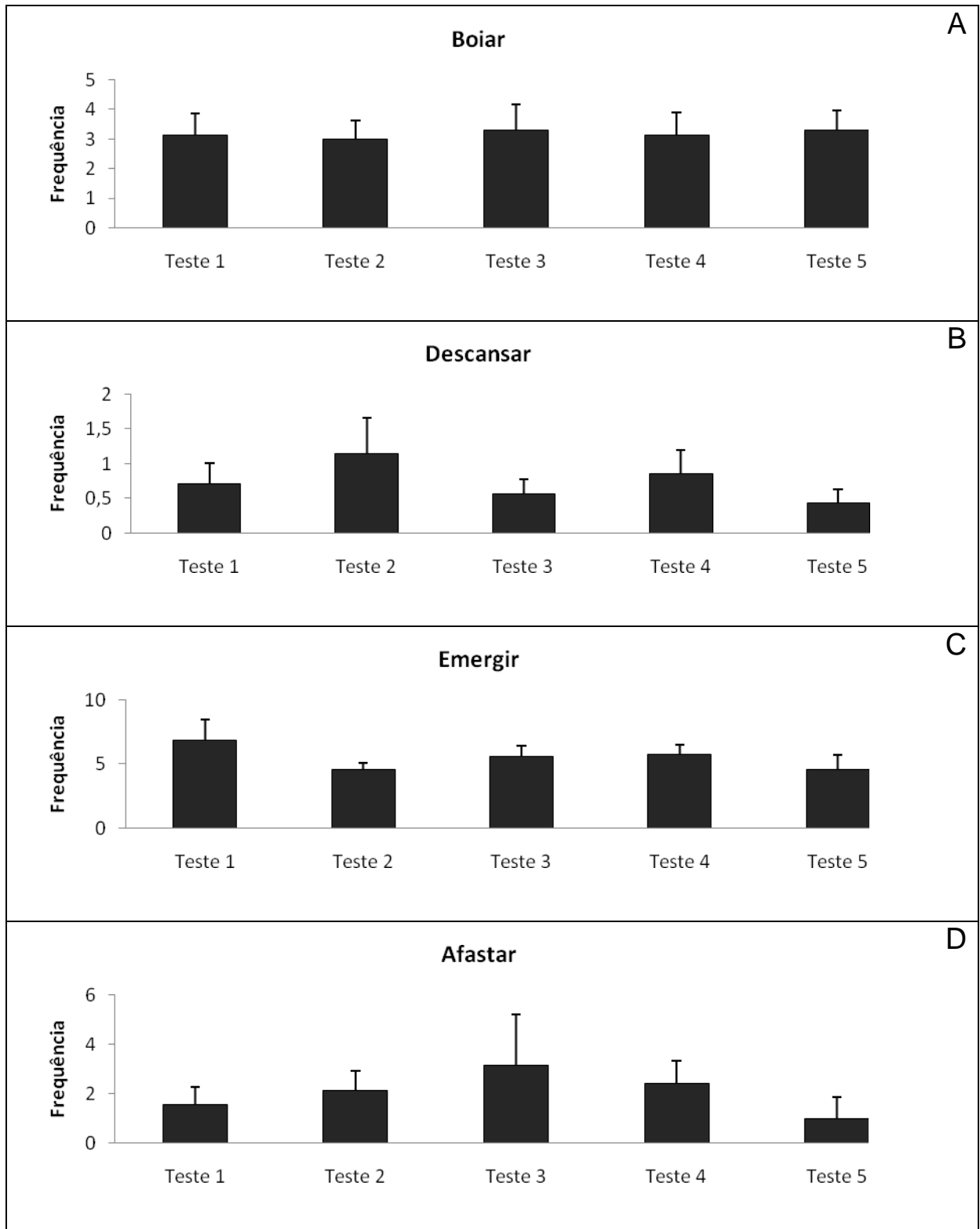
Tabela 7. Valores estatísticos dos Componentes de Mobilidade do *Display* no Experimento 5

EXPERIMENTO 5 – COMPONENTES DE MOBILIDADE DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	Ab	Teste	4,30	1,620	0,195	---
2	NL	Teste	4,30	0,537	0,709	---
3	NO	Teste	4,30	4,194	0,008	Teste1*Teste2.....não Teste1*Teste3.....sim Teste1*Teste4.....não Teste1*Teste5.....não Teste2*Teste3.....sim Teste2*Teste4.....não Teste2*Teste5.....não Teste3*Teste4.....sim Teste3*Teste5.....não Teste4*Teste5.....não
4	CMD	Teste	4,30	2,464	0,066	---

A Figura 7 apresenta os dados de re-exposição do teste de *display* agressivo para os componentes de mobilidade do *display*. O painel A mostra a frequência de abertura de opérculo (Ab) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5; o painel B mostra a frequência de nado lento (NL) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5; o painel C mostra a frequência de nado ondulado (NO) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5; e o painel D mostra a frequência dos componentes de mobilidade do *display* (CMP=Ab+NL+NO) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Sendo que cada um dos testes corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24h, ao teste de *display* agressivo.

Como indicado na Tabela 7, linha 1 e 2, o fator analisado nos painéis A e B foi teste (1, 2, 3, 4 ou 5). Não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma das duas variáveis. No painel C, linha 3, o fator analisado foi teste e encontrou-se diferença significativa. O pós-teste indicou diferenças entre os testes 1 e 3, 2 e 3 e 4 e 3.

No painel D, dos Componentes de Mobilidade do *Display*, linha 4, o fator analisado foi teste e não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para esta variável.



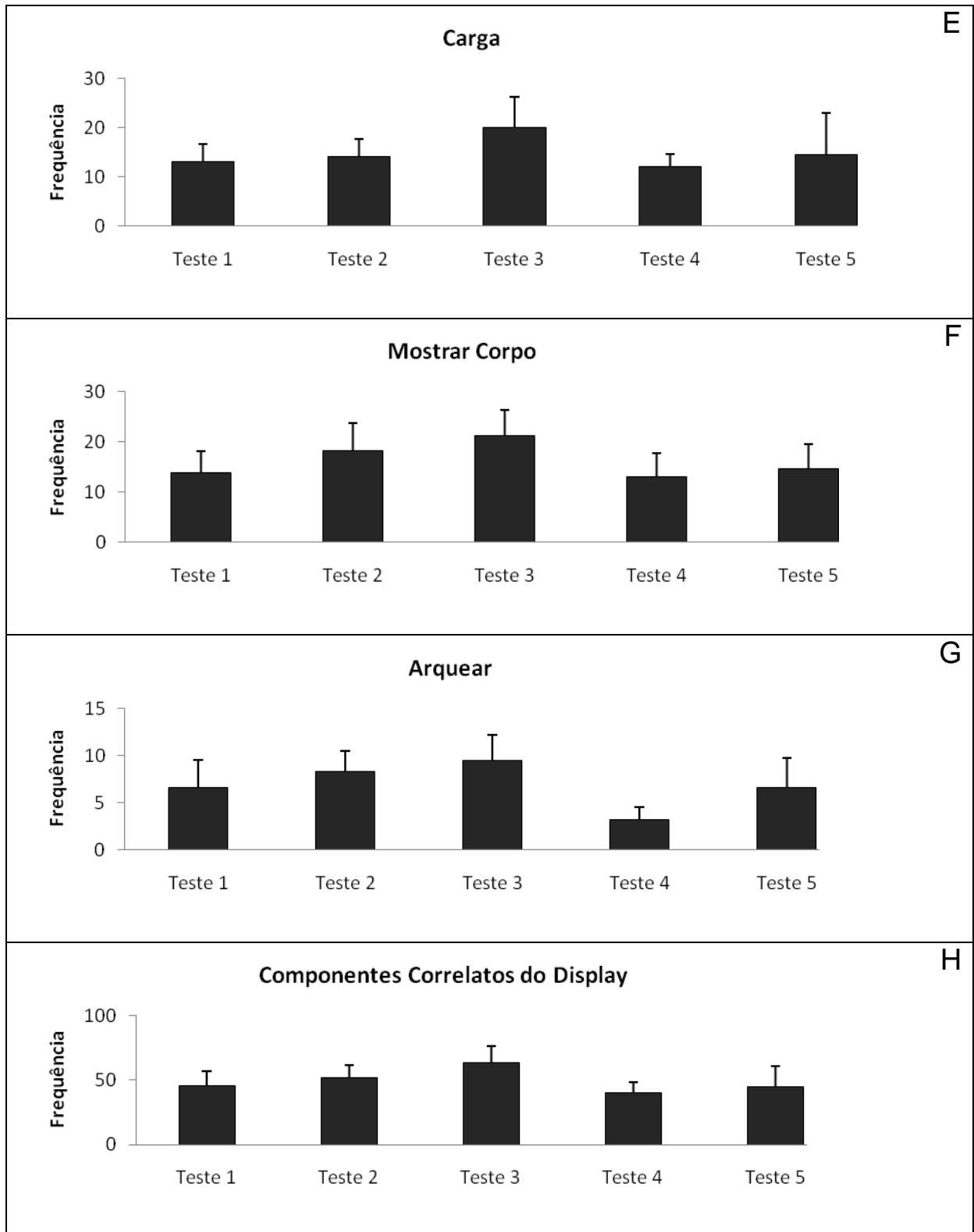


Figura 8. Experimento 5. Teste e re-teste do display agressivo do *Betta splendens* (n=7, mesmo sujeitos do Experimento 2). Dados dos Componentes Correlatos do *Display* (Média ± Erro Padrão) experimento 5. O painel A representa a frequência de Boiar (B) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B

representa a frequência de Descansar (D) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Emergir (E) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência de Afastar (Af) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel E representa a frequência de Carga (C) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel F representa a frequência de Mostrar Corpo (M) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel G representa a frequência de Arquear (Ar) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel H representa a frequência dos Componentes Correlatos do *Display* ($CCD=B+D+E+Af+C+MC+Ar$) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24 horas, ao Teste de *Display* Agressivo.

Tabela 8. Valores estatísticos dos Componentes Correlatos do *Display* no Experimento 5

EXPERIMENTO 5 – COMPONENTES CORRELATOS DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	B	Teste	4,30	0,027	0,998	---
2	D	Teste	4,30	0,703	0,596	---
3	E	Teste	4,30	0,826	0,519	---
4	Af	Teste	4,30	0,493	0,741	---
5	C	Teste	4,30	0,332	0,854	---
6	MC	Teste	4,30	0,508	0,730	---
7	Ar	Teste	4,30	0,849	0,506	---
8	CCD	Teste	4,30	0,578	0,681	---

A Figura 8 apresenta os dados de re-exposição do teste de *display* agressivo para os componentes correlatos do *display*. Sendo que o painel A representa a frequência de Boiar (B) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Descansar (D) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Emergir (E) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência de Afastar (Af) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel E representa a frequência de Carga (C) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel F representa a frequência de Mostrar Corpo (M) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel G representa a frequência de Arquear (Ar) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel H representa a frequência dos Componentes Correlatos do *Display* ($CCD=B+D+E+Af+C+MC+Ar$) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste

corresponde à sequência de cinco exposições consecutivas, em intervalos de 24 horas, ao Teste de *Display* Agressivo.

Como indicado na Tabela 8, o fator analisado em todos os componentes de mobilidade do *display* foi teste (1, 2, 3, 4 e 5). Não foram encontrados diferenças estatisticamente significantes em nenhuma variável.

Experimento 6 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de *Display Agressivo*

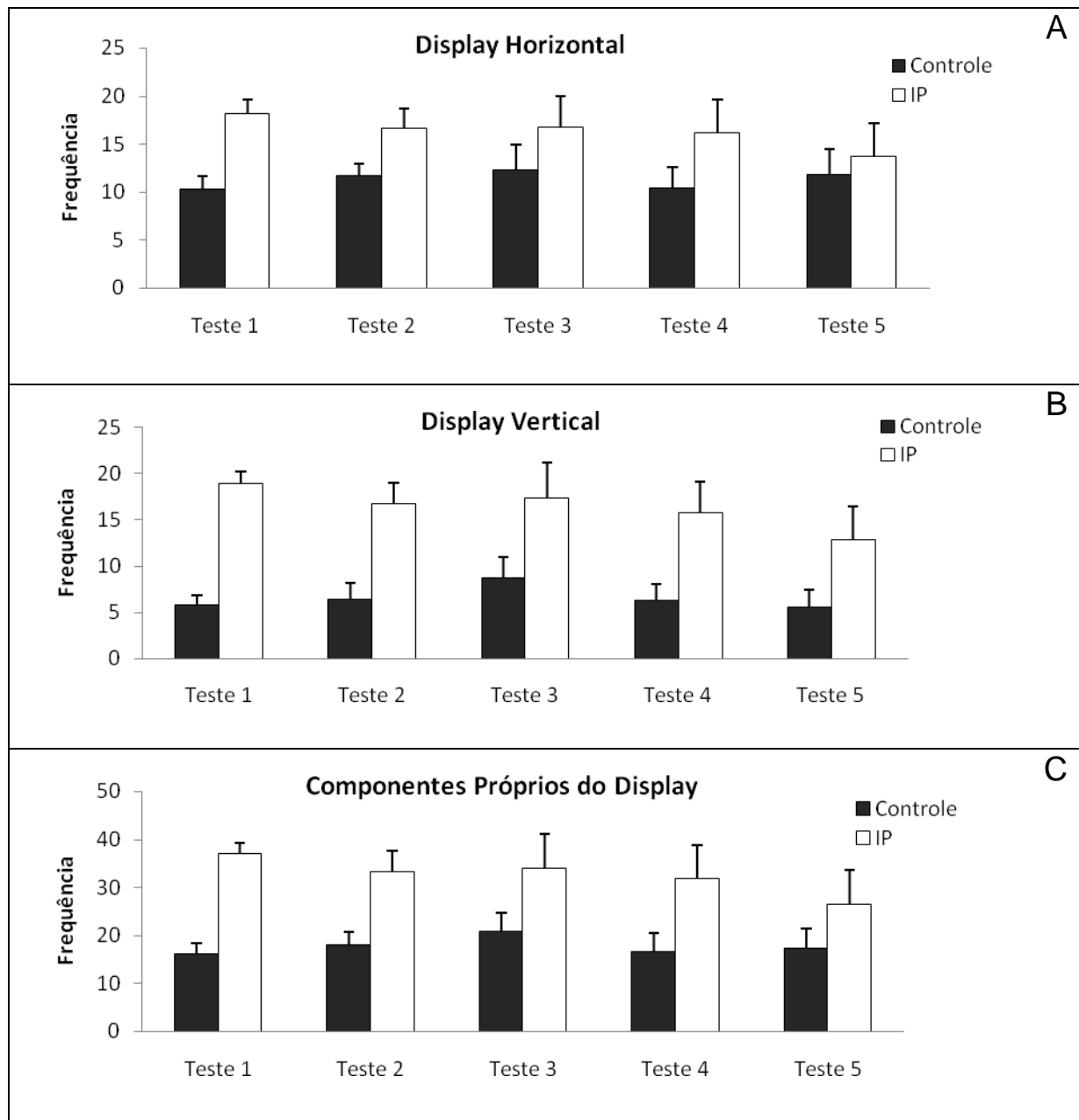


Figura 9. Experimento 6. Efeito da intoxicação progressiva sobre o teste de display agressivo do *Betta splendens* ($n=8$, mesmos sujeitos do Experimento 3). Dados dos Componentes Próprios do *Display* (Média \pm Erro Padrão) do experimento 6. O painel A representa a frequência de *display* horizontal (DH) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de *display* vertical (DV) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência dos Componentes Próprios do *Display* (CPD=DH+DV)

nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição do sujeito ao Teste de *Display* Agressivo, na dosagem progressiva de 12, 24, 36, 48 e 60 µgPb/L, respectivamente.

Tabela 9. Valores estatísticos dos Componentes Próprios do *Display* no Experimento 6

EXPERIMENTO 6 – COMPONENTES PRÓPRIOS DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	DH	Grupo	1,65	9,730	0,003	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,161	0,957	
		Teste*Grupo	4,65	0,376	0,825	
2	DV	Grupo	1,65	36,209	<0,001	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,651	0,628	
		Teste*Grupo	4,65	0,347	0,845	
3	CPD	Grupo	1,65	22,722	<0,001	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,390	0,815	
		Teste*Grupo	4,65	0,380	0,822	

A Figura 9 apresenta os dados dos efeitos da intoxicação progressiva no teste de *display* agressivo para os componentes próprios do *display*. O painel A mostra a frequência de *display* horizontal (DH) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de *display* vertical (DV) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel C mostra a frequência dos componentes próprios do *display* (CCP=DH+DV) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada um dos testes corresponde, respectivamente, a exposição ao Teste de *Display* Agressivo, nas dosagens progressivas de 12, 24, 36, 48 e 60 µgPb/L.

Como indicado na Tabela 9, linha 1, 2 e 3, os fatores analisados nos painéis A, B e C foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5) e grupo (controle ou IP). Em todas as variáveis apenas o fator grupo apresentou diferenças estatisticamente significantes.

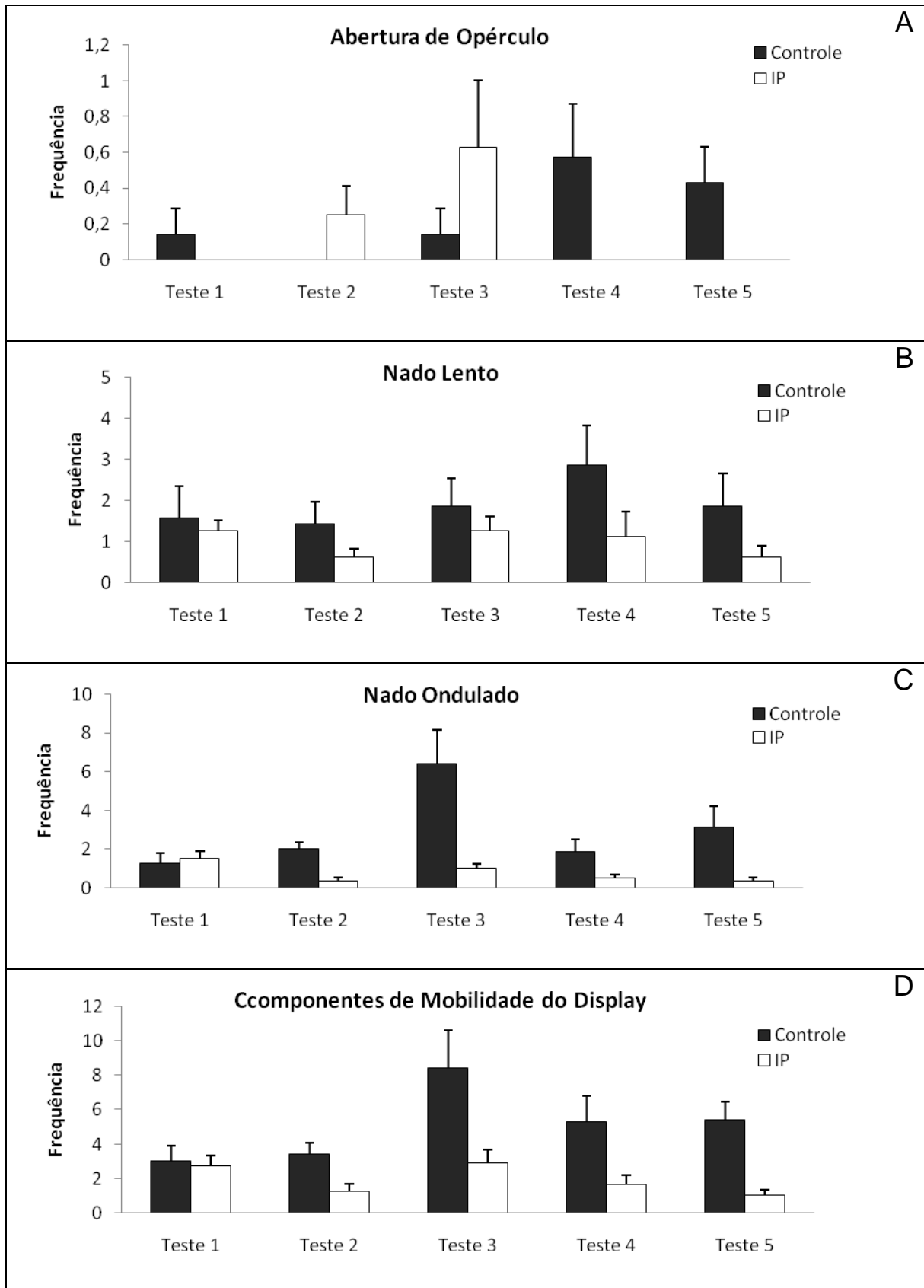


Figura 10. Experimento 6. Efeito da intoxicação progressiva sobre o teste de display agressivo do *Betta splendens* (n=8, mesmos sujeitos do Experimento 3). Dados dos Componentes de Mobilidade

do *Display* (Média \pm Erro Padrão) do experimento 6. O painel A representa a frequência de Abertura de Opérculo (Ab) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Nado Lento (NL) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Nado Ondulado (NO) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência dos Componentes Próprios do *Display* (CMD=Ab+NL+NO) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição do sujeito ao Teste *Display* Agressivo na dosagem progressiva de 12, 24, 36, 48 e 60 $\mu\text{gPb/L}$, respectivamente.

Tabela 10. Valores estatísticos dos Componentes de Mobilidade do *Display* no Experimento 6

EXPERIMENTO 6 – COMPONENTES DE MOBILIDADE DO DISPLAY						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	Ab	Grupo	1,65	0,496	0,484	Controle*IP.....não
		Teste	4,65	0,914	0,461	
		Teste*Grupo	4,65	2,908	0,028	
2	NL	Grupo	1,65	6,706	0,012	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,802	0,528	
		Teste*Grupo	4,65	0,466	0,761	
3	NO	Grupo	1,65	25,083	< 0,001	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	4,781	0,002	
		Teste*Grupo	4,65	4,594	0,002	
		Teste1*Teste2.....			não	
		Teste1*Teste3.....			sim	
		Teste1*Teste4.....			não	
Teste1*Teste5.....			não			
Teste2*Teste3.....			sim			
Teste2*Teste4.....			não			
Teste2*Teste5.....			não			
Teste3*Teste4.....			sim			
Teste3*Teste5.....			não			
Teste4*Teste5.....			não			
4	CMD	Grupo	1,65	25,777	< 0,001	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	3,219	0,018	
		Teste*Grupo	4,65	2,121	0,088	
		Teste1*Teste2,3,4,5..			não	
		Teste2*Teste3.....			sim	
Teste2*Teste4,5.....			não			
Teste3*Teste4,5.....			não			
Teste4*Teste5.....			não			

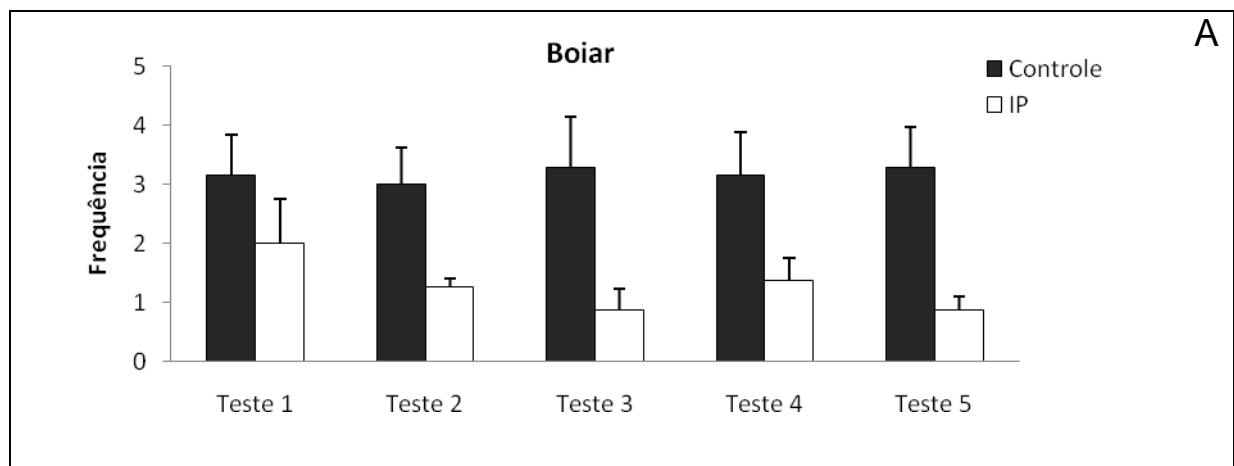
A Figura 10 apresenta os dados dos efeitos da intoxicação progressiva no teste de *display* agressivo para os componentes de mobilidade do *display*. O painel A mostra a frequência de abertura de opérculo (Ab) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de nado lento (NL) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C mostra a frequência de nado ondulado (NO) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel D mostra a frequência dos componentes de mobilidade do *display* (CMP=Ab+NL+NO)

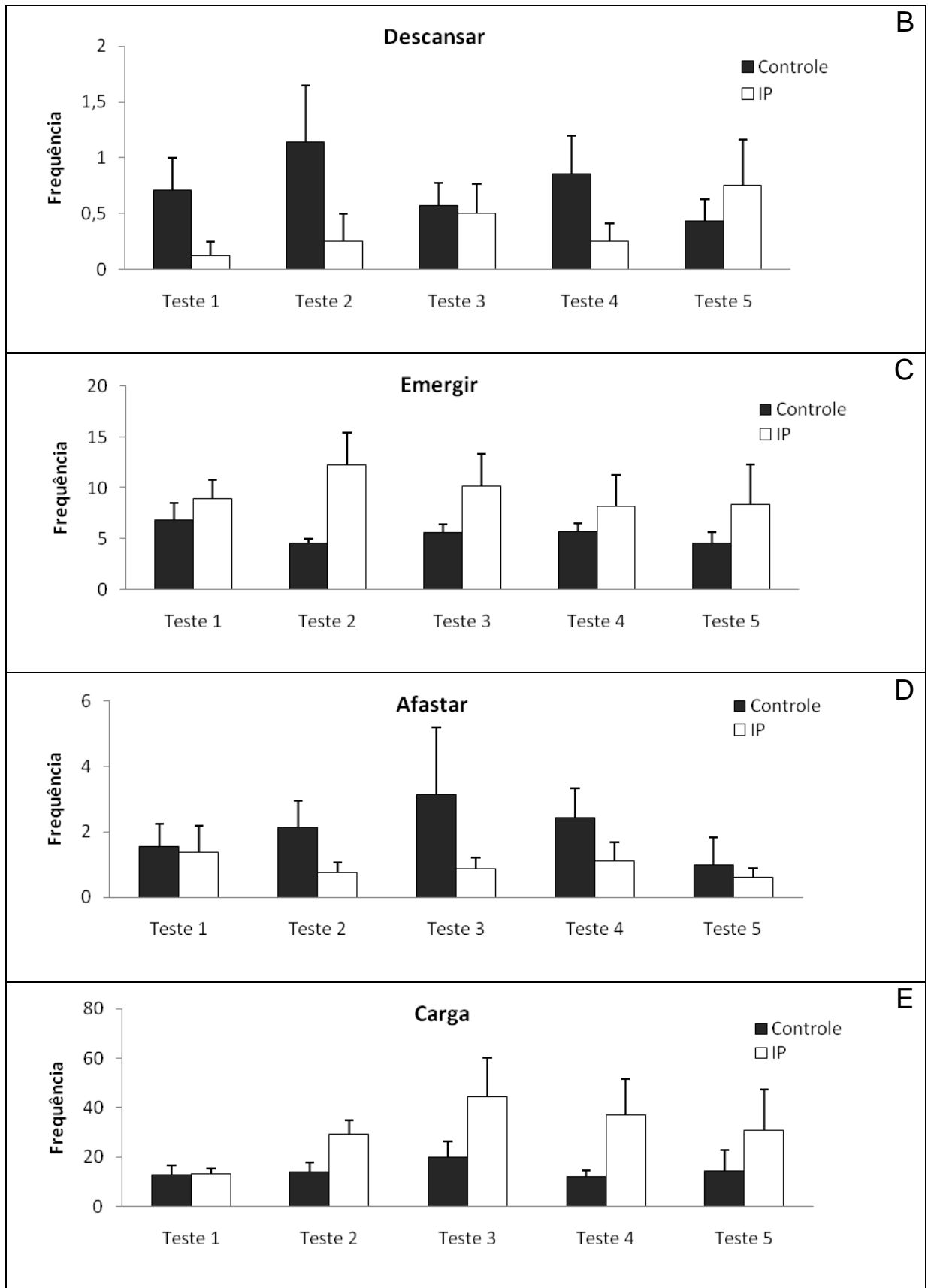
nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde, respectivamente, a exposição ao Teste de *Display* Agressivo nas dosagens progressivas de 12, 24, 36, 48 e 60 $\mu\text{gPb/L}$.

Como indicado na Tabela 10, linha 1 e 2, os fatores analisados no painel A e B foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5) e grupo (controle ou IP). Em ambas as variáveis o fator grupo apresentou diferença estatisticamente significativa.

No painel C, linha 3, os fatores analisados foram teste e grupo. Houve diferença estatisticamente significativas nos dois fatores, inclusive em sua interação. O pós-teste indicou diferenças entre os teste 1 e 3, 2 e 3 e 4 e 3.

No painel D, dos Componentes de Mobilidade do *Display*, linha 4, os fatores analisados foram teste e grupo. Houve diferenças significativas no nos fatores grupo e teste, não havendo diferenças em sua interação. O pós-teste indicou diferenças entre os testes 2 e 3.





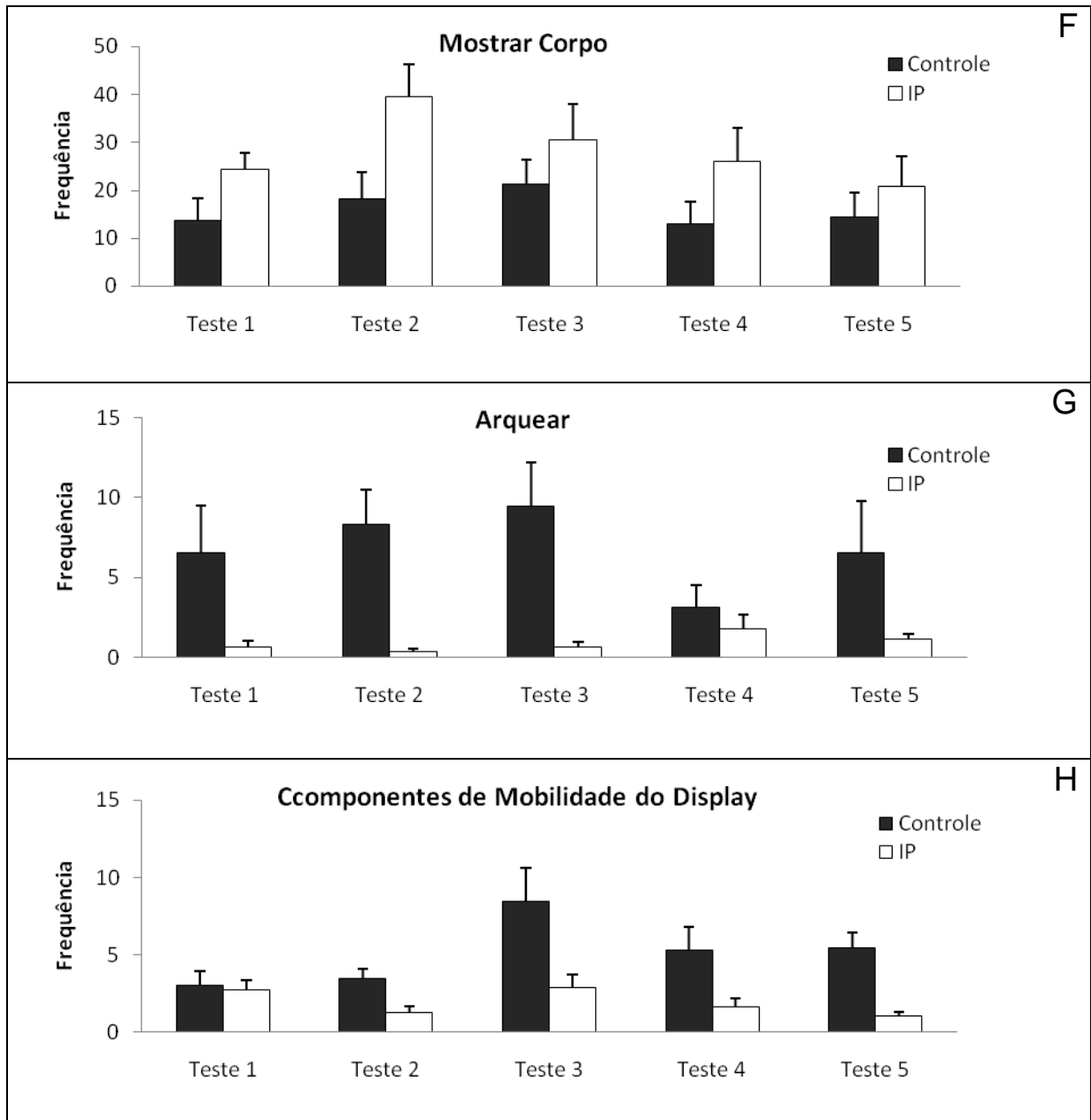


Figura 11. Experimento 6. Efeito da intoxicação progressiva sobre o teste de display agressivo do *Betta splendens* ($n=8$, mesmos sujeitos do Experimento 3). Dados dos Componentes Correlatos do Display (Média \pm Erro Padrão) experimento 6. O painel A representa a frequência de Boiar (B) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Descansar (D) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Emergir (E) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência de Afastar (Af) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel E representa a frequência de Carga (C) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel F representa a frequência de Mostrar Corpo (M) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel G representa a frequência de Arquear (Ar) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel H representa a frequência dos Componentes Correlatos do Display ($CCD=B+D+E+Af+C+MC+Ar$) nos Testes 1, 2, 3,

4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição ao Teste *Display* Agressivo, na dosagem progressiva de 12, 24, 36, 48 e 60 µgPb/L, respectivamente.

Tabela 11. Valores estatísticos dos Componentes Correlatos do *Display* no Experimento 6

EXPERIMENTO 6 – COMPONENTES CORRELATOS DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	B	Grupo	1,65	0,027	0,998	Controle*IP.....não
		Teste	4,65	0,260	0,903	
		Teste*Grupo	4,65	0,426	0,789	
2	D	Grupo	1,65	26,987	<0,001	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,230	0,920	
		Teste*Grupo	4,65	1,367	0,255	
3	E	Grupo	1,65	6,745	0,012	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,199	0,938	
		Teste*Grupo	4,65	0,408	0,802	
4	Af	Grupo	1,65	4,176	0,045	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,553	0,697	
		Teste*Grupo	4,65	0,483	0,748	
5	C	Grupo	1,65	6,44	0,014	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,917	0,459	
		Teste*Grupo	4,65	0,492	0,742	
6	MC	Grupo	1,65	10,653	0,002	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	1,412	0,240	
		Teste*Grupo	4,65	0,474	0,755	
7	Ar	Grupo	1,65	28,743	<0,001	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,603	0,662	
		Teste*Grupo	4,65	1,362	0,257	
8	CCD	Grupo	1,65	4,617	0,035	Controle*IP.....sim
		Teste	4,65	0,830	0,511	
		Teste*Grupo	4,65	0,251	0,908	

A Figura 11 apresenta os dados dos efeitos da intoxicação progressiva no teste de *display* agressivo para os componentes próprios do *display*. O painel A representa a frequência de Boiar (B) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Descansar (D) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Emergir (E) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência de Afastar (Af) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel E representa a frequência de Carga (C) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel F representa a frequência de Mostrar Corpo (M) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel G representa a frequência de Arquear (Ar) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel H representa a frequência dos Componentes Correlatos do *Display* (CCD=B+D+E+Af+C+MC+Ar) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Levando em conta

que cada um dos testes corresponde, respectivamente, à exposição ao Teste de *Display Agressivo*, nas dosagens progressivas de 12, 24, 36, 48 e 60 µgPb/L.

Como indicado na Tabela 11, linha 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, os fatores analisados nos painéis A, B, C, D, E, F, G e H foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5) e grupo (controle ou IP). Entre todas as variáveis, apenas o fator grupo apresentou diferença estatisticamente significativa.

Experimento 7 - Efeito Intoxicação Aguda sobre o Teste de *Display* Agressivo

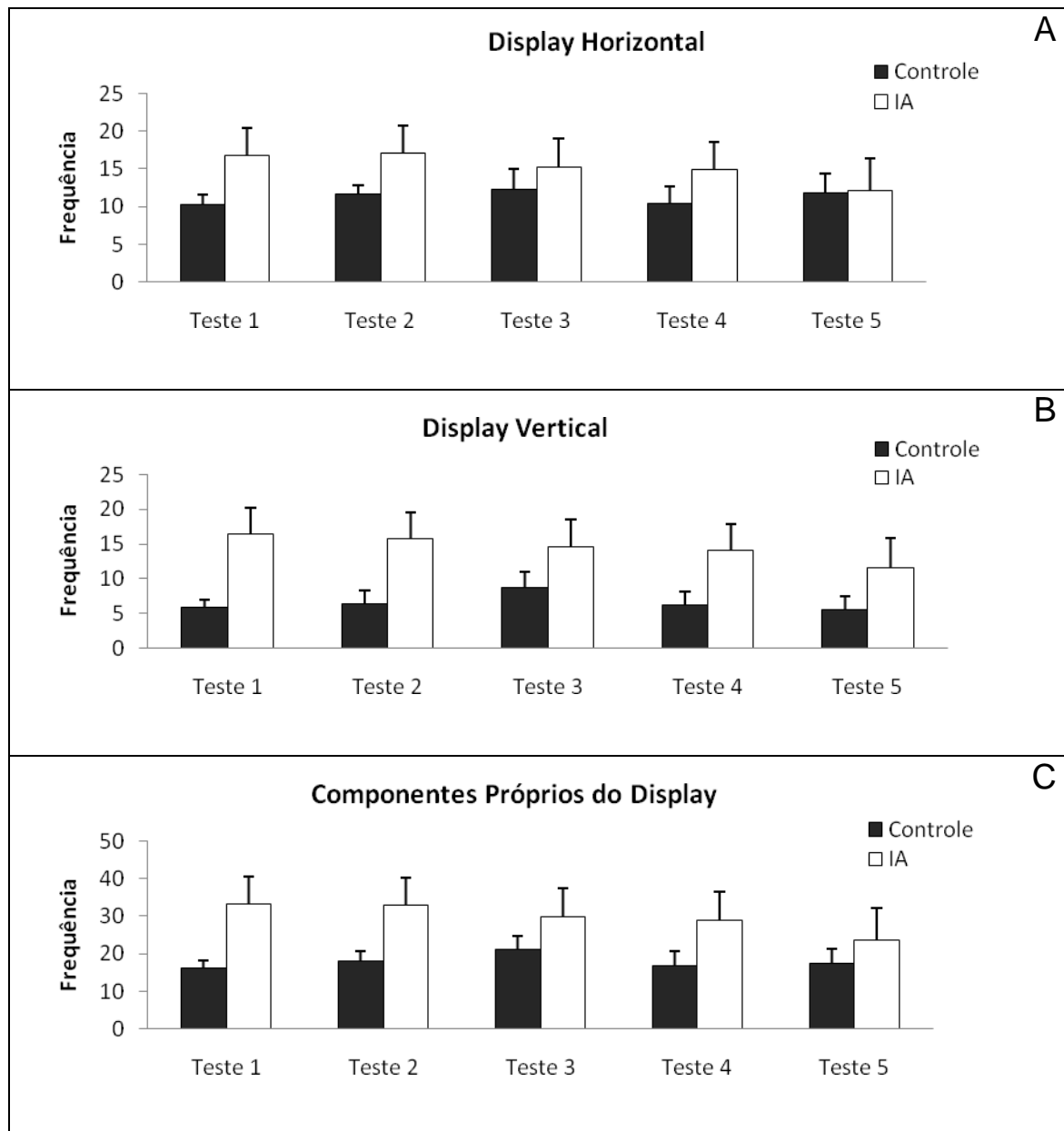


Figura 12. Experimento 7. Efeito da intoxicação aguda sobre o teste de *display* agressivo do *Betta splendens* ($n=8$, mesmos sujeitos do Experimento 4). Dados dos Componentes Próprios do *Display* (Média \pm Erro Padrão) do experimento 7. O painel A representa a frequência de *display* horizontal (DH) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de *display* vertical (DV) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência dos Componentes Próprios do *Display* (CPD=DH+DV)

nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição ao Teste de *Display* Agressivo 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L, respectivamente.

Tabela 12. Valores estatísticos dos Componentes Próprios do *Display* no Experimento 7

EXPERIMENTO 7 – COMPONENTES PRÓPRIOS DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	DH	Grupo	1,59	3,460	0,068	Controle*IA.....não
		Teste	4,59	12,615	0,183	
		Teste*Grupo	4,59	0,247	0,911	
2	DV	Grupo	1,59	16,156	<0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,59	19,702	0,304	
		Teste*Grupo	4,59	0,190	0,943	
3	CPD	Grupo	1,62	9,965	<0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,62	0,246	0,911	
		Teste*Grupo	4,62	0,272	0,895	

A Figura 12 apresenta os dados dos efeitos da intoxicação aguda no teste de *display* agressivo para os componentes próprios do *display*. O painel A mostra a frequência de *display* horizontal (DH) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de *display* vertical (DV) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel C mostra a frequência dos componentes próprios do *display* (CCP=DH+DV) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada um dos testes corresponde, respectivamente, à exposição ao Teste de *Display* Agressivo 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L.

Como indicado na Tabela 12, linha 1, os fatores analisados no painel A foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5) e grupo (controle ou IA). Não foram encontradas nenhuma diferença estatisticamente significativa para a variável DH. Nas linhas 2 e 3, dos painéis B e C, analisaram-se os fatores teste e grupo. Foram encontradas diferenças significativas apenas para o fator grupo, nas variáveis DV e CCD.

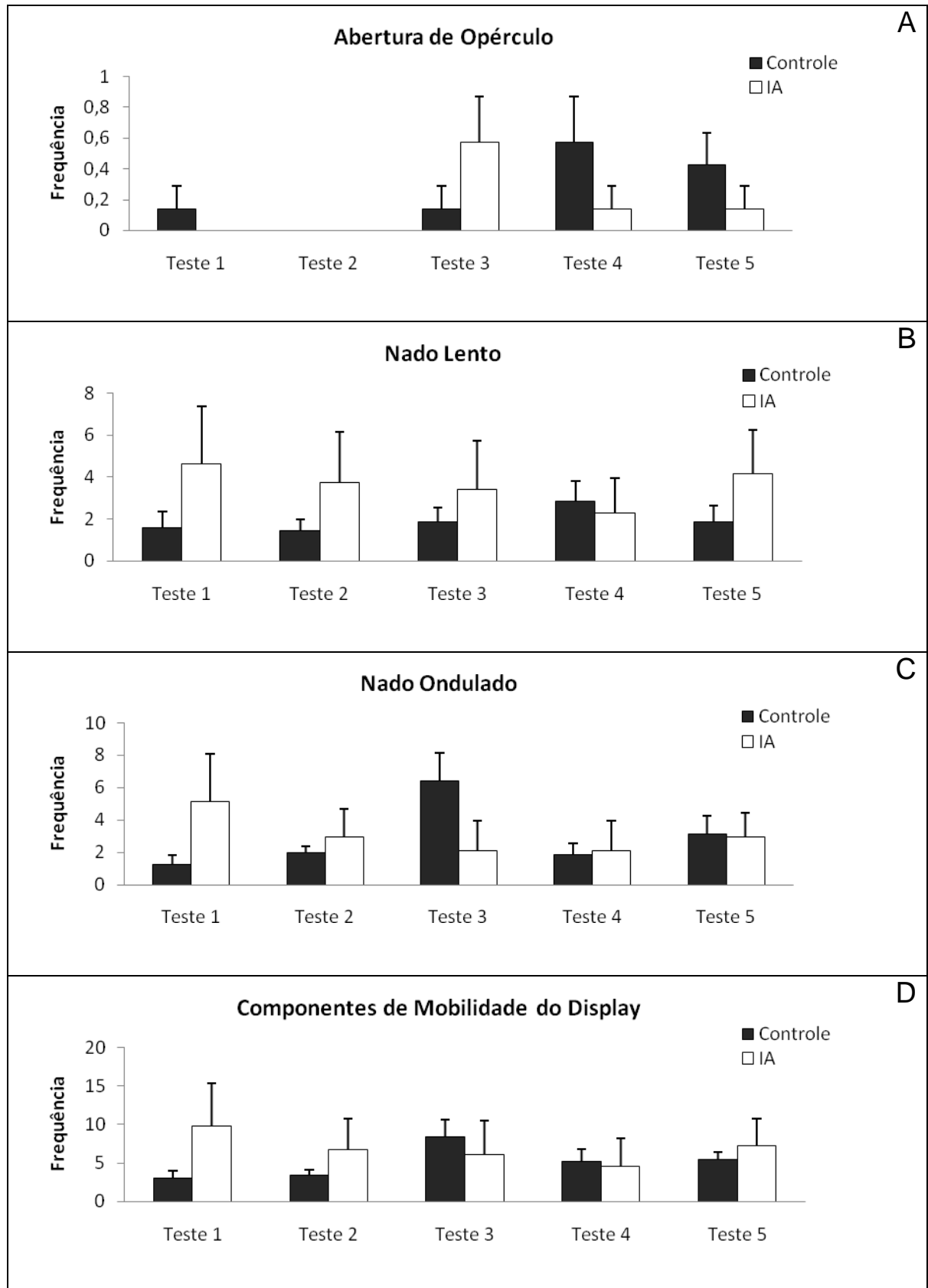


Figura 13. Experimento 7. Efeito da intoxicação aguda sobre o teste de *display* agressivo do *Betta splendens* (n=8, mesmos sujeitos do Experimento 4). Dados dos Componentes de Mobilidade do

Display (Média ± Erro Padrão) do experimento 7. O painel A representa a frequência de Abertura de Opérculo (Ab) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Nado Lento (NL) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Nado Ondulado (NO) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência dos Componentes Próprios do *Display* (CMD=Ab+NL+NO) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição do sujeito ao Teste de *Display* Agressivo 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L, respectivamente.

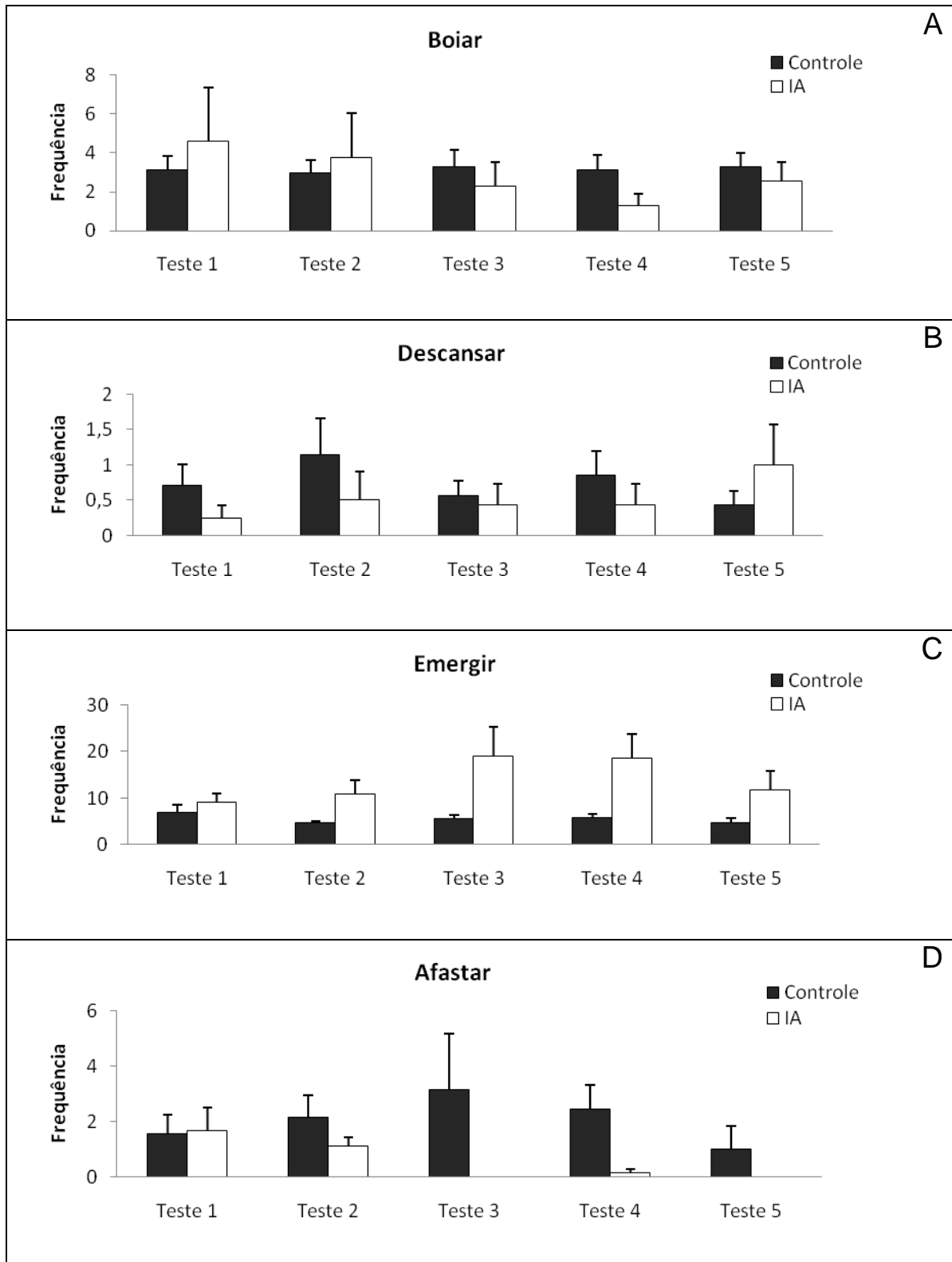
Tabela 13. Valores estatísticos dos Componentes de Mobilidade do *Display* no Experimento 7

EXPERIMENTO 7 – COMPONENTES DE MOBILIDADE DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	Ab	Grupo	1,59	0,587	0,447	Controle*IA.....não
		Teste	4,59	0,392	1,838	
		Teste*Grupo	4,59	1,776	0,146	
2	NL	Grupo	1,59	2,079	0,155	Controle*IA.....não
		Teste	4,59	0,668	0,039	
		Teste*Grupo	4,59	0,287	0,885	
3	NO	Grupo	1,59	0,032	0,860	Controle*IA.....não
		Teste	4,59	10,849	0,731	
		Teste*Grupo	4,59	1,399	0,246	
4	CMD	Grupo	1,62	0,773	0,383	Controle*IA.....não
		Teste	4,62	0,187	0,944	
		Teste*Grupo	4,62	0,609	0,657	

A Figura 13 apresenta os dados dos efeitos da intoxicação aguda no teste de *display* agressivo para os componentes de mobilidade do *display*. O painel A mostra a frequência de abertura de opérculo (Ab) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B mostra a frequência de nado lento (NL) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C mostra a frequência de nado ondulado (NO) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel D mostra a frequência dos componentes de mobilidade do *display* (CMP=Ab+NL+NO) nos testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada um dos testes corresponde, respectivamente, à exposição ao Teste de *Display* Agressivo 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L.

Como indicado na Tabela 13, em todas as linhas, os fatores analisados em todos os painéis foram teste (1, 2, 3, 4 e 5) e grupo (controle ou IA). Os dados

indicam que não há diferenças estatisticamente significativas nos fatores, nem em suas interações.



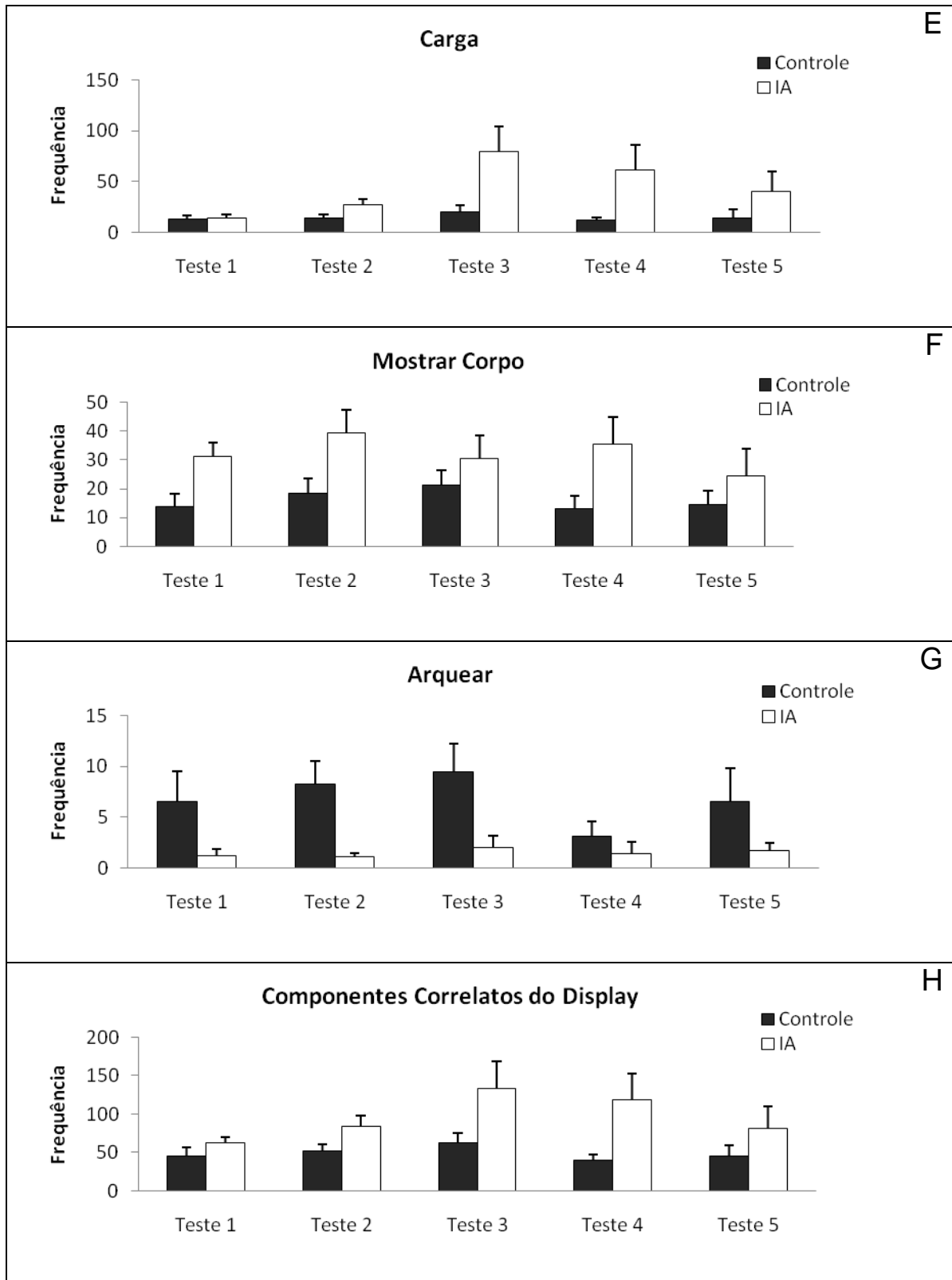


Figura 14. Experimento 7. Efeito da intoxicação aguda sobre o teste de display agressivo do *Betta splendens* (n=8, mesmos sujeitos do Experimento 4). Dados dos Componentes Correlatos do *Display* (Média \pm Erro Padrão) experimento 7. O painel A representa a frequência de Boiar (B) nos Testes 1,

2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Descansar (D) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Emergir (E) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência de Afastar (Af) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel E representa a frequência de Carga (C) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel F representa a frequência de Mostrar Corpo (M) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel G representa a frequência de Arquear (Ar) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel H representa a frequência dos Componentes Correlatos do *Display* (CCD=B+D+E+Af+C+MC+Ar) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada teste corresponde a uma exposição ao Teste de *Display* Agressivo 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 µgPb/L, respectivamente.

Tabela 14. Valores estatísticos dos Componentes Correlatos do *Display* no Experimento 7

EXPERIMENTO 7 – COMPONENTES CORRELATOS DO <i>DISPLAY</i>						
Variável Dependente	Fator	Grau de Liberdade	F	Sig.	Tukey	
1	B	Grupo	1,59	0,136	0,714	Controle*IA.....não
		Teste	4,59	4,599	0,375	
		Teste*Grupo	4,59	0,447	0,774	
2	D	Grupo	1,59	1,019	0,317	Controle*IA.....não
		Teste	4,59	0,308	0,344	
		Teste*Grupo	4,59	0,918	0,460	
3	E	Grupo	1,59	16,135	<0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,59	74,300	1,001	
		Teste*Grupo	4,59	0,950	0,442	
4	Af	Grupo	1,59	6,997	0,010	Controle*IA.....sim
		Teste	4,59	3,151	0,588	
		Teste*Grupo	4,59	0,940	0,447	
5	C	Grupo	1,59	11,667	0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,59	2771,35	2,196	
		Teste*Grupo	4,59	1,644	0,175	
6	MC	Grupo	1,59	12,594	0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,59	187,4980	0,577	
		Teste*Grupo	4,59	,401	0,807	
7	Ar	Grupo	1,59	17,656	<0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,59	21,854	0,829	
		Teste*Grupo	4,59	0,709	0,589	
8	CCD	Grupo	1,62	13,767	<0,001	Controle*IA.....sim
		Teste	4,62	1,481	0,219	
		Teste*Grupo	4,62	0,875	0,484	

A figura 14 apresenta os dados dos efeitos da intoxicação aguda no teste de *display* agressivo para os componentes correlatos do *display*. O painel A representa a frequência de Boiar (B) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. O painel B representa a frequência de Descansar (D) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel C representa a frequência de Emergir (E) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel D representa a frequência

de Afastar (Af) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel E representa a frequência de Carga (C) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel F representa a frequência de Mostrar Corpo (M) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. O painel G representa a frequência de Arquear (Ar) no Teste 1, 2, 3, 4 e 5. E o painel H representa a frequência dos Componentes Correlatos do *Display* ($CCD=B+D+E+Af+C+MC+Ar$) nos Testes 1, 2, 3, 4 e 5. Cada um dos testes corresponde, respectivamente, à exposição ao Teste de *Display* Agressivo após 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a intoxicação aguda de 60 $\mu\text{gPb/L}$.

Como indicado na Tabela 14, linhas 1 e 2, os fatores analisado nos painéis A e B foram teste (1, 2, 3, 4 ou 5) e grupo (controle ou IA). Para estas variáveis nenhum dos fatores e nem sua interação apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Já nas linhas 3, 4, 5, 6, 7 e 8, os fatores analisados nos painéis C, D, E, F, G e H foram teste e grupo. Nestas variáveis, apenas o fator grupo apresentou diferença significativa.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram investigados os efeitos do teste e re-teste da preferência claro-escuro e do *display* agressivo, bem como o efeito da intoxicação progressiva e aguda de chumbo para estes testes.

Validação da Preferência Claro-Escuro

Os resultados obtidos indicaram a alteração de comportamento nos compartimentos branco e preto na caixa BP devido ao aumento no tempo de permanência no compartimento preto. Os dados da Figura 2 e da Tabela 2, mostram uma lateralização do comportamento na caixa BB, indicando o caráter territorial dos Betta, mas não a preferência por um dos dois compartimentos (esquerdo ou direito).

A preferência pelo compartimento escuro confirmada é consistente com os dados de outras espécies de teleósteos, sendo estes: Peixe Dourado (*Carassius auratus*), Paulistinha (*Danio rerio*), Lambari (*Axtyanax autiparanae*), Néon (*Paracheirodon axelrodi*), Tuvira (*Gymnotus carapo*) e Lebiste (*Poecilia reticulata*) (MAXIMINO *et al.*, 2007; GOUVEIA *et al.*, 2005; SERRA, MEDALHA E MATTIOLI, 1999)

O comportamento de escototaxia é possivelmente um comportamento anti-predatório da ecologia de alguns peixes, o que aumenta a probabilidade de sobrevivência da espécie (GOUVEIA *et al.*, 2005). Este comportamento, selecionado naturalmente, nada mais é que uma resposta ao medo, na qual a estratégia comportamental adotada é a esquiva ou fuga de ambientes aversivos (sejam eles claros ou abertos), proporcionando, assim, um maior tempo de permanência no compartimento preto do aparato.

Teste e Re-Teste da Preferência Claro-Escuro

O teste e re-teste da preferência claro-escuro no *Betta splendens* não apresenta alterações do comportamento de escototaxia. Afinal, cinco testes consecutivos foram realizados (teste 1, 2, 3, 4 e 5), com intervalo de 24 horas entre eles, e os resultados obtidos demonstram que o comportamento de escototaxia se manteve ao longo dos cinco testes. Logo, não há alteração no tempo de permanência no compartimento preto e branco, no número de alternâncias e no tempo de primeira latência (Figura 3, Tabela 3).

Esses dados podem ser encontrados no *Carassius auratus* (BRITO *et al.*, 2007). Possivelmente, a manutenção destes comportamentos ao longo de cinco exposições consecutivas à caixa claro-escuro deve-se à manutenção, ou não-habituação, do valor aversivo do compartimento escuro do aparato. A habituação é uma aprendizagem não-associativa, na qual a repetição ou a re-exposição a um estímulo inócuo atenua o seu possível valor aversivo (LENT, 2001). No caso do *Betta splendens*, no teste e re-teste da preferência claro-escuro, não houve a formação de memória permanecendo, assim, o valor aversivo ao compartimento branco durante os cinco testes.

Intoxicação Progressiva e Aguda no Teste de Preferência Claro-Escuro

Os dados apresentados nos experimentos 4 e 5 indicam que, quando comparado com os grupos intoxicação (progressiva, no experimento 4; e aguda, no experimento 5), o grupo controle apresenta uma aparente habituação ao teste de preferência claro-escuro (Tabela 4 e 5).

Os dados do grupo IP (Figura 4, Tabela 4) e IA (Figura 5, Tabela 5) indicam que o tempo de permanência no compartimento preto e no compartimento branco não diferem entre os cinco testes realizados, ou seja, não se encontrou habituação no teste de preferência claro-escuro.

O chumbo, em mamíferos, reduz da densidade de receptores do tipo NMDA, receptor glutamatérgico importante para o LTP hipocampal, impedindo, dessa forma, a formação da memória de longo prazo GILBERT E LASLEY, 2002; VASQUEZ E ORTIS, 2004; GILBERT E LASLEY, 2007; LASLEY, GREEN E GILBET, 2001; MUNHOZ *et al.*, 1981; MENG *et al.*, 2003). O chumbo também bloqueia a ação de cálcio dependente da atividade do PKC, assim impedindo a transição de memória de curto-prazo em LTP (VASQUES E ORTIS, 2004). É factível pensar que tal efeito ocorra de forma similar em peixes.

De acordo com esses dados, os efeitos comportamentais da intoxicação por chumbo independem da forma de intoxicação (progressiva ou aguda), nas dosagens de 12, 24, 36, 48 ou 60 $\mu\text{gPb/L}$ ou período de exposição ao teste pós intoxicação de 60 $\mu\text{gPb/L}$ (24, 48, 72, 96 ou 120 horas). O efeito do chumbo dá-se, muito sutilmente, sobre a aprendizagem e a formação da memória de longo-prazo da habituação.

Nos grupos de intoxicação progressiva (Figura 4, Tabela 4) e aguda (Figura 5, Tabela 5), submetidos ao teste de preferência claro-escuro, não foram obtidos resultados indicativos de aumento da atividade locomotora (medida pelas alternâncias) ou ansiedade (pela permanência no compartimento preto).

Enquanto o chumbo está relacionado ao aumento da atividade locomotora em animais não piscinos (MARCO, HALPERN E BARROS, 2005; VIRGOLINI *et al.*, 2004; ADHAMI *et. Al.*, 2000), há contradições acerca do aumento desta atividade

em peixes (ATCHISON, HENRY e SANDHEINRICH,1987). Os experimentos 4 e 5, indicam que no teste de preferência claro-escuro o *Betta splendens* não apresenta alteração da atividade locomotora para os dois grupos.

Teste e Re-teste do Display Agressivo

No experimento 5, investigou-se o efeito do teste e re-teste do *display* agressivo no *Betta splendens*. Observou-se que nas cinco exposições consecutivas (testes 1, 2, 3, 4 e 5) do teste de *display* agressivo em espelho, separadas em intervalos de 24h, não houve alteração dos comportamentos do *display*, nem de seus componentes (Figuras 6, 7 e 8, Tabelas 6, 7 e 8), com exceção de Nado Ondulado (Figura 7, Tabela 7).

O comportamento Nado Ondulado (NO) apresentou aumento, estatisticamente significativo, no teste 3 quando comparado aos testes 1, 2 e 4. Estes dados indicam uma possível variável interveniente desconhecida que controlou este comportamento durante o teste 3, aumentando sua frequência. Esta hipótese confirma-se com a não diferença na frequência de NO entre os testes 1, 2, 4 e 5, indicando que, no teste 4 e 5, quando esta variável aparentemente dissipou-se, o comportamento NO volta a sua linha de base.

Estes dados corroboram pesquisas anteriores, as quais não encontra-se habituação do *display* agressivo do *Betta splendens* em menos de 24 horas de exposição ao espelho (CLAYTON e HINDE 1968; MELISKA e MELISKA 1976), contato visual ou contato direto (PEEKE e PEEKE 1970; Klein, FIGLER e PEEKE 1975).

Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Display

No experimento 6, observou-se o efeito da intoxicação progressiva no teste de *display* agressivo. Houve um aumento na frequência dos dois comportamentos dos componentes próprios do *display* (*Display* Horizontal e *Display* Vertical) e, inclusive, um aumento deste componente (Figura 9, Tabela 9).

Houve também aumento na frequência dos componentes correlatos do *display* (Figura 11, Tabela 11). Embora tenha ocorrido uma diminuição nos comportamentos Descansar (D), Afastar (Af) e Arquear (Ar), o aumento de Emergir (E), Carga (C) e Mostrar Corpo (MC) mantiveram o aumento geral dos componentes correlatos ao *display*. Observando-se estes efeitos em de C e Af a partir do segundo teste, devido ao aumento da atividade geral, houve uma diminuição na frequência de Descansar.

A diminuição de Af e Ar devem-se às atividades concorrentes. Como Ar é um comportamento que ocorre sem DH e DV, o aumento destes comportamentos gera, conseqüentemente, a diminuição da frequência de Ar. Já o Af, que é um comportamento de ataque longo com possível função de marcação territorial, teve sua frequência diminuída, provavelmente, devido ao aumento do comportamento de carga, sendo substituído por este movimento de ataque direto.

O aumento de E explica-se pelo aumento de DH e DV, os quais aumentam a abertura de opérculo em situação de *display*. A abertura de opérculo impede a obtenção de oxigênio (ABRAHAM, Hobb & HARE, 2005), implicando em um aumento na frequência do comportamento de emergir.

Os componentes de mobilidade do *display* (Figura 10, Tabela 10) apresentaram diminuição no teste de *display* agressivo. Novamente observa-se que

há diferença (Tabela 10, linha 3 e 4) no comportamento NO e nos CMD com relação ao teste 3. Este dado ocorre devido ao aumento do comportamento de NO no terceiro teste do grupo controle, já explicado anteriormente.

Contudo, observa-se que os componentes próprios e correlatos do *display*, os quais possuem comportamentos diretamente vinculados à apresentação do *display* (DH e DV) e à *agressão* (C, MC e Af), aumentaram suas frequências, enquanto que os componentes de mobilidade do *display* as diminuíram.

A diminuição dos componentes de mobilidade do *display* não implica em uma diminuição da atividade motora, já que todos os seus comportamentos ocorrem em situação de não *display* horizontal ou vertical. Ou seja, estes são comportamentos concorrentes. Portanto, um aumento na exibição do *display*, invariavelmente, implicaria na diminuição dos comportamentos destes componentes.

Intoxicação Aguda sobre o Teste de Display Agressivo

No experimento 7, o efeito da intoxicação aguda de chumbo se dá, aparentemente, com menos intensidade sobre o comportamento agressivo do *Betta splendens*.

Nos componentes próprios do *display* (Figura 12, Tabela 12), apenas o DV apresentou aumento. Os CPD também apresentou aumento na frequência de comportamentos em situação de *display*. Todavia, os componentes de mobilidade do *display* (Figura 13, Tabela 13) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, e por isso, o aumento da frequência de NO no teste 3 do grupo controle não foi indicado na análise estatística.

Já nos componentes correlatos do *display* (Figura 14, Tabela 14), os resultados foram praticamente os mesmos do experimento 6, com exceção de D,

que não apresentou diferença com relação ao controle. Para os outros comportamentos, as diferenças, comparadas ao grupo controle, se mantiveram: Af e Ar diminuíram e E, C e MC aumentaram suas frequências. Estes efeitos, em C e Af, ocorreram no segundo teste, indicando novamente a substituição de Af por C.

Talvez, um possível aumento dos componentes de mobilidade do *display*, em relação ao grupo IP, esteja diretamente relacionado à diminuição do DH e ao aumento de D. Tornando, assim, as frequências destes comportamentos mais próximas às frequências do grupo controle. Estes dados indicam um sutil aumento da atividade locomotora acompanhado pela queda da agressividade do grupo IA quando comparado ao grupo IP.

CONCLUSÃO

Os comportamentos estudados nos dois testes utilizados são diferentes. No teste de preferência claro-escuro o comportamento em foco é a ansiedade. Esta é o primeiro nível da reação de defesa (GRAEFF, 1994; BLANCHARD & BLANCHARD, 1988), o qual medeia quatro estratégias comportamentais: imobilização, fuga, agressão defensiva ou submissão (ZANGROSSI JR., 1996; BLANCHARD E BLANCHARD, 1988).

Estas estratégias comportamentais são mediadas pelos mecanismos da ansiedade, ou seja, pela ação serotoninérgica (5-HT). Em mamíferos, o aumento de 5-HT na região do septo-hipocampal e da amígdala aumenta a probabilidade de esquiva, enquanto que a ação do 5-HT na matéria cinzenta periaquidutal aumenta a probabilidade de fuga e agressão defensiva (GRAEFF, 2002).

Nos resultados obtidos, o chumbo possivelmente não age sobre o sistema serotoninérgico. Desta maneira, ao expor o *Betta splendens* a um teste possivelmente modulado pela ação de 5-HT, a intoxicação por chumbo não apresentou efeito que indicasse alteração desta ansiedade.

No teste de *display* agressivo, o comportamento estudado é a agressão, que possui outros mecanismos. De maneira geral, o aumento de dopamina no sistema mesolímbico (núcleo *accumbens*, o estriado ventral, os núcleos da estria terminal, partes da amígdala e do hipotálamo, os núcleos septais laterais, o córtex entorrinal, córtex medial frontal e o córtex cingulado anterior) e a diminuição de serotonina nestes terminais, aumentam o comportamento de agressão ofensiva em mamíferos (OADES *et al.* 2008; DeLEON, *et al.*, 2002; FERRARI *et al.*, 2003; ERP e MICZEK, 2000).

Estudos indicam que o chumbo inibe a recaptação dopaminérgica (EDDINE, MILOUDE e ABDELKADER, 2005; MARCHETTI 2003) e diminui o número de neurônios dopaminérgicos no SNC (TAVAKOLI-NEZHAD, BARRON e PITTS, 2001). Esta dopamina não capturada acaba por ser distribuída passivamente através do líquido às áreas periféricas do sistema mesolímbico, aumentando assim o nível da dopamina no núcleo *accumbens*, o que pode provocar o aumento da agressividade.

Os dados com o *Betta splendens*, no teste de *display* agressivo, indicam que chumbo produz aumento de comportamentos agressivos ofensivos, que possivelmente decorrem da inibição da recaptação dopaminérgica (EDDINE, MILOUDE e ABDELKADER, 2005; MARCHETTI 2003). Esses dados são semelhantes aos dados encontrados na literatura, que indicam o aumento da agressividade em humanos (NEEDELEMAN *et al.*, 2002; DIETRICH *et al.*, 2001; STRETESKY E LYNCH , 2001) e em modelos animais não-piscinos (DELVILLE 1999; CERVANTES *et al.* 2005), nos quais o chumbo aumenta a frequência de comportamentos agressivos.

Desta forma, pode-se concluir que o chumbo, tanto em doses progressivas, quanto em doses agudas, produz um possível aumento dos comportamentos agressivos e *déficits* de aprendizagem e na formação de memória de longo-prazo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos dados indicam que a espécie estudada:

1. Apresenta comportamento de escototaxia (preferência por escuridão) no teste de preferência claro-escuro.
2. Não apresenta habituação do comportamento de escototaxia no teste e re-teste de preferência claro-escuro, exceto quando comparados aos grupos de intoxicação progressiva e intoxicação aguda.
3. Apresenta *déficits* sutis na formação de memória de longo-prazo, provocados pela intoxicação progressiva e aguda de chumbo no teste de preferência claro-escuro.
4. Não apresenta efeito que indique a alteração de ansiedade provocado pela intoxicação por chumbo no teste de preferência claro-escuro.
5. Não há habituação dos comportamentos e componentes do *display* no teste e re-teste do *display* agressivo com apresentação de espelho.
6. Apresenta aumento nos comportamentos dos componentes próprios e correlatos do *display*, proporcional ao aumento da agressividade provocada pelo chumbo no teste de *display* agressivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahams, M.V., Robb, T.L., Hare, J.F. Effect of hypoxia on opercular displays: evidence for an honest signal?. **Animal Behaviour**, 70, 427-432, 2005.
- Adhami, V.M., Husain, R., Agarwal, A.K., Seth, P.K. Intrahippocampal cholinergic-rich transplants restore lead-induced deficits: a preliminary study in rats. **Neurotoxicology and Teratology**, 22, 41-53, 2000.
- Atchison, G.J., Henry, M.G., Sandheinrich, M.B. Effects of metal on fish behavior. **Environmental Biology of Fishes**, 18, 1, 11-25, 1987.
- Battacharya, A., Shukla, R., Dietrich, K.N., Bornschein, R.L. Effect of early lead exposure on maturation of children's postural balance: a longitudinal study. **Neurotoxicology and Teratology**, 28, 376-385, 2006.
- Bellinger, D.C. Lead. **Pediatrics**, 113, 1016-1022, 2004.
- Benninger, R. Catechol amines and social relations in Siamese fighting fish. **Animal Behavior**, 16, 442-447, 1968.
- Blanchard, D. C. & Blanchard, R. J. (1988). An Ethoexperimental approach to biology of emotions. **Annual Review of Psychology**, 39, 43-68.
- Blanchard, R. J., Yudko, E. B., Rodgers, R. J., Blanchard, D. C. (1993). Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behavioral Brain Research**, 58, 1-2, 155-65.
- Bleecker, M.L., Ford, D.P., Lindgren, K.N., Hoese, V.M., Walsh, K.S., Vaughan, C.G. Differential effects of lead exposure on components of verbal memory. **Occup Environ Med**, 62, 181-187, 2005.
- Bleecker, M.L., Ford, D.P., Vaughan, C.G., Walsh, K.S., Lindgren, K.N. The association of lead exposure and motor performance mediated by cerebral white matter change. **NeuroToxicology**, 28, 318-323, 2007.
- Bolis, C.L., Piccolella, M., Dalla-Valle, A.Z., Rankin, J.C. Fish model in pharmacological and biological research. **Pharmacological Research**, 44, 4, 265-280, 2001.
- Braud, W.G., Weibel, J.E. Acquired stimulus control of drug-induced changes in aggressive display in *Betta splendens*. **Journal of the Experimental Analysis of Behavior**, 12, 5, 773-777, 1969.
- Brito, T.M., Maximino, C., Colmanetti, R.B., Pontes, A.A.A., Castro, H.M., Lacerda, R.I.T., Morato, S., Gouveia Jr., A. Padrões de preferência claro/escuro de duas

espécies de teleósteos em um paradigma de teste-reteste. **Anais XXII Reunião Anual da Fesbe**, Águas de Lindóia: Fesbe, CD-ROM, 2007.

Bronstein, P.M. Agonistic and reproductive interactions in *Betta splendens*. **Journal of Comparative Psychology**, 98, 4, 421-431, 1984.

Bronstein, P.M. Commitments to aggression and nest sites in male *Betta splendens*. **Journal of Comparative Physiological Psychology**, 95, 436-449, 1981.

Bronstein, P.M. On the predictability, sensitization, and habituation of aggression in male betas (*Betta splendens*). **Journal of Comparative Psychology**, 108, 1, 45-57, 1994.

Bronstein, P.M. Onset of combat in *Betta splendens*. **Journal of Comparative Psychology**, 97, 2, 136-139, 1983.

Bronstein, P.M. Predictors of dominance in male *Betta splendens*. **Journal of Comparative Psychology**, 99, 1, 47-55, 1985b.

Bronstein, P.M. Prior-residence effect in *Betta splendens*. **Journal of Comparative Psychology**, 99, 1, 56-59, 1985a.

Brown, M.M., Sardenga, P.B., Olson, G.A., Delatte, S.W., Olson, R.D. MIF-1 (Pro-Leu-Gly-NH₂) decreases activity in Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, 20, 629-630, 1984.

Byers, R.K. Lead Poisoning: review of the literature and report on 45 cases. **Pediatrics**. 23, 585-603. 1959

Canfield, R.L., Henderson, C.R. Jr., Cory-Slechta, D.A., Cox, C., Jusko, T.A., Lanphear, B.P. Ontellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter. **N Engl J Med**, 348, 1517-1526, 2003.

Cervantes, M.C., David, J.T., Loyd, D.R., Salinas, J.A., Delville, Y. Lead exposure alters the development of agonistic behavior in golden hamster. **Wiley InterScience**, 158-159, 2005. Disponível em: <http://www.interscience.wiley.com>. Acesso em: outubro, 2006.

Chisolm Jr., J.J., Harrison, H.E. The exposure of children to lead. **Pediatrics**, 18, 943-958, 1956.

Chuang, H.Y., Chao, K.Y., Tsai, S.Y. Reversible neurobehavioral performance with reductions in blood lead levels – a prospective study on lead workers. **Neurotoxicology and Teratology**, 27, 497-504, 2005.

Clayton, F.L., Hinde, R.A. The habituation and recovery of aggressive display in *Betta splendens*. **Behaviour**, XXX, 96-105, 1967.

Clotfelter, E.D., Paolino, A.D. Bystanders to contest between conspecifics are primed for increased aggression in male fighting fish. **Animal Behaviour**, 66, 343-347, 2003.

Committee on Environmental Hazards and Committee on Accident and Poison Prevention. Statement on childhood lead poisoning. **Pediatrics**, 79, 457-465, 1987.

Committee on Environmental Health. Lead exposure in children: prevention, detection, and management. **Pediatrics**, 116, 1036-1046, 2005.

Cordeiro, R., Filho, E.C.L., Salgado, P.E.T. Distúrbios neurológicos em trabalhadores com baixos níveis de chumbo no sangue – I: Neuropatia periférica. **Revista de Saúde Pública**, 30, 3, 243-255, 1996.

DeLeon, K.R., Grimes, J.M., Connor, D.F., Melloni Jr., R.H. Adolescent cocaine exposure and offensive aggression: involvement of serotonin neural signaling and innervations in male Syrian hamster. **Behavioural Brain Research**, 133, 211-220, 2002.

Delville, Y. Exposure to lead during developmental alters aggressive behavior in golden hamsters. **Neurotoxicology and Teratology**, 21, 4, 445-449, 1999.

Dietrich, K.N., Ris, M.D., Succop, P.A., Berger, O.G., Bornschein, R.L. Early exposure to lead and juvenile delinquency. **Neurotoxicology and Teratology**, 23, 511-518, 2001.

Dore, F., Lefebvre, L., Ducharme, R. Threat display in *Betta splendens*: effects of water condition and type of agonistic stimulation. **Animal Behaviour**, 26, 738-745, 1978.

Doutrelant, C., McGregor, P.K. Eavesdropping and mate choice in female fighting fish. **Behaviour**, 137, 1655-1669, 2000.

Doutrelant, C., McGregor, P.K., Oliveira, R.F. The effect of an audience intrasexual communication in male Siamese fighting fish, *Betta splendens*. **Behavioral Ecology**, 12, 3, 283-286, 2001.

Eddine, D.N., Miloud, S., Abdelkader, A. Effect of lead exposure on dopaminergic transmission in rat brain. **Toxicology**, 207, 363-368, 2005.

Erp, A.M.M.V. e Miczek. Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats. **The Journal of Neuroscience**, 20, 24, 9320-9325, 2000.

Evans, C.S. Display vigours and subsequence fight performance in Siamese fighting fish, *Betta splendens*. **Behavioural Processes**, 11, 113-121, 1985.

Falk, H. International environmental health for the pediatrician: case study of lead poisoning. **Pediatrics**, 112, 259-264, 2003.

Ferrari, P.F., Erp, A.M.M.V., Tornatzky, W., Miczek, K.A. Accumbal dopamine and serotonin in anticipation of the next aggressive episode in rats. **European Journal of Neuroscience**, 17, 371-378, 2003.

Fraser, S. Muckle, G., Deprés, C. The relationship between lead exposure, motor function and Inuit preschool children. **Neurotoxicology and Teratology**, 28, 18-27, 2006.

Galhardo, L., Oliveira, R. Dos peixes e dos homens: o estudo do bem-estar animal aplicado à piscicultura. **Anais do ZOOTEC 2005**, Campo Grande: ZOOTEC, 2005.

Gilbert, M.E., Lasley, S.M. Developmental lead (Pb) exposure reduces the ability of NMDA antagonist MK-801 to suppress long-term potentiation (LTP) in the rat dentate gyrus, in vivo. **Neurotoxicology and Teratology**, 29, 385-393, 2007.

Gilbert, M.E., Lasley, S.M. Long-term consequences of developmental exposure to lead or polychlorinated biphenyls: synaptic transmission and plasticity in the rodent CNS. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 12, 105-117, 2002.

Gómez, Y., Vargas, J.P., Portavella, M., López, J.C. Spatial learning and goldfish telencephalon NMDA receptors. **Neurobiology of Learning and Memory**, 85, 252-262, 2006.

Gouvei Jr., A., Maximino, C. e Brito, T. M. (2006). **Comportamento de Peixes: vantagens e utilidades na neurociências**. Bauru: [s.n.], 1-80.

Gouveia Jr, A., Oliveira, C.M., Romão, C.F., Brito, T.M., Ventura, D.F. Effects of trophic poisoning with methylmercury on the appetitive elements of the agonistic sequence in fighting-fish (*Betta splendens*). **The Spanish Journal of Psychology**, 10, 2, 436-448, 2007.

Gouveia Jr., A., Zampieri, R.A., Ramos, L.A., Silva, E.F., Mattioli, R., Morato, S. Preference of goldfish (*Carassius auratus*) for dark places. **Revista de Etologia**, 17, 2, 63-66, 2005.

Graeff, F. G. (1994). Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 27, 811-819.

Graeff, F. G. On serotonin and experimental anxiety. **Psychopharmacology**, 163, 467-476, 2002.

Hogan, J.A. e Bols, R.J. Priming of aggressive motivation in *Betta splendens*. **Animal Behavior**, 28, 135-142, 1980.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). **Tabela Periódica**, 2009.

Kandel, E.R., Schwartz, J. H., Jessel, T. M. **Princípios da Neurociências**. 4ª ed. Barueri-SP: Editora Manole, 2003.

Karino, K., someya, C. The influence of sex, line, and fight experience on aggressiveness of the Siamese fighting fish in intrasexual competition. **Behavioural Processes**, 75, 283-289, 2007.

Klein, R.M., Figler, M.H., Peeke, H.V.S. Modification of consummatory (attack) behavior resulting from prior habituation of appetitive (threat) components of the agonistic sequence in male *Betta splendens* (Pisces, Belontiidae). **Behaviour**, LVIII, 1/2, 1-25, 1975.

Koller, K., Brown, T., Spurgeon, A., Levy, L. Recent developmental in low-level lead exposure and intellectual impairment in children. **Environmental Health Perspectives**, 112, 9, 987-994, 2004.

Kotrschal, K., Van-Staaden, M.J., Huber, R. Fish brains: evolution and environmental relationships. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 8, 373-408, 1998.

Lanphear, B. P., Dietrich, K., Auinger, P., Cox, C. Cognitive deficits associated with blood lead concentrations <10microg/dL in US children and adolescents. **Public Health Rep**, 115, 521-529, 2000.

Lanphear, B.P., Hornung, R. Khoury, J. Yolton, K., Baghurst, P., Mellinger, D.C., Canfield, R.L., Dietrich, N., Bornschein, R., Greene, T., Rothenberg, S.J., Needleman, H.L., Schnaas, L., Wasserman, G., Graziano, J., Roberts, R. Low-level environmental lead exposure and children's intellectual function: an international pooled analysis. **Environmental Health Perspectives**, 113, 7, 894-899, 2005.

Lasky, R.E., Laughlin, N.K. Exploring a partially enclosed space by lead-exposed female rhesus monkey. **Neurotoxicology and Teratology**, 23, 177-183, 2001.

Lasley, S.M., Green, M.C., Gilbert, M.E. Rat hippocampal NMDA receptor binding as a function of chronic lead exposure level. **Neurotoxicology and Teratology**, 23, 185-189, 2001.

Leal, R.B., Ribeiro, S.J., Posser, T., Cordava, F.M., Rigon, A.P., Filho, E.Z., Bainy, A.C.D. Modulation of ERK1/2 and p38MAPK by lead in the cerebellum of Brazilian catfish *Rhamdia quelen*. **Aquatic Toxicology**, 77, 98-104, 2006.

Lent, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociências**. 1ª Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001.

- Lissmann, H.W. The environment of the fighting fish *Betta splendens* Regan. **Zeitschrift Fur Vergleichende Physiologie**, 18, 65-111, 1932.
- Mantovani, M., Matteussi, A.S. Antidepressant-like effect of lead in adult mice. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**. 32, 1555-1560, 1999.
- Marchetti, C. Molecular targets of lead in brain neurotoxicity. **Neurotoxicity Research**, 5, 3, 221-236, 2003.
- Marco, M.D., Halpern, R., Barros, H.M.T. Early behavioral effects of lead perinatal exposure in rat pups. **Toxicology**, 211, 49-58, 2005.
- Martinez, C.B.R., Nagaie, M.Y., Zaia, C.T.B., Zaia, D.A. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Braz J Biol**, 64, 4, 797-807, 2004.
- Matos, R.J., McGregor, P.K. The effect of sex audience on male-male displays of Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Behaviour**, 139, 1211-1221, 2002.
- Matos, R.J., Peake, T.M., McGregor, P.K. Timing of presentation of an audience: aggressive priming and audience effects in male display of Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Behavioural Processes**, 63, 53-61, 2003.
- Maximino, C., Brito, T.M., Moraes, F.D., Oliveira, F.V.C., Taccolini, I.B., Pereira, P.M., Colmanetti, R., Lozano, R., Gazolla, R.A., Tenório, R., Lacerda, R.I.T., Rodrigues, S.T.K., Lameirão, S.V.O.C., Pontes, A.A.A., Romão, C.F., Prado, V.M., Gouveia Jr., A. A comparative analysis of the preference for dark environments in five teleosts. **International Journal of Comparative Psychology** 20, 351-367, 2007.
- McGregor, P.K., Peake, T.M., Pampe, H.M. Fighting fish *Betta splendens* extract information from apparent interactions: what happens when what you see is not what you get. **Animal Behaviour**, 62, 1059-1065, 2001.
- McNaughtin, N. e Corr, P. A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 28, 285-305, 2004.
- Meliska, J.A., Meliska, C.J. Effects of habituation on threat display and dominance establishment in the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. **Animal Learning & Behavior**, 4, 2, 167-171, 1976.
- Melvin, K.B., Prendice-Dunn, S., Adams, C.H., Herring III, G.H. Curvilinear effects of severity of punishment on species-typical aggressive display in *Betta splendens*. **Journal of Comparative Psychology**, 100, 2, 188-193, 1986.
- Meng, X.M., Ruan, D.Y., Kang, L.D., Zhu, D.M., She, J.Q., Luo, L., Zheng, Y., Li, X.H. Age-related morphological impairments in the rat hippocampus following

developmental lead exposure: an MRO, LM and EM study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 13, 187-197, 2003.

Min, J.Y., Min, K.B., Cho, S.I., Kim, R., Sakong, J., Paek, D. Neurobehavioral functions in children with low blood lead concentrations. **NeuroToxicology**, 28, 421-425, 2007.

Moreira, E.G., Vassilieff, I., Vassilieff, V.S. Developmental lead exposure: behavioral alterations in the short and long term. **Neurotoxicology and Teratology**, 23, 489-495, 2001.

Moreira, F. R. e Moreira, J. C. (2004). A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, 9, 1, 167-181.

Muñoz, C., Garbe, K., Lilientahl, H., Winneke, G. Neurobehavioral effects of lead in low level exposure studies. **Behav Neural Biol**, 32, 319-333, 1981.

Needleman, H.L., Mcfarland, C., Ness, R.B., Fienberg, S.E., Tobin, M.J. Bone lead levels in adjudicated delinquents: a case control study. **Neurotoxicology and Teratology**, 24, 711-717, 2002.

Oades, R.D., Lasky-Su, J., Christianseni, H., Faraone, S.V., Sonuga-Barke, E.J.S., Banaschewski, T., Chen, W., Anney, R.J.L., Buitelaars, J.K., Ebstein, R.P., Frankes, B., Gill, M., Miranda, A., Roeyers, H., Rothenberger, A., Sergeant, J.A., Steinhausen, H.C., Taylor, E.A., Thompson, M., Asherson, P. The influence of serotonin and other genes on impulsive behavioral aggression and cognitive impulsivity in children with attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): findings from a family based association teste (FBAT) analysis. **Behavioral and Brain Functions**, 4, 48, 1-14, 2008.

Oliveira, R.F., McGregor, P.K., Latruffe, C. Know thine enemy: fighting fish gather information from observing conspecific interactions. **Preceedings Royal Society of London: Biological Science**, 265, 1045-1049, 1998.

Otoni E.B. **Etholog 2.2**. Laboratório de Psicologia e Etologia, Departamento de Psicologia Experimental, USP: São Paulo, 1999.

Peeke, H.V.S., Peeke, S.C. Habituation of conspecific aggressive responses in the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Behaviour**, 36, 3 232-245, 1970.

Pollielo, M. M. B. e Chasin, A. A. M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos**. Salvador: CRA.

Portavella, M., Salas, C., Vargas, J.P., Papini. M.R. Involvement of the telencephalon in spaced-trial avoidance learning in goldfish (*arautus*). **Physiology & Behavior**, 80, 49-56, 2003.

Portavella, M., Torres, B., Salas, C. Avoidance responses in goldfish: emotional and temporal involvement of medial and lateral telencephalic pallium. **The Journal of Neuroscience**, 24, 9, 2335-2342, 2004.

Portavella, M., Vargas, J.P. Emotional and spatial learning in goldfish is dependent on different telencephalic pallial systems. **European Journal of Neuroscience**, 21, 2800-2806, 2005.

Portavella, M., Vargas, J.P., Torres, B., Salas, C. The effects of telencephalic pallial lesions on spatial, temporal, and emotional learning in goldfish. **Brain research Bulletin**, 57, 3/4, 397-399, 2002.

Rogers, J.T., Richards, J.G., Wood, C.M. Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, 64, 215-234, 2003.

Sadao, M. Intoxicação por chumbo. **Revista de Oxidologia**, 37-42, 2002.

Salinas, J.A., Huff, N.C. Lead and conditioned fear to contextual and discrete cues. **Neurotoxicology and Teratology**, 24, 541-550, 2002b.

Salinas, J.A., Huff, N.C. Lead and spatial vs. cued open field performance. **Neurotoxicology and Teratology**, 24, 551-557, 2002a.

Schnaas, L., Rothenberg, S.J., Perroni, E., Martínez, S. Hernández, C., Hernández, R.M. Temporal pattern in the effect of postnatal blood lead level on intellectual development of young children. **Neurotoxicology and Teratology**, 22, 805-810, 2000.

Schwartz, J. Low-level lead exposure and children's IQ: a meta-analysis and search for a threshold. **Environmental Research**, 65, 42-55, 1994.

Serra, E.L., Medalha, C.C., Mattioli, R. Natural preference of zebrafish (*Danio rerio*) for dark environment. **Brazilian journal of Medical and Biological Research**, 32, 1551-1553, 1999.

Shapiro, S. Schuckman, H. Habituation of components of threat display in *Betta splendens*. **Psychological Reports**, 28, 827-837, 1971.

Sheng, W., Hang, H.W., Ruan, D.Y. In vivo microdialysis of the relationship between lead-induced impairments of learning and neurotransmitter changes in the hippocampus. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 20, 233-240, 2005.

Simón, A. Chemoreception in *Betta splendens*. **Psychological Reports**, 37, 97-98, 1975.

Sloman, K.A. Effects of trace metals on salmonid fish: the role of social hierarchies. **Applied Animal Behaviour Science**, 104, 326-345, 2007.

Stouthart, A.J.H.X., Spanings, F.A.T., Wendelaar-Bonga, S.E. Effects of low water PH on lead toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquatic Toxicology**, 30, 137-151, 1994.

Stretesky, P.B., Lynch, M.J. The relationship between lead exposure and homicide. **Arch Pediatr Adolesc Med**, 155, 579-582, 2001.

Surkan, P.J., Zhang, A., Trachtenberg, F., Daniel, D.B., McKinlay, S., Bellinger, D.C. Neuropsychological function in children with blood lead levels <10µg/dL. **NeuroToxicology**, 28, 1170-1177, 2007.

Tavakoli-Nezhad, M., Barron, A.J., Pitts, D.K. Postnatal inorganic lead exposure decreases the number of spontaneously active midbrain dopamine neurons in rats. **NeuroToxicology**, 22, 259-269, 2001.

Télles-Roje, M.M., Bellinger, D.C., Arroyo-Quiroz, C., Lamadrid-Figueroa, H., Mercado-Garcia, A., Schnaas-Arrieta, L., Wright, R.O., Hernández-Avila, M., Hu, H. Longitudinal associations between blood lead concentrations lower than 10µg/dL and neurobehavioral development in environmentally exposed children in Mexico City. **Pediatrics**, 118, 323-330, 2006.

Tellez-Rojo, M.M., Bellinger, D.C., Arroyo-Quiroz, C. Lamadrid-Figueroa, H., Mercado-Garcia, A., Schnaas-arrieta, L. Wright, R. O., Hernández-Avila, M., Hu, H. Longitudinal associations between blood lead concentrations lower than 10microg/dL and neurobehavioral development in environmental exposed children in México City. **Pediatrics**, 118, 323-330, 2006.

Vargas, J.P., Bingman, V.P., Portavella, M., López, J.C. Telencephalon and geometric space in goldfish. **European Journal of Neuroscience**, 24, 2870-2878, 2006.

Vázquez, A., Ortiz, S.P. Lead (Pb⁺²) impairs long-term memory blocks learning-induced in hippocampal protein kinase C activity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 200, 27-39, 2004.

Virgolini, M.B., Volosin, M., Fulginiti, A.S., Cancela, L.M. Amphetamine and stress responses in developmentally lead-exposure rats. **Neurotoxicology and Teratology**, 26, 291-303, 2004.

Wallen, K., Wojciechowsky-Metzlar, C.I. Social conditioning and dominance in male *Betta splendens*. **Behavioural Processes**, 11, 181-188, 1985.

Weber, D.N., Russo, A., Seale, D.B., Spieler, R.E. Waterborne lead affects feeding abilities and neurotransmitter levels of juvenile fathead minnows. **Aquatic Toxicology**, 21, 71-80, 1991.

WHO. **Air Quality Guidelines**. Dinamarca: Copenhagen, 2, 1-17, 2001.

Wigle, D.T., Lanphear, B.P. Human health risk from low-levels environmental exposure: no apparent safety thresholds. **PLoS Med**, 2, 350-355, 2005.

Yang, Y.Y., Ma, Y., Ni, L., Zhao, S., Li, L., Zhang, J., Fan, M., Liang, C., Cao, J., Xu, L. Lead exposure through gestation – only caused long-term learning/memory deficits in young adult offspring. **Experimental Neurology**, 184, 489-495, 2003.

Zangrossi Jr., H. Modelos animais de ansiedade. *Em* F.G. Graeff & H. Zangrossi Jr. (org). **Ansiedade e Transtornos de Ansiedade**. Rio de Janeiro: Editora Científica Nacional, 1996.

ANEXOS

Experimento 1 - Validação do Teste de Preferência Claro-Escuro

Caixa	Medida	Soma Preto/ Esquerda (s)	Soma Branco/ Direita (s)	Número de Alternâncias	Primeira Latência (s)
BB	MÉDIA	551,14	348,86	17,29	31,43
BB	EP*	58,17	58,17	4,10	6,41
BB	DP**	153,91	153,91	10,86	16,97
BP	MÉDIA	842,43	57,57	5,29	65,71
BP	EP	30,76	30,76	3,10	45,99
BP	DP	91,20	91,20	7,85	95,63
PP	MÉDIA	480,29	419,71	14,14	92,29
PP	EP	34,47	34,47	2,97	36,15
PP	DP	81,38	81,38	8,19	121,67

* EP = Erro Padrão

** DP = Desvio Padrão

Experimento 2 – Efeito do Teste e Re-Teste de Preferência Claro-Escuro

Teste	Grupo	Medida	Preto (s)	Branco (s)	Número de Alternancias	Primeira Latência (s)
1	Contole	MÉDIA	842,43	57,57	5,29	65,71
1	Contole	EP	34,47	34,47	2,97	36,15
1	Contole	DP	91,20	91,20	7,85	95,63
2	Contole	MÉDIA	761,14	138,86	10,57	90,71
2	Contole	EP	41,26	41,26	3,07	42,28
2	Contole	DP	109,17	109,17	8,12	111,87
3	Contole	MÉDIA	737,71	162,29	10,14	81,14
3	Contole	EP	58,07	58,07	2,78	33,39
3	Contole	DP	153,65	153,65	7,36	88,34
4	Contole	MÉDIA	693,53	206,47	14,86	179,71
4	Contole	EP	63,60	63,60	4,41	92,13
4	Contole	DP	168,26	168,26	11,67	243,75
5	Contole	MÉDIA	674,29	225,71	14,00	73,86
5	Contole	EP	65,80	65,80	3,38	39,51
5	Contole	DP	174,08	174,08	8,94	104,53

Experimento 3 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro

Teste	Grupo	Dose ($\mu\text{gPb/L}$)	Medida	Preto (s)	Branco (s)	Número de Alternâncias	Primeira Latência (s)
1	IP	12	MEDIA	698,25	201,75	13,25	67,88
1	IP	12	EP	25,91	25,91	1,73	19,48
2	IP	24	MEDIA	654,50	245,50	14,50	107,63
2	IP	24	EP	22,16	22,16	1,73	44,26
2	IP	24	DP	59,76	59,76	2,98	57,35
3	IP	36	MEDIA	662,75	237,25	14,63	50,50
3	IP	36	EP	43,18	43,18	1,96	28,13
3	IP	36	DP	151,46	151,46	10,21	66,43
4	IP	48	MEDIA	637,50	262,50	8,50	143,63
4	IP	48	EP	94,88	94,88	1,45	116,11
4	IP	48	DP	287,04	287,04	6,16	203,44
5	IP	60	MEDIA	698,00	202,00	8,88	118,38
5	IP	60	EP	83,68	83,68	1,68	66,15
5	IP	60	DP	266,99	266,99	8,95	181,53

Experimento 4 – Efeito da Intoxicação Aguda sobre o Teste de Preferência Claro-Escuro

Teste	Grupo	Dose ($\mu\text{gPb/L}$)	Medida	Preto (s)	Branco (s)	Número de Alternâncias	Primeira Latência (s)
1	IA	60	MEDIA	729,75	170,25	11,25	47,38
1	IA	60	EP	34,15	34,15	1,44	25,45
1	IA	60	DP	73,29	73,29	4,89	55,09
2	IA	60	MEDIA	722,75	177,25	11,63	109,13
2	IA	60	EP	21,13	21,13	1,05	20,28
2	IA	60	DP	58,63	58,63	4,57	117,10
3	IA	60	MEDIA	708,14	191,86	10,14	58,86
3	IA	60	EP	53,55	53,55	3,61	23,49
3	IA	60	DP	114,23	114,23	5,18	74,42
4	IA	60	MEDIA	675,14	224,86	6,14	191,71
4	IA	60	EP	101,48	101,48	2,18	71,93
4	IA	60	DP	251,04	251,04	3,85	307,21
5	IA	60	MEDIA	674,57	225,43	6,86	123,29
5	IA	60	EP	94,40	94,40	3,16	64,18
5	IA	60	DP	221,41	221,41	4,45	175,03

Experimento 5 - Efeito do Teste e Re-Teste do *Display Agressivo*

Teste	Grupo	Medida	DH	DV	CPD	Ab	NL	NO	CMD
1	Controle	MÉDIA	10,29	5,86	16,14	0,14	1,57	1,29	3,00
1	Controle	EP	1,34	1,01	2,15	0,14	0,78	0,52	0,93
1	Controle	DP	3,55	2,67	5,70	0,38	2,07	1,38	2,45
2	Controle	MÉDIA	11,71	6,43	18,14	0,00	1,43	2,00	3,43
2	Controle	EP	1,19	1,80	2,69	0,00	0,53	0,38	0,65
2	Controle	DP	3,15	4,76	7,10	0,00	1,40	1,00	1,72
3	Controle	MÉDIA	12,29	8,71	21,00	0,14	1,86	6,43	8,43
3	Controle	EP	2,64	2,30	3,69	0,14	0,67	1,73	2,18
3	Controle	DP	6,99	6,07	9,76	0,38	1,77	4,58	5,77
4	Controle	MÉDIA	10,43	6,29	16,71	0,57	2,86	1,86	5,29
4	Controle	EP	2,19	1,76	3,85	0,30	0,96	0,67	1,51
4	Controle	DP	5,80	4,64	10,19	0,79	2,54	1,77	3,99
5	Controle	MÉDIA	11,86	5,57	17,43	0,43	1,86	3,14	5,43
5	Controle	EP	2,60	1,88	4,02	0,20	0,80	1,10	1,02
5	Controle	DP	6,87	4,96	10,63	0,53	2,12	2,91	2,70

Teste	Grupo	Medida	B	D	E	Af	C	MC	Ar	CCD
1	Controle	MÉDIA	3,14	0,71	6,86	1,57	13,00	13,71	6,57	45,57
1	Controle	EP	0,70	0,29	1,62	0,69	3,60	4,50	2,92	10,86
1	Controle	DP	1,86	0,76	4,30	1,81	9,52	11,91	7,72	28,74
2	Controle	MÉDIA	3,00	1,14	4,57	2,14	14,14	18,29	8,29	51,57
2	Controle	EP	0,62	0,51	0,48	0,80	3,61	5,38	2,23	9,67
2	Controle	DP	1,63	1,35	1,27	2,12	9,56	14,23	5,91	25,59
3	Controle	MÉDIA	3,29	0,57	5,57	3,14	20,00	21,29	9,43	63,29
3	Controle	EP	0,87	0,20	0,84	2,04	6,19	5,11	2,76	12,99
3	Controle	DP	2,29	0,53	2,23	5,40	16,38	13,51	7,30	34,38
4	Controle	MÉDIA	3,14	0,86	5,71	2,43	12,14	13,00	3,14	40,43
4	Controle	EP	0,74	0,34	0,78	0,90	2,55	4,65	1,39	7,62
4	Controle	DP	1,95	0,90	2,06	2,37	6,74	12,32	3,67	20,17
5	Controle	MÉDIA	3,29	0,43	4,57	1,00	14,43	14,57	6,57	44,86
5	Controle	EP	0,68	0,20	1,13	0,85	8,48	4,92	3,20	15,44
5	Controle	DP	1,80	0,53	2,99	2,24	22,43	13,02	8,46	40,85

Experimento 6 - Efeito da Intoxicação Progressiva sobre o Teste de *Display* Agressivo

Teste	Grupo	Medida	DH	DV	CPD	Ab	NL	NO	CMD
1	IP	MÉDIA	18,25	18,88	37,13	0,00	1,25	1,50	2,75
1	IP	EP	1,35	1,27	2,09	0,00	0,25	0,42	0,59
1	IP	DP	3,81	3,60	5,91	0,00	0,71	1,20	1,67
2	IP	MÉDIA	16,63	16,75	33,38	0,25	0,63	0,38	1,25
2	IP	EP	2,10	2,28	4,36	0,16	0,18	0,18	0,45
2	IP	DP	5,93	6,45	12,33	0,46	0,52	0,52	1,28
3	IP	MÉDIA	16,75	17,38	34,13	0,63	1,25	1,00	2,88
3	IP	EP	3,23	3,75	6,97	0,38	0,37	0,27	0,83
3	IP	DP	9,15	10,60	19,72	1,06	1,04	0,76	2,36
4	IP	MÉDIA	16,25	15,75	32,00	0,00	1,13	0,50	1,63
4	IP	EP	3,35	3,38	6,73	0,00	0,61	0,19	0,56
4	IP	DP	9,48	9,57	19,03	0,00	1,73	0,53	1,60
5	IP	MÉDIA	13,75	12,88	26,63	0,00	0,63	0,38	1,00
5	IP	EP	3,42	3,54	6,95	0,00	0,26	0,18	0,33
5	IP	DP	9,68	10,01	19,65	0,00	0,74	0,52	0,93

Teste	Grupo	Medida	B	D	E	Af	C	MC	Ar	CCD
1	IP	MÉDIA	2,00	0,13	8,88	1,38	13,25	24,38	0,63	50,63
1	IP	EP	0,76	0,13	1,90	0,82	2,14	3,40	0,42	6,26
1	IP	DP	2,14	0,35	5,38	2,33	6,04	9,62	1,19	17,70
2	IP	MÉDIA	1,25	0,25	12,25	0,75	29,13	39,50	0,38	83,50
2	IP	EP	0,16	0,25	3,22	0,31	5,86	6,88	0,18	14,75
2	IP	DP	0,46	0,71	9,10	0,89	16,57	19,47	0,52	41,72
3	IP	MÉDIA	0,88	0,50	10,13	0,88	44,38	30,50	0,63	87,88
3	IP	EP	0,35	0,27	3,19	0,35	15,80	7,46	0,32	24,74
3	IP	DP	0,99	0,76	9,01	0,99	44,70	21,11	0,92	69,97
4	IP	MÉDIA	1,38	0,25	8,13	1,13	37,13	26,00	1,75	75,75
4	IP	EP	0,38	0,16	3,12	0,55	14,39	6,95	0,94	22,41
4	IP	DP	1,06	0,46	8,82	1,55	40,69	19,67	2,66	63,38
5	IP	MÉDIA	0,88	0,75	8,38	0,63	30,75	20,75	1,13	63,25
5	IP	EP	0,23	0,41	3,98	0,26	16,69	6,45	0,30	24,83
5	IP	DP	0,64	1,16	11,26	0,74	47,20	18,24	0,83	70,23

Experimento 7 - Efeito Intoxicação Aguda sobre o Teste de *Display* Agressivo

Teste	Grupo	Medida	DH	DV	CPD	Ab	NL	NO	CMD
1	IA	MÉDIA	16,75	16,38	33,13	0,00	4,63	5,13	9,75
1	IA	EP	3,66	3,75	7,39	0,00	2,72	2,94	5,63
1	IA	DP	9,68	9,93	19,56	0,00	7,19	7,79	14,91
2	IA	MÉDIA	17,13	15,75	32,88	0,00	3,75	3,00	6,75
2	IA	EP	3,62	3,72	7,32	0,00	2,41	1,67	4,04
2	IA	DP	9,57	9,84	19,38	0,00	6,36	4,41	10,70
3	IA	MÉDIA	15,14	14,57	29,71	0,57	3,43	2,14	6,14
3	IA	EP	3,88	3,87	7,75	0,30	2,32	1,82	4,38
3	IA	DP	10,27	10,24	20,50	0,79	6,13	4,81	11,58
4	IA	MÉDIA	14,86	14,14	29,00	0,14	2,29	2,14	4,57
4	IA	EP	3,74	3,75	7,49	0,14	1,67	1,82	3,61
4	IA	DP	9,91	9,92	19,82	0,38	4,42	4,81	9,55
5	IA	MÉDIA	12,14	11,57	23,71	0,14	4,14	3,00	7,29
5	IA	EP	4,25	4,19	8,44	0,14	2,09	1,41	3,42
5	IA	DP	11,25	11,09	22,33	0,38	5,52	3,74	9,05

Teste	Grupo	Medida	B	D	E	Af	C	MC	Ar	CCD
1	IA	MÉDIA	4,63	0,25	9,00	1,67	14,38	31,25	1,25	62,00
1	IA	EP	2,69	0,17	2,03	0,85	2,92	4,76	0,63	8,31
1	IA	DP	7,13	0,46	5,37	2,25	7,73	12,59	1,67	21,98
2	IA	MÉDIA	3,75	0,50	10,88	1,13	27,25	39,25	1,13	83,88
2	IA	EP	2,30	0,40	3,04	0,32	5,56	7,99	0,32	14,75
2	IA	DP	6,09	1,07	8,04	0,83	14,70	21,13	0,83	39,01
3	IA	MÉDIA	2,29	0,43	19,00	0,00	79,57	30,43	2,00	133,71
3	IA	EP	1,25	0,30	6,32	0,00	24,49	8,11	1,20	34,35
3	IA	DP	3,30	0,79	16,72	0,00	64,79	21,46	3,16	90,87
4	IA	MÉDIA	1,29	0,43	18,43	0,14	61,71	35,29	1,43	118,71
4	IA	EP	0,61	0,30	5,29	0,14	24,49	9,47	1,11	34,49
4	IA	DP	1,60	0,79	13,99	0,38	64,80	25,04	2,94	91,25
5	IA	MÉDIA	2,57	1,00	11,71	0,00	40,00	24,57	1,71	81,57
5	IA	EP	0,97	0,58	4,04	0,00	19,78	9,20	0,75	29,00
5	IA	DP	2,57	1,53	10,69	0,00	52,34	24,35	1,98	76,72