

Capítulo 3

MÉTODOS DE ESTUDO DO COMPORTAMENTO ANIMAL

Eliane Gonçalves de Freitas

elianeg@ibilce.unesp.br

Departamento de Zoologia e Botânica, IBILCE, CAUNESP
Universidade Estadual Paulista, UNESP, São José do Rio Preto, SP, Brasil

Silvia Mitiko Nishida

nishida@ibb.unesp.br

Departamento de Fisiologia, Instituto de Biociências,
Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, SP, Brasil

COMO INICIAR UM ESTUDO DE COMPORTAMENTO ANIMAL?

Faz parte da condição humana fazer perguntas e procurar respostas. Conforme visto no Capítulo 2, a pesquisa científica começa com a elaboração de perguntas, podendo incluir a elaboração inicial de respostas provisórias (hipóteses). Por exemplo, considere a questão e as respostas provisórias abaixo:

Pergunta: Por que o motor do carro não está funcionando?

Hipótese 1: Porque acabou a gasolina

Hipótese 2: Porque a bateria está descarregada.

Podemos facilmente testar as duas hipóteses propondo maneiras de investigar qual das duas está correta. Para testar a primeira, basta checar se o tanque de combustível está vazio. Se não, podemos rejeitar a primeira hipótese e partir para a segunda, por exemplo, trocando a bateria velha por uma nova. Se o carro funcionar, podemos concluir que o carro não estava funcionando devido a alguma falha elétrica. Observem que a hipótese direcionou o que observar ou fazer (olhar o tanque ou trocar a bateria), com isso auxiliando na pesquisa sobre a pergunta inicial.

E no caso do estudo do comportamento, como realizamos uma investigação científica? Igualmente, devemos formular perguntas. As idéias revolucionárias de Konrad Lorenz sobre bases biológicas do comportamento animal foram experimentalmente demonstradas por Nikolaas Tinbergen. Ambos, junto com Karl Von Frisch (que contribuiu com pesquisas sobre a fisiologia do comportamento), marcaram a fundação de uma nova ciência chamada Etologia e foram laureados com o Prêmio Nobel de Medicina ou Fisiologia em 1973.

Em 1929, Tinbergen estava preparando a sua tese de doutorado e estava fascinado com o comportamento das vespas escavadoras (*Philanthus triagulum*), cujas fêmeas capturavam e transportavam abelhas que serviam de alimento para as larvas que eram criadas em ninhos subterrâneos. Todas as vezes que a vespa deixava o ninho, ela fechava a entrada e depois de 30 a 60 minutos retornava em meio a várias outras entradas de vespas vizinhas, sem nunca errar a entrada da sua própria toca. Tinbergen já havia constatado que, durante as primeiras saídas do dia, a vespa voava bem acima da própria entrada e fazia vôos circulares antes de partir para a caçada. Intrigado,

Tinbergen se perguntou: *Que fatores são importantes para a vespa reconhecer a entrada do seu próprio ninho?* Então lhe ocorreu a seguinte hipótese: o sobrevôo que a vespa faz antes de sair à caça serve para memorização de referências espaciais próximas à entrada do ninho, que servem de sinalizadores no momento de retorno ao ninho. Ensaiou a sua hipótese predizendo que, se as referências espaciais fossem modificadas, a vespa ficaria desorientada e teria dificuldades para encontrar sua própria toca ao retornar da caçada.

Convencido de que estava no caminho certo, precisava testar essa hipótese através de uma investigação experimental. Primeiro Tinbergen esperou que as vespas deixassem o ninho e, então, removeu cuidadosamente as supostas referências espaciais da entrada do ninho (gravetos, tufo de gramas etc.). Ao voltar com a presa capturada, ao invés de pousarem certamente na abertura do ninho como faziam regularmente, as vespas voaram várias vezes em círculos logo acima da entrada. Após algumas tentativas, apenas uma ou outra vespa conseguiu achar corretamente a entrada. Esses dados sugeriram a Tinbergen que, de fato, essas vespas utilizavam referências espaciais para localizar a entrada do ninho. Em seguida, ele delineou um outro experimento: assegurou-se de que a vespa estava dentro da toca e colocou várias pinhas formando um círculo ao redor da entrada. Como de costume, a vespa fez vôos em círculo e saiu para a caçada. Antes que ela voltasse, Tinbergen refez o arranjo circular de pinhas, colocando-as próximas à entrada real do ninho, mas sem circundá-lo. Quando a vespa retornou, foi direto para o centro do círculo de pinhas, onde estaria a entrada do ninho. Desse modo, a hipótese elaborada por Tinbergen foi elegantemente testada e corroborada.

Em resumo, a pergunta feita por Tinbergen gerou hipóteses, as quais nortearam os objetivos de sua pesquisa, seus delineamentos experimentais e a coleta de dados comportamentais. Esses dados corroboraram a sua hipótese, esclarecendo assim aspectos sobre os mecanismos de orientação espacial da vespa cavadora.

Conforme salientado no capítulo anterior, o estudo do comportamento envolve também pesquisas que não precisam testar hipóteses; nesse caso o interesse é saber como é o comportamento, ou seja, conhecer sua descrição enquanto fenômeno natural. Isso é importante porque antes de quantificar o comportamento, devemos saber como ele é. Nesse caso, embora sem hipótese prévia, a amostragem correta é fundamental.

As Causas Últimas e Imediatas do Comportamento Animal

Os estudos de Tinbergen sobre o comportamento dos animais sempre incluíram perguntas e hipóteses muito claras (Tinbergen 1951). Ele não tinha apenas uma grande criatividade, mas possuía conceitos muito nítidos sobre as propriedades biológicas dos animais e sobre as principais teorias causais sobre diversidade, adaptação e evolução das espécies. Para ele, o repertório comportamental, a morfologia e a fisiologia são propriedades inerentes ao organismo. Vejamos a relação de causa e efeito do comportamento mencionado por Tinbergen, sob a óptica de John Alcock, o eminente estudioso do comportamento animal. Alcock (2009) relata uma pesquisa de campo que fazia na Costa Rica sobre uma espécie de mariposa do gênero *Automeris*. Ao tocar numa mariposa que estava sobre um galho, subitamente ela abriu as asas e expôs um par de círculos escuros (imitando dois grandes olhos). Logo, lhe veio à mente dois grupos de perguntas. No primeiro, havia perguntas do tipo:

1. *Como o sistema muscular move as asas e o que controla esses músculos?*
2. *Como a mariposa sabe quando foi tocada?*
3. *O modo de vida durante o desenvolvimento da mariposa influencia o comportamento quando adulto?*
4. *Esse comportamento seria herdado dos progenitores?*

Nesse grupo de perguntas estão implícitas questões que buscam esclarecer as causas imediatas do comportamento. As duas primeiras perguntas enfocam questões fisiológicas sobre o mecanismo de abrir as asas da mariposa. As duas últimas questões estão relacionadas às influências do desenvolvimento ontogenético sobre as causas do comportamento. Porém, a mente questionadora de Alcock produzia mais perguntas:

5. *Que vantagens a mariposa teria apresentando esse comportamento?*
6. *Como o comportamento teria evoluído ao longo do tempo?*
7. *Que padrão motor teria sido o predecessor desse comportamento?*
8. *Se houve tais mudanças, quais teriam sido as causas?*

Essas quatro últimas perguntas enfocam as causas últimas do comportamento, isto é, são perguntas que geram hipóteses relacionadas aos aspectos evolutivos e

adaptativos do comportamento. Elas dizem respeito aos efeitos sobre as chances de sobreviver e de deixar descendentes. De fato, ao abrir as asas e expor o par de manchas circulares diante de um predador natural, a mariposa pode assustá-lo, pois essas manchas simulam os olhos de uma coruja, predador do pássaro que preda a mariposa. Com isso, essa mariposa pode ganhar alguns minutos preciosos para fuga, dando-lhe uma vantagem em relação àquelas que não apresentam essa reação. Então, podemos assumir que esse comportamento tem valor adaptativo para o indivíduo.

A Tabela 1 sumariza esses dois tipos de causas estabelecendo o nível da investigação sobre o comportamento. Esta divisão entre causas próximas e últimas é análoga à divisão de abordagens horizontais (que estão ocorrendo agora) e verticais (que decorrem do processo filogenético).

Tabela 1. Níveis causais do comportamento animal.

CAUSAS IMEDIATAS
<i>Mecanismos genéticos/ontogenéticos do comportamento</i>
Efeitos da hereditariedade sobre o comportamento
Interações genético-ambientais durante o desenvolvimento ontogenético que afetam o comportamento
<i>Mecanismos sensório-motores</i>
Detecção dos estímulos ambientais: ação do sistema nervoso
Ajustes da responsividade endógena: ação dos sistemas hormonais
Efetuação das respostas: ação do sistema músculo-esquelético
CAUSAS ÚLTIMAS
<i>1. História biológica do comportamento</i>
Origem do comportamento e suas mudanças no tempo
<i>Resultado da seleção natural na determinação do comportamento atual</i>
História adaptativa do comportamento em termos reprodutivos

COMO QUANTIFICAR O COMPORTAMENTO?

A metodologia científica consiste em um conjunto de procedimentos através dos quais os cientistas formulam perguntas, a maioria respondida por meio de hipóteses, descrevendo “como”, “quando” e “o que” será utilizado e avaliado durante a

pesquisa. Isso envolve um planejamento durante o qual as formas de registro, métodos de quantificação e análise das informações são definidos.

Muitos iniciantes são induzidos a crer que a obtenção de maravilhosas imagens e a produção de descrições comportamentais atraentes (como as dos documentários de TV) sobre a vida dos animais sejam suficientes para a compreensão do comportamento animal. Descrever a “morfologia do comportamento”, como referido por Volpato no capítulo 2, corresponde a apenas uma etapa da investigação, embora de grande importância no estudo do comportamento. É o momento em que o observador se familiariza com os exemplares da espécie e dirige a ela um olhar contemplativo, porém crítico. Trata-se de uma fase analítica da estrutura dos padrões motores e suas variações. A partir dela podemos realizar descrições criteriosas sobre como uma determinada espécie caça ou se acasala. No entanto, a ciência do comportamento não se restringe aos procedimentos descritivos do comportamento. Como vimos no capítulo anterior, temos necessidade de esclarecer as relações de causa e efeito do comportamento, sejam elas de natureza imediata ou última. Para realizarmos generalizações sobre as causas do comportamento e estendermos para a espécie toda, precisamos de um método quantitativo e, para isso, de unidades de medida do comportamento. Com uma metodologia quantitativa nas mãos podemos delinear estudos experimentais, testar as hipóteses aventadas e proceder às análises comparativas e associativas sobre os aspectos do comportamento de interesse na investigação.

Antes de prosseguirmos, temos que deixar claro que qualquer que seja a forma de quantificação do comportamento, ela só tem sentido depois que a pergunta que se formulou for clara e precisa o bastante para ser transformada em pesquisa. Assim, é importante que os projetos sejam bem estruturados. Para isso, é necessário que o objetivo seja claro e bem fundamentado, bem como as hipóteses que serão testadas. O problema geral no qual se insere a pesquisa deve ser contemplado, incluindo as teorias existentes na qual se insere a pesquisa. Com isso em mente, saberemos como delinear uma pesquisa e quais serão as formas de quantificação mais adequadas para o trabalho.

O Etograma

O etograma é um o inventário ou uma lista de unidades comportamentais de uma determinada espécie, acompanhado das respectivas descrições. A construção de

um etograma é um passo importante no processo de quantificação do comportamento. Ao contemplar atentamente o comportamento de um determinado animal, facilmente identificaremos uma série contínua de posturas e de movimentos do corpo ou de partes dele. Algumas atividades são de curtíssima duração e são chamadas de eventos. Outras atividades são mais prolongadas e indicam estados comportamentais. Cada item do catálogo corresponde a um verbo que indica um evento (ex. saltar, capturar) ou um estado comportamental (ex. repousar, dormir), podendo ser acompanhado de complementos verbais (perseguir andando, perseguir correndo, repousar dentro da toca, repousar fora da toca etc.). Depois de estabelecida a lista de eventos e de estados comportamentais, é necessário descrevê-los, o que podemos fazer de duas maneiras:

a) **Sob o ponto de vista estrutural**, no qual a descrição considera a aparência, a forma física ou os padrões motores do comportamento, e é feita em termos de sequência de posturas e movimentos de partes específicas do corpo.

Exemplos: *empurrar a alavanca com a pata dianteira; abaixar a orelha esquerda.*

b) **Sob o ponto de vista da consequência**, descrevendo o resultado comportamental que o animal produziu no ambiente, em outros indivíduos ou sobre si mesmo. Os descritores desse tipo são mais fáceis de serem memorizados e proporcionam descrições sucintas.

Exemplos: *ingerir alimento; beber; montar; copular, afastar-se, aproximar-se etc.*

Por outro lado, não devemos usar descritores sobre cujas consequências não podemos ter certeza. Ao invés usar um descritor como *chamar filhote* é preferível usar *vocalizar, piar* ou *ladrar*, conforme o caso.




Um exemplo de etograma é mostrado na Tabela 2. Teresa e Gonçalves-de-Freitas (2003) propuseram o etograma sobre o comportamento agonístico de uma espécie de teleósteo da bacia amazônica, *Geophagus surinamensis* (redescrito como *Geophagus proximus*), para o qual não havia qualquer descrição na literatura. Levando em consideração que a espécie é territorial, escolheram o paradigma intruso-residente como condição de observação do comportamento e, assim, aumentaram a probabilidade de ocorrências das interações agressivas intra-específicas. As repetidas observações dos animais possibilitaram tomadas de decisão sobre que posturas e movimentos constituiriam as unidades básicas do comportamento de interação agonística. Depois de

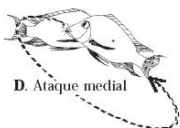







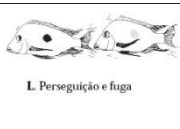
relacionar o conjunto de unidades arbitrárias para o comportamento de interação agonística, realizou-se uma descrição com detalhes suficientes para que outros cientistas pudessem reconhecer os mesmos eventos e estados comportamentais.

A fase de elaboração do etograma é de suma importância, pois se as unidades comportamentais apresentarem descrições dúbias, cria-se uma fonte de erros comprometendo a qualidade da quantificação. Esse problema é detalhado neste capítulo no item *Confiabilidade e Validade das Medidas Comportamentais*. Um etograma fiel e completo serve de referência para vários cientistas que trabalham com a mesma espécie. Ao iniciar uma pesquisa sobre o comportamento de uma determinada espécie é bastante recomendável que se pesquise na literatura a existência de um etograma previamente padronizado para poupar o seu tempo. Por outro lado, ele deve ser testado para verificar se os descritores utilizados são fiéis ao comportamento observado.

O rato (*Ratus norvegicus*) é um modelo animal amplamente utilizado nas pesquisas sobre as causas imediatas do comportamento e o seu etograma é baseado num consenso internacional que pode ser acessado pela *Internet* (<http://www.ratbehavior.org/Glossary.htm>). Aliás, na *Internet* podemos encontrar vários sites que disponibilizam etogramas oficiais de várias espécies, mas tomem cuidado e considerem apenas aqueles cientificamente reconhecidos (publicados com sistema de *peer review*). Um outro ótimo exemplo de construção de etograma é o trabalho “Agonistic ethogram of the equid bachelor band” de McDonnell e Haviland (1995)

Tabela 2. Etograma das interações agonísticas de um peixe teleósteo.*

Unidade Comportamental	Descrição do comportamento
 A. Ameaça	Com o oponente próximo, o peixe eriça a nadadeira dorsal e expande as nadadeiras pélvica e anal. Durante esse comportamento, a coloração corporal se torna clara e brilhante.
 B. Exibição Lateral	O peixe se aproxima lateralmente de outro e abre a boca sem encostá-la no corpo do oponente. Esse comportamento pode culminar num ataque.
 C. Ataque Lateral	O peixe abre a boca e percute com ela o corpo do oponente, fechando-a no momento do contato. O ataque pode ocorrer nas laterais medianas do corpo, no ventre, no dorso, nas nadadeiras ou na cabeça do peixe agredido. O agressor ataca com a boca perpendicular ao corpo do oponente, empurrando-o.

 <p>D. Ataque medial</p>	<p>O peixe ataca a lateral mediana do corpo do oponente com a boca, descrevendo uma trajetória semicircular ao longo do eixo horizontal do peixe agredido. O círculo é geralmente completado na direção do oponente, que torna a ser atacado.</p>
 <p>E. Ataque Bilateral</p>	<p>O peixe executa um ataque lateral e passa por cima ou por baixo do oponente, atacando-o do outro lado do corpo. O movimento é rápido e pode ocorrer várias vezes sucessivamente.</p>
 <p>F. Exibição Frontal</p>	<p>Dois peixes posicionam suas bocas (que são subterminais) abertas, frente a frente, sem contato, com ondulações brandas do corpo. Essa exibição geralmente antecede os confrontos frontais.</p>
 <p>G. Confronto frontal breve</p>	<p>Dois peixes justapõem suas mandíbulas e um deles empurra o outro, ou ambos se empurram mutuamente em movimentos rápidos.</p>
 <p>H. Confronto frontal prolongado</p>	<p>O peixe prende a mandíbula do seu oponente com a boca, podendo ficar nessa postura por mais de um minuto.</p>
 <p>I. Confronto paralelo</p>	<p>Dois peixes ficam lado a lado com as cabeças voltadas no mesmo sentido ou, mais freqüentemente, em sentido oposto, ondulando o corpo vigorosamente. Os peixes ficam em contato ou muito próximos um do outro. Enquanto ondula o corpo, um peixe pode atacar o seu oponente ou morder a porção final de sua nadadeira anal ou dorsal.</p>
 <p>J. Ondulação</p>	<p>O peixe ondula o corpo no sentido ântero-posterior quando está próximo do oponente.</p>
 <p>K. Ondulação de repulsão</p>	<p>O peixe agredido exhibe ondulações rápidas e intensas com o corpo que levam à repulsão do peixe agressor.</p>
 <p>L. Perseguição e fuga</p>	<p>O peixe segue o oponente enquanto este foge. Esse comportamento pode culminar em ataques por parte do perseguidor. Na fuga o peixe se afasta do oponente que o persegue ou ataca.</p>

* Extraído de Teresa e Gonçalves-de-Freitas (2003), com autorização do Editor da *Revista de Etologia*.

O Que Quantificar?

Suponha que nosso objetivo seja testar o efeito de um fator qualquer sobre a agressividade em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Primeiro é necessário saber como a agressão se manifesta e, em seguida, decidir como quantificá-la. Schlinger *et al.* (1987) padronizaram um etograma para a codorna, demonstrando que a principal forma de expressão de agressividade ocorre por meio de bicadas desferidas

umas contra as outras. Assim, depois de reduzir a “agressividade” a variáveis operacionais (mensuráveis), podemos quantificá-las por meio das formas abaixo.

- 1) **Latência:** tempo que um determinado comportamento demorou a ser exibido. Assim, se num teste um macho demorar 2 minutos para desferir a primeira bicada, essa será a latência para o primeiro ataque.
- 2) **Frequência:** é número de vezes que um determinado evento ocorreu numa determinada unidade de tempo. Suponha que em 20 minutos de observação a codorna 1 bicou 54 vezes a codorna 2 e essa bicou apenas 4 vezes a oponente. Nesse caso, dizemos que a codorna 1 bicou a codorna 2 com uma frequência de 2,7 bicadas por minuto ($54/20$), enquanto a outra codorna emitiu 0,2 bicadas por minuto ($4/20$).
- 3) **Duração:** refere-se ao tempo gasto por um animal exibindo uma determinada unidade comportamental. Imagine que durante os 20 minutos do exemplo anterior houve três episódios de perseguição da codorna 1, com durações de 2,0, 1,3 e 4,0 minutos cada. A soma dessas durações (7,5 minutos) indica o tempo total do item “perseguição” e podemos expressar esse total na forma de proporção de tempo gasto com o comportamento de perseguição (nesse caso: $7,4 / 20 = 0,37$). Essa proporção calculada não possui unidade e varia de 0 a 1,0. Podemos fazer o mesmo cálculo para a codorna 2 com a finalidade de comparar os respectivos desempenhos.
- 4) **Intensidade:** está relacionada com a “força” com que o comportamento é expresso. Suponha que desejamos comparar a intensidade do comportamento agressivo entre vários machos de codornas. Se bicar o outro é o item comportamental que melhor operacionaliza o conceito “expressão agressiva”, o sujeito que apresentou a maior frequência de bicadas pode ser considerado o mais agressivo da amostra. Alternativamente, poderá ser o que mais gastou tempo perseguindo o outro. A intensidade pode ser medida, também, por meio de indicadores físicos. Por exemplo, intensidade sonora do canto de um pássaro, a intensidade (em libras) da força da mordida de um crocodilo.

Como Registrar o Comportamento?

O ser humano possui órgãos sensoriais com grande resolução espacial e temporal associada a uma fabulosa capacidade cognitiva para registrar e interpretar os eventos que ocorrem à sua volta. No entanto, somos limitados em alguns aspectos, pois não compartilhamos as mesmas capacidades sensoriais de outros animais: não ouvimos

os infrassons ou os ultrassons, não enxergamos muito bem em ambientes pouca luminosidade (ambiente noturno, interior de águas profundas ou cavernas pouco iluminadas), além de nossa resolução visual ser ruim para objetos muito pequenos ou distantes. Não fazemos a mínima idéia do que seja a sensação proporcionada pela estimulação da linha lateral dos peixes, ou oriunda de receptores que detectam campo elétrico ou de fotorreceptores sensíveis à luz ultravioleta.

Em relação à nossa motricidade, não escrevemos ou falamos na velocidade do pensamento e temos muitas imprecisões ao tentarmos observar e registrar simultaneamente os acontecimentos que estamos testemunhando. A superação dessas limitações foi resolvida, em parte, pela invenção de aparelhos analógicos e digitais que expandem os nossos sentidos e ampliam a nossa capacidade sensorial e motora, além de armazenarem dados permanentemente. O uso desses equipamentos, no entanto, deve ser tomado simplesmente como uma complementação metodológica, pois nada disso pode substituir o processo criativo da mente humana para fazer perguntas, propor hipóteses e delinear a pesquisa científica. Lembre-se que tanto Charles Darwin como os fundadores da Etologia não dispunham da parafernália tecnológica existente hoje quando fundamentaram, respectivamente, as teorias da seleção natural e das causas imediatas e últimas do comportamento animal!

Descrevemos abaixo os recursos mais usados para o registro do comportamento animal:

1) Filmagens ou vídeo-tapes: oferecem registros de imagens e de áudio bastante precisos sobre o comportamento e têm a vantagem de poder ser observado e analisado repetidas vezes. São essenciais para registrar eventos extremamente rápidos que escapam à resolução visual humana, fornecendo uma decodificação mais lenta (quadro-a-quadro ou em *slow motion*). Em outros casos, a passagem acelerada (*fast moving*) possibilita identificar elementos imperceptíveis na velocidade normal. É o meio mais eficaz para o registro e armazenamento do comportamento na forma exata como ocorreu. Por outro lado, devemos ter em mente que a qualidade do registro não depende de câmeras cinematográficas ou de vídeo de última geração, mas primariamente da mente treinada de um observador que decide “o que” e “quando” observar. Após a filmagem, é necessário fazer a transcrição dos dados em unidades comportamentais para posterior quantificação e análise.

2) Descrições verbais: podem ser escritas ou gravadas em áudio. As descrições verbais do comportamento são muito úteis, especialmente durante testes pilotos. A gravação em áudio proporciona um relato direto durante a ocorrência do comportamento. Tendo padronizado previamente um etograma, os itens comportamentais podem ser ditados em um gravador de áudio à medida que ocorrem, ou podem ainda ser amostrados em determinados intervalos de tempo (veja mais adiante). Uma dica prática para se ditar o etograma em um gravador de áudio é usar um código verbal (monossilábico ou dissilábico) para cada item comportamental: ao invés de “perseguir”, ditar “persê” ou, ao invés de “construir ninho”, “constrí” e assim por diante. Isso economiza palavras durante o ditado, evitando as defasagens de tempo entre a ocorrência de um item e seu registro. Como no caso anterior, essa forma de registro também necessitará da transcrição dos dados para posterior quantificação e análise. Só não esqueça de anotar o código para que possam ser entendidos por outra pessoa que venha a trabalhar com a gravação, ou você mesmo, caso o intervalo entre a gravação e a transcrição dos dados seja longa.

3) Planilha de Registro (*Check sheet*): é a ferramenta mais simples, prática e barata. Os itens comportamentais são transcritos em uma planilha de papel e, à medida que ocorrem, são registrados (Fig. 1). A limitação deste método é o número restrito de itens que podemos registrar.

Grupo/Animal: _____		Observador: _____					
Data: _____		Obs: _____					
Condição: _____							
	Itens comportamentais						
Tempo	Perseguição	Fuga	Confronto frontal	Confronto paralelo	Confronto lateral	Ondulação	Ameaça
14:02							
14:04							
14:06							
14:08							
14:10							
14:12							
14:14							
14:16							

14:18							
14:20							
14:22							
14:24							
14:26							
14:28							
14:30							
....							
15:00							

Figura 1. Exemplo de uma planilha de registro. A porção superior (cabeçalho) deve conter informações das condições de estudo, identificação do animal, grupo etc. O corpo da planilha deve conter os itens comportamentais que serão registrados e o momento ou período de registro.

4) Registradores automáticos de eventos: podem ser eletromecânicos ou digitais. No caso de um registrador eletromecânico, um motor elétrico traciona o papel sobre o qual os eventos são registrados a uma velocidade constante (Schmidek *et al.* 1983). Nesse caso, o observador assinala, sobre o papel que está sendo tracionado, os momentos de ocorrência dos eventos comportamentais, seja a partir de uma gravação ou observando diretamente o comportamento. O início de um outro evento marca o fim do evento anterior. Completada a transcrição podemos calcular a frequência ou a duração de cada item comportamental ou a latência de um determinado item em particular. Um exemplo clássico de automação de registro e análise comportamental é a famosa gaiola de Skinner, desenvolvida pelo eminente behaviorista Burrhus Skinner, que desenvolveu vários estudos sobre condicionamento operante. Essa gaiola foi projetada de modo que o modelo animal (por ex., rato ou pombo) ao apertar uma alavanca recebia uma pelota de ração, ou seja, um reforço (ou recompensa). O ato de apertar a alavanca mecânica gerava um sinal elétrico que automaticamente era convertido numa inscrição em papel, não necessitando do observador. A automação tem a vantagem de evitar os erros de transcrição do comportamento. Atualmente, qualquer sinal elétrico que for transduzido pode ser capturado por uma placa analógico-digital de um microcomputador. Desde que o computador possua uma rotina (programa) que identifique e organize os sinais capturados, poderá realizar automaticamente os cálculos de frequência, duração ou latência.

Um outro exemplo de automação são os registradores de eventos sonográficos, como o sistema *Loudspeaker Measurement System* (www.linearx.com/products/analyzers/LMS/LMS_0.1.htm). Ele adquire os sinais de ondas sonoras (cantos de aves, sons de insetos etc.) gravadas em fitas K-7 ou discos digitais e realiza uma vasta quantidade de análises bioacústicas. Esses *softwares* geralmente são bastante sofisticados: captam e registram vocalizações de longa duração, geram exibições gráficas de alta definição e realizam várias análises quantitativas e comparativas (Mendes 2004). Outros registradores de eventos digitais populares atualmente (mas de alto custo) são aqueles produzidos pela *Noldus* (www.noldus.com/products/index.html), os quais propiciam aquisição de dados diretamente do teclado do computador, reduzindo a probabilidade de erros de transcrição e minimizando o tempo gasto pelo observador. O programa *Observer Video-Pro* da *Noldus* dispõe de um relógio interno possibilitando configurações quanto ao método de amostragem que se deseja fazer, captura imagens de vídeo e permite o registro de duração, frequência e latência de comportamentos (Noldus *et al.* 2000). Um registrador bastante prático e que está disponível gratuitamente pela Internet é o *Etholog 2.2* (Ottoni 2000 – www.geocities.com/ebottoni/ethohome.html), utilitário de produção totalmente nacional que é periodicamente atualizado.

INTERFERÊNCIA DO OBSERVADOR

O registro do comportamento sempre vem acompanhado de uma variável que, embora difícil, temos que tentar controlar. Trata-se do efeito que o observador tem sobre o comportamento dos animais. A presença do pesquisador é algo diferente no ambiente.

Para controlar essa variável podemos nos esconder atrás de anteparos visuais, mas temos que nos lembrar que muitos animais percebem o ambiente por meio de odores. Então, o observador será notado, mesmo se estiver visualmente escondido. Podemos exemplificar com o seguinte fato. Um pesquisador que estuda vespas sociais utilizou repelente de insetos para evitar as doloridas ferroadas durante as observações no campo. O odor do repelente provocou o enxameamento, impedindo a observação do comportamento das vespas na colônia. No entanto, o pesquisador foi esperto o suficiente para fazer dessa situação um método eficaz para estudar enxameamento. Esse é um fato real que aconteceu com o Pós-graduando Carlos Alberto dos Santos, pertencente ao grupo do Prof. Dr. Fernando Noll, da UNESP de São José do Rio Preto, SP.

Apesar de nossa presença afetar o comportamento dos animais, várias espécies podem se habituar à nossa presença e, com isso, exhibir o comportamento naturalmente. Por

exemplo, em nossos estudos com peixes, notamos que os animais se refugiam no fundo do aquário quando entramos no laboratório. Porém, se nos sentarmos e não realizarmos movimentos bruscos, os animais voltam a exibir o comportamento normal (alimentação, defesa de território, corte) em cerca de 10 min. Outro exemplo famoso é o estudo com chimpanzés realizados pela grande pesquisadora, Jane Goudall. Ela conseguiu se aproximar dos grupos desses macacos para poder estudá-los após um período de habituação.

MÉTODOS DE AMOSTRAGENS DE DADOS

Tendo padronizado o etograma e tendo em mente os diferentes meios de registros comportamentais disponíveis, restam ainda outras decisões a serem tomadas para o estudo do comportamento animal. Boas decisões dependem muito de nossa reflexão, que ocorre durante as observações preliminares ou estudos-piloto. É nessa fase inicial da pesquisa que os ajustes finos da metodologia são realizados.

Uma espécie animal é composta de inúmeros indivíduos e, obviamente, não podemos estudar todos eles. A alternativa que nos resta é estudar um grupo representativo dessa população, que é chamado de amostra (ver adiante em *análise de dados*). Além desse tipo de amostra, há a amostragem do comportamento. Uma unidade comportamental pode ocorrer várias vezes ao longo das 24 h de um dia, e mesmo ao longo de vários dias. Como é impossível observarmos o mesmo animal continuamente, podemos recorrer a amostras de seu comportamento. Alguns dos métodos mais usuais de amostragem dos comportamentos foram sistematizados por Altmann (1974) e são descritos abaixo.

a) amostragem *ad libitum*: neste caso, o observador simplesmente registra tudo aquilo que acha relevante. Esse tipo de registro é útil na etapa de observação preliminar, mas é desvantajoso à medida que os animais mais ativos de um grupo em observação podem desviar a atenção do observador.

b) amostragem do animal *focal*: o observador escolhe, aleatoriamente ou não, um único indivíduo de um agrupamento (ninhada, tríade ou outra unidade social), o qual servirá de foco das observações por um determinado período. Registra-se seu comportamento e, no caso de situações de interação social, por exemplo, anota-se com que indivíduo(s) esse animal-focal interagiu. Este método traz uma desvantagem para os estudos de campo, pois é bastante comum nessas condições o animal-focal desaparecer do campo de visão, embrenhando-se em meio aos arbustos ou para dentro

da toca. Caso isso aconteça, a observação deve ser interrompida e anotado o tempo de observação amostrado para fins de futuros ajustes quantitativos.

c) amostragem por escaneamento: fixa-se um determinado número de intervalos regulares de tempo dentro de um período. Ao final de cada intervalo as atividades comportamentais de todos os indivíduos à vista são instantaneamente registradas. Este tipo de amostragem proporciona informações pontuais sobre a ocorrência ou não de determinados comportamentos, identificando os indivíduos envolvidos. Neste tipo de amostragem, os comportamentos são registrados por amostragem de tempo instantânea (ver abaixo). A eficácia desse método depende do observador ter intimidade com a identificação dos animais, seja por marcas naturais ou artificiais (veja item mais adiante). Também podemos combinar os métodos amostrais: num mesmo período é possível amostrar dados comportamentais por escaneamento e os dados de um animal focal.

d) amostragem comportamental: neste caso o observador procura registrar um comportamento específico fornecendo todos os detalhes sobre os indivíduos envolvidos. Esse tipo de registro é útil para comportamentos que ocorrem com baixa frequência. Por exemplo, número de cópulas num grupo de bonobos. Anota-se quantas vezes o comportamento ocorreu e, se possível, qual macho e qual fêmea.

Por Quanto Tempo Registrar?

Outra decisão importante a ser tomada no estudo do comportamento animal é sobre quando, ou por quanto tempo, registrar os comportamentos. Devemos registrá-lo ininterruptamente por determinado tempo (registro contínuo) ou a intervalos regulares de tempo (registro por amostragem de tempo)?

a) Registro contínuo: permite registrar exatamente a sucessão dos itens comportamentais em um determinado período de tempo, possibilitando a obtenção de dados absolutos sobre latência, frequência e duração dos comportamentos, além de possibilitar análises sequenciais do comportamento. Esse é um método de registro bastante indicado se você deseja esclarecer a sequência e a duração dos eventos que caracterizam, por exemplo, o ritual de acasalamento ou da construção de ninho de uma determinada espécie. Geralmente o registro de itens com maior probabilidade de ocorrência pode ser amostrado num intervalo de tempo menor do que itens que ocorrem

mais raramente. A definição desse intervalo deve ser feita para garantir que o comportamento será de fato amostrado, ao menos para a maioria das réplicas.

b) Registro por amostragem de tempo (ou intervalar): neste caso, os dados comportamentais são obtidos a intervalos pré-definidos no tempo. Por exemplo, podemos fazer observações a cada 20 segundos, num período total de 20 minutos. Com essa marcação de tempo teremos 60 momentos e 60 intervalos amostrais. Durante esse período podemos registrar os dados comportamentais de duas maneiras:

1) Amostragem instantânea: A cada intervalo de tempo (por ex., 20 s) registramos a ocorrência (ou não) de um determinado comportamento. Quando obtemos dados comportamentais dessa maneira, não podemos calcular a frequência ou duração dos comportamentos, mas é uma amostragem muito útil quando queremos fazer registros de estados ou comportamentos de longa duração. .

O tipo de dados que serão obtidos por esse tipo de amostragem são escores. Por exemplo, se dividimos um período de 10 minutos em intervalos de 10 segundos, teremos 60 pontos amostrados. Se um comportamento é registrado 15 desses 60, então o escore será 15:60 ou 0,25. Outro comportamento que foi registrado 36 vezes, o escore será 0,6. Assim, quanto maior a duração do comportamento, maior será o escore. Por essa razão as amostragens instantâneas são usadas para estados.

2) 1-0 (um-zero): Em intervalos regulares (por ex., a cada 10 s) o observador registra se o comportamento ocorreu (1) ou não (0) no intervalo antecedente. Esse tipo de amostragem também é particularmente útil para os registros de estados ao invés de eventos comportamentais de um ou mais animais. Ao final do período de registros, o observador também irá obter escores.

O critério utilizado para estabelecer o intervalo de tempo depende de quantos itens comportamentais serão registrados e da natureza dos mesmos. É claro que, quanto mais curto o intervalo, mais adequada é a amostragem, mas o bom senso e a experiência do observador determinarão o intervalo de tempo apropriado para cada caso.

CONFIABILIDADE E VALIDADE DAS MEDIDAS

A **confiabilidade** diz respeito ao quanto uma medida é reprodutível e está livre de erros do tipo aleatório. Por exemplo, uma medida idealmente confiável é aquela cujos dados não apresentam oscilações entre as mensurações. As medidas nem sempre

são exatas, mas podem ser confiáveis dentro de uma margem de segurança. Já a **validade** diz respeito ao quanto a medida representa aquilo que o cientista deseja quantificar e, idealmente, deve ser livre de erros sistemáticos. Tanto a confiabilidade como a validade devem ser cuidadosamente determinadas, pois é por meio delas que a qualidade do “diálogo” estabelecido entre o pesquisador e o animal em estudo ficará demonstrada (Schmidek *et al.* 1991, Lehner 1996).

Confiabilidade entre intra-observadores

Por mais que duas pessoas sejam bem treinadas no registro de dados comportamentais, a confiabilidade inter-observadores raramente será de 100%, pois elas estão sujeitas a erros (chamados interpessoais). Do mesmo modo, uma mesma pessoa raramente consegue reproduzir com precisão o mesmo registro em dois momentos diferentes, devido ao que se chama erro intrapessoal. Então, como podemos confiar nas medidas sucessivas feitas por um mesmo observador? E nas medidas feitas por observadores diferentes? Para verificar o quanto uma medida é confiável entre observadores, podemos usar os testes estatísticos de correlação e de concordância, que ajudam a estabelecer uma margem de segurança para a confiabilidade do registro comportamental intra e inter-observadores (Lehner 1996, Martin & Bateson 2007). Basicamente, isso seria feito permitindo-se que duas ou mais pessoas registrem os mesmos comportamentos e, posteriormente, avaliando-se estatisticamente se essas medidas estão correlacionadas ou são concordantes entre esses observadores. De forma análoga, os mesmos testes poderiam ser feitos para um único observador, mas considerando-se agora as concordâncias e correlações entre medidas sucessivas. A confiabilidade ideal depende de alguns fatores relacionados ao que se deseja medir, se é um comportamento e importância da categoria que está sendo medida. No entanto, Martin e Bateson (2007) consideram que deve-se considerar pelo menos uma correlação de 0,7 na confiabilidade inter ou intra-observador.

ANTROPOMORFISMO

O comportamento de uma espécie animal é muitas vezes semelhante ao comportamento humano. Quem possui animais de estimação, particularmente cães, é capaz de jurar o que o animal sente ou quer, dependendo de sua vocalização, expressão facial ou movimento de cauda. Nesses casos é comum dizermos que o animal está feliz, triste etc. A atribuição de características humanas a entidades não humanas é

denominada antropomorfismo. Essa atitude deve ser evitada no estudo do comportamento animal. Isso não significa que as emoções humanas sejam exclusivas de nossa espécie mas, muitas vezes, podemos ser enganados por falsas semelhanças. Por exemplo, o chimpanzé, durante interações agonísticas, abre a boca, expõe os caninos e vocaliza como se estivesse rindo, quando, na verdade, está fazendo uma demonstração agressiva. Da mesma forma, o golfinho não sorri para o ser humano. A primeira conclusão que elaboramos ao ver um peixe com larvas de peixes dentro da boca é que ele está se alimentando, quando, de fato, está cuidando da sua prole. Diferentemente da espécie humana que carrega os filhotes com os membros superiores, essa espécie de peixe o faz com uma estrutura análoga, a boca. Assim, a interpretação do comportamento nas outras espécies deve ser feita com muita cautela. É imprescindível que o cientista leve em consideração o contexto em que o comportamento ocorre: se durante as interações agonísticas entre adultos, ou entre pais e filhotes etc. É recomendável observar que as vias sensoriais utilizadas por determinadas espécies de animais não pertencem à sensibilidade humana, como os sentidos da linha lateral e da eletrolocação dos peixes, ou mesmo o sentido magnético e a visão da radiação ultravioleta de abelhas. Ainda que haja um sentido compartilhado pelo homem e muitas outras espécies animais, como a audição, o ser humano não ouve necessariamente a mesma frequência sonora de outras espécies. Por exemplo, as ondas mecânicas que estão abaixo de 20 Hz são denominadas infra-som e as acima de 20.000 Hz, ultra-som, para os quais somos totalmente surdos. Quando os cientistas passaram a analisar o mundo bioacústico sob o ponto de vista dos animais estudados, descobriu-se fenômenos surpreendentes: os morcegos produzem ultra-sons e ouvem os seus ecos para se orientarem no espaço; os elefantes se comunicam à distância emitindo infra-sons. Como pode ser notado, esses animais possuem um canal totalmente privado de comunicação e os sentidos humanos necessitam de mecanismos artificiais para ampliar a sua percepção sensorial. Mas nem os mais sofisticados equipamentos garantem que estejamos registrando e conhecendo toda a comunicação animal.

Por outro lado, o exagero em evitar antropomorfismos pode levar a uma simplificação demasiada do animal. Não devemos ignorar os processos cognitivos em animais não humanos. O autor que mais se empenhou nesse assunto nos últimos anos talvez tenha sido o norte americano Donald Griffin, o qual defendia que só entenderemos completamente outras espécies quando soubermos o que elas pensam e sentem (Griffin 1992).

Algumas vezes, o fato de não encontrarmos emoções semelhantes às nossas (ou meios para demonstrar que elas existem) pode validar práticas indesejáveis. Por exemplo, uma das questões bastante discutidas atualmente está relacionada com o fato de peixes sentirem dor e sofrerem com ela. Até pouco tempo atrás, a falta de um método adequado que demonstrasse que peixes sentem dor validou e estimulou a prática da pesca esportiva (Rose 2002), onde o peixe é fispado por um anzol, admirado, pesado e depois devolvido à água. No entanto, Sneddon (2003) demonstrou que substâncias irritantes administradas na região oral em trutas arco-íris fazem com que apareçam comportamentos anômalos indicadores de desconforto como “rubbing” (esfregar a boca na parede do aquário ou no substrato) e “rocking” (ondular o corpo para os lados enquanto está no substrato). Sneddon (2003) verificou, ainda, que esses comportamentos são abolidos quando os animais recebem morfina (potente analgésico), indicando que peixes sentem dor e, portanto, fornecendo fortes argumentos à abolição da pesca esportiva.

O PROBLEMA TAXONÔMICO

Quando estudamos um animal, devemos nos certificar de que a espécie com a qual estamos trabalhando seja, de fato, a que pensamos que é. Para isso, é essencial o auxílio de um taxonomista nessa identificação.

Um problema que podemos enfrentar é que, mesmo conhecendo a espécie, ela pode mudar de nome ou ser incluída em outro grupo taxonômico. Pior é a situação onde se descobre que o que era considerado uma espécie corresponde, na verdade, a duas (ou vice-versa). Para evitar que nossos dados se percam em dúvidas, devemos depositar, sempre que possível (e nos esforçarmos para que seja possível), alguns exemplares de nosso estudo em coleções zoológicas. Esses exemplares receberão um número de registro e poderão ser consultados sempre que necessário, por qualquer cientista do mundo.

Além disso, o cientista precisa conhecer a história taxonômica de seu objeto de estudo. Por exemplo, a tilápia-do-Nilo, um teleósteo da família Cichlidae, foi nomeada por Linnaeus como *Tilapia nilotica* em 1758. Mais tarde, com os estudos de Trewavas, essa espécie passou para o gênero *Sarotherodon*, tornando-se *Sarotherodon niloticus*. Mais tarde, essa mesma autora redefiniu os gêneros da Tribo tilapiini com base no comportamento de cuidado parental. Assim, as espécies cujas fêmeas cuidam

da prole na boca passaram para o gênero *Oreochromis* e, portanto, a tilápia-do-Nilo mudou novamente para *Oreochromis niloticus* (Trewavas 1982). Assim, ao fazer uma revisão bibliográfica sobre essa espécie, o pesquisador tem que englobar esses três nomes científicos; do contrário, deixará de considerar trabalhos que podem ser relevantes. Pelas regras da nomenclatura zoológica, a história taxonômica de uma espécie é expressa colocando-se, seguido do nome científico da espécie, o nome do autor que fez a primeira descrição entre parênteses: *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Caso fosse escrito sem o parênteses, *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758, significaria que Linnaeus descreveu essa espécie originalmente no gênero *Oreochromis*.

ESTUDOS DE CAMPO E DE LABORATÓRIO (ou em ambiente natural e artificial)

O que é melhor: estudar comportamento animal no campo ou no laboratório? Se você acha que é a primeira, errou. Se acha que é a segunda, também errou. Começar um projeto escolhendo o local de estudo (cativeiro ou campo) significa começar uma pesquisa pelo material e métodos, o que infelizmente é um erro frequente. Como visto neste e no Capítulo 2, uma pesquisa geralmente começa com uma pergunta, que será respondida com ou sem elaboração de hipóteses, e os materiais e métodos empregados devem ser adequados para responder à pergunta. Algumas delas são melhor respondidas por meio de estudos em ambiente natural e outras, em condições de laboratório. Depende do objetivo do estudo.

Nas áreas etológica e zoológica ainda persiste, para muitas pessoas no Brasil, o preconceito em relação a estudos comportamentais desenvolvidos em laboratório. Esse tipo de preconceito atrapalha em muito o desenvolvimento dos estudos sobre o comportamento animal, mas não se trata de um viés gratuito. Ao menos duas origens possíveis podem ser aventadas. A primeira é associada ao próprio nascimento da Etologia, que incrementou estudos de comportamento no ambiente natural em contraposição aos estudos dos behavioristas, que eram totalmente realizados em laboratório (ver o Capítulo 1; Tinbergen 1963). A segunda causa provável é atribuída a uma postura mais superficial sobre as bases e estrutura do conhecimento científico, como já alertado no Capítulo 2. Não devemos nos esquecer de que muitos dos conceitos básicos da Etologia foram formulados a partir de estudos em laboratório. Um exemplo

bem conhecido é o comportamento de defesa de território no peixe de 3 espinhos, *Gasterosteus aculeatus*, cuja condição de dominância depende da posição do indivíduo no espaço. Essa conclusão foi experimentalmente obtida por Tinbergen em condições controladas de laboratório (Ridley 1995). Isso não mudou a abordagem adaptativa característica da Etologia, mas culminou na elaboração de leis gerais para o comportamento animal.

As duas formas de estudos são, na verdade, complementares e apresentam vantagens e desvantagens que devem ser consideradas na elaboração de um projeto e na interpretação dos resultados. Por exemplo, é muito difícil estudar os mecanismos fisiológicos de determinados comportamentos a partir de estudos desenvolvidos exclusivamente no campo. De outro lado, questões comportamentais que envolvem a interação com o ambiente devem ser estudadas no campo. O que queremos deixar claro é que é a natureza da pergunta é que determina se devemos desenvolver o estudo no campo ou no laboratório, e não uma preferência “*a priori*” do pesquisador

Vantagens e Desvantagens de se Estudar o Comportamento no Ambiente Natural

No ambiente natural, todos os elementos que modulam o comportamento de um animal estão presentes: as condições climáticas, as plantas, o tipo de solo, os predadores, as presas e outros animais que convivem com ele. Apesar disso, os estudos de campo apresentam dificuldades em:

1. Visualizar a maioria dos animais o tempo todo.
2. Controlar algumas variáveis, como luminosidade, temperatura, densidade populacional, disponibilidade de alimento, tamanho e idade do animal.
3. Encontrar ou estudar os animais que vivem em ambientes subterrâneos, que são noturnos ou que habitam locais de difícil acesso.
4. Discriminar animais crípticos.

Mesmo com essas dificuldades, os estudos de campo permitem, além dos estudos descritivos, testes de hipóteses importantes, como já mostrou o próprio Tinbergen com seus métodos criativos descritos no início deste capítulo. Além disso, é possível também controlar certas variáveis e realizar diversos trabalhos, mesmo com as

dificuldades inerentes. Por exemplo, quando os animais são difíceis de serem encontrados, eles podem ser capturados em armadilhas e marcados com um colar transmissor que permite que sejam encontrados ou seguidos por meio de ondas de rádio. Locais de difícil acesso, como árvores de elevada altura, podem ser acessados por meio de equipamentos de alpinismo, como ocorre em alguns estudos com aves (Guedes 1993). O cientista pode ainda contar com câmeras de infravermelho quando o animal é de hábito noturno. Mesmo medidas fisiológicas podem não ser um entrave definitivo, pois nas últimas décadas têm sido desenvolvidos, por exemplo, métodos de análises de fezes que permitem avaliar condições reprodutivas (Sousa *et al.* 2005). Exemplos elegantes que envolvem testes de hipóteses no ambiente natural podem ser encontrados nos trabalhos de Paulo S. Oliveira (UNICAMP) e Regina H. F. Macedo (UNB).

Vantagens e Desvantagens de se Estudar o Comportamento no Cativeiro (ou laboratório)

Por ambiente artificial devemos considerar todo aquele fora do ambiente natural do animal, como laboratórios, zoológicos e criadouros. Muitos cientistas utilizam o termo semi-natural para descrever ambientes artificiais que contenham várias características do ambiente natural. Porém, não podemos nos iludir que ambiente semi-natural seja próximo do natural. Por exemplo, estudar muriquis em semi-cativeiro pode significar manter o animal ao ar livre, sujeito às variações ambientais e incluir em sua alimentação vários itens de sua dieta natural. No entanto, a ausência de predadores naturais e de vários elementos que seguramente não conseguiremos reproduzir torna esse ambiente artificial. Portanto, o termo ambiente semi-natural deve ser evitado. O que existem são ambientes artificiais em condições mais pobres ou mais ricas em elementos naturais. Mas nesses ambientes a situação totalmente natural já não existe.

Assim como no ambiente natural, existem vantagens e desvantagens nos estudos em laboratório (veja Campbell *et al.* 2009). As principais vantagens das condições de laboratório residem na facilidade de observação dos animais, pois eles estarão sempre lá e mais facilmente visíveis. É por essa razão que a maioria dos estudos realizados com peixes de água doce é feita em laboratório. Na água doce, a turbidez e a presença de densa vegetação submersa dificultam a visibilidade e a observação dos

animais (ao contrário do que acontece, por exemplo, em recifes de corais, cuja visibilidade favorece estudos do comportamento de peixes no ambiente natural).

Outra vantagem dos estudos em laboratório é a possibilidade de controlar variáveis que possam modular o comportamento, como temperatura, fotoperíodo, umidade, densidade populacional, idade, tamanho e, na medida do possível, experiências prévias dos animais em estudo. Apesar dessas considerações, destacamos as seguintes dificuldades ou desvantagens dos estudos em laboratório:

1. Possibilidade de alteração do comportamento. Um dos grupos de difícil estudo em laboratório, por exemplo, é o dos anfíbios anuros. Esses animais mudam rapidamente seu comportamento, principalmente aqueles ligados à reprodução e à vocalização. Mesmo nos casos em que são acondicionados em recintos externos e que mantêm temperatura e luminosidade ambiental, os anuros reduzem ou abolem sua vocalização, principal meio de comunicação intraespecífica nesse grupo.
2. Aparecimento de comportamento marginais, que são aqueles que não são exibidos em condições naturais, mas que passam a ser exibidos em condições artificiais.
3. Desenvolvimento de estresse nos animais decorrente do ambiente artificial a que foram submetidos. Este fator, no entanto, pode ser reduzido ou abolido deixando-se o animal ajustar-se por vários dias às condições de manutenção e tratamento.

O mais comum é que os estudos em campo e em laboratório sejam complementares. Por exemplo, Rossa-Feres *et al.* (2000) estudaram no campo o comportamento reprodutivo de *Psecas perviridis*, uma espécie de aranha saltadora que vive em bromélias (gravatás), associando o comportamento a fatores ambientais. No entanto, a descrição e quantificação das unidades comportamentais da corte (incluindo análise de frequência e de sequência) foram realizadas em laboratório, pois isso permitia uma melhor visualização do comportamento em questão, tornando os dados coletados mais confiáveis. Além desse, há vários estudos na literatura que conciliam estudos nos dois ambientes, corroborando a idéia de que devemos sempre aproveitar ao máximo nossos recursos metodológicos para respondermos adequadamente nossas indagações de pesquisa (ex. Yamamoto *et al.* 1996). Finalizando, sempre que possível devemos conhecer o comportamento natural do animal ou do grupo taxonômico ao qual ele pertence para que possamos melhor planejar nossos estudos, no campo ou no laboratório, além de naturalmente melhor conduzir nossas análises para as conclusões.

ANÁLISE DE DADOS

Uma vez coletados os dados, o passo seguinte é analisá-los. Se os estudos são descritivos, a análise dos dados se restringe a encontrar padrões de comportamento e interpretá-los à luz de algumas teorias pré-existentes. Porém, a maioria dos estudos que envolvem testes de hipótese utiliza a estatística para analisar os dados. Assim, quando quantificamos o comportamento e pretendemos fazer generalizações a partir de amostras da população, utilizamos inferências estatísticas (Zar 1999, Ha & Ha 2007).

A análise estatística pode ser *descritiva*, envolvida com o resumo e apresentação dos dados, ou pode ser *inferencial*, que ajuda a concluir sobre conjuntos maiores (populações) quando apenas partes desse conjunto (as amostras) foram estudadas (Callegari-Jaques 2004). Com este tópico pretendemos apresentar alguns conhecimentos básicos que podem auxiliar na análise estatística inferencial de dados. Porém, pressupomos que já sejam de domínio conhecimentos mínimos, como medidas de tendência central (média, moda e mediana) e medidas de dispersão (desvio padrão, erro padrão e coeficiente de variação).

A análise estatística deve estar ligada ao objetivo e ao delineamento da pesquisa. De acordo com Volpato (2007), o trabalho científico é um argumento lógico, onde a metodologia e os resultados são premissas para as conclusões. Assim, quando se planeja um estudo é imprescindível que o teste estatístico a ser utilizado também seja planejado, uma vez que ele faz parte das premissas dentro do argumento lógico. Vários tipos de testes podem ser utilizados para a análise de dados e a escolha de qual teste usar depende de algumas características do experimento e dos dados. Assim, apresentaremos alguns conceitos básicos que irão auxiliar na escolha adequada do teste estatístico e, fundamentalmente, na interpretação adequada dos resultados.

Variáveis

Variável é um atributo inerente ao objeto estudado e que, como o próprio nome diz, pode variar (se o atributo é invariável estamos falando de uma constante) (Centeno 1999). A frequência de interação agonística, duração da corte, frequência de ingestão alimentar etc. são exemplos de variáveis comportamentais. As inferências estatísticas são feitas a partir de dados obtidos das variáveis consideradas no estudo.

De acordo com Callegari-Jaques (2004), as variáveis podem ser qualitativas

(quando expressam atributos não numéricos, como cor, sexo etc.) ou quantitativas (que expressam quantidade em dados numéricos, como frequência de ocorrência, duração, latência etc.). As variáveis quantitativas podem ser classificadas em Variáveis Discretas, que apresentam valores inteiros (como número de filhotes ou número de células) e Variáveis Contínuas, cujos dados podem apresentar qualquer valor dentro de um intervalo de variação possível, como peso, comprimento, duração etc.

As variáveis quantitativas ou qualitativas podem ainda ser classificadas como Dependentes ou Independentes. De acordo com Volpato (2007), esse conceito é relativo, pois dependerá sempre do objetivo da pesquisa. Por exemplo, vários estudos demonstraram que o aumento de andrógenos aumenta a agressividade em teleósteos (ex. Munro & Pitcher 1985). Nesse caso, a variável independente é o nível de hormônio e a agressividade é a variável dependente (que depende do nível hormonal). Por outro lado, estudos mais recentes têm demonstrado que peixes mais agressivos apresentam elevação dos níveis de andrógenos circulantes (ex. Oliveira 2004). Nesse caso ocorre o contrário do primeiro, pois os níveis hormonais passam a ser dependentes da condição agressiva (variável independente). Embora ambas as variáveis devam ser quantificadas, a variável independente faz parte da condição dos grupos experimentais e a variável independente será aquela quantificada como resultado (Volpato 2007). O conhecimento desse conceito é fundamental, pois auxilia na elaboração do delineamento experimental e, conseqüentemente, na análise de dados.

Amostras

De modo geral, as populações nas quais o cientista está interessado são grandes demais para serem estudadas na sua totalidade, pois muitas vezes as populações tendem ao infinito. Por isso trabalhamos com amostras que se constituem em qualquer fração de uma população (Callegari-Jacques 2004). De acordo com essa autora, a finalidade da amostra é representar a população e, portanto, a amostra não deve ser tendenciosa. Isso significa que devemos utilizar métodos adequados de amostragem para que não ocorram erros quando os dados são analisados e as conclusões elaboradas (que serão generalizadas para a população e não apenas para a amostra). Por exemplo, se quisermos saber como é o comportamento sexual de estudantes da terceira série do ensino médio, não devemos utilizar estudantes de um único colégio para esse estudo, pois a amostra não seria representativa da população. O

comportamento pode variar nas escolas cujos alunos pertencem a camadas sociais onde o poder aquisitivo é diferente e isso poderia contaminar os resultados. Assim, um procedimento bastante utilizado para se evitar equívocos é a amostragem aleatória, obtida de tal modo que todos os indivíduos de uma população tenham igual probabilidade de serem amostrados. Se a população for constituída por classes (ou estratos), devemos nos certificar de que amostramos indivíduos de cada estrato. Por exemplo, se uma população é composta por animais dominantes e submissos e a coleta de dados depende de captura dos indivíduos, corremos o risco de coletar preferencialmente os submissos, pois esses geralmente são mais vulneráveis. Devemos, então, nos certificar de não estarmos amostrando somente submissos na hierarquia social, pela maior facilidade na hora da coleta.

Amostras relacionadas e não relacionadas

Amostras relacionadas são aquelas cujas respostas são dependentes entre si. Geralmente elas ocorrem quando os mesmos animais são amostrados duas ou mais vezes. Como exemplo citamos o registro do comportamento num mesmo indivíduo antes e após um estresse, ou em presença e ausência de fêmeas. São amostras relacionadas também aquelas nas quais um comportamento não pode ocorrer simultaneamente a outro. Suponha que numa situação de competição alimentar dois peixes (macho e fêmea) recebam 10 peletes de ração. Nenhum deles ficará saciado apenas com esses peletes, de forma que irão competir por eles e, nesse caso, o que um peixe come depende do quanto o outro comeu. Assim, a quantidade de ração ingerida pela fêmea será dependente do que o macho comeu e vice-versa. O fato de um dado afetar o outro implica na condição de dependência. Da mesma forma, em estudos sobre tomada de decisão, ao fazer uma escolha, fica implícita a não ocorrência da outra no mesmo momento, resultando daí a condição de dados relacionados.

Por outro lado, amostras não relacionadas são aquelas cujas respostas não interferem umas nas outras. Isto é comum nos casos nos quais os resultados podem ser afetados quando o animal passa por mais de um procedimento. Por exemplo, Gonçalves-de-Freitas (1999) testou o efeito da presença de fêmeas sobre o desenvolvimento gonadal do macho dominante na tilápia-do-Nillo. Esses animais foram mortos ao final do experimento para que as gônadas fossem retiradas e seus estádios de desenvolvimento avaliados. Então, esse trabalho não poderia ser feito comparando-se a condição do macho antes e após o contato com as fêmeas; portanto,

foram necessários dois grupos independentes, o grupo com presença de fêmeas e o grupo com ausência delas. Qualquer que fosse o resultado do desenvolvimento gonadal dos animais no primeiro grupo, em nada afetaria o resultado dos animais do outro grupo, pois são completamente independentes.

Dados com Distribuição Normal ou Não-normal

Em termos simplificados, os dados que apresentam distribuição normal são aqueles com preponderância de valores em torno da média e com progressiva redução em direção aos limites extremos de uma escala de valores (Zar 1999, Ha & Ha 2007). Os dados que não apresentam essa distribuição são chamados não-normais. A distribuição normal é um dos principais critérios para decidir entre a utilização de testes paramétricos ou não-paramétricos (Lehner 1996, ver adiante). Na realidade, os testes estatísticos partem de pressupostos sobre a variável, sendo um deles a sua distribuição (normal ou não-normal). Portanto, não se pode usar um teste que admite um tipo de distribuição para avaliar uma variável que apresenta outra forma de distribuição.

Homogeneidade de Variâncias

Os indivíduos de uma população apresentam uma variação inerente, que pode ser medida calculando-se a variância (Ha & Ha 2007). Para definir o teste estatístico a ser utilizado, é preciso conhecer como é a variação dos dados em torno da média entre os tratamentos testados. Se a variância for semelhante entre as amostras, dizemos que há homogeneidade (variância homogênea = homocedástica). Isso significa, por exemplo, que se temos duas ou mais amostras (tratamentos), a variâncias de cada uma estima a mesma variância da população (Zar 1999). Quando as variâncias não são homogêneas, as amostras são chamadas de heterocedásticas.

Testes Paramétricos e Não Paramétricos

Os testes paramétricos são utilizados para comparar amostras de variáveis contínuas quando a distribuição dos dados é normal e a variância é homocedástica. Quando uma dessas condições está ausente, utilizamos testes não-paramétricos. De acordo com Lehner (1996) e Siegel e Castellan Jr. (2006), análises não paramétricas devem ser utilizadas também quando o número de réplicas for pequeno pois, nesse caso, não é possível testar se os dados apresentam ou não

distribuição normal. No entanto, é comum encontrarmos na literatura análises paramétricas para comparação de amostras com número reduzido de réplicas. Certamente isso ocorre porque os dados seguiram aos outros critérios citados (distribuição normal e homocedasticidade).

Os dados obtidos nos estudos do comportamento animal muitas vezes não satisfazem aos critérios para utilização de testes paramétricos devido à grande variação dos dados. Embora nesses casos possamos analisar os dados com os testes não-paramétricos, podemos também transformar esses dados para tornar a distribuição normal e homogeneizar a variância. Três formas de transformação são utilizadas (Sokal & Rohlf 1995, Quin & Keogh 2002):

- Raiz quadrada [$x^{1/2}$ ou, se algum valor for zero, $(x+0,5)^{1/2}$].
- Transformação logarítmica ($\log_{10}(x)$, ou $\log_{10}(x+1)$ se algum valor for zero).
- Transformação arco-seno ($2\arcsen.x^{1/2}$, onde x é a porcentagem de aparecimento de um determinado caracter num total definido)

Dados de frequência, por exemplo, podem ser transformados pelas 2 primeiras formas. Porém, a transformação usando arco-seno deve ser utilizada para porcentagem (ver Quin & Keogh 2002) .

Analisando os Dados

Alguns passos são sugeridos a seguir para a análise dos dados, mas não serão discutidos os fundamentos de cada teste estatístico, os quais podem ser encontrados detalhadamente em obras específicas sobre estatística. Quando analisamos os resultados devemos levar em conta a etapa de planejamento da pesquisa. Assim, enquanto algumas informações são obtidas após a coleta de dados, outras devem ser estabelecidas no planejamento do estudo.

1. Estabeleça que variáveis serão analisadas (latência, frequência, duração, níveis de hormônios, ganho de peso, número de filhotes etc.)
2. Estabeleça se irá utilizar comparação entre amostras (média ou mediana), se irá utilizar correlação ou testar proporções.

As análises estatísticas envolvem basicamente três tipos de inferências sobre amostras populacionais. Uma delas fornece informações comparativas entre grupos experimentais (ou grupos estudados), testando se eles são semelhantes ou diferentes entre si. O mesmo raciocínio pode ser feito para um mesmo grupo, quando comparamos o que acontece ao longo do tempo. Em ambos os casos é comum compararmos médias ou medianas. Suponha que queremos comparar o efeito da redução do nível de água sobre as interações agonísticas em alguma espécie de peixe. Suponha ainda que serão testados três níveis de água. Assim, podemos comparar a frequência média de eventos agressivos entre esses três grupos. No entanto, se quisermos acompanhar o ritmo de algum comportamento, estaremos comparando variáveis (média ou mediana) ao longo do tempo.

Por outro lado, podemos querer saber não apenas se grupos diferem entre si, mas como eles estão relacionados. Nesse caso, temos um segundo tipo de inferência que são as correlações (relação ou correspondência entre duas ou mais variáveis).

As correlações podem ser positivas ou diretas (quando uma variável oscila na mesma direção da outra) ou podem ser negativas ou inversas (quando uma variável oscila na direção contrária da outra). Por exemplo, o aumento da densidade populacional leva ao aumento das interações agonísticas em animais territoriais. Esse é um tipo de correlação direta, pois a variável interação agonística oscila na mesma direção da densidade populacional. Por outro lado, quanto mais um animal subordinado é atacado, menor será sua taxa de crescimento (já que o aumento de ataques recebidos aumenta o estresse social e reduz a energia disponível para ganho de peso). Nesse caso temos uma correlação negativa, pois a taxa de crescimento oscila na direção contrária dos ataques recebidos. Podemos ter correlações simples quando uma variável é associada a outra, ou correlação múltipla, quando uma variável é associada a 2 ou mais variáveis, ou ainda, quando um conjunto de variáveis é associado a outro conjunto.

Como visto no capítulo 2, sempre que houver uma ação causal de uma variável sobre outra haverá correlação, porém nem sempre a existência de correlação implica em relação causal. Volpato (2007) apresenta o seguinte exemplo: o aumento de bebidas alcoólicas é correlacionado positivamente com o número de igrejas de uma cidade. No entanto, esses eventos não têm relação de causa e efeito, pois a causa desses aumentos é um terceiro fator, o crescimento populacional. Assim, devemos tomar certo cuidado ao interpretarmos e concluirmos sobre resultados provenientes de correlações. Apesar dessa possibilidade, os testes de correlação são excelentes ferramentas para

analisar o comportamento animal.

Um terceiro tipo de inferência estatística não está associado aos valores de tendência central (média, moda e mediana), mas à frequência com que cada variável (ou fenômeno) ocorre num total definido, comumente usado em variáveis qualitativas. Por exemplo, suponha que queremos saber se uma determinada espécie de gavião apresenta preferência pelo pé que usará para manipular a presa (preferência pedal). Haverá duas possibilidades para esse comportamento, pé direito e pé esquerdo. A frequência de animais que utilizaram um dos pés será indicada e comparada por análise de proporções. Isso significa que iremos comparar se a proporção de animais que utiliza preferencialmente pé esquerdo ou pé direito difere na população. Como outro exemplo, Gonçalves-de-Freitas e Ferreira (2004) estudaram se machos dominantes do peixe tilápia-do-Nilo acasalavam primeiro com fêmeas dominantes. As possíveis respostas foram “sim” e “não” e a proporção de machos que acasalaram com dominantes foi comparada com a proporção de machos que acasalaram com fêmeas não dominantes.

Os exemplos citados são relacionados às variáveis dicotômicas (com 2 categorias), mas testes de proporções também podem ser utilizados quando o número de categorias é maior que 2. Por exemplo, proporção de destros, canhotos e ambidestros numa população. Uma outra forma de analisar os dados é quando cada categoria pode estar associada a outra. Por exemplo, podemos querer saber se existe diferença na proporção de destros e canhotos entre machos e fêmeas. Assim, são duas categorias (macho e fêmea) que apresentam duas possibilidades (destro e canhoto). Esse caso é conhecido como tabela de contingência 2 x 2 (Zar 1999). Em resumo, os testes de proporções avaliam se a diferença encontrada nas proporções é casual ou não.

3. Defina o número de amostras (ou grupos experimentais) que serão comparados.

Podemos ter duas amostras, por exemplo, quando comparamos o tempo de auto-limpeza em machos e fêmeas de um determinado felino. Macho é um grupo, fêmea é outro. Mas se quisermos fazer comparações entre machos adultos, fêmeas adultas e filhotes, teremos três grupos de dados (ou três amostras). A nomenclatura estatística refere-se a esses grupos como 2 amostras ou K amostras (mais que 2). Essa informação é importante no momento da escolha do teste estatístico (veja adiante).

4. Verifique se as amostras são relacionadas ou não.

Alguns delineamentos não permitem que os mesmos animais sejam utilizados

em mais de um momento (como citado anteriormente). Porém, em alguns casos isso é possível e desejável. De acordo com Volpato (2007), se a variável em estudo apresentar grande variação entre os indivíduos numa mesma condição, isso poderá camuflar diferenças significativas quando comparamos os grupos. Nesse caso, devemos optar por amostras relacionadas, porque os testes estatísticos específicos consideram a variação dentro de cada par de dados, o que não ocorre com testes para amostras não relacionadas, os quais consideram cada grupo independentemente, não levando em conta a variação de forma pareada.

Além disso, em casos onde é possível optar, são preferíveis amostras relacionadas do que as não relacionadas porque o número de animais utilizados pode ser reduzido à metade. Por exemplo, é perfeitamente viável medir os níveis de cortisol plasmático em animais submetidos a um determinado estressor. Podemos utilizar dois grupos independentes (um “com” e outro “sem o estressor”) e compará-los ao final de um determinado período de tempo. Por outro lado, podemos comparar o cortisol nos mesmos animais “antes” e “após” a aplicação de um estressor. Nesse caso, serão aplicados testes para amostras relacionadas (dependentes). Esse procedimento permite que a resposta de cada animal seja ponderada pela sua condição anterior à imposição experimental (estressor). Com isso, reduz-se os efeitos da variabilidade individual no experimento. Outra consequência do delineamento com amostras dependentes é que permite usar menor número de animais. Dependendo da situação investigada, ou do animal estudado, o número de animais passa a ser uma restrição importante. O uso de amostras dependentes reduz pela metade o número de animais a serem usados. Assim, além de solucionar a variabilidade dos dados, as amostras dependentes também auxiliam na determinação do tamanho da amostra.

5. Verifique se existem dados discrepantes (*outliers*) no conjunto de dados. Dados discrepantes são valores que estão fora do intervalo “média \pm 2 x desvio padrão”, abaixo do intervalo “Quartil inferior - 1.5(Quartil superior – Quartil inferior)” ou acima do intervalo “Quartil superior - 1.5(Quartil superior – Quartil inferior)” (Hoaglin *et al.* 1986). Esses *outliers* podem representar indivíduos que se comportam diferentemente dos demais numa amostra por vários motivos, como decorrentes de alguma patologia ou de diferentes experiências prévias. Esses dados devem ser excluídos da amostra, pois a manutenção deles aumenta a variância, o que pode levar à falsa aceitação da hipótese de nulidade (H_0 = não há diferença entre as médias ou medianas). Como a

estatística procura padrões dentro das populações, retirá-los da amostra antes de aplicar os testes faz com que o conjunto de dados se torne mais homogêneo e melhor represente a população. Isso não significa que os *outliers* devam ser ignorados. Eles podem ser discutidos e *devem* ser apresentados nos resultados (vide exemplo em Giaquinto & Volpato 1997, Bayley *et al.* 2000). Assim, a média dos dados sem o *outlier* e a apresentação do(s) valor(es) *outlier* descrevem e representam da melhor forma a população em estudo (Volpato 2007).

6. Verifique se os dados apresentam distribuição normal e se as variâncias são homogêneas.

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e o teste W de Shapiro Wilk são alguns exemplos de testes utilizados para verificar a normalidade das amostras (Sokal & Rolph 1995, Zar 1999), sendo o segundo considerado por Zar (1999) como de maior força em relação ao primeiro. Já a homogeneidade das variâncias pode ser testada pelo teste de Bartlett (Zar 1999) ou pelo teste F_{MAX} (Lehner 1996, Ha & Ha 2007). O resultado desses testes irá definir se devemos usar testes paramétricos ou não paramétricos. Se os dados apresentarem distribuição não normal e heterocedasticidade, ainda é possível transformá-los (como citado anteriormente) para a utilização de testes paramétricos.

Diante dessas informações é possível escolher um teste estatístico adequado. Para isso, veja um resumo na tabela 3.

Tabela 3. Resumo de testes estatísticos que podem ser utilizados nas análises de dados em comportamento animal.

Análise de tendência central (média ou mediana)					
		Paramétrica ¹		Não Paramétrica ²	
		Amostras relacionadas	Amostras não relacionadas	Amostras relacionadas	Amostras não relacionadas
2 amostras	Teste t de Student pareado (ou para amostras relacionadas)	Teste t de Student não pareado (ou para amostras não relacionadas)	Teste de Wilcoxon (<i>Sign Test</i>)	Teste U de Mann-Whitney Teste de Kolmogorov-Smirnov para 2 amostras	
Mais de 2	Análise de variância	Análise de Variância	ANOVA de	Teste de Kruskal-	

amostras para medidas repetidas (ANOVA)	(ANOVA)	Friedmann	Wallis
Análise de Correlação			
	Paramétrica	Não Paramétrica	
Correlações Simples	Teste de Pearson	Teste de Spearman	
Testes de Proporções			
Comparação dentro de 1 amostra		Teste Binomial	
		Teste de Goodman	
		Qui-quadrado	
Comparando 2 variáveis (Tabelas 2 x 2)		Teste Exato de Fisher	
		Qui-quadrado	
		Teste Multinomial	
		Teste de Goodman	
Comparando mais que 2 variáveis		Qui-quadrado	
		Teste Multinomial	
		Teste de Goodman	

¹Análise paramétrica compara médias.

²Análise não paramétrica compara medianas.

Se a análise escolhida for a análise de variância (ANOVA), significa que serão comparadas ao menos três amostras independentes ou dependentes (ANOVA para medidas repetidas). Nesse caso, se aparecer significância estatística significa que há diferença entre ao menos duas amostras. Mas, para saber quais amostras diferem entre si, é necessário aplicar um teste para comparações múltiplas (*post hoc test*), que irá comparar os grupos e apontar onde estão as diferenças. O teste de Tukey, de Scheffé, de Newman-Keuls e o Teste de Mínima Diferença Significativa (*LSD test*) são exemplos de testes para comparações múltiplas. Todos podem ser utilizados e diferem quanto à sua robustez (Tukey é mais robusto do que LSD e por isso tem sido preferido), mas qualquer um pode ser utilizado (Zar 1999). Testes de comparações múltiplas também são utilizados nos testes não paramétricos. Se o teste utilizado for Kruskal-Wallis, as comparações podem ser feitas pelo teste de Dunn, que equivale ao Tukey, e para ANOVA de Friedman é utilizado o teste de Dunnett (Zar 1999, Callegari-Jaques

2004).

Os testes de proporções referidos na tabela podem ser utilizados em algumas condições. De acordo com Callegari-Jacques (2004), o teste mais utilizado é o do Qui-quadrado. Mas esse teste só pode ser utilizado com frequências absolutas e nenhuma frequência deve ser inferior a 5 (Zar 1999). Callegari-Jacques (2004) reporta ainda que o número de amostras não deve ser inferior a 25. Assim, no caso onde não seja possível utilizar o teste do Qui-quadrado, utiliza-se os outros testes citados.

Obviamente existem vários testes estatísticos além dos que estão expostos neste capítulo, como exemplo, os testes multivariados, que são aqueles que analisam a interação de vários fatores num mesmo fenômeno (Zar 1999, Volpato 2007). Porém, o resumo apresentado aqui pode resolver problemas básicos em muitos estudos de comportamento animal.

Interpretando os Dados

O resultado da análise estatística de nada vale se não houver um estudioso do comportamento para interpretar biologicamente os resultados. Para isso é necessário ter um bom conhecimento sobre a espécie que se está estudando, que órgãos sensoriais ela utiliza, como é o ambiente onde vive e como é sua história filogenética. Além disso, é muito importante um conhecimento atualizado e amplo sobre o assunto estudado, isto é, não basta conhecer o fenômeno apenas na espécie estudada, é necessário comparar com outras espécies. Às vezes basta um conhecimento sólido sobre o grupo estudado, por exemplo, teleósteos, ou ainda sobre uma família desse grupo. Porém, algumas revistas, como a *Animal Behaviour*, exigem que os artigos não sejam limitados a um único grupo animal. As conclusões devem estar associadas a teorias gerais e ser o mais abrangente possível. Assim, esse aspecto deve ser levado em conta, não só no momento da interpretação biológica dos dados, mas também no momento de definições dos objetivos. Essa postura reforça o que entendemos por ciência do comportamento (vide capítulo 2).

ÉTICA NO ESTUDO DO COMPORTAMENTO ANIMAL

Estudar o comportamento animal envolve manipulações que podem culminar em sofrimento, dor, estresse ou ao menos algum tipo de desconforto para o animal estudado, principalmente quando os procedimentos utilizam métodos invasivos. Assim,

realizar pesquisas pautadas em procedimentos éticos significa utilizar métodos que reduzam o estresse, evitem dor, desconforto e assegurem o bem-estar mínimo aos animais estudados (vide capítulo 13).

Várias sociedades e conselhos científicos têm formulado diretrizes para posturas eticamente corretas no estudo do comportamento animal. Por exemplo, o Conselho Canadense para o Cuidado dos Animais (*Canadian Council of Animal Care*), possui um tratado de recomendações para os estudos envolvendo pesquisas com animais (Olfert *et al.* 1993), bastante difundido na América do Norte. Além desse, também há um conjunto de recomendações nos estudos sobre a dor (Zimmerman 1983). A Associação para o Estudo do Comportamento Animal (*Association for the Study of Animal Behaviour*), na Europa, e a Sociedade de Comportamento Animal (*Animal Behavior Society*), na América do Norte, produziram em conjunto um guia para o ensino e pesquisa em comportamento animal (*Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching*), publicado na revista *Animal Behaviour* V71, fasc.1, 2006). Os editores dessa e de outras revistas de renome internacional têm recusado artigos cujos procedimentos não seguem essas diretrizes. No Brasil, há uma lei que regulamenta o uso científico de animais (lei no. 11.794, de 8 de outubro de 2008). Além disso, as pesquisas experimentais devem ser aprovadas pelas Comissões de Ética na Experimentação Animal das Instituições de Ensino e Pesquisa. Sugerimos, também, que sejam conhecidos os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (www.cobea.gov.br). A seguir, listamos algumas das medidas éticas que devem ser respeitadas pelos cientistas para redução de desconforto e valorização da vida animal.

- Utilizar anestésicos antes de vários tipos de manipulações (pesagem, medidas, cirurgias, marcação) e também no momento de eutanásia dos animais.
- Utilizar métodos adequados de manutenção: evitar superpopulação; manter corretos o ciclo de luz, temperatura, umidade, oferta de água, alimentação e outras variáveis próprias da espécie; oferecer refúgio sempre que possível; evitar manter presas e predadores em locais próximos.
- Treinar técnicas cirúrgicas para evitar mortes inúteis de animais.
- Habituar os animais ao tratador e ao observador, atenuando os efeitos do estresse.
- Se possível, utilizar alternativas como modelos e simulação em computadores.

- Utilizar, sempre que possível, as marcas naturais para identificar os indivíduos ao invés de métodos invasivos (inclusão de chips, corte nos lobos auriculares ou caudas de peixes).
- Evitar qualquer método que potencialmente possa provocar dor, mesmo que não seja ainda clara a comprovação científica de que o animal em estudo sente dor.
- Escolher um número mínimo de animais, suficiente para garantir a boa qualidade das conclusões do estudo. Isso pode ser obtido por meio de delineamentos bem elaborados, utilização de testes com amostras relacionadas e utilização de testes estatísticos adequados.

REFERÊNCIAS

- Alcock J. 2009 *Comportamento Animal. Uma abordagem evolutiva*. Porto Alegre. Artmed Editora S.A.
- Altmann J. 1974. *Behaviour* 49: 227-267.
- Bayley J, Alanärä A, Brännäs E. 2000. Methods for assessing social status in Arctic charr. *Journal of Fish Biology* 57: 258-61.
- Campbell DLM, Weiner SA, Starks PT, Hauber ME. 2009. Context and control: behavioural ecology experiments in the laboratory . *Annales Zoologici Fennici* 46: 112-123.
- Callegari-Jaques SM. 2004. *Bioestatística. Princípios e Aplicações*. Porto Alegre: Artmed Editora S/A.
- Centeno AJ. 1999. *Curso de Estatística Aplicada à Biologia*. Goiânia: Editora da Universidade Federal de Goiás.
- Giaquinto PC, Volpato GL. 1997. Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. *Physiology and Behavior* 62: 1333-8.
- Gonçalves-de-Freitas E. 1999. Investimento reprodutivo e crescimento em machos de tilápia-do-Nilo. *Tese de doutoramento*. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP.
- Gonçalves-de-Freitas E, Ferreira AC. 2004. Female social dominance does not establish mating priority in Nile tilapia. *Revista de Etologia* 6: 33-7.
- Griffin DR. 1992. *Animal Minds*. Chicago: The University of Chicago Press.

- Guedes NMR. 1993. Biologia reprodutiva da arara azul *Anodorhynchus hyacinthinus* no Pantanal – MS, Brasil. *Dissertação de Mestrado*. ESALQ, Piracicaba, SP.
- Ha RR, Ha JC. 2007. *Integrative statistics for behavioral sciences*. Boston: Pearson Custom Publishing.
- Hoaglin DC, Iglewicz B, Tukey JW. 1986. Source performance of some resistant rules for outlier labeling. *Journal of the American Statistical Association* 81: 991-999.
- Lehner PN. 1996. *Handbook of Ethological Methods*. London: Cambridge University Press.
- Martin P, Bateson P. 2007. *Measuring Behaviour*. London: Cambridge University Press.
- McDonnell SM, Haviland JCS. 1995. Agonistic ethogram of the equid bachelor band. *Applied Animal Behaviour Science* 43: 147-188.
- Mendes FDC, Ades C. 2004. Vocal sequential exchanges and intragroup spacing in the Northern Muriqui *Brachyteles arachnoides hypoxanthus*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 76: 399-404.
- Munro AD, Pitcher TJ. 1985. Steroid hormones and agonistic behaviour in a cichlid teleost, *Aequidens pulcher*. *Hormones and Behavior* 19:353-371.
- Noldus LPJJ, Trienes RJH, Hendriksen AHM, Jansen H, Jansen RG. 2000. The Observer video-Pro: new software for the collection, management, and presentation of time-structured data from videotapes and digital media files. *Behavior Research Methods, Instruments and Computers*, 32: 197-206.
- Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. 1993. *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*. Ottawa: Canadian Council on Animal Care.
- Oliveira RF. 2004. Social modulation of androgens in vertebrates: mechanisms and function. *Advances in the Study of Behavior* 34: 165-239.
- Otoni EB. 2000. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers* 32: 446-9.
- Quin GP, Keough MJ. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. London: Cambridge University Press.
- Ridley M. 1995. *Animal Behavior*. Boston: Blackwell Scientific Publications.
- Rossa-Feres DC, Romero GQ, Gonçalves-de-Freitas E, Feres RJF. 2000. Reproductive behavior and seasonal occurrence of *Psecas viridipurpureus* (Salticidae, Araneae). *Revista Brasileira de Biologia* 60: 221-8.

- Rose JD. 2002. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Fisheries Sciences* 10: 1-38.
- Schimidek WR, Negrão N, Nishida SM, Vieira R. 1983. An inexpensive event recorder for continuous behavioral recording. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 16: 161-4.
- Schimidek WR, Nishida SM, Pinto CMH, Schimidek M. 1991. Diferenças individuais no comportamento de roedores. *Biotemas* 4: 53-61.
- Schlinger BA, Palter B, Callard GV. 1987. A method to quantify aggressiveness in Japanese quail (*Coturnix c. japonica*). *Physiology and Behavior* 40: 343-8.
- Siegel S, Castellan Jr. N. 2006. *Estatística Não-Paramétrica para Ciências do Comportamento*: Porto Alegre, Artmed Editora S.A.
- Sneddon LU. 2003. The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. *Applied Animal Behaviour Science* 83: 153-62.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1995. *Biometry*. New York: WH Freeman and Company.
- Sousa MBC, Albuquerque ACSR, Araújo A, Albuquerque F, Yamamoto ME, Arruda MF. 2005. Behavioral strategies and hormonal profiles of dominant and subordinate common marmoset (*Callithrix jacchus*) females in wild monogamous groups. *American Journal of Primatology* 67: 37-50.
- Teresa FB, Gonçalves-de-Freitas E. 2003. Interação Agonística em *Geophagus surinamensis* (Teleostei, Cichlidae). *Revista de Etologia* 5: 121-6.
- Tinbergen N. 1963. On aims and methods of Ethology. *Zeitschrift fur Tierpsychologie*, 20: 410-43.
- Tinbergen N. 1951. *The Study of Instinct*. New York: Oxford University Press.
- Trewavas E. 1982. Generic groupings of Tilapiini used in aquaculture. *Aquaculture* 27: 79-81.
- Volpato GL. 2007. *Ciência: da Filosofia à Publicação*. São Paulo: Cultura Acadêmica Editora.
- Página: 85 Yamamoto ME, Box HO, Albuquerque FA, Miranda MFA. 1996. Carrying behaviour in captive and wild marmosets (*Callithrix jacchus*): a comparison between two colonies and a field site. *Primates* 37: 295-302.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. New York: Prentice Hall.
- Zimmerman M. 1983. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16: 109-10.