UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

SARA TAMIRIS CIRILO FERNANDES

Comportamento de escolha em ratos Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) sob restrição alimentar.

Ribeirão Preto – SP

2016

SARA TAMIRIS CIRILO FERNANDES

Comportamento de escolha em ratos Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) sob restrição alimentar.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Psicobiologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Andréia Schmidt
Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Zucoloto.

Ribeirão Preto – SP

2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Cirilo, S. T.

Comportamento de escolha em ratos Sprague-dawley (*Rattus norvegicus*) sob restrição alimentar. Ribeirão Preto, 2016.

63 p.: 12 il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Psicobiologia.

Orientadora: Schmidt, Andréia.

1. Restrição alimentar.
2. Comportamento de escolha.
3. Ratos Sprague-Dawley.
4. Diferenças entre machos e fêmeas.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Sara Tamiris Cirilo Fernandes

Título: Comportamento de escolha em ratos Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) sob restrição alimentar.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Psicobiologia.

Aprovado em: ____/____/2016

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a Andréia Schmidt (orientadora)

Instituição: Universidade de São Paulo

Assinatura: _____

Prof.

Instituição: Universidade Federal do ABC

Assinatura: _____

Prof.

Instituição: Universidade de São Paulo

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Sérgio e Sonia, e aos meus irmãos Bruno e José Vitor, por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos de minha vida, por todo o amor que dedicam a mim, pelos abraços quando eu precisei, pelas palavras de incentivo, por serem meus exemplos de vida, mostrando que sempre devemos nos manter unidos, obrigada por toda compreensão, mesmo quando eu estive ausente, e por todo apoio.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à **Deus**, por sempre abrir portas em minha vida, e permitir que eu alcance meus sonhos e objetivos.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a **Andréia Schmidt**, por me aceitar como orientanda durante o mestrado dando a oportunidade de trabalhar com comportamento de escolha, por sempre estar presente neste trabalho, pela dedicação, pelo apoio, por todos os momentos que me disse para ter força, por me acalmar sempre que eu aparecia desesperada no laboratório, por acreditar que eu seria capaz de desenvolver esta pesquisa e de terminar minha coleta, por suas grandes contribuições em meu crescimento como pesquisadora e como futura docente.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. **Fernando Sérgio Zucoloto**, por todas as contribuições, sugestões e idéias sobre aspectos relacionados à evolução e comportamento alimentar, por todos os parênteses durante as supervisões, pelas piadas, pelo apoio e motivação durante todo o meu percurso durante no mestrado.

À estagiária **Flávia Servo**, por me ajudar com as coletas mesmo durante os períodos em que estava de férias, com o cuidado dos animais dando água e ração sempre que solicitado, e pelas caronas quando eu precisava.

Aos técnicos **Rodrigo Mazzei e João Borin**, pelo amparo em problemas técnicos que foram surgindo durante o mestrado, por ajudar sempre que foi preciso, carregando meu equipamento de um laboratório à outro, instalando filmadora no teto da sala de coleta, lavando as caixas dos meus animais e por fazer as *pellets* de ração utilizadas na coleta de dados sempre quando podiam.

À **Renata del Moro**, por sempre esclarecer dúvidas com relação às normas do Programa.

Ao meu marido **Luis Guilherme Fernandes**, por me apoiar desde quando eu pensava em prestar o mestrado, por sempre me incentivar, por me ajudar nas minhas coletas, mesmo quando precisávamos ir ver as rações dos animais aos finais de semana, ou quando estava de férias e me ajudava nos procedimentos experimentais, por ser muito companheiro, e por aceitar casar comigo durante esse período em que eu estive envolvida com tarefas acadêmicas que faziam com que eu estivesse ausente em alguns momentos.

À Prof.^a Dr.^a **Paula de Oliveira Mora**, pelo apoio e incentivo para que eu seguisse carreira acadêmica, e por permitir que eu reassistisse todas suas aulas relacionadas as matérias para ingresso no mestrado.

Aos meus amigos de laboratório **Camila Bonagamba, Flávia Figel, Júlia Fonseca, Melina Vaz e Sabrina Fontanesi**, pelas contribuições em várias parte do desenvolvimento dessa dissertação, apoio, por ajudarem sempre que possível no deslocamento do meu equipamento, por ajudarem a levar meus animais para a sala de experimento, e pelos bons momentos de risadas.

À **Mariana Ducatti**, por ser uma grande companheira durante o mestrado, sempre me auxiliando em problemas que eu não conseguia resolver sozinha, pela amizade, pela companhia nas feiras de noiva, pelos momentos de conversa, pelos conselhos, risadas, por compartilhas das mesmas crenças, pelos versículos, e pelo carinho e apoio durante o mestrado.

À **Alana Brunini**, por todo apoio no começo e durante o mestrado, por toda ajuda com os documentos da FAPESP, pela companhia, pela amizade, pelo carinho, meiguice, pelos momentos de conversa, pelos conselhos, por ser uma pessoa super acolhedora, e por tentar me ensinar a ver os insetos de outra maneira.

Ao **Vinicius Warisaia**, por compartilhar vários momentos do mestrado em comum, como o cuidado com os ratos, limpeza de laboratório, confecção de pellets, por ir até Campinas comigo só para buscar meus animais, maravilhas no cabelo, monitorias, na compreensão de artigos sobre escolha, por carregar meu labirinto sempre que necessário, pelas risadas, companheirismo, apoio e carinho.

Às amigas que sempre estiveram presentes em minha vida **Débora Gimenes, Tayla Fernandes, Gilvania Lelis, Luciana Brusão, Raissa Tostes, Marina Câmara**, por compartilharem as minhas vitórias, que sempre me apoiaram, me ajudaram a passar por momentos difíceis e a encontrar soluções quando eu precisei, pelas risadas e todo carinho.

À **CAPES** e a **FAPESP** (nº Proc. 2014/21438-7), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Cirilo, S. T. (2016). *Comportamento de escolha em ratos Sprague-dawley (Rattus norvegicus) sob restrição alimentar*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão preto – SP.

RESUMO

O comportamento de escolha é entendido como a seleção de uma entre duas ou mais alternativas disponíveis, diferente da preferência, que está relacionada ao tempo despendido respondendo a uma dessas alternativas. Em pesquisas com não humanos, observa-se que os sujeitos escolhem com maior frequência as alternativas nas quais o reforço estará disponível de forma imediata, em pequena quantidade, em comparação com a alternativa na qual o reforço estará disponível somente depois que o animal esperar um tempo determinado (atraso), mas em maior quantidade. Apesar da literatura apresentar dados sobre a influência da restrição alimentar e do sexo do animal em tarefas de aprendizagem, é importante aprofundar a investigação desses aspectos em tarefas de escolha. O objetivo desta pesquisa foi comparar o desempenho de ratos Sprague Dawley (machos e fêmeas) com história de restrição alimentar e ratos controle (com comida *ad libitum*), em uma tarefa de escolha, em que as alternativas variavam em relação ao atraso para ter acesso à comida e à quantidade de comida disponível. Foram utilizados 24 ratos (12 machos), de linhagem Sprague-Dawley, divididos em dois grupos. O Grupo Controle (C) recebeu dieta *ad lib.*, enquanto o Grupo Restrição (R) teve sua dieta restrita a 80% da dieta do grupo controle. Aos 70 dias de idade, houve uma subdivisão dos grupos: metade dos animais do Grupo C formou o Grupo Controle-Restrito (CR – 80% da dieta), e a outra metade o Controle-Controle (CC – 100% da dieta). No Grupo R, metade dos animais formou o Grupo Restrito-Controle (RC – 100% da dieta) e a outra metade, o Grupo Restrito-Restrito (RR – 80% da dieta). Na Etapa 1 os animais exploravam labirinto em U em uma sessão de 10 tentativas. Na Etapa 2 foram realizadas 10 sessões de 16 tentativas de escolha forçada, sendo oito no braço direito, onde havia seis pelotas de ração disponíveis após atraso de 15 s (alternativa LL), e oito no braço esquerdo, com três pelotas de ração disponíveis sem atraso (alternativa SS). Na Etapa 3, foram conduzidas 45 sessões com 30 tentativas (10 forçadas e 20 livres), para verificar o padrão de escolha dos animais dos diferentes grupos em função da disponibilidade de reforço em cada alternativa, do atraso em uma das alternativas e do tempo inicial de espera (tempo T). Os animais de todos os grupos apresentaram preferência pela alternativa SS, independente do sexo ou da dieta. Ao comparar a porcentagem de escolhas dos grupos com relação às dietas foram verificadas diferenças no padrão e nas latências médias de escolha. O grupo RR apresentou latências médias de escolha significativamente inferiores às do grupo CC e um estabelecimento mais rápido de preferência pela alternativa SS que o grupo CC. Apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas entre machos e fêmeas nos parâmetros analisados (possivelmente em função do n amostral), verificou-se que fêmeas apresentaram latências menores que machos em todos os grupos, além de porcentagens de escolha pela alternativa SS maiores que os machos. São discutidas hipóteses sobre a influência da dieta e da quantidade de alimento disponível em cada alternativa sobre as escolhas dos grupos. Essas hipóteses são também relacionadas a aspectos evolutivos, referentes às funções desempenhadas por machos e fêmeas na natureza.

Palavras-chave: Restrição alimentar; comportamento de escolha; diferenças entre machos e fêmeas; ratos.

Cirilo, S. T. (2016). *Behavior of choice in Sprague-dawley (Rattus norvegicus) rats under food restriction*. Master Thesis, Graduate Program in Psychobiology, University of São Paulo, Ribeirão Preto - SP.

Abstract

The behavior of choice is understood as the selection of between two or more alternatives available, different from the preference, which is related to the time spent by responding to one of these alternatives. In researches with non-human animals, it is observed that the subjects choose more frequently the alternatives on which the reinforcement will be available immediately, in small quantity, in comparison with the alternative in which the reinforcement is available only after the animal expects a certain time (delay), but in greater quantity. Although literature present data on the influence of food restriction and the sex of the animal in tasks of learning, it is important to deepen the investigation of these aspects in tasks of choice. The objective of this research was to compare the performance of rats Sprague Dawley (male and female) with a history of food restriction and control rats (with food *ad libitum*), in a task of choice, in that the alternatives varied in relation to the waiting time for access to food and the quantity of food available. 24 albino rats (12 males), from Sprague-Dawley lineage was used, divided in two groups. The Control Group (C) received diet *ad lib.*, while the group restriction (R) had their diet restricted to 80% of the diet of the control group. At 70 days of age, there was a subdivision of the groups: half of the animals from group C formed the Group Controle-Restrito (CR - 80% of the diet), and the other half the Controle-Controle (CC - 100% of the diet). In Group R, half of the animals formed the Group Restrito-Controle (RC - 100% of the diet) and the other half, the Restrito-Restrito group (RR - 80% of the diet). In Step 1 the animals explored the labyrinth in U in a session of 10 attempts. In Step 2, there were 10 sessions of 16 attempts of forced choice, being 8 in the right arm, where there were six pellets of ration available after delay of 15 s, and eight in the left arm with three pellets of rations without delay. In Step 3, 45 sessions were conducted with 30 attempts (10 forced and 20 free), tarry check the default choice of animals of different groups in relation to the availability of strengthening in each alternative, the delay in one of the alternatives and the initial time wait time (T). Animals of all groups have preference for the SS alternative, independently of sex or diet. Differences were verified in the pattern and average latencies of choices in comparing the percentage of choices of the groups in relation to the diets. The RR group presented significantly lower average latency in comparison to group CC and a faster preference was established for alternative SS than group CC. Even having no significant differences been found between males and females in the scope studied (possibly due to then sampling), it was verified that females present lower latencies that males in all groups, besides the higher percentages for choosing alternative SS in males. Hypotheses are discussed on the influence of the diet and the quantity of food available in each alternative over the group choices. These hypotheses are also related to evolutionary aspects, referent to functions performed by males and females in nature.

Key Words: Food restriction; choice behavior; Sprague-Dawley rats; differences between males and females.

Lista de Figuras

Figura 1.	Labirinto em U, utilizado durante o experimento. A) Foto do labirinto em U. B) Esquema representativo do labirinto em U.....	29
Figura 2.	Tempo médio de duração das cinco primeiras sessões de tentativas forçadas e das cinco últimas (Etapa 2), considerando o total de animais da pesquisa.....	35
Figura 3.	Tempo médio de duração das cinco primeiras e das cinco últimas sessões da Etapa 2, para machos (M) e fêmeas (F).....	36
Figura 4.	Porcentagem média de escolha pela alternativa de maior quantidade de reforço com atraso maior (LL), dos animais (machos e fêmeas) dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes tempos T. C = Controle; R = Restrito. A linha pontilhada indica o ponto de indiferença pelas alternativas.....	37
Figura 5.	Latência média de escolha dos sujeitos (machos e fêmeas) dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes tempos T. C = Controle; R = Restrição.....	39
Figura 6.	Porcentagens médias de escolhas pela alternativa LL de machos (barras pretas) e fêmeas (barras cinza) dos grupos CC, RR, RC e CR, em cada um dos valores de tempo T. A linha pontilhada indica o ponto de indiferença.....	41
Figura 7.	Latência média de escolhas de machos (representados por preto) e fêmeas (representado por cinza escuro) dos grupos CC, RR, RC e CR, em cada um dos blocos de T.....	42

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Composição dos Grupos e Fases de Estabelecimento da Dieta.....	26
Tabela 2.	Distribuição dos Animais Entre os Grupos Experimentais.....	27
Tabela 3.	Descrição das Etapas do Procedimento.....	33

Lista de Apêndice

Apêndice 1.	Porcentagem média de escolha pela alternativa de maior quantidade de reforço com atraso maior (LL), dos sujeitos individuais, machos (M – quadrados fechados) e fêmeas (F – quadrados abertos), dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes tempos T. C = Controle; R = Restrição.....	61
Apêndice 2.	Latência média de escolha dos sujeitos individuais, machos (M) e fêmeas (F), dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes valores de tempo T. C = Controle; R = Restrição. Quadrados abertos se referem as fêmeas e quadrados fechados se referem aos machos.....	62

SUMÁRIO

Introdução.....	15
Método.....	25
Sujeitos.....	25
Dieta.....	25
Equipamento.....	28
Procedimento de coleta de dados.....	29
Procedimento de análise de dados.....	33
Resultados	35
Discussão.....	44
Referências.....	57
Apêndice	61
Anexo.....	63

Tomar decisões, fazer escolhas ou ter preferência são comportamentos passíveis de observação e que fazem parte do dia-a-dia das espécies animais (Todorov & Hanna, 2005). De acordo com Skinner (1950), escolher é uma resposta dada a um entre dois ou mais estímulos acessíveis; preferir está relacionado a passar mais tempo respondendo a um desses estímulos. O comportamento de escolha tem sido muito estudado ao longo das últimas décadas por pesquisadores de várias disciplinas, inclusive por analistas do comportamento, tanto em seres humanos, quanto em animais não humanos, por meio de diferentes procedimentos (Green, Myerson, Lichtman, Rosen, & Fry, 1966; Logan, 1965; Rachlin & Green, 1972).

De modo geral, estudos experimentais realizados nessa área utilizam contingências de escolha contínua, a partir de esquemas concorrentes (Catania, 1999). Neste tipo de esquema o organismo tem diante de si pelo menos duas alternativas de resposta, sendo que em cada uma delas vigora um esquema de reforçamento, que podem ser iguais ou diferentes. Por exemplo, quando os esquemas concorrentes são de intervalo variável (*conc VI VI*), cada alternativa disponibiliza reforço após decorrido um tempo médio, determinado pelo esquema. Esse tempo pode ser igual nas duas alternativas, ou pode ser diferente (e.g., em um esquema *conc VII1min VI3min*, durante uma sessão de uma hora, na primeira alternativa - VII1min - o animal poderá obter 60 reforços, uma vez que é reforçado a cada um minuto; porém, na segunda alternativa - VI3min - o sujeito poderá obter apenas 20 reforços, pois o reforço estará disponível apenas a cada 3 minutos). Nesse tipo de arranjo experimental é possível verificar quanto o animal alocará suas escolhas em cada uma dessas alternativas.

Com base em estudos nesse tipo de contingência, Herrnstein (1970) elaborou a Lei da Igualação, que propõe que, tanto as medidas de número relativo de respostas, quanto de tempo relativo, igualam exatamente o número de reforços obtidos. Isto pode

ser verificado no experimento realizado por Herrnstein (1961), cujo objetivo era investigar a frequência relativa de respostas em função da quantidade de reforço disponível em cada alternativa. Pombos tinham como alternativa de escolha dois discos, iluminados por cores diferentes. A resposta de bicar nos discos era reforçada com comida. Em cada um dos discos vigorava um esquema de reforçamento em VI diferente. Observou-se que os animais apresentavam um padrão regular de distribuição de respostas entre as alternativas, de tal forma que tendiam a igualar a distribuição de respostas à distribuição de reforços nas diferentes alternativas, mantendo as taxas de reforço. Pode-se dizer que a igualação resulta na maximização dos reforços (Todorov & Hanna, 2005), sendo esta entendida como desvios da aprendizagem de probabilidade.

Alguns dos estudos nesta área, porém, mostraram que há inúmeros casos em que a igualação não ocorre de forma exata. Em função desses dados, Baum (1974) propôs a Lei Geral da Igualação, que prevê que, em alguns casos, pode ocorrer um *undermatching* nas escolhas apresentadas por um sujeito, ou um *overmatching*. O *undermatching* caracteriza-se pela preferência por uma das alternativas, de forma que o animal não iguala suas respostas à quantidade de reforços, causando um desvio no padrão da resposta do animal quando comparado ao *matching*. Em outros casos o sujeito pode apresentar maior variação de suas respostas entre as alternativas, também diferenciando seu padrão de escolhas do *matching* pelo fato de não igualar as respostas, sendo esta alta variação conhecida como *overmatching*, o que irá gerar uma taxa de repostas maior em uma das alternativas do que a esperada. Essas variações no padrão de escolhas podem ocorrer em função de inúmeras variáveis, além da quantidade de reforço disponível em cada alternativa, como, por exemplo, o tempo de espera para a oportunidade de escolha ou o atraso na liberação do reforço em cada alternativa, variáveis a serem investigadas no presente projeto.

Os estudos sobre escolha também têm direcionado o interesse dos pesquisadores em verificar de que forma variáveis ambientais específicas podem afetar a tomada de decisão dos animais em termos de sobrevivência e reprodução (Bateson, 2002; Gilby & Wrangham, 2007; Timberlake, Gawley, & Lucas, 1987). Em uma revisão sobre tomada de decisões de forrageamento por aves (beija-flores selvagens e estorninhos europeus), Bateson (2002) descreveu que as decisões desses animais são afetadas pela variação ou sensibilidade ao risco, dependendo dos benefícios obtidos a partir das alternativas de forrageamento disponíveis (Bateson, Healy, & Hurly, 2002). A análise dos estudos mostrou que a variabilidade, a magnitude e a direção da preferência pela sensibilidade ao risco são influenciadas pelo número de escolhas, pois quando ocorre a variação na quantidade de alimento disponível, os animais tendem a apresentar maior aversão ao risco; porém, quando a variação está relacionada com o atraso para a disponibilidade do alimento, os animais são quase universalmente propensos ao risco. Nos experimentos analisados, os animais avaliavam suas alternativas de escolha comparando as opções que lhes eram apresentadas, o que pode ser observado, também, no comportamento humano (Bateson, 2002).

O trabalho de Bateson (2002) indica que o comportamento de escolha dos organismos parece dependente não apenas da quantidade de recursos (ou reforçadores) disponíveis, mas também de variáveis temporais para a obtenção dos mesmos, ou seja, da imediatividade ou do atraso na obtenção do recurso, além da quantidade obtida. Um exemplo em humanos nesse tipo de situação pode ser observado quando se precisa escolher entre gastar o salário aos poucos (escolha com consequências obtidas a curto prazo), ou então, guardar o dinheiro para comprar algo que se queira muito e que demande uma disponibilidade financeira maior, como um carro (escolha com consequências obtidas a longo prazo) (Rachlin & Green, 1972). Ao optar por gastar o

dinheiro aos poucos e de forma imediata, ao menos em tese, pode-se falar de ausência de autocontrole. Já ao decidir guardar o dinheiro para poder comprar algo mais valioso, como um carro, a pessoa estaria demonstrando autocontrole, uma vez que consegue esperar para ter algo maior e que demande um tempo de espera.

O autocontrole caracteriza-se como um comportamento de escolha de uma recompensa maior no futuro, em contraste a uma recompensa menor no presente, sendo que estas alternativas diferem entre si quanto ao atraso e à magnitude do estímulo reforçador (Rachlin, 1974). O atraso no reforçamento é entendido como o intervalo de tempo entre a resposta e a obtenção do reforço. A outra variável, “magnitude de reforçamento”, é um termo que se refere a parâmetros relacionados a pesos ou tamanhos, números de unidades de pesos ou tamanhos iguais, duração de exposição, tempo de acesso ou concentração de um nutriente solúvel (Hanna & Ribeiro, 2005).

Para estudar e medir o comportamento de autocontrole em modelos animais, pesquisadores costumam apresentar aos sujeitos uma situação com duas alternativas: uma em que o reforço é imediato, porém em menor quantidade, e outro em que o reforço estará disponível após um tempo de atraso, porém em maior quantidade (Ainslie, 1974; Rachlin & Green, 1972). Alguns autores relacionam a escolha pela alternativa imediata e sem atraso ao *discounting* temporal (Green & Myerson, 2004; Lagorio & Madden, 2005; Oliveira et al., 2013). O *discounting* é entendido como uma diminuição do valor subjetivo do reforçador disponível após um atraso, ainda que em maior quantidade, que o iguala à alternativa imediata, mas com quantidade de reforço menor (Oliveira et al., 2013). Por exemplo, quando um animal tem diante de si uma alternativa em que há três *pellets* de ração entregues de forma imediata, e outra com seis *pellets* de ração entregues de forma atrasada, o atraso na alternativa faz com que a maior quantidade de *pellets* tenha o seu valor subjetivo diminuído; consequentemente as

seis *pellets* passam a ter o mesmo valor que as três *pellets* disponíveis de forma imediata para o sujeito experimental. Geralmente, observa-se nestes modelos experimentais que animais acabam sacrificando alguns benefícios apresentados pela opção com atraso optando pela alternativa imediata, sendo estas alternativas muitas vezes indicativas de impulsividade e baixo autocontrole (Blanchard, Pearson & Hayden, 2013).

Um experimento clássico sobre autocontrole foi conduzido por Rachlin e Green (1972). Eles investigaram a escolha de pombos diante de duas situações: receber pequenas quantidades de alimento após um atraso pequeno (contingência do tipo “pouco, mas agora”), ou, alternativamente, receber uma quantidade maior de alimento após um intervalo de atraso maior (contingência do tipo “muito, porém mais tarde”). A escolha da segunda alternativa poderia ser chamada de “autocontrole”. Uma contingência específica, porém, foi introduzida no procedimento, o que o diferenciou dos procedimentos de escolha mais comuns: a chamada contingência de “compromisso” (*commitment*). Os cinco pombos poderiam fazer uma escolha prévia no procedimento: ou a possibilidade de escolher entre as duas chaves, uma que liberava reforço em menor quantidade de forma imediata (alternativa SS – *smaller, sooner*), e outra que liberava o reforço maior com atraso (alternativa LL – *larger, later*), ou ter disponível apenas a alternativa LL, a escolha em que o animal se comprometeria com a alternativa de maior ganho. O acesso a qualquer uma dessas alternativas (a de escolher ou não a alternativa de compromisso) era precedida por um tempo (T), que era manipulado pelos pesquisadores.

A preferência dos sujeitos variou em função do tempo T, ou seja, quanto maior o tempo de espera (T), mais eles escolhiam ter acesso apenas à alternativa LL. Por outro lado, quanto menor o tempo T, mais os pombos escolhiam ter acesso às duas chaves,

escolhendo a recompensa menor e imediata. Os autores concluíram que o autocontrole foi determinado pelo tempo de espera (T).

Outro estudo com procedimento semelhante, conduzido por Ainslie (1974), mostrou que alguns pombos eventualmente podem aprender a fazer uso da estratégia de pré-compromisso para evitar escolhas por impulso. Os resultados mostram que os pombos quase sempre bicavam a chave referente ao comportamento impulsivo (obtenção imediata e pouco tempo de acesso à comida). Porém, três dos 10 pombos aprenderam a usar a opção do pré-comprometimento, escolhendo a chave de alternativa única em mais da metade das tentativas.

Observa-se que nos estudos de Rachlin e Green (1972) e de Ainslie (1974), os animais deveriam escolher entre arriscar-se ou não para obter reforço, uma vez que, inicialmente, eles não sabiam a quantidade de alimento disponível e nem quanto tempo teriam que esperar para conseguir receber o alimento a partir da alternativa escolhida. Em ambos os estudos o aumento do tempo inicial de espera aumentava a vantagem da alternativa de compromisso, de tal forma que o risco da espera tornava-se mais vantajoso.

Diante dos indicadores de que o autocontrole é um comportamento aprendido pelo animal, e de que este depende de uma série de contingências estabelecidas pelo ambiente, cabe questionar se variáveis biológicas, como a restrição alimentar, são capazes de interferir na escolha dos animais durante um procedimento que investiga o autocontrole.

A falta de nutrientes, seja pela alimentação inadequada ou pela restrição alimentar, pode prejudicar os indivíduos levando-os, inclusive, à morte. As necessidades nutricionais das espécies animais, incluindo a humana, são semelhantes, pois todos necessitam de proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas, sais minerais e

água. As diferenças podem ser encontradas com relação à quantidade que cada ser vivo irá requerer de cada substância, levando em consideração aspectos como o seu tamanho, a temperatura e a atividade física, além de outros fatores (Zucoloto, 2013).

A restrição nutricional tem sido uma variável manipulada por algumas pesquisas de abordagem analítico-comportamental, a maioria com ratos, para estudar seus efeitos sobre comportamentos específicos, como aprendizagem, memória e discriminação (Finger et al. 1986; Morgane et al., 2002; Reyes-Castro et al., 2011; Valadares et al., 2010). Esses experimentos têm sido conduzidos para determinar os efeitos da desnutrição pré e pós-natal sobre os aspectos bioquímico, fisiológico e comportamental dos organismos (Barbosa et al., 2015; Rocinhole, Almeida & De- Oliveira, 1997; Schweigert, Souza, & Perry, 2009) e produziram muitas evidências sobre a forma como a desnutrição em períodos críticos do desenvolvimento do organismo pode interferir de modo deletério sobre os sistemas estudados. Além disso, estudos sobre efeitos da restrição alimentar (privação) em diferentes períodos da vida, com durações distintas e sob diferentes intensidades também têm sido conduzidos para esclarecer seus efeitos sobre aspectos comportamentais de ratos.

Bueno, Aguiar e Costa (2009), por exemplo, utilizaram diferentes níveis de privação alimentar em ratos (*Rattus norvegicus*), para verificar como a privação severa poderia influenciar o desempenho dos sujeitos em um esquema de reforçamento diferencial de baixas taxas de respostas (DRL). Os animais apresentaram baixo desempenho quando passaram de 100% a 80% de porção de ração *ad lib.* e melhoraram seu desempenho quando a porção de ração passou de 80% para 100%, o que mostra que o desempenho de ratos em tarefa de DRL é influenciado não só pelo nível de privação alimentar, mas também pelas experiências de estados fisiológicos pelas quais o indivíduo passou anteriormente. Como os procedimentos operantes têm como foco

principal a aprendizagem, seu uso pode trazer grandes contribuições para os estudos dos efeitos da desnutrição sobre o comportamento dos organismos.

Outra variável que pode ter influência no desempenho de indivíduos em tarefas de aprendizagem é o sexo. Embora existam estudos cujo foco seja a diferença de desempenho entre machos e fêmeas em tarefas de aprendizagem, são muito mais comuns os estudos que trabalham apenas com machos. As fêmeas têm sido pouco utilizadas nas pesquisas e geralmente argumenta-se que isto ocorre em função das alterações hormonais causadas pelo ciclo estral, que pode ser uma variável de difícil controle e que pode interferir nos resultados dos estudos. Porém, é importante que fêmeas também sejam estudadas para que se possa mapear as eventuais diferenças relacionadas ao sexo (Prendergast, Onishi, & Zucker, 2014), diferenças que podem ser cruciais para o entendimento das espécies, inclusive em relação a aspectos evolutivos.

Alguns estudos que comparam os desempenhos de ratos machos e fêmeas têm indicado resultados de muito interesse. Rajab et al. (2014), por exemplo, realizaram um estudo com a finalidade de verificar o desempenho de machos e fêmeas com relação à aprendizagem e memória, após terem sido submetidos a restrições alimentares de curto prazo. Os autores encontraram diferenças entre os sexos com relação a respostas temporais em um labirinto aquático de Morris: quando submetidos a 2 horas de restrição alimentar com 40% da ração, os machos apresentaram resultados melhores que as fêmeas, pois nadaram menores distâncias e levaram um tempo menor para encontrar a plataforma de escape, enquanto as fêmeas nadaram maiores distâncias e demoraram um tempo maior para encontrar a plataforma. No grupo de duas semanas de restrição alimentar não foram observadas diferenças significativas com relação ao sexo dos animais, pois tanto machos quanto fêmeas apresentaram resultados piores na aprendizagem e memória que os do grupo controle.

Outro estudo que apresentou importantes resultados sobre o comportamento de machos e fêmeas foi o realizado por Haaren, Hest e Poll (1988). No Experimento 1, os autores compararam o desempenho de ratos de ambos os sexos em tarefas de escolha entre uma alternativa com menor quantidade de ração entregue de forma imediata (alternativa SS) e a outra alternativa com maior quantidade de ração entregue de forma atrasada (alternativa LL). Tanto os machos como as fêmeas escolheram mais de 80% das vezes a alternativa LL, mostrando evidências de autocontrole e maximização da quantidade total de reforços obtido por unidade de tempo. No entanto, quando os autores variaram o atraso para liberação de reforços na alternativa LL (Experimento 2), os machos tenderam a escolher com maior frequência a alternativa LL, independente do atraso estabelecido para a liberação do reforço (9s, 15s, 24s e 36s), mas as fêmeas pareceram ser mais sensíveis à manipulação dos atrasos, pois mostraram desempenhos mais variáveis diante das duas alternativas (Haaren et al., 1988).

Além dos dois estudos citados, outros ainda mostram diferenças entre machos e fêmeas relacionadas, por exemplo, ao comportamento alimentar (Shibatta & Rocha, 2001), em modelos de desamparo aprendido (Gouveia Jr., 2001), e em tarefas de escolha que envolvam risco (Orsini et al., 2016). Em conjunto, essas pesquisas mostram que quando submetidos a uma mesma tarefa machos e fêmeas podem apresentar desempenhos diferentes, o que confirma a importância do estudo da variável sexo em pesquisas com não humanos, como sugerido por Prendergast et al. (2014).

Apesar da literatura indicar dados robustos sobre a influência da restrição alimentar dos sujeitos em tarefas de aprendizagem, e indícios importantes sobre a influência do sexo nessas mesmas tarefas e em outras, é importante aprofundar a investigação da interferência conjunta dessas variáveis em tarefas de escolha. O presente trabalho teve como objetivo comparar o desempenho de ratos machos e

fêmeas, em um grupo com história de restrição alimentar e um grupo controle (com comida *ad lib*), em uma tarefa de escolha, em que as alternativas variavam em relação ao tempo de atraso e à quantidade de comida disponibilizada. Buscou-se verificar se animais com uma história de restrição alimentar eram capazes de escolher a alternativa mais vantajosa (maior quantidade de comida com atraso) em diferentes condições de atraso inicial (tempo T), e se haveria diferença nas escolhas de machos e fêmeas.

Método

Sujeitos

Foram utilizados 24 ratos, da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Sprague-dawley, com 70 dias de idade, sendo 12 machos e 12 fêmeas. Os animais eram provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP e foram recebidos aos 21 dias de idade. A partir dessa idade os animais ficaram alojados no biotério do Laboratório Fred S. Keller da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, em gaiolas de polietileno individuais (387cm² de área por 17,8cm de altura), forradas com raspas de madeira (maravalha). A temperatura do biotério variava entre 20 e 24°C, com ciclos claro-escuro diário (12/12 h, com luzes acesas das 6h às 18h). Além disto, a partir da chegada ao biotério foi realizado um controle da dieta dos animais do grupo controle, em que a ração era pesada antes de ser colocada para o sujeito e também no dia seguinte, antes de disponibilizar uma nova porção para o sujeito; isto foi feito para verificar a quantidade de alimento ingerida pelos ratos, até os 70 dias de idade, quando começaram as manipulações experimentais.

Os sujeitos tiveram água à vontade durante todo o tempo e a ração em pelotas de 0,03g (Nuvilab), controlada. Para que os animais pudessem ser identificados, foram realizadas marcações com etiquetas nas caixas em que os animais ficavam alojados. Essa pesquisa foi realizada após a análise e aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de São Paulo – Campus Ribeirão Preto (protocolo 14.1.669.53.4).

Dietas

Os animais foram divididos em dois grupos, com relação à sua dieta. O grupo controle (C) recebeu dieta *ad lib.*, enquanto o grupo definido como restrição (R) passou por um período de restrição alimentar, a partir do 22º dia de idade. Cada grupo foi composto por 12 animais, seis machos e seis fêmeas. O processo de controle da dieta dos animais foi dividido em três fases, apresentadas da Tabela 1.

Tabela 1

Composição dos Grupos e Fases de Estabelecimento da Dieta.

Grupos	Idade (em dias) nas fases experimentais		
	Controle de ingestão alimentar	Restrição alimentar	Subdivisão dos grupos
Grupo Controle (GC) 12 sujeitos (6♂ e 6 ♀)	22 a 70	-----	70
Grupo Restrição (GR) 12 sujeitos (6♂ e 6 ♀)	-----	22 a 70	70

Fase 1: A partir dos 22 dias de idade, foi feita a primeira fase do controle alimentar dos sujeitos, realizado com o GC. Diariamente foi realizada a pesagem da porção de alimento que ficava disponível para o animal e, no dia seguinte, a pesagem da mesma porção, a fim de verificar quanto o animal ingeriu, por um período de 48 dias (dos 22 aos 70 dias de idade).

Fase 2: Depois de calculada a média diária de ingestão alimentar dos sujeitos, o GC continuou recebendo 100% da ração (22g para machos e 15g para fêmeas – fase adulta) mensurada na Fase 1, enquanto que a manipulação da dieta do GR foi iniciada. Cada

animal deste último grupo recebeu 80% da quantidade média consumida pelos controles na idade equivalente, a partir dos 22 dias de idade, até que atingissem 70 dias de idade (período em que os dois grupos foram subdivididos e iniciados os procedimentos experimentais). A partir dos 70 dias, os machos do GR recebiam 17,6g diárias de ração, e as fêmeas 12g.

Fase 3: Depois de estabelecida a quantidade de alimento que cada grupo receberia diariamente, a partir dos 70 dias de idade, o GC foi subdividido: seis sujeitos (três machos e três fêmeas), sorteados aleatoriamente, continuaram recebendo 100% da ração, sendo este o grupo controle controle (CC), e os demais seis ratos (três machos e três fêmeas) passaram a receber 80% de ração, constituindo o grupo controle restrição (CR).

Os animais do GR também foram divididos em dois subgrupos: seis indivíduos, três machos e três fêmeas, sorteados aleatoriamente, continuaram recebendo 80% da ração, sendo este o grupo restrito restrito (RR), e os demais seis sujeitos, também três machos e três fêmeas, passaram a receber 100% da ração, constituindo o grupo restrito controle (RC). A composição dos grupos é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2

Distribuição dos Animais Entre os Grupos Experimentais.

Grupos	Sub-grupos
Grupo Controle (C) 12 sujeitos (6 ♂ e 6 ♀)	<i>Controle Controle (CC)</i> 6 sujeitos (3 ♂ e 3 ♀)
	<i>Controle Restrição (CR)</i> 6 sujeitos (3 ♂ e 3 ♀)
Grupo Restrito (R) 12 sujeitos (6 ♂ e 6 ♀)	<i>Restrição Restrição (RR)</i> 6 sujeitos (3 ♂ e 3 ♀)
	<i>Restrição Controle (RC)</i> 6 sujeitos (3 ♂ e 3 ♀)

Equipamento

Foi utilizado um labirinto em U, confeccionado em acrílico, com 140 cm de comprimento e 115 cm de largura, elevado a 50 cm em relação ao solo. Esse labirinto foi idealizado pela autora desta dissertação e confeccionado pela empresa Scienlabor[®] equipamentos. O labirinto tinha braços de acrílico, medindo 50 cm de comprimento, os quais possuíam paredes laterais com 50 cm de altura, como o representado na Figura 1. Em cada braço havia uma porta, sendo que a porta A, localizada no braço referente ao link inicial, era de guilhotina opaca e dava acesso às portas B1 e B2, que por sua vez eram de acrílico transparente e permitiam ao animal o contato com as portas C1 e C2, respectivamente, de guilhotina e acrílico opaco. As portas B's e C's, após ultrapassadas, não permitiam que o animal retornasse pelo braço do aparato.

Ao passar por B1, o animal encontrava C1, que possibilitava que ele entrasse em um compartimento onde se localizava o comedouro (4 x 6 x 1,5cm), o qual era

elevado a 3 cm do chão do labirinto. Se o animal acessasse B2, encontrava C2, que também possibilitava que ele entrasse no compartimento referente ao comedouro.

Além disso, como parte do registro dos dados, as sessões foram gravadas na íntegra por uma filmadora SONY, modelo HDR-CX220, alocada no teto da sala experimental.

Figura 1. Labirinto em U, utilizado durante o experimento. A) Foto do labirinto em U. B) Esquema representativo do labirinto em U.

Procedimento de coleta de dados

Os procedimentos experimentais iniciaram-se aos 70 dias de idade dos animais, sendo a coleta de dados realizada em cinco dias da semana. Durante os dias de coleta os animais passaram por um esquema especial de ingestão alimentar. A água foi disponibilizada *ad lib.* nas caixas-viveiro, enquanto que a porção de ração era distribuída, uma parte durante o experimento (no máximo 4,95g), e outra ao encerrar o procedimento, conforme o grupo de que fazia parte o animal (para os machos 17,05g ou 12,65g, e para as fêmeas 10,05g ou 7,05g). Nos dois dias em que não havia sessões experimentais, os sujeitos recebiam a porção completa de ração, correspondente ao grupo ao qual pertenciam.

O procedimento propriamente dito foi dividido em 3 etapas.

Etapas 1: Nesta etapa o objetivo era permitir ao animal explorar o labirinto, de forma que ele entrasse em contato com os braços da direita e da esquerda, acessando o comedouro que continha pelotas de ração. Foi realizada uma sessão com 10 tentativas forçadas: em cinco tentativas a porta B1 ficou travada, de forma que o animal só conseguia passar pela porta B2, e nas outras cinco tentativas a porta B2 ficava travada e o animal só conseguia passar pela porta B1. O intervalo entre as tentativas (IET) foi de 30s.

Inicialmente, o sujeito foi colocado no link inicial (referente ao “Início” na Figura1) do labirinto e a porta A era aberta, permitindo ao animal o acesso às portas B1 e B2. Após passar pela porta B (1 ou 2), ao final do braço, o animal encontrava duas pelotas de ração após a porta C, no comedouro, em cada braço. O objetivo da colocação das pelotas de alimento no comedouro, ao final do percurso, era reforçar a mobilidade do sujeito no braço do labirinto. Ao final dessa etapa, foi liberado para o animal 0,6g de ração.

Etapa 2: O objetivo desta etapa foi expor os animais às contingências experimentais estabelecidas pela escolha de cada um dos braços do labirinto durante cada sessão.

Foram realizadas 10 sessões de 16 tentativas de escolha forçada, sendo oito no braço direito e oito no braço esquerdo, com um IET de 30s. O animal recebeu 2,16g de porção de ração durante cada sessão. Ao ser colocado no link inicial (referente ao “Início” na Figura 1), após decorrido um tempo T (10 s), o animal teve acesso às duas portas que possibilitaram a passagem para o braço direito e o esquerdo, porém apenas uma, nesta etapa, possibilitou ao animal passar para o próximo link. Ao acessar o braço esquerdo, o animal tinha que esperar por 15 s para que a próxima porta se abrisse, dando acesso ao compartimento do comedouro, onde podia consumir seis pelotas de alimento (alternativa com atraso, mas com maior quantidade de alimento). O acesso ao braço direito possibilitava que o animal percorresse o corredor e chegasse diretamente ao compartimento do comedouro, onde tinha acesso a três pelotas de alimento (alternativa sem atraso, mas com menor quantidade de comida). Durante esta etapa foi registrado de forma manual, utilizando um cronômetro, o tempo que os animais levavam para chegar até o comedouro, desde a abertura da porta A (link inicial).

Etapa 3: O objetivo dessa etapa foi testar as escolhas dos sujeitos entre as alternativas disponíveis. Nesta terceira etapa do experimento foram conduzidas, inicialmente, 10 sessões com 30 tentativas. Em cada sessão as 10 tentativas iniciais foram forçadas (cinco no braço esquerdo e cinco no direito, conforme o procedimento da Etapa 2), e as 20 tentativas seguintes foram livres, com um IET de 30s. O animal recebeu, em cada sessão, 1,35g de ração nas 10 tentativas de escolha forçada, e no máximo 3,6g de porção de ração ou, no mínimo, 1,8g de porção de ração nas 20 tentativas de escolha livre. Nesta etapa, o início de cada tentativa ocorria no link inicial, com um tempo de espera (T) de 10 segundos. Após esse tempo, a porta que dava acesso às duas alternativas

(braço direito ou esquerdo) para o animal era aberta, sendo que ambos os lados ficavam disponíveis para que o sujeito pudesse escolher em qual seguir. Feita a escolha, no entanto (assim que o corpo todo do animal passe pela porta), não era mais possível retornar e mudar para o outro braço do labirinto. As consequências da escolha de cada braço eram as mesmas apresentadas na Etapa 2.

Foi realizada, ainda nesta fase, a manipulação do tempo T, com a finalidade de verificar se a manipulação desse tempo no link inicial interferiria na escolha posterior do animal entre as alternativas disponíveis. Para isto, após as 10 sessões de tentativas iniciais, foram conduzidas mais 35 sessões. O tempo T foi alterado em blocos de cinco sessões consecutivas para os seguintes valores: 4, 8, 16, 32, 16, 8, 4 s. Ou seja, o animal passou primeiro por um bloco de cinco sessões em que o tempo T era de 4 s, depois mais cinco sessões em que o tempo foi de 8 s e assim por diante. O experimento se encerrava após a conclusão dessas 35 sessões, sendo registrado a escolha do animal entre a alternativa LL e SS, e também a latência de escolha dos animais (para registro de latência utilizou-se um cronômetro manual, que foi acionado a partir da abertura da porta A, referente ao link inicial, e o experimentador parava o tempo quando o corpo do sujeito tivesse passado completamente pela porta B1 ou B2). A Tabela 3 apresenta de forma geral os passos realizados em cada etapa do experimento.

Tabela 3

Descrição das Etapas do Procedimento.

Etapas	Número de sessões	Tentativa	Procedimento	Tempo T	Porção de ração
Etapa 1	1	10 tentativas, sendo 5 no braço direito e 5 no esquerdo	Exploração do labirinto	-----	0,6g
Etapa 2	10	16 tentativas, 8 no braço direito e 8 no esquerdo	Escolhas forçadas	10s	2,16g
Etapa 3	45	30 tentativas	Escolhas forçadas e livres	10s (10 sessões) <hr/> 4s, 8s, 16s, 32s, 16s, 8s, 4s (5 sessões cada)	No máximo 4,95g ou no mínimo 3,15g

Procedimento de análise de dados

Para análise dos resultados da etapa referente às tentativas forçadas (Etapa 2) entre os grupos que passaram ou não por um período de restrição alimentar, bem como para comparar o desempenho de machos e fêmeas nesta tarefa, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) multivariada de medidas repetidas modelo misto. Nos resultados referentes às tentativas forçadas e livres (Etapa 3) dos grupos CC, CR, RR e RC, a análise dos dados foi referente as tentativas livres. Inicialmente foi aplicada a transformação Log (y+1) devido a alta variabilidade dos dados e a quantidade de

valores iguais a zero. Em seguida os dados foram analisados conforme suas escolha pela alternativa LL em cada condição de tempo T, bem como o tempo de latência de escolha durante o procedimento de tentativas livres, além de verificada a diferença entre machos e fêmeas entre os grupos conforme as dietas, a escolha por LL e a latência de escolha. Para essas análises também foi utilizada a ANOVA modelo Misto.

Resultados

Inicialmente, serão apresentados os resultados do desempenho dos animais nas Tentativas Forçadas (Etapa 2) e nas tentativas livres (Etapa3). Os dados individuais dos animais durante a Etapa 3 (Médias de Escolha e Latência) estão detalhados no Apêndice 1 e 2.

Etapa 2 - Tentativas forçadas

Foi registrada a duração das sessões de cada animal na Etapa 2. Esses dados foram analisados pelo método de Análise de Variância (ANOVA) Multivariada de Medidas Repetidas Modelo Misto. A Figura 2 apresenta a comparação do tempo médio das primeiras cinco sessões dessa etapa com a duração média das cinco últimas sessões dos animais do GC e do GR.

Figura 2. Tempo médio de duração das cinco primeiras sessões de tentativas forçadas e das cinco últimas (Etapa 2), considerando o total de animais da pesquisa. As barras de erro nas colunas indicam o desvio padrão.

Houve diferença significativa entre a duração média das cinco primeiras sessões e a duração média das cinco últimas sessões, com valores significativamente superiores

para as cinco primeiras, tanto para o GC como para o GR [$F(1;11) = 25,78$ $p < 0,001$], como pode ser observado na Figura 2. Quando comparadas a duração média das sessões dos machos do GC e do GR, com a duração média das sessões das fêmeas dos dois grupos, observou-se interação significativa [$F(1;16) = 9,38$ $p = 0,007$] entre os fatores sexo e tempo de sessão, em que os machos apresentam tempo médio significativamente superiores [$F(1;16) = 7,12$ $p = 0,02$]. Ao comparar o tempo médio nas cinco primeiras sessões com as cinco últimas observa-se diferença significativa somente nas cinco primeiras sessões, em que os machos apresentam resultados significativamente maiores [$t(22) = 2,94$ $p = 0,008$], conforme a Figura 3.

Figura 3. Tempo médio de duração das cinco primeiras e das cinco últimas sessões da Etapa 2, para machos (M) e fêmeas (F). As barras de erro nas colunas indicam o desvio padrão.

Além disso, comparando-se separadamente as primeiras e últimas sessões de machos e de fêmeas, verificou-se uma queda significativa do tempo médio das sessões: 639 s para as fêmeas [$F(1;11) = 25,78$ $p < 0,001$], e 1354 s para os machos [$F(1;11) = 38,41$ $p < 0,001$], ou seja, apesar de haver uma queda nos tempos médios no segundo conjunto de sessões para todos os animais, essa queda foi mais expressiva para os

machos ($p = 0,007$). Não foi verificada interação significativa entre as dietas e a duração das sessões dos animais.

Etapa 3

Variável Dieta

Durante a Etapa 3 foram registradas as escolhas dos animais entre as alternativas LL e SS, bem como a latência das escolhas (tempo que o animal levava entre a abertura da porta inicial – início da tentativa – até passagem do corpo inteiro do animal pela porta B1 ou B2, que caracterizava a resposta de escolha). Esses dados foram analisados por uma ANOVA de medidas repetidas modelo misto.

A Figura 4 apresenta a porcentagem média de escolhas pela alternativa LL, durante as tentativas livres, de todos os sujeitos (machos e fêmeas) dos grupos CC, CR, RR e RC, em cada variação do tempo T.

Figura 4. Porcentagem média de escolha pela alternativa de maior quantidade de reforço com atraso maior (LL), dos animais (machos e fêmeas) dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes tempos T. C = Controle; R = Restrito. As barras de erro nas colunas indicam o desvio padrão e a linha pontilhada indica o ponto de indiferença pelas alternativas.

Ao comparar o desempenho dos diferentes grupos em relação aos estados nutricionais é possível observar que houve diferença significativa em relação à porcentagem média de escolhas pela alternativa LL com a variação do tempo T [$F(21;105) = 1,92$ $p < 0,02$]. De modo geral, todos os animais de todos os grupos preferiram a alternativa SS (menos de 50% das escolhas na Figura 4). Algumas diferenças em relação ao padrão de escolhas, porém, podem ser verificadas. Nos animais do grupo CC, observa-se uma diferença significativa nas médias de escolha com a variação do tempo T [$F(7;35) = 5,44$ $p < 0,001$]. Da mesma forma, no grupo RC também foram encontradas diferenças significativas no desempenho dos animais nos diferentes valores de T [$F(7; 35) = 19,07$ $p < 0,001$] - porcentagens médias de escolhas pela alternativa LL maiores quando o tempo T era 10s. O Grupo RR, por sua vez, apresentou queda progressiva e constante na porcentagem de escolhas pela alternativa LL, de modo que no primeiro conjunto de sessões com tempo T de 8s essa porcentagem já estava abaixo de 10%. A partir da condição de tempo T de 32s, praticamente nenhum animal do Grupo RR escolheu a alternativa LL (ver dados individuais dos grupos no Apêndice 1). Diferença significativa no desempenho dos animais em função do tempo T no grupo RC também foi observada [$F(7;28) = 11,62$ $p < 0,001$], e no grupo CR [$F(7;35) = 25,11$ $p < 0,001$] uma vez que os indivíduos apresentam maiores porcentagens médias de escolha quando o tempo T era de 10s, mas esse tempo diminuiu ao longo dos diferentes valores do tempo T, da mesma forma que no grupo RR.

Apesar de haver diferença no desempenho dos animais intragrupo, não foram observadas diferenças significativas no desempenho dos animais quando comparadas as porcentagens médias intergrupos [$F(3;15) = 2,46$ $p = 0,10$]. Como mostra a Figura 4, em todos os grupos os animais apresentam uma porcentagem média de escolhas pela

alternativa LL maior quando ao valor de T era 10s e 4s, mas a partir da condição 8s é possível notar que essa porcentagem média começa a diminuir e chega a zero no grupo RR e a quase zero nos demais grupos. Essa diminuição na porcentagem de escolhas pela alternativa LL ao longo de diferentes valores de T sugere que o valor desse atraso não influenciou as escolhas dos animais de nenhum dos grupos.

Observando-se o padrão de distribuição das respostas dos grupos, observa-se, ainda na Figura 4, similaridade entre os grupos CC e RC, assim como entre RR e CR. Essas similaridades entre os grupos sugerem que o estado nutricional dos animais no momento da coleta de dados exerceu influência maior sobre o desempenho deles do que a história nutricional anterior ao procedimento (a restrição crônica ou a dieta ad lib.).

Além das porcentagens médias de Escolha LL, foi analisada a latência média das escolhas nas sessões de tentativas livres, também através da ANOVA modelo Misto. A Figura 5 apresenta esses dados por grupo, em função da variação do tempo T.

Figura 5. Latência média de escolha dos sujeitos (machos e fêmeas) dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes tempos T. C = Controle; R = Restrição. As barras de erro nas colunas indicam o desvio padrão.

A Figura 5 mostra diferença significativa nas latências médias de escolha em função da variação do tempo T [$F(7;105) = 53,00$ $p < 0,001$]. De modo geral, os animais de todos os grupos apresentam latências médias de escolha maiores nas condições iniciais de tempo T, mas essa latência tendeu a diminuir com o passar das sessões em todos os grupos. Sendo assim, há uma diferença significativa na latência média dos animais do grupo CC [$F(7;35) = 13,61$ $p < 0,001$], na condição de T 10s, em comparação com a latência média das demais condições: essa latência tendeu a diminuir com o passar das sessões. Da mesma forma observa-se diferença significativa nas latências médias dos animais do grupo RR [$F(7;35) = 3,65$ $p = 0,005$], do grupo RC [$F(7;35) = 40,39$ $p < 0,001$] e grupo CR [$F(7;35) = 11,33$ $p < 0,001$], comparando-se as diferentes condições de tempo T. Apesar de haver diferença intragrupo na variável latência, essa diferença é maior sempre quando o T é 10s, indicando que o tempo T não influenciou diferencialmente a latência das tentativas para os animais dos diferentes grupos de dietas

Quando comparada a latência média entre os grupos (intergrupos) com diferentes tipos de dieta, observou-se diferença significativa [$F(3;15) = 4,57$ $p = 0,02$]. Comparando-se os valores de latência média do grupo RR com os valores de latência média dos grupos CC e RC quando T é 10s, verifica-se que o grupo RR apresentou latência média inferior nesta condição ($p = 0,03$), mas não nos demais valores de T.

Variável Sexo

Foram registradas as escolhas de machos e fêmeas de cada um dos grupos entre as alternativas LL e SS, além da latência para escolha entre as alternativas. Esses dados foram analisados por uma ANOVA de Medidas Repetidas Modelo Misto.

A Figura 6 apresenta a porcentagem média de escolhas pela alternativa LL dos machos e das fêmeas de acordo com o grupo (CC, CR, RR e RC), em cada variação do tempo T.

Figura 6. Porcentagens médias de escolhas pela alternativa LL de machos (barras pretas) e fêmeas (barras cinza) dos grupos CC, RR, RC e CR, em cada um dos valores de tempo T. A linha pontilhada indica o ponto de indiferença. As barras de erro nas colunas indicam o desvio padrão.

De modo geral não houve diferença significativa no desempenho de machos e fêmeas com o passar dos blocos de T [$F(7;105) = 0,70$ $p = 0,67$]. Tanto os machos como as fêmeas começaram com porcentagens maiores de escolha por LL quando T era de 10s, mas essa porcentagem diminuiu ao longo do procedimento, em todos os grupos. Quando feita a comparação entre intergrupos também não foram verificadas interações significativa entre o sexo e a dieta [$F(3;15) = 0,24$ $p = 0,87$].

Os dados de latência também foram analisados comparando-se machos e fêmeas dentro dos grupos ao qual pertenciam, conforme Figura 7.

Figura 7. Latência média de escolhas de machos (representados por preto) e fêmeas (representado por cinza escuro) dos grupos CC, RR, RC e CR, em cada um dos blocos de T. As barras de erro nas colunas indicam o desvio padrão.

Foi possível verificar interação significativa entre Sexo e o tempo T tanto para os machos como para as fêmeas [$F(7;105) = 2,35$ $p = 0,03$]. A latência média de escolhas dos machos de cada grupo de dieta diminuiu significativamente [$F(7;70) = 18,64$ $p < 0,001$] quando T era de 10s, 4s e 8s, mas ao longo do procedimento, com as variações de T, essa diferença desapareceu. Esta mesma diferença pode ser vista nas latências das fêmeas de todos os grupos conforme sua dieta [$F(7;70) = 28,09$ $p < 0,001$], que apresentam médias maiores em T 10s e 4s, mas logo passa a ter latências médias baixas de escolha entre as alternativas.

De modo geral, pode-se dizer que foram encontradas diferenças significativas na latência média de machos e fêmeas: os machos apresentaram médias significativamente maiores quando comparados às fêmeas [$F(1;15) = 12,95$ $p = 0,003$]. No grupo CC os machos apresentaram latências médias sempre maiores do que as fêmeas, principalmente quando o tempo T era 10s, 4s e 8s, mas ao longo das variações seguintes do tempo T a latência média diminuiu para ambos os sexos, não sendo verificadas

diferenças entre os animais. No Grupo RR é possível observar a diferença da latência média de tentativas entre machos e fêmeas quando o tempo T era 10s, porém nas variações seguintes de T a diferença entre os sexos desapareceu.

No grupo RC observam-se semelhanças em relação ao grupo CC, sendo que os machos apresentaram latências médias maiores do que as das fêmeas, principalmente quando o tempo T era 10s, 4s e 8s. No Grupo CR, machos e as fêmeas apresentaram latências médias de escolha semelhantes ao grupo RR, indicando, mais uma vez, que a dieta em vigor durante o período de coleta de dados teve maior influência sobre o comportamento dos animais que seu histórico nutricional anterior. Porém, quando comparado os dados de machos e fêmeas intergrupo, não foram observadas diferenças significativas [$F(3;15) = 0,37$ $p = 0,78$].

Discussão

O objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho de ratos, machos e fêmeas, com histórico de restrição alimentar e ratos controle (com comida *ad lib*), em uma tarefa de escolha em que as alternativas variavam em relação à quantidade de reforço e o tempo de atraso para sua obtenção. Considerando que o comportamento de escolha (e de autocontrole) pode ser influenciado, tanto por variáveis relacionadas à própria situação, como a quantidade e a qualidade dos reforços em cada alternativa (Oliveira et al., 2013; Mazur, 1988; Rachlin & Green, 1972), quanto por variáveis biológicas, como a sensibilidade do organismo às consequências em cada alternativa ou a interferência de drogas, por exemplo (Orsini et al., 2016), levantou-se a hipótese de que o comportamento de escolha também poderia sofrer a influência do sexo do animal, assim como do seu estado nutricional. Diferenças de comportamento entre animais da mesma espécie, mas de diferentes sexos, já foram registradas pela literatura em diversas situações de aprendizagem (Rajab et al., 2014), assim como os efeitos de diferentes níveis de privação ou de restrição (Bueno et al., 2009). Nesse trabalho, pretendia-se verificar se um período de restrição alimentar crônica seria capaz de afetar diferencialmente machos e fêmeas em uma tarefa de escolha, em que o acesso a uma quantidade maior de reforçadores (em comparação a uma segunda alternativa) dependeria de períodos distintos de atraso.

De modo geral, ao comparar os resultados dos grupos que passaram por diferentes condições de dieta, não foram observadas diferenças significativas em relação à preferência por uma das alternativas. Em todos os grupos, inicialmente os animais tiveram suas escolhas próximas à indiferença (entre 40 e 60% de escolhas pela alternativa LL), mas ao longo das diferentes condições de atraso (tempo T) a

porcentagem de escolha dos animais pela alternativa LL diminuiu, indicando que os sujeitos estabeleceram uma preferência pela alternativa SS, que é entendida por alguns autores como uma escolha impulsiva (Blanchard, Pearson, & Hayden, 2013). Além disso, essa preferência ao longo do procedimento não foi afetada pelo tempo T, ou seja, apesar de se ter verificado uma diferença intragrupo na porcentagem de escolhas na primeira (e, eventualmente, na segunda) condição de atraso em relação às demais condições, não se verificou uma tendência maior ou menor à preferência por uma alternativa em função dos diferentes atrasos.

Esse resultado difere de outros estudos encontrados na literatura que mostram que, de modo geral, os animais preferem a alternativa mais vantajosa, ainda que com atraso. Koot, Bos, Adriani e Laviola (2009), por exemplo, mostraram que camundongos preferiram consistentemente a alternativa LL. Algumas variações na porcentagem de escolha por esta alternativa foram verificadas quando o atraso aumentou, mas nenhum animal mudou sua preferência para a alternativa SS. Outro estudo que mostra a preferência de ratos pela alternativa LL foi o de Haaren et al. (1988). No Experimento 2 desses autores o atraso para obter a menor quantidade de reforço era padrão (6s), enquanto que na alternativa LL o atraso variou entre 9, 15, 24 ou 36s (atrasos semelhantes aos utilizados no presente estudo). O desempenho dos animais diferiu em função da variação do atraso. Atrasos menores na alternativa LL produziram maior frequência de escolhas por esta alternativa, porém quando o atraso aumentou verificou-se maior variabilidade nas respostas dos animais, com alguns preferindo a alternativa LL (todos os machos e algumas fêmeas), enquanto outros preferiram a alternativa SS (especificamente fêmeas). Uma possível explicação para as diferenças encontradas entre os resultados do presente estudo e aqueles aqui citados pode estar na quantidade de reforço disponível em cada alternativa.

Ao analisar estudos sobre autocontrole com não humanos, verifica-se que geralmente os autores variam a quantidade de alimento em cada alternativa em proporções distintas das aqui empregadas: uma *pellet* vs. três (Haaren et al,1988), uma *pellet* vs. quatro (Bhatti, Jang, Kralik & Jeong, 2014) ou uma *pellet* vs. cinco (Koot et al., 2009). Diferentemente, na presente pesquisa foram disponibilizadas três *pellets* na alternativa SS e seis *pellets* na alternativa LL. Mazur (1988), em um estudo sobre propensão e aversão ao risco em ratos em função da quantidade e probabilidade de reforço nas alternativas disponíveis, demonstrou que diferentes proporções de alimento nas alternativas podem gerar padrões de escolha diferentes em ratos. O pesquisador submeteu os animais a tarefas de escolhas em que a disponibilidade de reforço variava quanto à probabilidade (entre 20% e 100%) e à quantidade (1vs.1, 1vs.2, 1vs.4, 2vs.4, 4vs.4 e 4vs.8). O autor concluiu que as escolhas dos sujeitos foram mais sensíveis à quantidade de reforço disponível nas alternativas do que à probabilidade com que elas eram entregues. Mais do que isso, o autor fez uma análise do desempenho dos animais em função da proporção de reforço: mesmo mantida a mesma proporção de 1:2 nas alternativas (1vs.2; 2vs.4 e 4vs.8), os desempenhos dos animais eram diferentes. Quando as proporções eram 1vs. 2 ou 2 vs. 4 observou-se uma tendência dos animais a serem propensos ao risco (escolhiam com maior frequência as alternativas que envolviam maior quantidade de alimento, mas disponível de forma probabilística). Quando, porém, a quantidade de comida nas alternativas era 4 vs. 8, os animais eram predominantemente avessos ao risco, preferindo a alternativa com menor quantidade de pellets, mas liberada em 100% das tentativas. Esses resultados sugerem fortemente que a magnitude do reforçador pode influenciar fortemente a escolha de um indivíduo (Bateson, 2002), mas apenas até um certo ponto, quando a escolha pelo maior reforçador envolve riscos.

É provável que no presente experimento a proporção de ração nas duas alternativas tenha influenciado a escolha dos animais. Quando analisadas as escolhas em função do tipo de dieta e em função do tempo T, observou-se que independente do histórico de restrição ou do atraso, todos os animais preferiram a alternativa SS. Apesar da proporção de ração nas duas alternativas ser de 1:2 (3 *pellets* em SS vs. 6 *pellets* em LL), o atraso interposto para obtenção das seis *pellets* representava um risco (ou uma penalidade) que diminuía o valor subjetivo desse reforçador, a despeito do seu valor real. Essa hipótese é consistente com o estudo do Mazur (1988), que também sugere que quando o reforço nas duas alternativas aumenta, há uma diminuição no valor subjetivo do reforçador maior. Neste sentido, sugere-se que se as proporções de ração tivessem sido diferentes (uma *pellet* vs. duas, três ou quatro) os animais talvez teriam apresentado desempenhos diferentes, alocando suas respostas na alternativa LL, uma vez que quando submetidos a quantidades menores de ração, os animais escolhem com maior frequência a alternativa com maior quantidade de ração, mesmo que esta seja apresentada com atraso ou com menor probabilidade.

Apesar de não terem sido verificadas diferenças na preferência dos grupos, ao analisar o padrão de responder dos animais dos grupos RR e CR, observou-se que eles tenderam a estabelecer sua preferência pela alternativa SS ao longo do experimento mais rapidamente do que os outros dois grupos (CC e RC). Alguns estudos mostram que a condição nutricional a qual o animal é submetido pode provocar diferentes respostas comportamentais (e.g. dificuldades de aprendizagem, maiores níveis de ansiedade, diferentes padrões de comportamento exploratório, dentre outros) quando comparados aos grupos que tiveram dieta ideal ao longo da vida. Estudos sobre o efeito da desnutrição proteica pré ou pós-natal (e.g., Almeida, Oliveira, & Graeff, 1990; Reyes-Castro et al., 2011), mostram as implicações da desnutrição no comportamento de

animais não humanos. Tonkiss et al (1990), por exemplo, induziram uma desnutrição proteica pré-natal em ratos e submeteu-os posteriormente a um esquema de DRL 18s. Esses animais que passaram por desnutrição pré-natal apresentaram um padrão de aprendizagem da tarefa mais lenta quando comparados ao grupo controle, i.e., os animais desnutridos aparentemente tiveram dificuldade em aprender a espaçar suas respostas e ajustar-se à demanda temporal imposta, o que poderia ser considerado uma conduta “impulsiva”. Os dados de Tonkiss et al. (1990) sobre desnutrição pré-natal podem ser comparados aos dados dos animais da presente pesquisa que passaram por períodos de restrição alimentar. É possível que, assim como a desnutrição pré-natal parece ter gerado dificuldade dos animais em espaçar suas respostas no estudo de Tonkiss et al., a restrição alimentar imposta aos animais desta pesquisa também pode ter contribuído para o rápido estabelecimento de preferência pela alternativa SS, na qual não havia atraso para obtenção de reforçadores.

Além do estabelecimento mais rápido do padrão de preferência pela alternativa SS, os animais do grupo RR apresentaram latências de escolha significativamente menores, principalmente nas primeiras condições experimentais, quando comparados aos grupos CC e RC. Estes resultados do grupo RR, em conjunto com o seu estabelecimento mais rápido da preferência pela alternativa SS, fortalecem a idéia de que a condição alimentar tem influência no desempenho dos animais na tarefa de escolha.

Diante de uma situação de escolha os animais precisam balancear suas necessidades para poder escolher entre as alternativas. Em situações nas quais os animais necessitam de maior quantidade de alimento (e.g., quando encontram-se em privação) entende-se, obviamente, que estes devem escolher alternativas que lhes satisfaçam esta necessidade, mas essas alternativas, muitas vezes, acarretam riscos à

preservação da vida. Por outro lado, quando a necessidade energética do organismo é menor, espera-se que os animais escolham alternativas que lhes acarretem menores riscos, ainda que a obtenção de alimento seja menor (MacArthur & Pianka, 1966). Diante dessas afirmações, seria possível esperar na presente pesquisa que os animais do grupo RR escolhessem a alternativa que garantisse a eles maior quantidade de ração, uma vez que sua condição nutricional era de restrição. Porém, os dados mostram, diferentemente do esperado, que tanto os animais com restrição crônica (RR) ao longo da vida, como aqueles que passam por um período de restrição alimentar (CR) no período de experimentação, estabeleceram preferência mais rapidamente pela alternativa SS. A preferência dos animais sob restrição alimentar pode ser entendida como uma forma de balanceamento de suas necessidades: considerando que a quantidade real de comida disponível nas duas alternativas, como visto, pode ter diminuído o valor subjetivo da maior alternativa (Mazur, 1988), o eventual “dano” representado pelo atraso na alternativa LL pode ter passado a representar um risco desnecessário do ponto de vista da obtenção energética para os animais sob restrição (Zucoloto, 2013). Nesse sentido, ao analisar o desempenho de animais em situações que envolvem comportamento alimentar, deve-se considerar sempre a relação entre custo e benefício para obtenção do alimento (MacArthur & Pianka, 1966).

Um exemplo seria a preferência de caranguejos por mexilhões. Apesar dos mexilhões maiores garantirem mais calorias, são difíceis de abrir. Já os mexilhões menores, apesar de proporcionarem menores valores calóricos são fáceis de serem abertos. Os caranguejos, muitas vezes, acabam escolhendo maiores quantidade de mexilhões de menor tamanho, uma vez que são mais fáceis de abrir. Nesse caso, o valor calórico obtido é maximizado pelo baixo investimento energético na sua obtenção. Mexilhões maiores, por outro lado, apesar de terem maior valor calórico, demandam

tempo na sua busca e maior esforço para sua obtenção (Smallegance & Meer, 2003). Analisando os resultados dos animais dos grupos sob restrição alimentar do presente estudo (RR e CR), ao escolher de forma rápida a alternativa SS (latência) e ao estabelecer também rapidamente a preferência por essa alternativa ao longo do tempo, é razoável pensar que esse padrão balanceava custos e benefícios, uma vez que os sujeitos conseguiam obter alimento de forma rápida, e em quantidade suficiente.

Diferentemente, os animais que tinham um ambiente com maior abundância de alimentos, como o CC, quando submetidos à situação de escolha não tinham necessidades energéticas que os levassem a ter que estabelecer uma preferência mais rapidamente. Talvez por isso tenham apresentado maior variabilidade no padrão de escolha: apesar de terem estabelecido preferência pela alternativa SS, as porcentagens de escolha nas alternativas ao longo do experimento indicam que eles continuaram a escolher, eventualmente, a alternativa LL, “experimentando” o risco inerente a esta escolha (ver os dados individuais dos animais CC no Apêndice1).

Uma última consideração a respeito do procedimento deve ser feita. Seria possível argumentar que o padrão de escolha dos animais ao longo das sessões de escolha livre tenha ficado estabelecido em função da baixa experiência destes na alternativa LL. É preciso lembrar que, em todas as sessões de escolha livre, os animais passavam inicialmente por 10 tentativas de escolha forçada (cinco de SS e cinco de LL) de modo que eles pudessem experienciar tanto a quantidade de alimento disponível em cada alternativa, quanto o atraso associado à alternativa LL. Essa medida foi importante para garantir que os animais tomassem contato com as contingências em vigor em cada alternativa, prevenindo eventuais vieses de preferência por posição.

Além de verificar se o tipo de dieta influenciaria o comportamento de escolha dos animais, o presente estudo também teve como objetivo explorar eventuais

diferenças entre os sexos na tarefa de escolha em função da restrição alimentar.

Considerando dados da literatura sobre diferenças entre ratos machos e fêmeas em diferentes tarefas, como memória (Rajab et al., 2014) e tarefas de escolha (Bos et al., 2012; Haaren et al., 1989; Koot et al., 2009; Orsini et al., 2016), seria possível pensar que a diferença entre os sexos também poderia influenciar o desempenho dos animais em tarefas de escolha quando fossem submetidos a diferentes condições de dieta. Considerando, porém, o tempo limitado para a realização dos experimentos e as condições disponíveis (aparato manual, no qual cada animal era testado individualmente), optou-se por um estudo exploratório, no qual um número pequeno de sujeitos fosse submetido à tarefa em cada grupo de dieta.

Apesar de se terem verificado diferenças na comparação de resultados de machos e fêmeas, independentemente do grupo nutricional, o que é um indicativo importante para pesquisas futuras, essas diferenças não tiveram significância estatística, talvez em função do número reduzido de sujeitos utilizados. Apesar da ausência de significância estatística, serão discutidas aqui as diferenças verificadas.

Em todos os grupos estudados verificou-se que a porcentagem de escolhas pela alternativa LL foi menor para as fêmeas quando comparadas aos machos, especialmente nos grupos CC e RR (primeiras condições de tempo T). No grupo CC, as fêmeas passaram a escolher a alternativa LL em menos de 20% das tentativas a partir da segunda condição de T, enquanto que os machos mantiveram-se acima de 20% em todas as condições de T; no grupo RR, as fêmeas apresentaram cerca de 30% de escolhas por LL na primeira condição, mas a partir da segunda condição de T apresentaram 10% ou menos de escolhas por essa alternativa; os machos iniciaram o experimento escolhendo a alternativa LL em mais de 50% das tentativas, diminuindo essa porcentagem para 20% na segunda condição de T e, finalmente, apresentando menos de 10% de escolhas nessa

alternativa nas condições seguintes. Koot et al. (2009), ao analisarem o comportamento de escolha de ratos, subdividiram machos e fêmeas em grupos “*steep*” (machos e fêmeas que tiveram diminuição da porcentagem de escolhas por LL chegando ao ponto de indiferença ou abaixo dele) e “*flat*” (aqueles cuja porcentagem de escolhas por LL ficaram acima do ponto de indiferença). Ao comparar as escolhas dos machos e fêmeas “*steep*” os autores encontraram diferenças entre os sexos. As fêmeas “*steep*” diminuíram sua porcentagem de escolhas pela alternativa LL à medida que o atraso aumentava, enquanto os machos “*steep*” também diminuíram sua porcentagem de escolhas por LL com o aumento do atraso, mas sem chegar ao ponto de indiferença e sem estabelecer preferência por SS. Aparentemente, esses resultados sugerem que as fêmeas tendem a ser mais sensíveis ao aumento do atraso na alternativa com maior quantidade de reforço quando comparadas aos machos, além de serem mais avessas ao risco.

Os resultados encontrados na pesquisa de Orsini et al. (2016) também demonstram diferenças no comportamento de escolha de fêmeas e machos quando submetidos a uma tarefa de tomada de decisão de risco envolvendo punição (choque). As fêmeas, diferentemente dos machos, escolhiam com menor frequência a alternativa com maior quantidade de reforço, mas que envolvia risco de choque. Analisando os resultados gerais do estudo, os autores sugeriram que as diferenças encontradas poderiam estar relacionadas ao fato de que os machos, por serem mais sensíveis à recompensa, eram mais propensos ao risco, enquanto que as fêmeas, por possivelmente serem mais sensíveis à punição, seriam menos propensas ao risco. Estes resultados, em conjunto com os encontrados por Koot et al (2009) e pela presente pesquisa, fortalecem a hipótese de que as diferentes funções exercidas por machos e fêmeas no processo

reprodutivo e cuidados com a prole podem resultar em diferentes padrões de comportamento.

No caso dos mamíferos de modo geral, e de roedores em particular (especificamente a espécie *Rattus norvegicus*), as fêmeas gastam mais tempo com o cuidado da prole uma vez que os filhotes nascem imaturos e demandam cuidados intensivos, como a amamentação, por exemplo. Os machos, além de auxiliarem na alimentação e no controle térmico da prole, são responsáveis pela defesa dos filhotes (Vieira, 2003). A menor propensão ao risco apresentada pelas fêmeas em estudos de laboratório pode estar relacionada ao fato de que, além de garantirem sua própria sobrevivência, precisam garantir a sobrevivência de seus filhotes.

De acordo com Bateson (2002), as decisões dos animais são afetadas pela variação na sensibilidade ao risco. Em uma atividade de forrageamento, entende-se que os animais são avessos ao risco ao escolherem uma alternativa que lhes garanta uma boa quantidade e/ou qualidade de alimento e sem riscos para sua sobrevivência. Por outro lado, considera-se que os animais são propensos ao risco quando procuram por maior quantidade ou melhor qualidade de alimento em alternativas que possam oferecer risco para sua sobrevivência (MacArthur & Pianka, 1966). Ao tomarem decisões mais rápidas (latências menores) por alternativas com quantidade menor de alimento, mas suficiente, e evitando a penalidade do atraso, as fêmeas estariam otimizando suas escolhas ponderando custos e benefícios de forma “conservadora”, o que é compatível com a sua própria sobrevivência e de eventuais filhotes. Na natureza as fêmeas menos propensas ao risco podem ser mais bem-sucedidas em garantir recursos e cuidados para seus filhotes, em termos evolutivos.

Orsini et al. (2016) parecem concordar com essa hipótese pois sugerem que o sucesso reprodutivo das fêmeas exige que elas evitem danos a si e a seus descendentes,

inibindo comportamentos que poderiam colocá-las em risco. Isso também explicaria o fato das fêmeas do grupo RR estabelecerem mais rapidamente a preferência pela alternativa SS, em comparação às fêmeas do grupo CC: a condição nutricional das fêmeas RR possivelmente aumentou a aversão ao risco desse grupo, uma vez que as condições de sobrevivência desses animais já se encontravam abaixo do ideal. A escolha da alternativa LL para essas fêmeas poderia ser um componente adicional a comprometer a integridade física desses animais, constituindo-se, portanto, em um comportamento a ser evitado.

Os machos, por sua vez, são mais propensos ao risco uma vez que são mais sensíveis à recompensa. Esse aumento da sensibilidade para a recompensa, segundo Orsini et al. (2016), pode permitir melhores condições de competição desse indivíduo com outros machos por uma companheira, além de recursos seguros para si e para os seus descendentes. A maior variabilidade de escolhas encontrada nos machos (especialmente nos machos do grupo CC – ver Apêndice 1 com dados individuais), assim como as latências de escolha maiores (dados individuais – Apêndice 2) podem ter sido responsáveis pela maior demora desses animais no estabelecimento de preferência por uma das alternativas (SS).

Assim como na presente pesquisa, foram encontradas diferenças no comportamento de escolha entre machos e fêmeas em outros estudos que submeteram os animais a tarefas de aprendizagem, memória, comportamento alimentar e desamparo aprendido (Gouveia Jr., 2001; Rajab et al., 2014; Shibatta & Rocha, 2001). Apesar de muitos estudos demonstrarem diferenças ligadas ao sexo, Beery e Zucker (2011), ao revisarem artigos de diferentes áreas a fim de verificar a porcentagem de estudos que também envolviam fêmeas, mostraram que muitos estudos são realizados apenas com machos. Prendergast et al. (2014) também enfatizam o pouco uso de fêmeas em

pesquisas e apontam a necessidade de que pesquisas futuras utilizem animais de ambos os sexos.

A afirmação de Prendergast et al. (2014) encontra respaldo se pensarmos que as fêmeas necessitam um repertório maior de diferentes comportamentos do que os machos; elas precisam escolher adequadamente alimentos que suportem o crescimento próprio, a gravidez e a amamentação dos filhotes. Estas diferentes fases fisiológicas das fêmeas as obrigam a ter uma fina sensibilidade na escolha alimentar, visto que as necessidades nutricionais variam em quantidade e qualidade, dependendo da fase em que elas se encontram. Isto posto, é necessário que se entenda que, embora tanto machos como fêmeas tenham importância direta no sucesso reprodutivo da espécie, estas estão muito mais sujeitas a garantirem este sucesso. Em outras palavras, pode-se dizer que as fêmeas necessitam acertar muito mais as suas escolhas alimentares do que os machos (F. S. Zucoloto, comunicação pessoal, 29 março de 2016).

Embora os trabalhos realizados somente com machos tenham sua importância, dificilmente pode-se entender os processos biológicos da espécie se as fêmeas não forem incluídas nos estudos (F. S. Zucoloto, comunicação pessoal, 29 março de 2016).

Diante dos resultados discutidos aqui, algumas ponderações devem ser feitas em função das limitações que podem ser identificadas. A primeira delas é que foi estabelecido um número fixo de sessões em cada condição de tempo T, sem que algum critério de estabilidade no padrão de escolhas dos animais fosse levado em conta. A estabilidade do comportamento em cada condição de T fortaleceria a discussão sobre a influência ou não desta variável no comportamento de escolha dos animais, e este controle deve ser buscado em estudos futuros. Outra limitação do estudo foi trabalhar com uma quantidade relativamente grande de alimento (em comparação a outros estudos) nas duas alternativas. A variação na quantidade de reforço disponibilizado em

cada alternativa poderia indicar se realmente foi esta variável que fez com que machos e fêmeas preferissem a alternativa SS, ou poderia ressaltar eventuais diferenças dos grupos em função de suas condições nutricionais. Estudos futuros podem variar a quantidade de reforços disponibilizada em cada alternativa, a fim de verificar se quantidades menores teriam o mesmo efeito em machos e em fêmeas com diferentes históricos alimentares. Por fim, o número reduzido de sujeitos utilizados, especialmente na comparação da variável sexo, inviabilizou análises estatísticas sobre as diferenças entre os sexos. Os resultados obtidos na presente pesquisa sugerem diferenças interessantes no comportamento de machos e fêmeas com diferentes históricos nutricionais que precisam confirmadas em estudos com um número maior de sujeitos.

Os resultados da presente pesquisa oferecem contribuições importantes para o estudo da influência da restrição alimentar em ratos quando submetidos a tarefas de escolha, e sobre a influência destas mesmas variáveis em machos e fêmeas. O estudo da influência de variáveis biológicas sobre padrões comportamentais é fundamental para que se possa estabelecer um panorama amplo e compreensivo sobre aspectos de interesse para diferentes campos do conhecimento, como são a tomada de decisões e o comportamento de escolha.

Referências

- Ainslie, G. W. (1974). Impulse control in pigeons. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 21, 485-489. doi: 10.1901/jeab.1974.21-485
- Almeida, S. S., de Oliveira, L. M., & Graeff, F. G. (1990). Decreased reactivity to anxiolytics caused by early protein malnutrition in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36(4), 997-1000. doi: 10.1016/0091-3057(90)90113-V
- Barbosa, E. H., Soares, R. O., Braga, N. N., Almeida, S. D. S., & Lachat, J. J. (2015). Effects of environmental enrichment on blood vessels in the optic tract of malnourished rats: A morphological and morphometric analysis. *Nutritional Neuroscience*, 19 (5), 224-230. doi: 10.1179/1476830515Y.0000000013
- Bateson, M. (2002). Context-dependent foraging preferences in risk sensitive starlings. *Animal Behavior*, 64, 251-260. doi: 10.1006/anbe.2002.3059
- Bateson M., Healy S. D. & Hurly T. A. (2002). Irrational choices in humming bird foraging behavior. *Animal Behaviour*, 63, 587-596. doi: 10.1006/anbe.2001.1925
- Bateson, M. (2002). Recent advances in our understanding of risk-sensitive foraging preferences. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61, 509-516. doi: 10.1079/PNS2002181
- Baum, W. M. (1974). On two types of deviation from the matching law: bias and undermatching. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 22(1), 231-242. doi: 10.1901/jeab.1974.22-231
- Beery, A. K., & Zucker, I. (2011). Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(3), 565-572. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.07.002
- Blanchard, T. C., Pearson, J. M., & Hayden, B. Y. (2013). Post reward delays and systematic biases in measures of animal temporal discounting. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 15491-15496. doi: 10.1073/pnas.1310446110
- Bhatti, M., Jang, H., Kralik, J. D., & Jeong, J. (2014). Rats exhibit reference-dependent choice behavior. *Behavioural Brain Research*, 267, 26-32. doi: 10.1016/j.bbr.2014.03.012
- Bos, R., Homberg, J. R., & de Visser, L. (2013). A critical review of sex differences in decision-making tasks: Focus on the Iowa Gambling Task, *Behavioral Brain Research*, 238 (2013), 95-108. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.002
- Bueno, J. L. O., Aguiar, C. L., & Costa, V. C. (2009). Desempenho de ratos em um esquema de DRL sob diferentes níveis de privação alimentar. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 22(1), 53-59. doi: 10.1590/S0102-79722009000100008

- Catania, A. C. (1999). Combinação de esquemas: síntese comportamental. In A. C. Catania (Eds.), *Aprendizagem: Comportamento, Linguagem e Cognição* (pp. 193-209) Porto Alegre RS, Artmed.
- Finger, S., Almli, C. R., Green, L., Wolf, C., & Morgane, P. J. (1986). Severe early malnutrition and DRL performance in the rat. *Physiology & Behavior*, 38, 731-734. doi: 10.1016/0031-9384(86)90271-4
- Gilby, I. C. & Wrangham, R. W. (2007). Risk-prone hunting by chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfuthii*) increases during periods of high diet quality. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61, 1771-1779. doi: 10.1007/s00265-007-0410-6
- Green, L., & Myerson, J. (2004). A discounting framework for choice with delayed and probabilistic rewards. *Psychological Bulletin*, 130(5), 769. doi: 10.1037/0033-2909.130.5.769
- Green, L., Myerson, J., Lichtman, D., Rosen, S., & Fry, A. (1996). Temporal discounting in choice between delayed rewards: the role of age and income. *Psychology and Aging*, 11(1), 79. doi: 10.1037/0882-7974.11.1.79
- Gouveia Jr, A. (1996). Efeitos da administração aguda de imipramina sobre o desamparo aprendido de ratos machos e fêmeas. *Acta Comportamentalia: Revista Latina de Análisis del Comportamiento*, 9(1), 19-29.
- Haaren, F. V., Hest, A. V., & Poll, N. E. (1988). Self-control in male and female rats. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 49(2), 201-211. doi: 10.1901/jeab.1988.49-201
- Hanna, E. S. & Ribeiro, M. R. (2005). Auto-controle: um caso especial de comportamento de escolha. In J. Abreu-Rodrigues & M. R. Ribeiro (Org.) *Análise do Comportamento: Pesquisa, Teoria e Aplicação* (pp. 175-188). Porto Alegre: Artmed.
- Herrnstein, R. J. (1961). Relative and absolute strength of responses as a function of frequency of reinforcement. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 4, 267-272. doi: 10.1901/jeab.1961.4-267
- Herrnstein, R. J. (1970). On the law of effect. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 4, 247-278. doi: 10.1901/jeab.1970.13-243
- Koot, S., van den Bos, R., Adriani, W., & Laviola, G. (2009). Gender differences in delay-discounting under mild food restriction. *Behavioural Brain Research*, 200(1), 134-143. doi: 10.1016/j.bbr.2009.01.006
- Lagorio, C. H., & Madden, G. J. (2005). Delay discounting of real and hypothetical rewards III: steady-state assessments, forced-choice trials, and all real rewards. *Behavioural Processes*, 69(2), 173-187. doi: 10.1016/j.beproc.2005.02.003

- Logan, F. A. (1965). Decision making by rats: Uncertain outcome choices. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 59 (2), 246-251. doi: 10.1037/h0021850
- MacArthur, R. H., & Pianka, E. R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist*, 100 (916), 603-609. doi: 10.1086/282454
- Mazur, J. E (1988). Choice between small certain and large uncertain reinforcers. *Animal Learning & Behavior*, 16(2), 199-205. doi: 10.3758/bf03209066
- Morgane, P. J., Mokler, D. J., & Galler, J. R. (2002). Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 26, 471-483. doi: 10.1016/S0149-7634(02)00012-X
- Oliveira, L., Calvert, A. L., Green, L., & Myerson, J. (2013). Level of deprivation does not affect degree of discounting in pigeons. *Learning & Behavior*, 41 (2), 148-158. doi:10.3758/s13420-012-0092-4.
- Orsini, C. A., Willis, M. L., Gilbert, R. J., Bizon, J. L. & Setlow, B. (2016) Sex differences in a rat model of risk decision making. *Behavioral Neuroscience*, 130 (1), 50-61. doi: 10.1037/bne0000111
- Prendergast, B. J., Onishi, K. G., & Zucker, I. (2014). Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 40, 1-5. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.01.001
- Rachlin, H. & Green, L. (1972). Commitment, choice and self-control. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 17, 15-22. doi: 10.1901/jeab.1972.17-15
- Rachlin, H. (1974). Self-control. *Behaviorism*, 2, 94-107.
- Rajab, E., Alqanbar, B., Naiser, M. J., Abdulla, H. A., Al-Momen, M. M., & Kamal, A. (2014). Sex differences in learning and memory following short-term dietary restriction in the rat. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 36, 74-80. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2014.05.011
- Reyes-Castro, L. A., Rodriguez, J. S., Rodriguez-Gonzalez, G. L., Wimmer, R. D., McDonald, T. J., Larrea, F., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2011). Pre-and/or postnatal protein restriction in rats impairs learning and motivation in male offspring. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 29, 177-182. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2010.11.002
- Rocinho, L. F., Almeida, S. S., & De-Oliveira, L. M. (1997). Response threshold to aversive stimuli in stimulated early protein-malnourished rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30, 407-413. doi: 10.1590/S0100-879X1997000300016

- Schweigert, I. D., Souza, D. O. G., & Perry, M. L. S. (2009). Desnutrição, maturação do sistema nervoso central e doenças neuropsiquiátricas. *Revista de Nutrição*, 22 (2), 271-281. doi: 10.1590/S1415-52732009000200009
- Shibatta, O. A., & Rocha, A. J. A. (2001). Feeding in males and females of pirá-brasília, *Simpsonichthys boitonei* Carvalho (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(2), 381-385. doi: 10.1590/S0101-81752001000200007
- Skinner, B. F. (1950). Are theories of learning necessary? *Psychological Review*, 57, 193-216. doi: 10.1037/h0054367
- Smallegange, I. M., & Van Der Meer, J. (2003). Why do shore crabs not prefer the most profitable mussels?. *Journal of Animal Ecology*, 72(4), 599-607. doi: 10.1046/j.1365-2656.2003.00729.x
- Timberlake, W., Gawley, D. J., & Lucas, G. A. (1987). Time horizons in rats foraging for food in temporally separated patches. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 13, 302-309. doi: 10.1037/0097-7403.13.3.302
- Todorov, J. C. & Hanna, E. S. (2005). Quantificação de escolhas e preferências. In J. Abreu-Rodrigues & M. R. Ribeiro (Org.) *Análise do Comportamento: Pesquisa, Teoria e Aplicação* (159-174). Porto Alegre: Artmed.
- Tonkiss, J., Galler, J. R., Formica, R. N., Shukitt-Hale, B., & Timm, R. R. (1990). Fetal protein malnutrition impairs acquisition of a DRL task in adult rats. *Physiology & Behavior*, 48(1), 73-77. doi: 10.1016/0031-9384(90)90263-4
- Valadares, C. T., Fukuda, M. T. H., Françolin-Silva, A. L., Hernandez, A. S., & Almeida, S. S. (2010). Effects of postnatal protein malnutrition on learning and memory procedures. *Nutritional Neuroscience*, 13, 274-282. doi: 10.1179/147683010x12611460764769
- Vieira, M. L. (2003) *Comportamento materno e paterno em roedores*. Biotemas, 16 (2), 159-180.
- Zucoloto, F. S. (2013). A evolução do comportamento alimentar na espécie humana. In S. S. Almeida; T. M. B. Costa; M. F. Laus & Straatmann, G. (Org.) *Psicobiologia do Comportamento Alimentar* (11-31). Rio de Janeiro: Rubio.

Apêndice 1

Porcentagem média de escolha pela alternativa de maior quantidade de reforço com atraso maior (LL), dos sujeitos individuais, machos (M – quadrados fechados) e fêmeas (F – quadrados abertos), dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes tempos T. C = Controle; R = Restrição.

Apêndice 2

Latência média de escolha dos sujeitos individuais, machos (M) e fêmeas (F), dos grupos CC, CR, RR e RC, nos diferentes valores de tempo T. C = Controle; R = Restrição. Quadrados abertos se referem as fêmeas e quadrados fechados se referem aos machos.

Anexo

Parecer de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da FFCLRP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus de Ribeirão Preto
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo 14.1.15.53.4), intitulado “Metacognição em ratos: um caso de comportamento de escolha?”, de autoria de **Vinícius Warisaia Nery e Andréia Schmidt**, por estar de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)** do *Campus* de Ribeirão Preto – USP, foi aprovado em reunião da CEUA de 28/04/2014.

This is to certify that the work (Protocol number 14.1.15.53.4), entitled: “Metacognição em ratos: um caso de comportamento de escolha?”, by **Vinícius Warisaia Nery and Andréia Schmidt** is in accordance with the Ethic Principles in Animal Experimentation adopted by Ethic Commission for the Use of Animals (CEUA) of the Campus of Ribeirão Preto – USP, and was approved in an ordinary meeting of CEUA, April, 28 2014.

Duração prevista do projeto: 28/04/2014 a 28/06/2015

Ribeirão Preto, 06 de Maio de 2014.

Profa. Dra. Cláudia Maria Padovan
Presidente da CEUA

João Fernando Velho de Andrade Diniz
Secretário da CEUA