



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Nathália Cristinah Lima Evangelista

**Memória de reconhecimento em micos-estrela (*Callithrix penicillata*)
e macacos-prego (*Sapajus* spp.) no novo Teste de Reconhecimento Espontâneo
de Objetos com sessões contínuas.**

Brasília
2023



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Nathália Cristinah Lima Evangelista

**Memória de reconhecimento em micos-estrela (*Callithrix penicillata*)
e macacos-prego (*Sapajus* spp.) no novo Teste de Reconhecimento Espontâneo
de Objetos com sessões contínuas.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial obrigatório para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde na área de Neurociências Comportamental.

Orientadora: Profa. Dra. Marília Barros

Brasília
2023

Nathália Cristinah Lima Evangelista

**Memória de reconhecimento em micos-estrela (*Callithrix penicillata*)
e macacos-prego (*Sapajus* spp.) no novo Teste de Reconhecimento Espontâneo
de Objetos com sessões contínuas.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial obrigatório para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde na área de Neurociências Comportamental.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marília Barros (presidente)
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz
UNIEURO

Prof. Dr. Martín Pablo Cammarota
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Profa. Dra. Paula Maria Quaglio Bellozi (Suplente)
Universidade de Brasília

Brasília
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família que sempre me apoiou e incentivou a conquistar todos os meus sonhos. À professora Marília Barros, que confiou em mim para desenvolver um projeto novo e desafiador, e me orientou com toda paciência e atenção durante cada passo desse trabalho.

A todos que me ajudaram durante a coleta de dados: Luana, Matheus, Fernando, Ellen e Mayara. Sem vocês eu não teria executado metade desse trabalho, todos vocês foram essenciais em cada fase, em cada dia que precisamos acordar cedo e lidar com o temperamento dos animais, épocas de calor ou de frio extremo. Sinto muita gratidão e felicidade por passarmos por tudo isso com sucesso.

Aos meus amigos da graduação: Alessandro, Amanda, Andressa, Juan, Ruth e Thamires, que mesmo após formarmos, seguimos apoiando uns aos outros e estamos presentes nos bons e maus momentos. Agradeço por serem quem são, por compartilhar tantas lembranças incríveis. Às minhas amigas de Belo Horizonte: Bela, Letícia e Maia. Apesar de estarem geograficamente longe de mim, estão sempre presentes, vivendo juntas todos os altos e baixos da vida.

Um agradecimento especial aos pesquisadores do laboratório que vieram antes de mim: André, Clara, Fernando e Jéssica. Vocês trabalharam e criaram toda a base necessária para o desenvolvimento do meu projeto, sem os dados de vocês nada disso seria possível. Agradeço também aos amigos que conquistei durante as pesquisas ainda na graduação: Lorena, Luana, Mariana e Pedro. Passamos juntos os desafios do isolamento causado pela COVID-19 e os impactos que trouxe para os nossos projetos. Agradeço por permanecerem firmes comigo nessa situação.

À equipe de veterinários e tratadores do Centro de Primatologia: Antonizete, Juliana, Almir, Geinaldo e Lidionor. Aos macacos-pregos e micos que participaram dos testes e tornaram possível a realização deste trabalho.

RESUMO

A memória de reconhecimento é a capacidade de julgar se um estímulo é familiar ou novo. É fundamental para a aquisição de novas informações e o planejamento de comportamentos futuros. Compreender a base neural da memória de reconhecimento ainda depende muito da pesquisa em animais, sendo o teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO) o procedimento mais empregado atualmente. Esse teste é geralmente realizado uma única vez, podendo ser influenciado por vários fatores que geram variabilidade na resposta. Por isso, uma nova abordagem vem sendo desenvolvida em roedores, baseada em sessões contínuas que permite obter um efeito significativo usando menos animais. O objetivo do presente estudo foi adaptar o teste REO com sessões contínuas para primatas não-humanos (PNH), comparando o desempenho de macacos-prego (*Sapajus spp.*) e micos-estrela (*Callithrix penicillata*) adultos, os quais apresentam elevada habilidade cognitiva e grande potencial como modelo animal em estudos translacionais sobre memória. Cada sujeito foi submetido individualmente a uma sequência de oito testes de REO, realizados de forma consecutiva e em intervalos de 2 min. Cada teste individual consistiu em uma sessão treino de 5 min, com dois objetos idênticos, seguida de um intervalo de retenção de 2 min e depois uma sessão teste de 5 min. Na sessão teste, um dos itens foi substituído por um objeto novo. Durante as sessões teste, tanto os micos, quanto os macacos-prego passaram mais tempo explorando o objeto novo que o familiar, um indicativo de uma memória de reconhecimento nesse teste. Ao longo dos oito testes de REO também houve um aumento gradual e constante da exploração dos objetos. Assim, ao final do procedimento, o desempenho baseado em dados cumulativos de exploração diminuiu a variabilidade interindividual. Além disso, para ambas as espécies, os resultados não foram influenciados por alterações na locomoção ou motivação (exploração total), uma vez que esses parâmetros permaneceram constantes entre as sessões treino e teste, e ao longo dos

testes realizados. O desempenho também não estava relacionado ao nível de exploração no treino, tampouco a locomoção durante a sessão teste. Portanto, o uso de sessões contínuas no teste de REO demonstrou ser um procedimento eficaz para avaliar a memória de reconhecimento em PNH, gerando menos variabilidade na atividade exploratória espontânea.

Palavras-chave: memória de reconhecimento; sessões contínuas; macaco-prego; mico-estrela

SUMMARY

Recognition memory is the ability to judge whether a stimulus is familiar or novel. It is important for acquiring new information and planning future behaviors. Animal models are still required to help elucidate the neural basis of recognition memory, with the Spontaneous Object Recognition (SOR) test being currently the most widely used test. This test is usually performed only once and may be influenced by several factors that induce response variability. As such, a new continual trials approach is being developed in rodents. This allows for significant effects to be detected with the use of fewer animals. The aim of the present study was to adapt the continual trials SOR test for nonhuman primates (NHP), comparing the performance of adult capuchin (*Sapajus spp.*) and marmoset monkeys (*Callithrix penicillata*), which have high cognitive ability and great potential as an animal model in translational studies on memory. Each subject was individually submitted to a sequence of eight SOR tests conducted consecutively at 2 min intervals. Each SOR test consisted of a 5 min sample trial with two identical objects, followed by a 2 min retention interval and then a 5 min test trial. On the test trial, one of the items was replaced by a new unfamiliar object. Both the marmoset and capuchin monkeys spent more time exploring the new rather than the familiar object during the test trials, a behavioral indicator for recognition memory in this task. There was also a gradual and constant increase in exploration during the eight SOR tests. As such, at the end of the procedure, task performance based on cumulative data decreased interindividual variability of the exploratory behavior. Furthermore, for both species, the results were not influenced by changes in the animals' locomotor activity or motivation (total exploration) since these parameters remained constant between trials, as well as between the SOR tests. Task performance was also not related to exploratory behavior on the sample trial or to locomotor activity on the test trial. Thus, the continual trials SOR test seems to be an

effective approach to assess recognition memory in NHP, decreasing response variability in terms of spontaneous exploratory behavior.

Keywords: recognition memory; continual trials; capuchin monkey; marmoset monkey

LISTA DE ABREVIATURAS

CA	Campo Aberto
CEUA	Comissão de Ética no Uso Animal
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CPUnB	Centro de Primatologia da Universidade de Brasília
DMS	Delayed Matching to Sample
DNMS	Delayed Nonmatching to Sample
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ID	Índice de Discriminação
LTD	Depressão de Longa Duração (<i>Long Term Depression</i>)
LTP	Potenciação de Longa Duração (<i>Long Term Potentiation</i>)
PNH	Primata Não-Humano
REO	Reconhecimento Espontâneo de Objetos
SNC	Sistema Nervoso Central

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Fotografias de indivíduos adultos da espécie *Callithrix penicillata* (mico-estrela), mantidos em cativeiro no CPUUnB. (Foto: Fernando Magela).

Figura 3.2. Fotografias do Pavilhão de Calitriquídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUUnB), onde os micos-estrela foram alojados. (A) e (B) Vista externa dos viveiros; (C) Vista interna do corredor de segurança com uma fileira de 12 viveiros em cada lado; (D) Vista de um viveiro a partir do corredor central de segurança. (Fotos (A) e (B): Marília Barros. Fotos (C) e (D): Fernando Magela).

Figura 3.3. Fotografias de indivíduos adultos da espécie *Sapajus* spp., mantidos em cativeiros no CPUUnB. (Fotos: Maria Clotilde Henrique Tavares e Rafael Maior).

Figura 3.4. Fotografias do Pavilhão de Cebídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUUnB) onde os macacos-prego foram alojados. (A) Vista externa dos viveiros demonstrando o corredor de segurança e as portas de acesso e de alimentação de cada viveiro; (B) Vista de um viveiro a partir da tela metálica do fundo. (Fotos: Marília Barros).

Figura 3.5. Representação esquemática do teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO) com sessões contínuas empregado para avaliar a memória de reconhecimento dos micos-estrela e macacos-prego. Foram realizados oito testes individuais de REO, em intervalos de 2 min, em uma única manhã. Os testes de REO foram realizados nos respectivos aparatos experimentais de cada espécie, representado aqui como um quadrado. Cada teste de REO consistiu em uma sessão treino (5 min) e uma sessão teste (5 min), com um intervalo de retenção de 2 min entre as sessões. Para cada teste de REO foi utilizado um conjunto distinto de dois objetos,

indicados aqui pelas letras em maiúsculo dentro da representação do aparato experimental. Na sessão treino foram apresentados dois objetos idênticos (A, C, P). Na sessão teste, um dos objetos foi substituído por um item novo (B, D, Q). A letra sublinhada representa a localização do objeto novo em cada sessão teste, sendo que esse item foi posicionado aleatoriamente no lado direito ou esquerdo do aparato.

Figura 3.6. Fotografias do Campo Aberto (CA) na sala de experimento, localizado a 50 m dos viveiros de moradia dos micos-estrela. (1) Vista frontal do aparato mostrando a parede lateral de vidro; (2) Vista lateral do aparato, evidenciando a parede lateral de alumínio e a caixa-transporte acoplada à porta tipo-guilhotina.

Figura 3.7. Representação esquemática do procedimento experimental empregado com os micos-estrela, indicando as diferentes fases da habituação (fases 1-4 nos dias 1-8) e o teste de REO com sessões contínuas (dia 9). Todas as etapas foram realizadas no aparato do Campo Aberto. A caixa-transporte foi usada para levar os micos de seus viveiros moradia até a sala de experimento e depois de volta aos seus viveiros, além de atuar como local de espera dos micos entre as sessões treino e teste de cada teste de REO e entre os sucessivos testes de REO (dia 9). As linhas pontilhadas entre o Campo Aberto e a caixa-transporte representam as portas tipo-guilhotina de cada item; a letra X representa a localização do reforço alimentar; o quadrado e o círculo cinzas representam a localização dos objetos nas sessões teste de cada teste de REO.

Figura 3.8. Fotografias dos objetos utilizados como estímulo no teste de REO com sessões contínuas com os micos-estrela.

Figura 3.9. Representação esquemática do pavilhão de cebídeos do CPUnB onde os macacos-prego foram temporariamente alojados para a realização do teste de REO

com sessões contínuas. A letra X representa o local onde o reforço alimentar foi fornecido; a letra CD é o local onde a câmera digital foi posicionada; o quadrado e o círculo cinzas representam a localização dos objetos nas sessões teste; as linhas pontilhadas são as telas de metal do corredor de segurança e dos viveiros; a linha mais grossa indica uma parede de alvenaria; a linha mais fina é a chapa de metal das paredes divisórias deslizantes entre viveiros adjacentes.

Figura 3.10. Representação esquemática do procedimento experimental empregado com os macacos-prego, indicando as duas fases da habituação (dias 1-4) e o teste de REO com sessões contínuas (dia 5). A parede divisória deslizante semiaberta no meio do viveiro-moradia não está representada aqui. A letra X indica a localização do reforço alimentar; o quadrado e o círculo cinzas representam a localização dos objetos nas sessões teste de cada teste de REO.

Figura 3.11. Fotografias dos objetos utilizados no teste de REO com sessões contínuas com os macacos-prego.

Figura 4.1. Desempenho dos micos no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) individual, calculado separadamente para cada uma das oito sessões teste realizadas. Média \pm epm; n=6; *p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso).

Figura 4.2. (*Gráfico Superior*) Desempenho dos micos no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) cumulativo, calculado a partir do tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde o primeiro teste de REO até o respectivo teste; (*Gráfico Inferior*) Tempo de exploração total cumulativa (em segundos) dos objetos ao longo dos oitos teste de REO realizados. (média \pm epm; n=6). *p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso).

Figura 4.3. Relação entre o Índice de Discriminação e a exploração total na sessão treino ou a locomoção na sessão teste. Em cada gráfico está indicado o valor de p obtido no teste de correlação de Pearson. n=6

Figura 4.4. Desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) individual, calculado para cada uma das oito sessões teste realizadas (média \pm epm; n=10). *p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso).

Figura 4.5. (*Gráfico Superior*) Desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) cumulativo, calculado a partir do tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde o primeiro teste de REO até o respectivo teste; (*Gráfico Inferior*) Tempo de exploração total cumulativa (em segundos) dos objetos ao longo dos oitos teste de REO realizados. (média \pm epm; n=10). *p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso).

Figura 4.6. Relação entre o Índice de Discriminação e a exploração total na sessão treino ou a locomoção na sessão teste. Em cada gráfico está indicado o valor de p obtido no teste de correlação de Pearson. n=10

Figura 4.7. Desempenho dos micos (n=6) e dos macacos-prego (n=10) nos testes de REO 1 e 8, analisado via o Índice de Discriminação (ID) cumulativo, calculado a partir do tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde o primeiro teste de REO até o respectivo teste (média \pm epm).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comportamentos dos micos nas duas sessões de habituação individual ao aparato experimental do Campo Aberto, sem objetos, expressos como a média \pm erro padrão da média (em segundos).

Tabela 2. Tempo total despendido pelos micos explorando os objetos e em locomoção nas sessões treino e teste de cada teste de REO, expressos como a média \pm erro padrão da média (em segundos).

Tabela 3. Tempo total despendido pelos macacos-prego explorando os objetos e em locomoção nas sessões treino e teste de cada teste de REO, expressos como a média \pm erro padrão da média (em segundos).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Aspectos gerais da memória.....	1
1.2. Reconhecimento de objetos.....	4
1.3. Modelos animais para estudo da memória de reconhecimento.....	7
1.3.1. Micos.....	8
1.3.2. Macacos-prego.....	10
2. OBJETIVO.....	14
2.1. Objetivo geral.....	14
2.2. Objetivos específicos.....	14
3. METODOLOGIA.....	15
3.1. Aspectos éticos.....	15
3.2. Sujeitos e condições gerais de alojamento.....	15
3.2.1. Micos-estrela.....	15
3.2.2. Macacos-prego.....	17
3.3. Teste de REO com sessões contínuas.....	19
3.4. Teste de REO com sessões contínuas nos micos-estrela.....	20
3.4.1. Aparato e <i>set-up</i> experimental.....	20
3.4.2. Procedimento.....	22
3.4.3. Objetos usados no teste de REO.....	24
3.4.4. Registro e análise de dados.....	26
3.4.5. Análise estatística.....	28
3.5. Teste de REO com sessões contínuas nos macacos-prego.....	29
3.5.1. Aparato e <i>set-up</i> experimental.....	29
3.5.2. Procedimento.....	31
3.5.3. Objetos usados no teste de REO.....	34
3.5.4. Registro e análise de dados.....	35

3.5.5. Análise estatística.....	36
4. RESULTADOS.....	37
4.1. Teste de REO com sessões contínuas nos micos-estrela.....	37
4.2. Teste de REO com sessões contínuas nos macacos-prego.....	41
4.3. Comparação do desempenho de micos-estrela vs. macacos-prego.....	44
5. DISCUSSÃO.....	46
5.1. Desempenho dos micos-estrela no teste de REO com sessões contínuas	46
5.2. Desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas.....	51
5.3. Desempenho geral e influência de sessões contínuas no teste de REO.....	53
6. CONCLUSÃO.....	56
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXO 1.....	72

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais da memória

A memória confere a capacidade ao homem e aos animais de armazenar informações que possam ser recuperadas e utilizadas posteriormente (LENT, 2010). As etapas da memória podem ser divididas em aquisição, consolidação e evocação (ABEL e LATTAL, 2001; MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015). A aquisição acontece quando uma informação é captada pelo sistema nervoso por meio das estruturas sensoriais e são interpretadas no sistema nervoso central (SNC; MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015).

A consolidação, que pode durar de minutos a dias, diz respeito ao armazenamento da informação, por meio de processos eletrofisiológicos e/ou bioquímicos (ABEL e LATTAL, 2001; MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015). Nos processos eletrofisiológicos, ao tentarmos memorizar uma situação nova, determinados conjuntos de neurônios continuam disparando durante alguns segundos, retendo temporariamente a informação somente durante o tempo em que for necessária, extinguindo-a logo em seguida. Esse tipo de fenômeno tem duração extremamente efêmera e não forma traços bioquímicos (MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015). Os fenômenos bioquímicos podem ser funcionais, onde são formados novos canais iônicos ou novas proteínas sinalizadoras, que otimizam a transmissão sináptica (MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015). Podem também levar a alterações morfológicas, que compreendem a formação de novos espinhos dendríticos ou de novos prolongamentos axonais, podendo ocorrer ainda alterações morfológicas que criam circuitos que anteriormente não existiam (MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015; PURVES e cols., 2010). Esse fortalecimento da sinapse é denominado de potenciação de longo-prazo (LTP, do inglês *Long-Term Potentiation*). Contudo, a consolidação também pode ocorrer por meio da depressão de longa duração (LTD, *Long Term Depression*). Ambos são processos envolvidos na neuroplasticidade sináptica que pode ser definida

como a capacidade que o cérebro tem de se transformar diante de estímulos do ambiente (KANDEL e cols., 2014; MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015).

Por fim, a evocação diz respeito a recordação espontânea ou voluntária da informação armazenada, para utilizá-la na cognição e na emoção, ou para exteriorizá-la através do comportamento (LENT, 2010; MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015).

A memória pode ser classificada quanto ao tempo de armazenamento: como de curta duração, que pode perdurar por minutos ou horas, e de longa duração, sendo retida por dias, semanas e até mesmo anos (LENT, 2010). Quanto à sua natureza, a memória pode também ser não declarativa (implícita) e declarativa (explícita; LENT, 2010).

A memória não-declarativa refere-se a todas as formas de memória que não precisam ser descritas com palavras para serem evocadas, como hábitos, procedimentos e regras, sentimentos emocionais e sensações, aprendizagem associativa e não-associativa (AMADIO e cols., 2004; LENT, 2010). São memórias que operam em nível subconsciente, como memórias motoras, as quais procedimentos e habilidades são difíceis de serem aprendidas e necessitam de muita repetição para serem consolidadas (CLARK e SQUIRE, 2010; MOURÃO JÚNIOR e FARIA, 2015). Mas quando aprendidas, são mais resistentes ao esquecimento (i.e., andar de bicicleta).

A memória declarativa refere-se à capacidade de lembrar conscientemente fatos e eventos, subdividida em memória episódica (fatos que ocorrem ao longo do tempo) e memória semântica (conceitos atemporais; AMADIO e cols., 2004; LENT, 2010). É o tipo de memória prejudicado na amnésia quando estruturas do lobo temporal medial são danificadas (SQUIRE, 2004; CLARK e SQUIRE, 2010).

Os modelos uni-processuais definem a memória de reconhecimento como um processo único que é interligado a outros tipos de memória declarativa. Dessa forma,

ela dependeria dos mesmos sistemas neurais (COWELL e cols., 2010; DONALDSON, 1996; HIRSHMAN e MASTER, 1997). Ainda que exista conflitos sobre a proximidade da memória tipo episódica em animais com a memória episódica em humanos, há evidências empíricas de aspectos semelhantes na memória declarativa em primatas (GAFFAN, 1992; GRIFFITHS e cols., 1999).

A memória de reconhecimento pode ser definida como um processo único relacionado a outros tipos de memória declarativa, em que a recordação de eventos passados pode ser conscientemente evocada (AMEEN-ALI e cols., 2015; COWELL e cols., 2010; EACOTT e EASTON, 2010). É a habilidade de identificar que algo já foi visto antes no ambiente (p.ex., objeto ou pessoa; AMEEN-ALI e cols., 2015), havendo dois processos neurais fundamentais para a evocação da informação armazenada – a familiaridade ('saber') e a recordação ('lembrar') (TULVING, 1985; YONELINAS, 2001). A familiaridade envolve simplesmente saber que um item foi apresentado anteriormente sem ter disponível nenhuma informação adicional sobre o contexto do episódio de aprendizagem, sendo mais suscetível a erros por refletir uma memória mais fraca. Já a recordação, baseada em uma resposta do tipo tudo-ou-nada, envolve lembrar detalhes contextuais específicos sobre um episódio de aprendizagem anterior (AMEEN-ALI e cols., 2015; CLARK e SQUIRE, 2010; YONELINAS, 2001). De acordo com EICHENBAUM e cols. (1994), o hipocampo e o tálamo anterior formam um circuito neural que está criticamente envolvido no processo de recordação, enquanto na familiaridade, as estruturas como o córtex perirrinal seriam essenciais (AGGLETON e BROWN, 1999; AMEEN-ALI e cols., 2015).

Apesar dos seus mecanismos não estarem totalmente elucidados, sabe-se que o reconhecimento é um componente crítico da memória declarativa humana (WINTERS e cols., 2008), a qual é vulnerável aos efeitos da idade, a doenças e dano cerebral (EACOTT e EASTON, 2010). De fato, déficits na memória de reconhecimento são vistos em pacientes com doenças neurodegenerativas (Alzheimer, demência

parkinsoniana; DAS e cols., 2019; PURDY e cols., 2002), psicopatologias (esquizofrenia, autismo) e pacientes com amnésia após lesão do lobo temporal medial (REED e SQUIRE, 1997).

Estudos iniciais com animais no teste de memória de reconhecimento de objetos resultaram em um grave comprometimento da memória e supôs-se que era devido a danos combinados no hipocampo e/ou a amígdala (MISHKIN, 1978; MURRAY e MISHKIN, 1984; SAUNDERS e cols., 1984; ZOLA-MORGAN e SQUIRE, 1985; ZOLA-MORGAN e cols., 1982). No entanto, estudos subsequentes revelaram que o comprometimento não pode ser atribuído a danos na amígdala, mas sim a uma rede de regiões corticais temporais mediais (MAHUT e cols., 1982; MURRAY e MISHKIN, 1986; ZOLA-MORGAN e SQUIRE, 1986; ZOLA-MORGAN e cols., 1989a, b, 1993), incluindo os córtices perirrinal, parahipocampal, entorrinal e o hipocampo (BALDERAS e cols., 2008; CLARK e SQUIRE, 2010).

Considerando as limitações metodológicas e éticas para estudos clínicos, e que esse tipo de memória é ubíquo entre os vertebrados, estudos em animais podem ser vantajosos (KINNAVANE e cols., 2015).

1.2. Reconhecimento de objetos

GAFFAN (1974) desenvolveu a tarefa de "*Delayed Matching to Sample*" (DMS) para macacos, que contava com duas fases. Na primeira, de treino, o animal era treinado por meio de recompensa alimentar a mover um único objeto. Na segunda, de teste, esse mesmo objeto era colocado ao lado de um segundo, devendo o macaco escolher o objeto inicial (ou seja, de correspondência ao item visto na fase anterior de treino) para ser recompensado. A escolha acertada demonstraria a capacidade do animal de se lembrar do primeiro item apresentado (AMEEN-ALI e cols., 2015; WINTERS e cols., 2008).

A tarefa de DMS foi modificada por MISHKIN e DELACOUR (1975) para “*Delayed Non-Matching to Sample*” (DNMS) a fim de treinar os macacos para selecionar o objeto novo na fase de teste (ou seja, não correspondente ao item já visto), para obter a recompensa, facilitando assim o aprendizado dos animais uma vez que eles possuem uma preferência natural pela novidade (AMEEN-ALI e cols., 2015; WINTERS e cols., 2008). Assim, uma resposta correta de acordo com a regra específica da tarefa (de DMS ou DNMS) é considerada como indicação do reconhecimento do objeto do treino pelo animal (WINTERS e cols., 2008). No entanto, o uso de reforço alimentar para adquirir as respostas corretas em ambas as tarefas pode acabar confundindo a motivação e o desempenho dos animais por adquirirem estratégias para obter a recompensa alimentar, interferindo no processo de aprendizado (AMEEN-ALI e cols., 2015; WINTERS e cols., 2008).

ENNACEUR e DELACOUR (1988) desenvolveram um teste alternativo, sem a necessidade de treinamento prévio, nem reforço alimentar, usando a atividade exploratória espontânea do sujeito como uma medida válida da função da memória de reconhecimento (AMEEN-ALI e cols., 2015). Apesar de também estar baseado na preferência inata por novidade, como medida de reconhecimento, o teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO) avalia a exploração espontânea do indivíduo, minimizado assim vieses do DNMS (AMEEN-ALI e cols., 2015; ENNACEUR e DELACOUR, 1988). Os animais podem explorar os objetos físicos, o que significa que o comportamento pode ser impulsionado não apenas por informações visuais, mas também por informações olfativas e táteis (AMEEN-ALI e cols., 2012).

No teste de REO, os animais são colocados individualmente em um campo aberto com duas cópias de um objeto que podem explorar livremente por um tempo determinado pelo experimentador e, após um intervalo de retenção (de minutos, horas ou dias), o animal volta para o aparato. Nesse momento, o sujeito é apresentado a cópia do objeto visto anteriormente e um novo objeto, e espera-se que o animal

explore por mais tempo o item até então desconhecido (ENNACEUR e DELACOUR, 1988; WINTERS e cols., 2008).

O teste de REO é amplamente utilizado como uma medida de memória em roedores, mas já foi transposto para vários animais, incluindo mais recentemente primatas não-humanos (BLASER e HEYSER, 2015; COSTA e cols., 2022; KALINICHENKO e cols., 2021a,b; MELAMED, 2017a,b; OLIVEIRA e cols., 2021; VANNUCHI e cols., 2020). Além de ser simples de ser aplicado, o teste não requer privação de comida ou água, não é aversivamente motivado e a memória é demonstrada após uma única sessão (BLASER e HEYSER, 2015). Compreender a base neural da memória de reconhecimento, ou seja, a capacidade de discriminar se um estímulo é novo ou familiar, depende muito da pesquisa com animais, e quase todos os estudos de memória de reconhecimento atualmente empregam o teste de REO e suas variantes diretas (ALBASSER e cols., 2010a; BLASER e HEYSER, 2015).

Normalmente, os testes de memória de reconhecimento espontâneo são executados com apenas uma tentativa por dia, mas há várias limitações nessa abordagem (SEEL e cols., 2018). A quantidade de dados coletados a cada dia é muito baixa (uma tentativa por animal), o que significa muitos dias de coleta de dados para se obter resultados melhores, devido a variabilidade intraindividual (AMEEN-ALI e cols., 2012; SEEL e cols., 2018). Isso se deve, por exemplo, por uma influência de uma preferência inata por um determinado objeto, pela co-ocorrência de outros estímulos ou por estresse devido a captura e manuseio do animal (AMEEN-ALI e cols., 2012; SMITH e FRENCH, 1997). Embora a memória seja esperada por meio da exploração de novidades, há evidências de que o estresse produz uma preferência por objetos familiares (neofobia) em animais (SEEL e cols., 2018). A variabilidade intraindividual reflete altos níveis de ruído comportamental que resultam no uso de muitos animais para produzir poder estatístico suficiente ou resultados ambíguos que podem ser mal interpretados (CHAN e cols., 2018).

Nos últimos anos, uma nova abordagem para execução de testes de REO foi desenvolvida a fim de superar algumas dessas limitações práticas (SEEL e cols., 2018). Nessa nova metodologia, o teste de REO ocorre dentro de um campo aberto que permite a passagem do animal de um lado para o outro no aparato entre as sessões, sem a necessidade de manuseio do sujeito durante o teste (AMEEN-ALI e cols., 2012). Como os animais estão indo e voltando, é possível realizar vários testes, um após o outro. O uso dessa abordagem de sessões contínuas permite a coleta de muito mais ensaios por animal, em uma única sessão de teste (AMEEN-ALI e cols., 2012; SEEL e cols., 2018).

Em geral, um teste de REO com sessões contínuas permite reduzir significativamente o número necessário de animais a serem testados para se obter um efeito estatisticamente significativo (AMEEN-ALI e cols., 2012; CHAN e cols., 2018). Também reduz a quantidade geral de estudos necessários para aprimorar a sensibilidade e confiabilidade nos testes de reconhecimento espontâneo (AMEEN-ALI e cols., 2012; CHAN e cols., 2018).

1.3. Modelos animais para estudo da memória de reconhecimento

Quando comparados a outros mamíferos, primatas não-humanos (PNHs) demonstram uma maior similaridade com o homem em termos de fisiologia, neuroanatomia, reprodução, desenvolvimento, cognição e comportamento social complexo (PHILLIPS e cols., 2014; PHILLIPS e SHERWOOD, 2008). O desenvolvimento cerebral de PNHs e sua organização morfofuncional e neuroquímica são muito semelhantes ao do homem, especialmente na região cortical (PETRIDES e cols., 2012). Investigações sobre a estrutura e função cerebral revelaram a semelhança do córtex pré-frontal entre PNHs e humanos (JUDGE e ESSLER, 2013).

Apesar de roedores serem os modelos animais mais utilizados, nem sempre moldam com precisão a resposta comportamental e biológica humana (PHILLIPS e

cols., 2014; WARD e VALLENDER, 2012). No cérebro humano, o neocórtex compreende 80% de sua área e 72% no macaco, mas apenas 20% do cérebro do rato; além de que existem algumas áreas funcionais do cérebro dos primatas que não estão presentes em roedores, como divisões funcionais corticais visuais e subdivisões do córtex pré-frontal (PHILLIPS e cols., 2014). Outras semelhanças encontradas no cérebro dos PNHs são a encefalização (razão entre o tamanho do cérebro e o padrão taxonômico), o número e a densidade de neurônios corticais, um grande córtex pré-frontal e maior mielinização (PHILLIPS e cols., 2014).

O uso de macacos em estudos comportamentais e neuropsicológicos vêm contribuindo de maneira significativa para a compreensão de processos de memória humana e as estruturas neurais associadas, dos processos de envelhecimento e do tratamento de doenças como Alzheimer e Parkinson (NAKAMURA e cols., 2018; PHILLIPS e cols., 2014).

Pesquisas com PNHs devem levar em consideração as características comportamentais e biológicas dos animais, e principalmente o seu bem-estar (PHILLIPS e cols., 2014). Espécies de macacos do Novo Mundo (i.e., micos, macacos-de-cheiro; macacos-prego) são usados com frequência devido a ausência de patógenos nocivos a humanos (como o vírus do herpes B; *Herpesvirus simiae*), presentes em macacos do Velho Mundo (macacos rhesus, babuínos, macacos-vervet), além do tamanho de massa corporal reduzido, que diminui os custos de manutenção desses animais (PHILLIPS e cols., 2014; WARD e VALLENDER, 2012).

1.3.1. Micos

Os micos (*Callithrix* spp.) pertencem à família *Callitrichidae* de pequenos primatas do Novo Mundo (TARDIF e cols., 2011). São nativos das florestas costeiras atlânticas, do nordeste e do centro do Brasil (t HART e cols., 2012; HARRISON, 1988; KISHI e OKANO, 2017) e conseguem se habituar a um meio mais árido e mutável

(ABBOTT e cols., 2003). Os calitriquídeos frequentemente exibem comportamento social específico da espécie, como manutenção de colônias, cuidado parental cooperativo, compartilhamento de alimentos e complexa comunicação social (KISHI e OKANO, 2017; NAKAMURA e cols., 2018).

Membros do gênero *Callithrix*, quando adultos, pesam de 250-400 g (TARDIF e cols., 2011), medem de 20-30 cm, têm tufo nas orelhas, pelagem com listras e caudas relativamente longas (HARRISON, 1988; KISHI e OKANO, 2017). Possuem também uma expectativa de vida mais longa (comparado a roedores), podendo viver de 5 a 7 anos em cativeiro, com um máximo de 15 anos (TARDIF e cols., 2011; WARD e VALLENDER, 2012). São considerados adultos com 2-8 anos de idade e animais idosos quando possuem de 8-16 anos de idade (ABBOTT e cols., 2003). Atingem a maturidade sexual aos 12-18 meses, têm partos gemelares após uma gestação de aproximadamente 145-148 dias, e são os únicos PNHs que não tem um período de anestro lactacional (KISHI e OKANO, 2017; SASAKI e cols., 2009; TARDIF e cols., 2011).

Os calitriquídeos de vida livre geralmente formam grupos territoriais de 5 a 15 indivíduos, onde apenas um macho e uma fêmea se reproduzem, e o cuidado parental é dividido por todos os membros do grupo (ABBOTT e cols., 2003). São diurnos, arborícolas e se alimentam de exsudados de plantas, frutas, insetos, pequenos animais e ovos de pássaros (ABBOTT e cols., 2003; HARRISON, 1988; KISHI e OKANO, 2017).

Uma das maiores vantagens em relação aos micos é seu pequeno porte, pois facilita o manuseio, reduz os custos de alimentação e permite facilmente o alojamento de grupos sociais (TARDIF e cols., 2011; WARD e VALLENDER, 2012). Além disso, micos criados em laboratório não transmitem doenças aos humanos - como o Herpes B, encontrado endemicamente em muitas populações laboratoriais de macacos

asiáticos comumente usados em pesquisas biomédicas (ABBOTT e cols., 2003; TARDIF e cols., 2011).

Apesar de possuírem o cérebro pequeno, representando aproximadamente 2,7% do seu peso corporal, os calitriquídeos tem um cérebro aproximadamente cinco vezes maior que o de um rato de tamanho semelhante (~0,5% do peso corporal) e é equivalente ao tamanho relativo do cérebro encontrado em humanos (~2% do peso corporal; ABBOTT e cols., 2003). A anatomia neural de micos é análoga à de outros primatas comumente estudados, como o macaco rhesus, que, além de possuírem o córtex cerebral e cerebelo bem desenvolvidos (ABBOTT e cols., 2003), apresentam proximidade evolutiva com os humanos. Essa proximidade é evidenciada por sua morfologia cerebral comparável e mecanismos neurais semelhantes, tornando o mico um modelo potencialmente útil para pesquisas em neurociência e neuropatologia (t HART e cols., 2012; YUN e cols., 2015).

Os micos já participaram de diversas pesquisas envolvendo memória, cognição e aprendizado, incluindo estudos sobre memória espacial (MACDONALD e cols., 1994; PLATT e cols., 1996), operacional (BAKER, 2004; NAKAMURA e cols., 2018; SPINELLI e cols., 2004) e associativa (PRINS e cols., 2017), além de discriminação visual de objetos (MUNGER e cols., 2017).

1.3.2. Macacos-prego

Os macacos-prego (*Sapajus* spp.) são os animais mais robustos e inteligentes entre os macacos do Novo Mundo (DE LA SALLES e cols., 2018). São conhecidos por seu alto grau de habilidades motoras e extrativas de forrageamento, como o uso de ferramentas, comportamento social complexo caracterizado por cooperação frequente e agressão por coalizão, além de habilidades cognitivas (PERRY e cols., 2003; PHILLIPS e SHERWOOD, 2008).

A flexibilidade comportamental dos macacos-prego permite que eles se distribuam em uma variedade de habitats, podendo ocorrer nos biomas do Cerrado e da Caatinga, assim como no sul da Amazônia e na Mata Atlântica (AGUIAR e cols., 2014; DE LA SALLES e cols., 2018). São forrageadores onívoros e oportunistas, com uma dieta baseada em frutos e, em menor frequência, outras partes de plantas (sementes, castanhas, flores, néctar, seiva), raramente se alimentando de pequenos vertebrados (DE LA SALLES e cols., 2018; FALOTICO e OTTONI, 2014; FONSECA, 1981).

São primatas arborícolas de estatura média e corpulentos (pesam cerca de 1,4 a 4,8 kg; PHILLIPS e SHERWOOD, 2008; RESENDE e OTTONI, 2002). Possuem uma cauda semi-preênsil que lhes proporcionam enorme agilidade durante a locomoção entre as árvores e, ainda, utilizada durante o forrageio, tanto para a suspensão como para o apoio, sendo capaz de suportar o peso de um adulto apenas por curtos períodos (DE LA SALLES e cols., 2018; RESENDE e OTTONI, 2002; SERBENA e MONTEIRO-FILHO, 2002). São caracterizados por um topete na cabeça, dentes grandes e compactos, bem adaptados ao forrageio extrativo, além de mãos muito ágeis, que os tornam os únicos macacos do Novo Mundo capazes de utilizar ferramentas na natureza a fim de facilitar a exploração de recursos (DE LA SALLES e cols., 2018; PHILLIPS e SHERWOOD, 2008).

Os macacos-prego vivem, na natureza, em grupos de multi-machos e multi-fêmeas que podem variar de 3 a 50 indivíduos, mas, no geral, os grupos são compostos de 6 a 30 indivíduos (DE LA SALLES e cols., 2018; FALOTICO e OTTONI, 2014; FONSECA, 1981). Os grupos do gênero *Sapajus* possuem uma quantidade maior de fêmeas adultas em relação à quantidade de machos adultos (apenas um ou dois), o que os classificam como poligínicos – mas em cativeiro acabam se tornando poligâmicos (BICCA-MARQUES e cols., 2006; FONSECA, 1981). Em ambiente natural, os machos migram para outros grupos ao atingirem a maturidade sexual,

enquanto as fêmeas são filopátricas, ou seja, se mantêm no grupo de origem (BICCA-MARQUES e cols., 2006; RESENDE e OTTONI, 2002).

São animais de vida longa que podem viver até 55 anos em cativeiro e possuem um período juvenil prolongado, atingindo a maturidade aos 5,5 a 8 anos nas fêmeas, e 6 a 10 anos nos machos (PERRY e cols., 2003; PERRY, 2011). Em cativeiro, a maturidade pode ocorrer de forma mais precoce, e animais desse gênero podem reproduzir até aproximadamente os 25 anos nesse ambiente (DE LA SALLES e cols., 2018). As fêmeas atingem a maturidade sexual entre 3 e 4 anos de idade, possuem um ciclo menstrual de 15 a 21 dias, e dificilmente reproduzem antes de atingir inteiramente o seu peso adulto, aos 5 anos de idade (FRAGASZY e BARD, 1997). A gestação dura em média 5 a 6 meses, e cada parto dá origem a apenas um filhote, que é carregado pelos pais e outros indivíduos do grupo até o desmame que ocorre aos 8 meses, aproximadamente (DE LA SALLES e cols., 2018). Esse comportamento de cuidado com a prole surgiu devido ao fato de os animais viverem em grupos, sem construção de ninhos, resultando na responsabilidade de carregarem suas crias, aproximando mais os pais de seus filhotes (DE LA SALLES e cols., 2018). A mãe serve como um recurso inicial de segurança para o filhote em termos de comida, transporte, proteção e cuidado por até seis semanas de idade (FONSECA, 1981).

Devido a sua grande distribuição geográfica, fácil manuseio e facilidade de reprodução em cativeiro, os macacos-prego vêm sendo utilizados como modelo biológico em diversas pesquisas biomédicas e comportamentais (DE LA SALLES e cols., 2018). São primatas que possuem um elevado quociente de encefalização e seu cérebro atinge um tamanho relativamente grande quando adultos (PHILLIPS e cols., 2014; PHILLIPS e SHERWOOD, 2008). Exibem um dos maiores tamanhos de cérebro em relação ao tamanho do corpo de qualquer macaco do Novo Mundo e o segundo maior índice de capacidade craniana dentre os primatas, apresentando ainda

comportamento cultural complexo e uma memória bem desenvolvida (ALFARO e cols., 2012; DE LA SALLES e cols., 2018; PERRY, 2011; PHILLIPS e cols., 2014).

Alguns estudos sobre memória e aprendizado foram conduzidos utilizando macacos-prego, como testes de memória de curto-prazo (COLARES LEAL e cols., 2020; TRUPPA e cols., 2016), operacional (TAVARES e TOMAZ, 2002) e de reconhecimento (CARDUCCI e cols., 2020; RESENDE e cols., 2003).

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o desempenho de indivíduos adultos, de duas espécies diferentes de primatas neotropicais (micos-estrela e macacos-prego), em um novo procedimento experimental para investigação da memória de reconhecimento - o teste de Reconhecimento Espontâneo de Objeto (REO) com sessões contínuas.

2.2. Objetivos específicos

O presente estudo visou, especificamente:

- a) analisar a capacidade de micos-estrela (*Callithrix penicillata*) e macacos-prego (*Sapajus* spp.) adultos reconhecerem objetos neutros, vistos anteriormente no ambiente, usando o teste de REO;
- b) determinar se indivíduos dessas duas espécies conseguem realizar oito testes de REO de forma sequencial, caracterizando assim o teste de REO com sessões contínuas;
- c) avaliar o desempenho dos animais usando dois diferentes Índices de Discriminação (ID) – individual e cumulativo; e
- d) comparar o desempenho dos micos-estrela com o dos macacos-prego nesse novo teste.

3. METODOLOGIA

3.1. Aspectos éticos

Todos os procedimentos aqui descritos foram executados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e a Lei Arouca (Lei 11.794/2008), e foram realizados após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília (CEUA-UnB) (SEI n.º 23106.051653/2020-26, Anexo 1). Além disso, os animais desse estudo foram mantidos no Centro de Primatologia da UnB (CPUnB), credenciado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) como um criadouro de primatas para fins científicos (registro no. 1/53/1999/000006-2).

3.2. Sujeitos e condições gerais de alojamento

3.2.1. Micos-estrela

Foram utilizados seis indivíduos adultos (>18 meses) da espécie *Callithrix penicillata* (mico-estrela; Figura 3.1), sendo quatro machos e duas fêmeas, pesando em média 350 ± 18 g (280 - 415 g) no início do estudo. Esses animais foram mantidos no CPUnB, localizado na Fazenda Água Limpa da UnB, fazendo parte do seu plantel permanente. Os micos usados nasceram no próprio CPUnB ou foram repassados pelo IBAMA há mais de dois anos.



Figura 3.1. Fotografias de indivíduos adultos da espécie *Callithrix penicillata* (mico-estrela), mantidos em cativeiro no CPUUnB. (Foto: Fernando Magela).

Durante todo o período do estudo, os micos foram alojados aos pares em viveiros padrão do Pavilhão de Calitriquídeos do CPUUnB, sob condições naturais de temperatura, luminosidade e umidade (Figura 3.2). Cada viveiro tinha duas paredes (laterais) de alvenaria e duas de tela metálica (frente e fundo), medindo no total 2 x 1 x 2 m (largura x profundidade x altura). A tela frontal do viveiro continha uma porta de acesso para um corredor central de segurança, enquanto a tela metálica ao fundo permitia que os animais tivessem contato com o exterior do pavilhão. O teto do viveiro também era de tela metálica e o chão de cimento queimado. Cada viveiro continha uma caixa-ninho de bambu suspensa do teto, poleiros de madeira fixados em diferentes alturas, um recipiente fixado na tela frontal para recebimento de alimentos frescos e um tubo de PVC pendurado do teto para ração seca. Um sistema de fornecimento de água estava presente em cada viveiro, o qual podia ser acionado manualmente pelos próprios animais. Os micos receberam alimentação fresca diariamente (frutas, verduras, legumes, peito de frango, ovo cozido e/ou larva de tenébrio), com água e ração para calitriquídeos disponíveis *ad libitum*. As condições de alojamento e manutenção dos micos estavam em conformidade com as normas do IBAMA.

Todos os micos do CPUUnB possuem um microchip de radiofrequência (134 kHz) implantado subcutaneamente, contendo um código de identificação de 15 dígitos (BioThermo 985 LifeChip, Destron Fearing, South St. Paul, EUA). Esse microchip permite que os animais sejam identificados via um leitor universal portátil (HS9002B Pocket Reader, Destron Fearing, São Caetano do Sul, Brasil). Ademais, as fêmeas utilizadas no estudo não tiveram seu ciclo estral monitorado ou controlado, mas nenhuma esteve prenha antes, durante ou logo após a realização do estudo.



Figura 3.2. Fotografias do Pavilhão de Calitriquídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CUnB), onde os micos-estrela foram alojados. (A) e (B) Vista externa dos viveiros; (C) Vista interna do corredor de segurança com uma fileira de 12 viveiros em cada lado; (D) Vista de um viveiro a partir do corredor central de segurança. (Fotos (A) e (B): Marília Barros. Fotos (C) e (D): Fernando Magela).

3.2.2. Macacos-prego

Foram utilizados 10 indivíduos adultos (>6 anos) da espécie *Sapajus* spp. (macaco-prego; Figura 3.3), sendo cinco machos e cinco fêmeas, pesando em média $3,0 \pm 0,3$ kg (2,1 - 4,8 kg) no início do estudo. Esses animais também foram mantidos no CUnB e faziam parte do seu plantel permanente. Os macacos-prego empregados no estudo nasceram no próprio CUnB ou foram repassados pelo IBAMA há mais de

quatro anos. Não houve monitoramento do ciclo estral das fêmeas, porém nenhuma tinha tido filhote recentemente ou esteve prenha antes, durante ou logo após os experimentos.



Figura 3.3. Fotografias de indivíduos adultos da espécie *Sapajus* spp., mantidos em cativeiros no CPUUnB. (Fotos: Maria Clotilde Henrique Tavares e Rafael Maior).

Os macacos-prego foram alojados em pares heterossexuais, sob condições naturais de temperatura, luminosidade e umidade, em viveiros padrão de um dos Pavilhões de Cebídeos do CPUUnB (Figura 3.4). Cada viveiro tinha três paredes de alvenaria e uma de tela metálica (ao fundo), medindo no total 4 x 2 x 2 m (largura x profundidade x altura). O chão era de terra batida recoberta por serrapilheira. A parede da frente tinha uma porta (maior) de acesso ao viveiro e uma (menor) para disponibilização de alimento fresco, ambas em tela metálica. Essas portas podiam ser acessadas a partir de um corredor de segurança telado. Cada viveiro continha uma caixa-ninho em madeira MDF suspensa do teto, balanços feitos de corda fixados em diferentes alturas, um recipiente fixado na parede frontal para recebimento de alimentos frescos e um tubo de PVC pendurado do teto para ração seca. Cada viveiro também tinha um sistema de fornecimento de água acionado manualmente pelo próprio animal. Os macacos-prego receberam alimentação fresca diariamente (frutas, verduras, legumes, peito de frango, ovo cozido e/ou larva de tenébrio), com água e

ração para cebídeos disponíveis *ad libitum*. As condições de alojamento e manutenção dos macacos-prego estavam em conformidade com as normas do IBAMA.



Figura 3.4. Fotografias do Pavilhão de Cebídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUUnB) onde os macacos-prego foram alojados. (A) Vista externa dos viveiros demonstrando o corredor de segurança e as portas de acesso e de alimentação de cada viveiro; (B) Vista de um viveiro a partir da tela metálica do fundo. (Fotos: Marília Barros).

3.3. Teste de REO com sessões contínuas

A memória de reconhecimento dos sujeitos, de ambas as espécies, foi avaliada usando o teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO) com sessões contínuas, originalmente desenvolvido para roedores (AMEEN-ALI e cols., 2012; CHAN e cols., 2018). O protocolo consistiu em realizar oito testes de REO, em intervalos de 2 min, em um único dia (Figura 3.5) recebendo, portanto, a denominação ‘com sessões contínuas’.

Para ambas as espécies, cada teste individual de REO consistiu em duas sessões experimentais (treino e teste), de 5 min cada, com um intervalo de 2 min entre elas (Figura 3.5). Na sessão treino, duas cópias idênticas de um mesmo objeto foram colocadas dentro do aparato experimental empregado para cada respectiva espécie (vide abaixo para mais detalhes). O sujeito pôde explorar esses objetos livremente

durante 5 min. Após um intervalo de retenção de 2 min, foi realizada a sessão teste. Nessa sessão também foram colocados dois objetos dentro do aparato, os quais ocuparam os mesmos locais dos objetos usando durante a sessão treino. Um objeto era uma cópia exata do objeto visto anteriormente na sessão treino (objeto familiar), enquanto o outro objeto foi um item desconhecido (objeto novo). Durante a sessão teste, o sujeito também pôde explorar esses objetos livremente durante 5 min.

Foi utilizado um conjunto distinto de objetos para cada um dos oito testes de REO realizados. Além disso, em cada teste de REO, o objeto novo foi aleatoriamente posicionado no lado esquerdo ou direito do aparato (Figura 3.5). Após cada sessão, o aparato e os objetos usados foram higienizados com uma solução de álcool 70%. Os testes de REO foram realizados das 08:00 às 12:00 h.

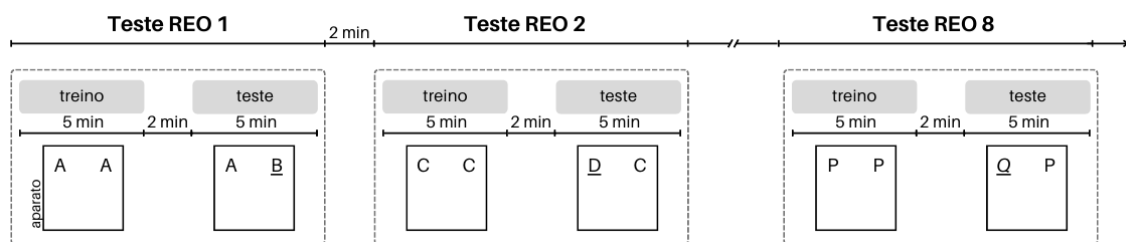


Figura 3.5. Representação esquemática do teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO) com sessões contínuas empregado para avaliar a memória de reconhecimento dos micos-estrela e macacos-prego. Foram realizados oito testes individuais de REO, em intervalos de 2 min, em uma única manhã. Os testes de REO foram realizados nos respectivos aparatos experimentais de cada espécie, representado aqui como um quadrado. Cada teste de REO consistiu em uma sessão treino (5 min) e uma sessão teste (5 min), com um intervalo de retenção de 2 min entre as sessões. Para cada teste de REO foi utilizado um conjunto distinto de dois objetos, indicados aqui pelas letras em maiúsculo dentro da representação do aparato experimental. Na sessão treino foram apresentados dois objetos idênticos (A, C, P). Na sessão teste, um dos objetos foi substituído por um item novo (B, D, Q). A letra sublinhada representa a localização do objeto novo em cada sessão teste, sendo que esse item foi posicionado aleatoriamente no lado direito ou esquerdo do aparato.

3.4. Teste de REO com sessões contínuas nos micos-estrela

3.4.1. Aparato e set-up experimental

Para os micos, o teste de REO com sessões contínuas foi realizado no aparato do Campo Aberto (CA). Esse consistiu em uma caixa quadrada (60 x 60 x 40 cm; largura x profundidade x altura) de livre circulação, suspensa a 1 m do chão (Figura

3.6). O chão e três paredes do CA foram feitos de chapa de alumínio pintado de branco, enquanto a quarta parede e o teto foram feitos de vidro transparente (4 mm de espessura) para facilitar a observação e o registro dos comportamentos dos micos. Uma porta tipo-guilhotina, localizada na parede oposta à de vidro, dava acesso ao aparato.



Figura 3.6. Fotografias do Campo Aberto (CA) na sala de experimento, localizado a 50 m dos viveiros de moradia dos micos-estrela. (1) Vista frontal do aparato mostrando a parede lateral de vidro; (2) Vista lateral do aparato, evidenciando a parede lateral de alumínio e a caixa-transporte acoplada à porta tipo-guilhotina.

O aparato do CA foi instalado em uma sala de experimento localizada a 50 m de distância do Pavilhão de Calitriquídeos. Assim, nos dias de experimento, cada sujeito foi capturado em seu viveiro de moradia e levado até essa sala dentro de uma caixa-transporte (35 x 20 x 23 cm; largura x profundidade x altura). Ao final do procedimento cada sujeito também foi devolvido ao seu respectivo viveiro na mesma caixa-transporte. Essa caixa, feita de alumínio que não permitia que o animal visualizasse o ambiente externo, acoplava diretamente à porta tipo-guilhotina do aparato do CA (Figura 3.6). Uma câmera digital (Logitech C920, Brasil), fixada em frente a parede de vidro do CA, estava conectada a um computador localizado em uma sala adjacente à sala de experimento.

3.4.2. Procedimento

Todos os animais foram inicialmente habituados ao aparato e ao procedimento experimental, ao longo de quatro fases consecutivas (Figura 3.7):

Fase 1: Consistiu em uma única sessão de 30 min de habituação 'conjunta' ao aparato vazio do CA (*dia 1*). Nessa sessão o casal de um mesmo viveiro foi capturado em seu viveiro e levado ao CA onde, juntos, puderam explorar livremente o aparato. Nas demais fases, cada sujeito foi submetido ao procedimento de forma individual.

Fase 2: Cada sujeito foi submetido a uma sessão diária de 15 min de habituação ao aparato vazio do CA, durante dois dias consecutivos (*dias 2 e 3*).

Fase 3: Cada sujeito foi habituado a transitar voluntariamente entre a caixa-transporte e o CA, durante quatro dias consecutivos. No primeiro dia dessa fase (*dia 4*) foram realizadas duas sessões de 5 min cada, com um intervalo de 2 min entre elas. Nos outros três dias dessa fase (*dias 5, 6 e 7*) foram realizadas quatro sessões por dia, cada uma de 5 min e em intervalos de 2 min. Em cada sessão o mico teve que passar da caixa-transporte para o CA e depois de 5 min voltar para a caixa-transporte. Para incentivar e reforçar o comportamento do mico de transitar voluntariamente entre os dois lados, um pedaço de uva-passa foi disponibilizado no CA e na caixa-transporte a cada passagem, conforme a localização indicada na Figura 3.7.

Fase 4: Cada sujeito foi familiarizado à presença de objetos dentro do CA e à realização de sessões contínuas (*dia 8*). Foram realizadas quatro sessões de 5 min cada, em intervalos de 2 min. Para tanto, dois objetos idênticos foram colocados próximos à parede de vidro do CA, um no lado direito e o outro no lado esquerdo (Figura 3.7). Depois de passar 5 min no CA com os objetos, o mico retornou à caixa-transporte para aguardar um intervalo de 2 min. Durante esse intervalo, os

objetos no CA foram substituídos por um novo par de objetos idênticos. Em seguida, o sujeito voltou ao CA para uma nova sessão. Esse procedimento foi repetido sucessivamente até o sujeito ter sido exposto a quatro pares de objetos distintos. Cada vez que o sujeito transitou entre a caixa-transporte e o CA, um novo pedaço de uva-passa foi colocado no mesmo local para manter o incentivo de transitar.

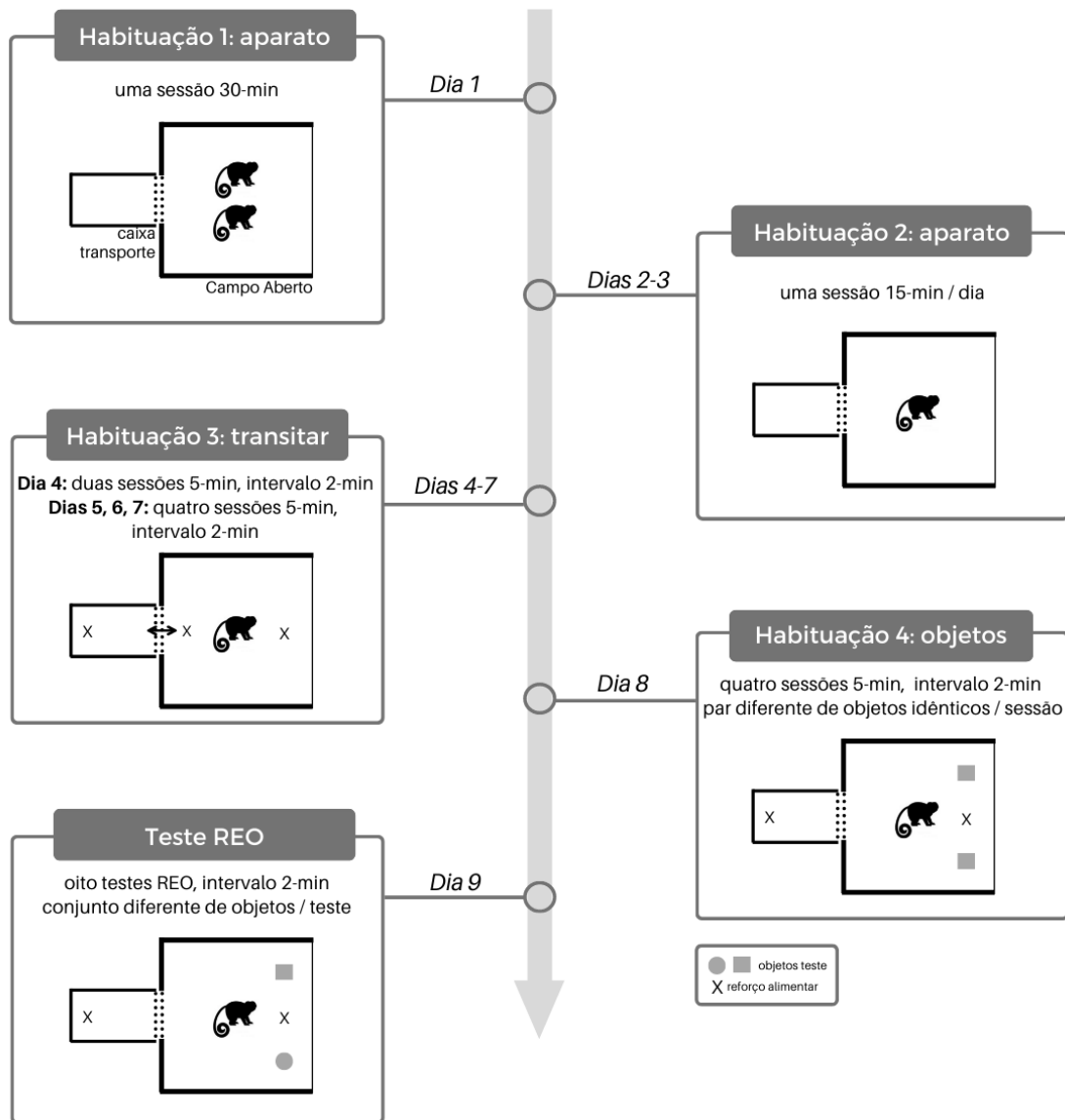


Figura 3.7. Representação esquemática do procedimento experimental empregado com os micos-estrela, indicando as diferentes fases da habituação (fases 1-4 nos dias 1-8) e o teste de REO com sessões contínuas (dia 9). Todas as etapas foram realizadas no aparato do Campo Aberto. A caixa-transporte foi usada para levar os micos de seus viveiros moradia até a sala de experimento e depois de volta aos seus viveiros, além de atuar como local de espera dos micos entre as sessões treino e teste de cada teste de REO e entre os sucessivos testes de REO (dia 9). As linhas pontilhadas entre o Campo Aberto e a caixa-transporte representam as portas tipo-guilhotina de cada item; a letra X representa a localização do reforço alimentar; o quadrado e o círculo cinzas representam a localização dos objetos nas sessões teste de cada teste de REO.

Cada sujeito foi então submetido ao teste de REO com sessões contínuas (Figura 3.7), conforme procedimento específico descrito acima na seção 3.3. Todas as fases do procedimento foram realizadas entre às 8:00 e 12:00 h.

3.4.3. Objetos usados no teste de REO

No teste de REO com sessões contínuas com os micos-estrela, um conjunto distinto de objetos foi usado para cada um dos oito testes, sendo esses distintos daqueles empregados na fase 4 da habituação. Cada conjunto de objetos usado nos testes de REO consistiu em duas cópias idênticas de dois objetos distintos em termos de sua forma, cor e/ou textura, os quais também eram aparentemente neutros em termos de sua relevância biológica para os micos. Todos foram enchidos com cascalho para que o seu peso não permitisse que os animais os deslocassem de lugar. Para metade dos sujeitos, um dos objetos de cada conjunto foi designado como sendo o objeto familiar, enquanto para a outra metade foi outro objeto do conjunto. Além disso, a localização (esquerda ou direita) dos objetos novo e familiar dentro do CA variou aleatoriamente a cada teste de REO e para cada sujeito. Após cada sessão, os objetos usados foram higienizados com uma solução de álcool 70%.

Os objetos usados nos testes de REO com os micos foram (Figura 3.8):

- a) pote de plástico cinza em formato de abacaxi (7 cm de diâmetro x 15 cm de altura);
- b) pote de plástico marrom em formato de brigadeiro (7,5 cm de diâmetro x 10 cm de altura);
- c) pote de acrílico com tampa marrom em formato de torta (10 cm de largura x 7 cm de espessura x 4,5cm de altura);
- d) pote de plástico branco em formato de cebola (11 cm de diâmetro x 8,2 cm de altura);
- e) pote de plástico vermelho e preto redondo (12 cm de diâmetro x 11 cm de altura);

- f) pote de plástico vermelho e branco em formato de cone (10 cm de diâmetro x 10 cm de altura);
- g) pote de plástico rosa em formato de coroa (7,5 cm de diâmetro x 10 cm de altura);
- h) bandeja de plástico para meia dúzia de ovos (15 cm de largura x 8 cm de altura);
- i) garrafa de plástico azul em formato de caveira (7,5 cm de diâmetro x 17 cm de altura);
- j) pote de plástico azul em formato de estrela (12 cm de largura x 7 cm de altura);
- k) pote de plástico branco e preto em formato de bola (12 cm de diâmetro x 15 cm de altura);
- l) pote de plástico cinza e preto em formato de pneu (10 cm de diâmetro x 6,5 cm de altura);
- m) pote de plástico vermelho em formato de coração (14 cm de largura x 7 cm de altura);
- n) pote de plástico vermelho em formato de maçã (14 cm de largura x 7 cm de altura);
- o) pote de plástico rosa em formato de bombom (16,5 cm de largura x 10 cm de diâmetro x 7 cm de altura); e
- p) garrafa de plástico rosa (8 cm de diâmetro x 15 cm de altura).



Figura 3.8. Fotografias dos objetos utilizados como estímulo no teste de REO com sessões contínuas com os micos-estrela.

3.4.4. Registro e análise de dados

Todas as sessões foram acompanhadas remotamente de uma sala adjacente à sala de experimento, via uma câmera digital fixada em frente ao aparato do CA. Essa câmera, conectada a um computador, permitiu o registro dos comportamentos no programa AnyMaze (Stoelting, EUA). Um observador previamente treinado registrou manualmente os seguintes comportamentos:

- a) *Exploração do objeto* – duração (em segundos) dos comportamentos de olhar direto (movimentar a cabeça para olhar diretamente ao objeto), *headcock* (movimentos repetidos da cabeça para um lado e outro enquanto o sujeito olha diretamente ao objeto) e/ou o ato de cheirar, lamber, encostar, morder ou tocar com as mãos ou os pés qualquer parte do objeto;
- b) *Locomoção* – tempo despendido (em segundos) pelo sujeito em movimento dentro do aparato do CA, considerando apenas episódios ≥ 2 s; e

- c) *Vigilância* – tempo despendido (em segundos) pelo sujeito fazendo movimentos contínuos de varredura com cabeça e com olhar voltado para o ambiente e enquanto permanecia parado (apenas na fase de habituação).

Segundo FOSTER (1995), micos cativos possuem uma orientação predominantemente visual em resposta a estímulos novos em seu ambiente. Além disso, conforme revisado por ENNACEUR (2010), a memória de reconhecimento é estabelecida no teste de REO quando o sujeito passa significativamente mais tempo explorando o objeto novo do que o familiar. A fim de minimizar a influência de variações interindividuais dos níveis basais de exploração, foi calculado o seguinte Índice de Discriminação (ID) para a sessão teste, de acordo com o seguinte método estabelecido por ENNACEUR e DELACOUR (1988):

$$ID = \frac{\text{tempo exploração objeto novo} - \text{tempo exploração objeto familiar}}{\text{tempo total exploração}}$$

Um ID igual zero indica que o sujeito explorou os dois objetos igualmente (nível do acaso), enquanto um índice acima de zero demonstra que o sujeito explorou mais o objeto novo do que o familiar (preferência pela novidade) e um índice abaixo de zero que o sujeito explorou mais o objeto familiar do que o novo (preferência pelo familiar).

Um ID foi calculado para cada um dos oito testes de REO realizados (ID individual). Além disso, também foi calculado um ID cumulativo para cada um dos testes, de acordo com um procedimento similar realizado em roedores (AMEEN-ALI e cols., 2012; CHAN e cols., 2018). Para o cálculo desse segundo ID, os valores da exploração registrados naquele determinado teste de REO foram somados à exploração registrada em todos os testes realizados até aquele momento, e assim por diante. Dessa forma, o ID cumulativo do teste de REO 1 correspondeu a exploração dos objetos novo e familiar observada apenas no primeiro teste, enquanto o ID cumulativo do teste de REO 8 correspondeu à soma da exploração de cada objeto registrada em todos os oito testes realizados. De acordo com CHAN e cols. (2018), um

ID baseado na exploração registrada ao longo de várias sessões (ID cumulativo), ao invés da média aritmética do ID calculado individualmente em cada teste (ID individual), garante que o resultado geral do desempenho dos animais no teste de REO não seja influenciado significativamente por uma possível baixa exploração em uma ou mais sessões específicas.

Os resultados foram expressos como a média dos valores e o erro padrão da média (\pm epm).

3.4.5. Análise estatística

Os dados foram analisados para identificar possíveis diferenças estatísticas entre:

- a) o tempo de exploração do objeto novo vs. o objeto familiar na sessão teste (via o ID individual e cumulativo);
- b) o tempo de exploração total dos objetos nas sessões treino vs. teste; e
- c) o tempo de locomoção na sessão treino vs. teste.

Para tanto, o Índice de Discriminação (ID), individual e cumulativo, foram analisados usando o teste t de amostra única (*one-sample t test*), comparando cada ID com o nível do acaso (valor de zero). Além disso, uma Análise de Variância (ANOVA) de uma via (*one-way ANOVA*) foi usada para comparar os valores de ID entre os oito testes realizados em sequência.

Uma ANOVA de duas vias para medidas repetidas (*two-way repeated measure ANOVA*) foi empregada para comparar os resultados da exploração total dos objetos e da locomoção nas sessões treino vs. teste dos oito testes de REO realizados (fator 'sessão' – treino x teste; fator 'teste de REO' 1 – 8). Quando indicado, foi empregado o teste *post hoc* de Tukey. Já para a fase de habituação individual ao aparato, os dados da locomoção, exploração do ambiente e vigilância nas sessões 1 e 2 foram comparados usando o teste t pareado. Por fim, o teste de correlação de Pearson foi

utilizado para avaliar se os valores de ID (individual e cumulativo) estavam relacionados à exploração total dos objetos na sessão treino, ou aos níveis de locomoção da sessão teste.

Todas as análises foram realizadas no programa *SPSS* (IBM, EUA; v. 25), e o nível de significância adotado em todos os testes estatísticos foi de $p < 0,05$.

3.5. Teste de REO com sessões contínuas nos macacos-prego

3.5.1. Aparato e *set-up* experimental

Para a realização do teste de REO com sessões contínuas nos macacos-prego, os sujeitos foram temporariamente alocados em outro pavilhão de cebídeos do CPUnB. Esse pavilhão continha duas fileiras justapostas de viveiros, separadas por uma parede de alvenaria e rodeadas por um corredor de segurança telado (Figura 3.9). Cada fileira era composta por quatro viveiros geminados, e cada viveiro tinha as seguintes medidas: 1,5 x 1,5 x 2,0 m (largura x profundidade x altura). Todos os viveiros foram feitos de tela metálica na parte da frente e de cima, de alvenaria ao fundo e com piso de terra batida. As paredes laterais, por sua vez, foram feitas de alvenaria, tela metálica ou chapa de metal deslizante, a depender da posição do viveiro dentro do pavilhão (Figura 3.9). As paredes de chapa de metal atuaram como uma divisória móvel que permitia a comunicação entre viveiros adjacentes.

Cada fileira de quatro viveiros atuou como um aparato experimental nesse estudo. Esse 'aparato' foi operacionalmente dividido em três partes: viveiro-moradia, viveiro-transição e viveiro-teste (Figura 3.9). O primeiro, formado por dois viveiros adjacentes de uma das extremidades, foi onde os sujeitos foram alojados durante o período do experimento. A parede divisória entre esses dois viveiros permaneceu sempre semiaberta para melhor circulação e bem-estar dos animais. Ademais, o viveiro-moradia continha os mesmos itens descritos acima na seção 3.2.2. (ex., caixa-ninho, prato para alimento fresco, tubo PVC para ração, etc.). O

viveiro-transição, localizado entre o viveiro-moradia e o viveiro-teste, estava sempre vazio e foi utilizado apenas durante o procedimento experimental para separar os dois animais e dar ao sujeito acesso ao viveiro-teste. Por fim, o viveiro-teste, localizado na outra extremidade da fileira de viveiros e contendo os objetos teste, foi onde foram realizados os testes de REO.

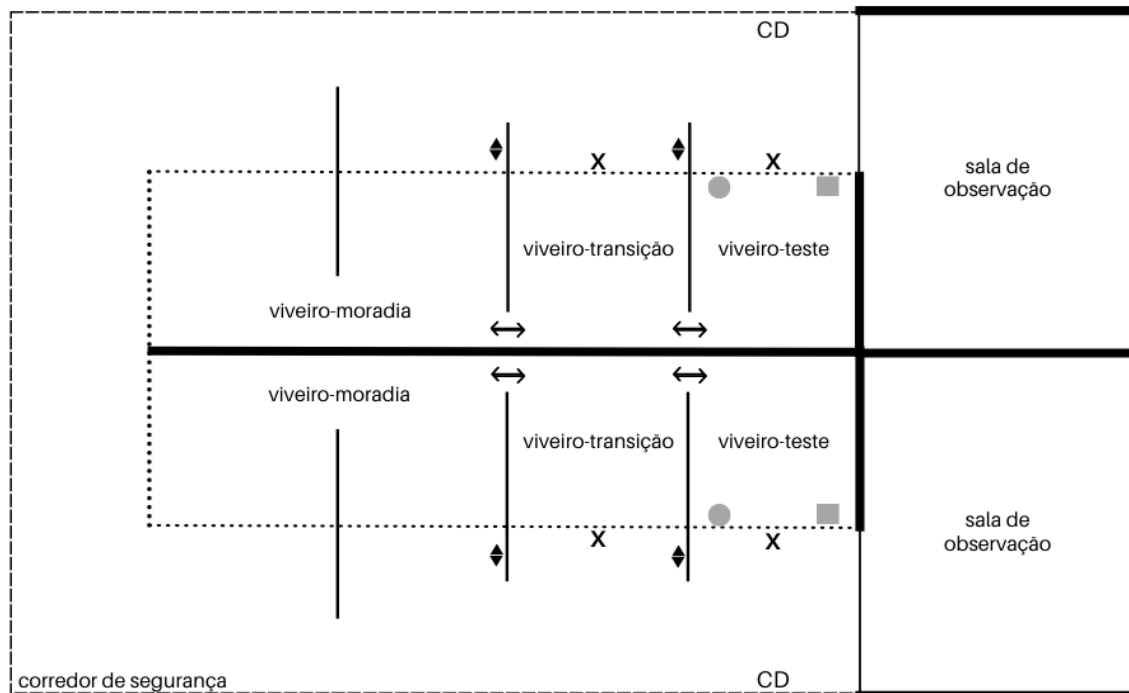


Figura 3.9. Representação esquemática do pavilhão de cebídeos do CPUb onde os macacos-prego foram temporariamente alojados para a realização do teste de REO com sessões contínuas. A letra X representa o local onde o reforço alimentar foi fornecido; a letra CD é o local onde a câmera digital foi posicionada; o quadrado e o círculo cinzas representam a localização dos objetos nas sessões teste; as linhas pontilhadas são as telas de metal do corredor de segurança e dos viveiros; a linha mais grossa indica uma parede de alvenaria; a linha mais fina é a chapa de metal das paredes divisórias deslizantes entre viveiros adjacentes.

Todas as paredes divisórias deslizantes podiam ser abertas manualmente pelo experimentador, pelo corredor de segurança do pavilhão, permitindo que o animal passasse de um viveiro para o outro (Figura 3.9). Uma câmera digital (Logitech C920, Brasil) foi posicionada em frente ao viveiro teste, a 1,5 m da tela frontal. Essa câmera estava conectada a um computador localizado em uma sala de observação (Figura 3.9).

3.5.2. Procedimento

Considerando a disponibilidade de dois 'aparatos' no pavilhão (um de cada lado), dois casais puderam ser testados por vez. Dessa forma, dois casais foram transferidos dos seus viveiros habituais para o viveiro-moradia do aparato, permanecendo nesse local durante todo o procedimento. Ao final dos testes, esses casais foram levados de volta aos seus viveiros, sendo substituídos por mais dois casais. Esse procedimento foi repetido até todos os sujeitos terem sido testados.

Após a transferência de cada casal, os animais puderam circular livremente pelo viveiro-moradia e se habituar a esse local durante sete dias consecutivos. Durante esse período não foi realizado nenhum procedimento e os animais tiveram acesso apenas ao viveiro-moradia. Em seguida, cada sujeito foi inicialmente habituado aos viveiros e ao procedimento experimental ao longo de duas fases consecutivas (Figura 3.10):

Fase 1: Cada sujeito foi habituado ao viveiro-transição e viveiro-teste, e a transitar voluntariamente entre os viveiros, durante três dias consecutivos (*dias 1-3*). Em cada dia foram realizadas duas sessões de 5 min cada, com um intervalo de 2 min entre elas. O sujeito foi primeiramente isolado no viveiro-transição. Em seguida, esse mesmo animal teve acesso ao viveiro-teste vazio, podendo explorar esse local livremente por 5 min. Após esse intervalo, o sujeito retornou ao viveiro-transição por um intervalo de 2 min antes de voltar novamente ao viveiro-teste para a segunda sessão de habituação do dia, a qual foi realizada de forma idêntica à primeira. Ao final das duas sessões de habituação, o sujeito permaneceu no viveiro-transição por 2 min e depois retornou ao viveiro-moradia. O acesso a cada viveiro foi controlado pelo experimentador, pelo lado de fora dos viveiros, ao manualmente deslizar a respectiva parede divisória entre os viveiros para dentro do corredor de segurança do pavilhão (Figura 3.9). Para incentivar e reforçar o comportamento do animal de transitar

voluntariamente entre os três viveiros, uma uva-passa foi disponibilizada no viveiro-transição e viveiro-teste a cada passagem do sujeito, conforme a localização indicada na Figura 3.9. As uvas-passas foram depositadas em um suporte de alumínio fixado pelo lado de fora da tela frontal dos dois viveiros em questão. O sujeito podia facilmente obter a uva-passa passando a mão através da tela metálica.

Fase 2: Cada sujeito foi familiarizado com a presença de objetos dentro do viveiro-teste e a realização de sessões contínuas (*dia 4*). Foram realizadas quatro sessões de 5 min cada, em intervalos de 2 min. O mesmo procedimento empregado com os micos também foi usado com os macacos-prego. Contudo, aqui, os animais iniciaram a sequência de sessões a partir do viveiro-transição e ao final retornaram ao viveiro-moradia. Além disso, os dois objetos idênticos usados a cada sessão foram fixados pelo lado de dentro da tela frontal do viveiro-teste, um no lado direito e o outro no lado esquerdo (Figura 3.9). A cada vez que o sujeito passava de um viveiro para o outro, uma nova uva-passa foi colocada no seu respectivo suporte para manter o incentivo de transitar. A cada sessão um novo par de objetos foi usado.

Cada sujeito foi então submetido ao teste de REO com sessões contínuas (Figura 3.10), conforme procedimento específico descrito acima na seção 3.3. Todas as fases do procedimento foram realizadas entre às 8:00 e 12:00 h.

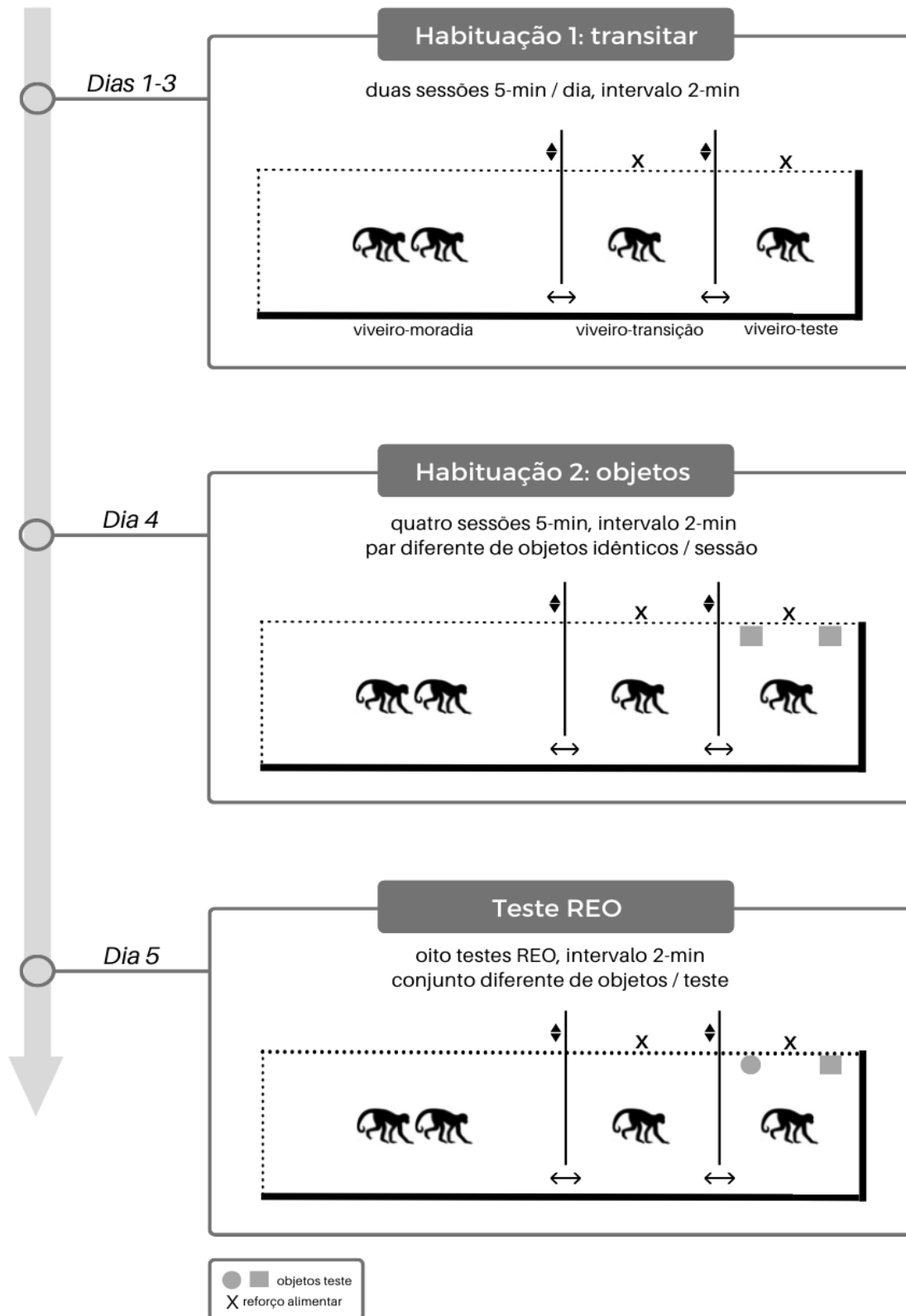


Figura 3.10. Representação esquemática do procedimento experimental empregado com os macacos-prego, indicando as duas fases da habituação (dias 1-4) e o teste de REO com sessões contínuas (dia 5). A parede divisória deslizante semiaberta no meio do viveiro-moradia não está representada aqui. A letra X indica a localização do reforço alimentar; o quadrado e o círculo cinzas representam a localização dos objetos nas sessões teste de cada teste de REO.

3.5.3. Objetos usados no teste de REO

No teste de REO com sessões contínuas com os macacos-prego, um conjunto distinto de objetos foi usado para cada um dos oito testes, os quais diferiam dos objetos usados na fase de habituação. Os demais aspectos relacionados aos objetos foram similares ao que já foi descrito acima para os micos-estrela. A única diferença foi que os objetos foram fixados pelo lado de dentro da tela frontal do viveiro-teste com abraçadeiras de nylon, o que também evitou que fossem deslocados pelos sujeitos. Após cada sessão, os objetos usados foram higienizados com uma solução de álcool 70%.

Os objetos usados nessa fase do estudo foram (Figura 3.11):

- a) cano de PVC branco em formato de 'joelho' (10 cm de largura x 7 cm de diâmetro x 20 cm de altura);
- b) escudo facial de plástico preto para solda (28 cm de largura x 44 cm de altura);
- c) pino de boliche de plástico amarelo (5 cm de diâmetro x 23 cm de altura);
- d) lata de metal vermelha alta (11 cm de diâmetro x 17 cm de altura);
- e) lata de metal branca baixa (13 cm de diâmetro x 5 cm de altura);
- f) capacete de polietileno branco (22 cm de largura x 29 cm de altura);
- g) cano de PVC branco em formato de 'torneira' (21 cm de comprimento x 6 cm de diâmetro x 21 cm de altura);
- h) funil de plástico cinza (18 cm de diâmetro x 21 cm de altura);
- i) espada de brinquedo de plástico azul (5 cm de largura x 45 cm de altura);
- j) lata de metal azul alta (13 cm de diâmetro x 20 cm de altura);
- k) galocha de borracha preta tamanho 36 (25 cm de largura x 27 cm de altura);
- l) lata de metal preto médio (13 cm de diâmetro x 13 cm de altura);
- m) frasco de plástico branco de 1 L (7 cm de diâmetro x 27 cm de altura);
- n) galão de plástico azul de 5 L (25 cm de largura x 28 cm de altura);

- o) bola de futebol de plástico amarelo envolvida em rede de corda de varal (69 cm de circunferência); e
- p) lata de metal média (9 cm de diâmetro x 13 cm de altura).



Figura 3.11. Fotografias dos objetos utilizados no teste de REO com sessões contínuas com os macacos-prego.

3.5.4. Registro e análise de dados

Todas as sessões foram acompanhadas remotamente, de uma sala adjacente à sala de experimento, via uma câmera digital posicionada à 1,5 m da tela frontal do viveiro-teste (Figura 3.9). Os comportamentos dos macacos-prego também foram registrados manualmente no programa AnyMaze (Stoelting, EUA) por um observador

previamente treinado. Os comportamentos registrados foram os mesmos que os descritos acima para os micos-estrela (exploração dos objetos e locomoção).

3.5.5. Análise estatística

Os dados registrados e calculados nessa etapa do estudo foram analisados usando o mesmo procedimento e testes descritos acima para o estudo realizado com os micos. Para analisar o desempenho dos micos-estrela com o dos macacos-prego, o ID cumulativo nos testes de REO 1 e 8 foram comparados usando uma ANOVA de desenho misto (*mixed design ANOVA*), sendo 'espécie' a variável independente e 'teste de REO' (1 x 8) a variável dependente. Todas as análises também foram realizadas no programa *SPSS* (IBM, EUA; v. 25), e o nível de significância adotado em todos os testes estatísticos foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Teste de REO com sessões contínuas nos micos-estrela

Na fase de habituação individual ao aparato (sem objetos), os micos foram submetidos a uma sessão diária de 15 min, em dois dias consecutivos (Figura 3.7). Não foi encontrada uma diferença estatística entre essas duas sessões para os comportamentos de locomoção ($t_5=-0,21$; $p=0,84$), exploração do ambiente ($t_5=0,16$; $p=0,88$) ou vigilância ($t_5=1,42$; $p=0,22$), estando os dados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Comportamentos dos micos nas duas sessões de habituação individual ao aparato experimental do Campo Aberto, sem objetos, expressos como a média \pm erro padrão da média (em segundos).

Comportamento	Sessão de Habituação	
	1	2
Locomoção	22 \pm 6	23 \pm 7
Exploração do ambiente	93 \pm 44	91 \pm 31
Vigilância	666 \pm 73	627 \pm 95

Quando o desempenho dos sujeitos no teste de memória de reconhecimento foi avaliado utilizando o ID individual, calculado separadamente para cada um dos oito testes realizados, foi observado que os micos passaram mais tempo explorando o objeto novo que o familiar nos testes de REO 1-4 e no teste de REO 8, visto que aqui o ID diferiu significativamente de zero, o que não aconteceu nos testes REO 5-7 (REO 1: $t_5=2,79$; $p=0,04$; REO 2: $t_5=3,01$; $p=0,03$; REO 3: $t_5=4,16$; $p=0,01$; REO 4: $t_5=3,20$; $p=0,02$; REO 5: $t_5=-0,37$; $p=0,73$; REO 6: $t_5=0,05$; $p=0,96$; REO 7: $t_5=0,86$; $p=0,43$; e REO 8: $t_5=3,11$; $p=0,03$; Figura 4.1). Porém, não foi detectada uma diferença significativa ao comparar esses mesmos valores do ID individual entre os oito testes de REO realizados ($F_{7,21}=1,18$; $p=0,37$; Figura 4.1).

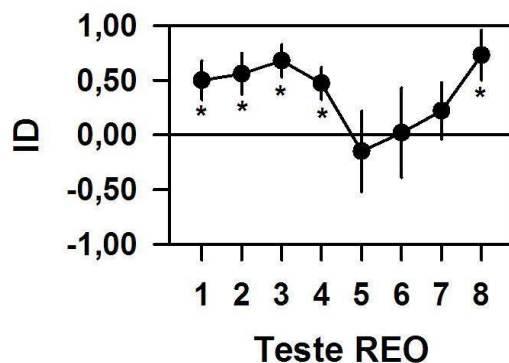


Figura 4.1. Desempenho dos micos no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) individual, calculado separadamente para cada uma das oito sessões teste realizadas. Média \pm epm; n=6; *p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso)

O ID também foi analisado com base na exploração cumulativa dos objetos ao longo dos oito testes de REO realizados, conforme procedimento adotado em um estudo anterior empregando uma metodologia semelhante (teste de REO com sessões contínuas em roedores; CHAN e cols., 2018). Na análise cumulativa, conforme descrito acima, o ID foi calculado com base no valor da exploração dos objetos novo e familiar registrado desde o primeiro teste de REO até aquele determinado momento/teste. Analisando os valores do ID cumulativo, foi observado que os micos passaram mais tempo explorando o objeto novo versus o familiar em todos os testes de REO, exceto no teste 5, considerando que esses valores de ID estavam significativamente acima do nível do acaso (acima do valor de zero) (REO 1: $t_5=2,79$; $p=0,04$; REO 2: $t_5=6,17$; $p=0,002$; REO 3: $t_5=7,96$; $p=0,001$; REO 4: $t_5=7,18$; $p=0,001$; REO 5: $t_5=2,20$; $p=0,08$; REO 6: $t_5=2,85$; $p=0,04$; REO 7: $t_5=2,91$; $p=0,03$; e REO 8: $t_5=5,49$; $p=0,003$; Figura 4.2). Ainda, não houve diferença significativa entre o ID cumulativo das oito sessões realizadas ($F_{7,35}=1,79$; $p=0,22$). Em termos da exploração total cumulativa dos objetos (novo + familiar), foi possível verificar um aumento gradual e constante nesse parâmetro ao longo dos oito testes de REO realizados (Figura 4.2).

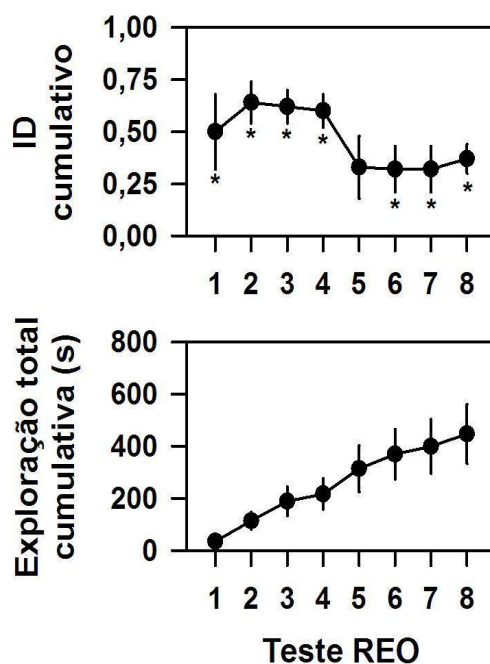


Figura 4.2. (Gráfico Superior) Desempenho dos micos no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) cumulativo, calculado a partir do tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde o primeiro teste de REO até o respectivo teste; **(Gráfico Inferior)** Tempo de exploração total cumulativa (em segundos) dos objetos ao longo dos oito teste de REO realizados. (média \pm epm; n=6). *p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso).

Ao analisar a exploração total dos objetos, também não foi observada uma diferença significativa entre as sessões treino e teste ($F_{1,5}=0,35$; $p=0,58$), tampouco entre os oito testes de REO realizados ($F_{7,35}=1,70$; $p=0,22$) ou uma interação entre os fatores 'sessão' e 'teste de REO' ($F_{7,35}=1,79$; $p=0,19$; Tabela 2). Em termos da locomoção, um efeito significativo não foi visto ao comparar as sessões treino vs. teste ($F_{1,5}=0,88$; $p=0,39$) ou entre os oito testes de REO ($F_{7,35}=0,82$; $p=0,49$), assim como não teve uma interação entre esses fatores ($F_{7,35}=0,37$; $p=0,70$; Tabela 2).

Por fim, no teste de REO 1, o ID individual não demonstrou estar relacionado ao nível de exploração dos objetos na sessão treino correspondente ($r_6=0,49$; $p=0,33$), nem com a locomoção registrada na sessão teste ($r_6=0,20$; $p=0,71$; Figura 4.3). Da mesma forma, no teste de REO 8, o ID cumulativo não estava relacionado a

exploração total cumulativa dos objetos durante a respectiva sessão treino ($r_6=-0,32$; $p=0,53$) ou com a locomoção da sessão teste ($r_6=0,51$; $p=0,30$; Figura 4.3).

Tabela 2. Tempo total despendido pelos micos explorando os objetos e em locomoção nas sessões treino e teste de cada teste de REO, expressos como a média \pm erro padrão da média (em segundos).

Teste de REO	Sessão	
	Treino	Teste
<i>Exploração total objetos</i>		
1	15 \pm 4	20 \pm 8
2	22 \pm 11	57 \pm 25
3	52 \pm 18	23 \pm 12
4	10 \pm 2	17 \pm 6
5	54 \pm 23	43 \pm 13
6	41 \pm 30	15 \pm 4
7	15 \pm 6	14 \pm 8
8	28 \pm 11	19 \pm 6
<i>Locomoção</i>		
1	7 \pm 3	8 \pm 2
2	7 \pm 2	6 \pm 1
3	7 \pm 2	6 \pm 2
4	6 \pm 3	5 \pm 1
5	6 \pm 2	7 \pm 2
6	10 \pm 3	8 \pm 2
7	8 \pm 3	7 \pm 2
8	7 \pm 3	7 \pm 2

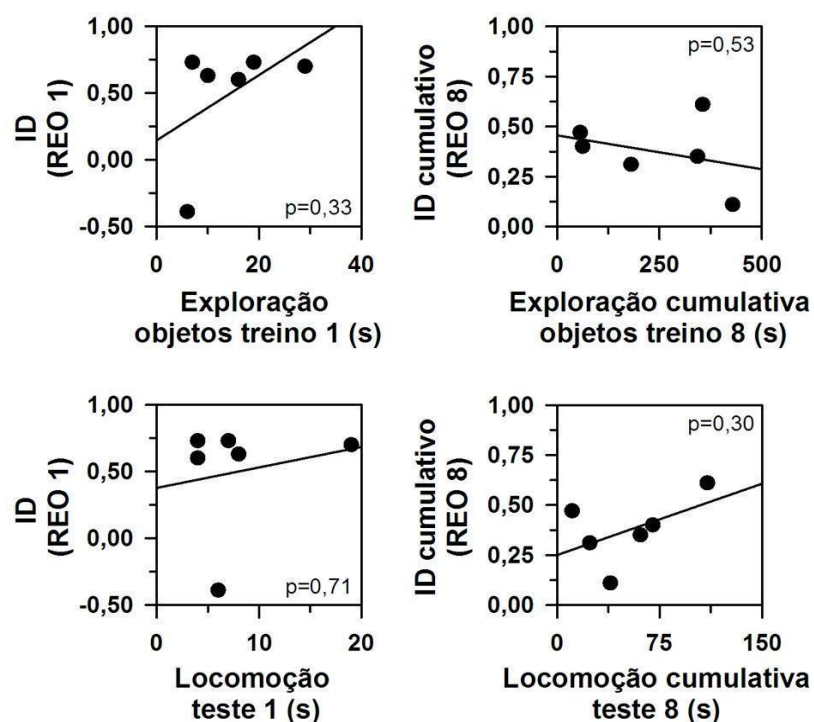


Figura 4.3. Relação entre o Índice de Discriminação e a exploração total na sessão treino ou a locomoção na sessão teste. Em cada gráfico está indicado o valor de p obtido no teste de correlação de Pearson. n=6

4.2. Teste de REO com sessões contínuas nos macacos-prego

Os resultados do desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas indicaram que o valor do ID individual, calculado separadamente para cada teste realizado, estava acima do nível do acaso (valor de zero) apenas nos testes de REO 2 ($t_9=6,96$; $p<0,001$), REO 4 ($t_9=4,05$; $p=0,003$) e REO 5 ($t_9=2,82$; $p=0,02$; Figura 4.4). Nos demais testes, os ID individuais não diferiram de zero (REO 1: $t_9=2,04$; $p=0,07$; REO 3: $t_9=0,57$; $p=0,58$; REO 6: $t_9=1,17$; $p=0,27$; REO 7: $t_9=1,46$; $p=0,18$; REO 8: $t_9=0,93$; $p=0,38$; Figura 4.4). Porém, não foi detectada uma diferença significativa ao comparar esses mesmos valores do ID individual entre os oito testes de REO realizados ($F_{7,63}=1,01$; $p=0,40$; Figura 4.4).

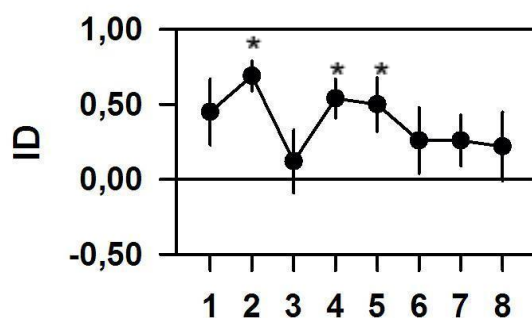


Figura 4.4. Desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) individual, calculado para cada uma das oito sessões teste realizadas (média \pm epm; n=10). * $p<0,05$ vs. valor de zero (nível do acaso).

Por outro lado, com base no ID cumulativo, calculado usando o tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde a primeira tentativa até o respectivo teste de REO sob análise, foi observado que os macacos-prego passaram mais tempo explorando o objeto novo que o familiar nos testes de REO 2 – 8. O ID cumulativo nesses testes diferiu significativamente de zero (nível do acaso) (REO 1: $t_9=2,04$; $p=0,07$; REO 2: $t_9=7,26$; $p<0,001$; REO 3: $t_9=4,16$; $p=0,002$; REO 4: $t_9=4,41$; $p=0,002$;

REO 5: $t_9=4,51$; $p=0,001$; REO 6: $t_9=5,69$; $p<0,001$; REO 7: $t_9=4,00$; $p=0,003$; REO 8: $t_9=3,80$; $p=0,004$; Figura 4.5), não havendo diferença significativa entre os oito testes realizado em termos desse mesmo parâmetro ($F_{7,63}=1,81$; $p=0,20$; Figura 4.5). Em termos da exploração total cumulativa dos objetos (novo + familiar), foi possível verificar um aumento gradual e constante nesse parâmetro ao longo dos oito testes de REO realizados (Figura 4.5).

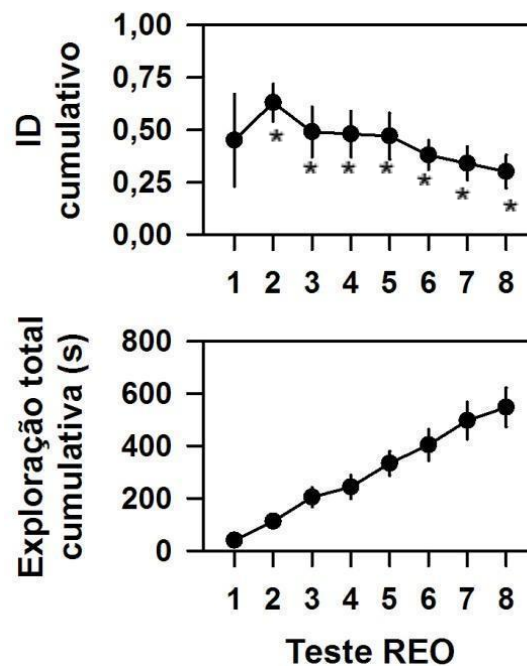


Figura 4.5. (Gráfico Superior) Desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas, analisado via o Índice de Discriminação (ID) cumulativo, calculado a partir do tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde o primeiro teste de REO até o respectivo teste; **(Gráfico Inferior)** Tempo de exploração total cumulativa (em segundos) dos objetos ao longo dos oitos teste de REO realizados. (média \pm epm; $n=10$). * $p<0,05$ vs. valor de zero (nível do acaso).

Em termos da exploração total dos objetos, também não foi observada uma diferença significativa entre as sessões treino e teste ($F_{1,9}=0,17$; $p=0,69$), tampouco entre os oito testes de REO realizados ($F_{7,63}=2,83$; $p=0,06$) ou uma interação entre os fatores 'sessão' e 'teste de REO' ($F_{7,63}=0,36$; $p=0,81$; Tabela 3). Para o parâmetro locomoção, um efeito significativo não foi visto ao comparar as sessões treino vs. teste

($F_{1,9}=0,32$; $p=0,59$) ou entre os oito testes de REO ($F_{7,63}=2,64$; $p=0,07$), assim como não teve uma interação entre esses fatores ($F_{7,63}=0,36$; $p=0,81$; Tabela 3).

Tabela 3. Tempo total despendido pelos macacos-prego explorando os objetos e em locomoção nas sessões treino e teste de cada teste de REO, expressos como a média \pm erro padrão da média (em segundos).

Teste de REO	Sessão	
	Treino	Teste
<i>Exploração total objetos</i>		
1	22 \pm 3	24 \pm 3
2	28 \pm 7	45 \pm 15
3	48 \pm 13	44 \pm 15
4	22 \pm 8	18 \pm 5
5	47 \pm 11	43 \pm 12
6	33 \pm 10	37 \pm 11
7	45 \pm 6	49 \pm 15
8	29 \pm 9	22 \pm 7
<i>Locomoção</i>		
1	88 \pm 19	84 \pm 18
2	90 \pm 20	83 \pm 17
3	85 \pm 18	87 \pm 14
4	95 \pm 18	92 \pm 14
5	95 \pm 14	84 \pm 13
6	102 \pm 16	102 \pm 18
7	100 \pm 17	107 \pm 18
8	111 \pm 18	108 \pm 20

Por fim, no teste de REO 1, o ID individual não demonstrou estar relacionado ao nível de exploração dos objetos na sessão treino correspondente ($r_{10}=-0,61$; $p=0,06$), nem com a locomoção registrada na sessão teste ($r_{10}=0,26$; $p=0,47$; Figura 4.6). Da mesma forma, no teste de REO 8, o ID cumulativo não estava relacionado a exploração total cumulativa dos objetos durante a respectiva sessão treino ($r_{10}=-0,16$; $p=0,65$) ou com a locomoção da sessão teste ($r_{10}=0,30$; $p=0,40$; Figura 4.6).

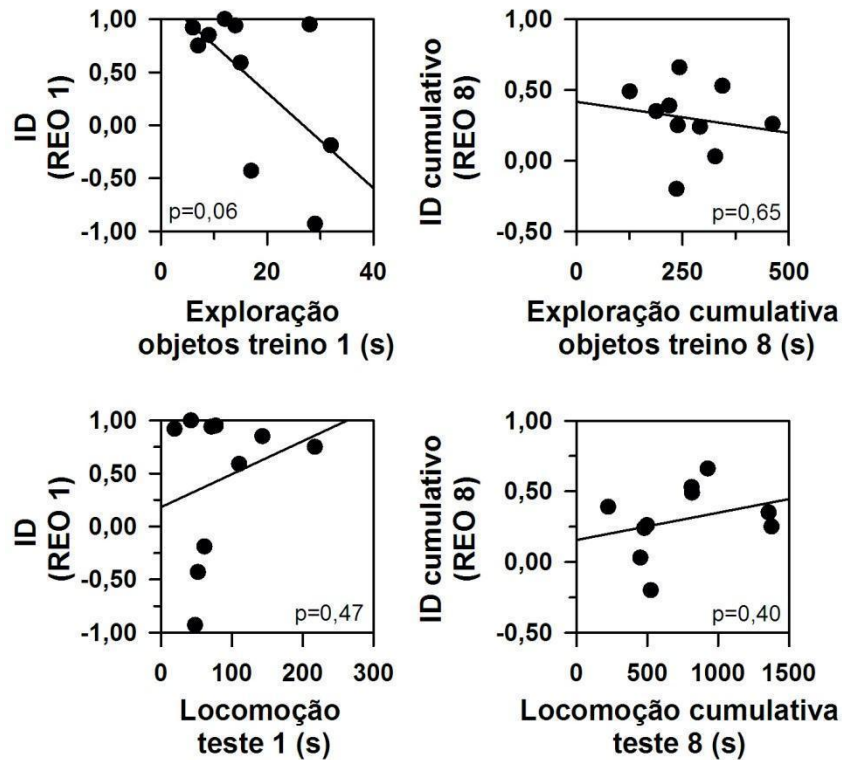


Figura 4.6. Relação entre o Índice de Discriminação e a exploração total na sessão treino ou a locomoção na sessão teste. Em cada gráfico está indicado o valor de p obtido no teste de correlação de Pearson. n=10

4.3. Comparação do desempenho de micos-estrela vs. macacos-prego

Na comparação do ID cumulativo calculado para os micos e os macacos-prego, não foram detectadas diferenças significativas em termos do desempenho das duas espécies no teste de REO com sessões contínuas (micos x pregos: $F_{1,14}=0,11$; $p=0,75$; REO 1 x 8: $F_{1,14}=0,93$; $p=0,35$; interação: $F_{1,14}=0,01$ $p=0,94$; Figura 4.7).

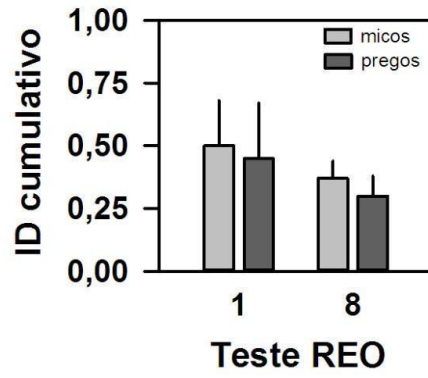


Figura 4.7. Desempenho dos micos (n=6) e dos macacos-prego (n=10) nos testes de REO 1 e 8, analisado via o Índice de Discriminação (ID) cumulativo, calculado a partir do tempo de exploração dos objetos novo e familiar desde o primeiro teste de REO até o respectivo teste (média \pm eprn).

5. DISCUSSÃO

O teste de reconhecimento de objetos foi desenvolvido em PNHs com o intuito de avaliar a capacidade dos animais em discriminar objetos em diferentes tempos de retenção, aplicando o teste de DNMS em diferentes espécies de macacos do Velho Mundo (*Macaca fascicularis*: BUCKMASTER e cols., 2004; *Macaca mulata*: MISHKIN e DELACOUR, 1975; PEISSIG e cols., 2007). Recentemente o protocolo do teste de REO foi desenvolvido em PNHs (OLIVEIRA e cols., 2021), mas a abordagem utilizando sessões contínuas foi aplicada até então somente em roedores. Com o intuito de aumentar o poder translacional do teste de REO com sessões contínuas no estudo da memória, foi avaliado o desempenho de micos-estrela e macacos-prego nessa tarefa.

5.1. Desempenho dos micos-estrela no teste de REO com sessões contínuas

Os resultados obtidos nos micos-estrela indicaram que essa espécie apresentou uma memória de reconhecimento no teste de REO, corroborando estudos anteriores (COSTA e cols., 2022; MELAMED e cols., 2017a,b; OLIVEIRA e cols., 2021; VANNUCHI e cols., 2020). Foi observado que os animais exploraram por mais tempo o objeto novo do que o familiar. Quando avaliado o Índice de Discriminação (ID), tanto os dados individuais, quanto os cumulativos indicaram que, em geral, essa variável estava significativamente acima do valor de zero, e em um nível que não diferiu entre os oito testes que foram realizados. Portanto, os micos-estrela foram capazes de desempenhar o teste de REO utilizando a abordagem de sessões contínuas.

Até então, já foi demonstrado que os micos são capazes de realizar testes de REO com intervalo de retenção de 6 h (COSTA e cols., 2022; OLIVEIRA e cols., 2021) até 24 h (MELAMED e cols., 2017a,b; VANNUCHI e cols., 2020), 10 min de teste e em uma única sessão/repetição. Em roedores, resultados satisfatórios de discriminação de objetos após curtos intervalos de retenção também já foram observados, tanto na

abordagem de tentativa única (ratos, 1-5 min: AINGE e cols., 2006; DOOSTDAR e cols., 2019; camundongos, 1-2 min: GIGG e cols., 2020; SINGER e cols., 2007), quanto na abordagem de sessões contínuas (ratos, 1-2 min: SEEL e cols., 2018; AMEEN-ALI e cols., 2012; camundongos, 1-2 min: CHAN e cols., 2018). Com isso, o presente estudo demonstrou que o teste de REO pode ser realizado em micos usando como parâmetro um intervalo de retenção de apenas 2 min e uma sessão teste de 5 min.

Contudo, conforme sugerido por SEEL e cols. (2018), testes de reconhecimento espontâneo que venham a adotar uma abordagem de sessões contínuas deveriam apresentar como índice de memória tanto o ID individual, tradicionalmente aplicado nesse tipo de tarefa, como o ID cumulativo que abrange a exploração registrada ao longo de todos os testes realizados. Assim, seria possível avaliar e comparar os dois resultados a fim de realizar interpretações mais fidedignas dos dados obtidos.

No presente estudo, o ID individual dos micos indicou que os animais foram capazes de distinguir entre os objetos novo e familiar, tendo um desempenho significativo nos primeiros quatro testes de REO. Já nos testes subsequentes de 5-7, houve uma queda significativa, uma vez que o ID individual não diferiu mais do valor de zero (nível do acaso), mas esse índice de desempenho retornou a um nível significativo na última sessão (Figura 4.1). Apesar desse declínio, não foi observada uma diferença significativa entre os oito testes realizados em termos do ID individual (Figura 4.1), conforme mencionado anteriormente.

Apesar do uso do ID ser uma forma já bem aceita para minimizar a influência de variações entre os indivíduos em termos dos níveis basais de exploração ENNACEUR e DELACOUR (1988), sabe-se que o desempenho pode ser influenciado por diferentes fatores. Estudos recentes usando os testes de REO e/ou ROL em micos indicaram que tais fatores incluem, por exemplo, intervalo de retenção (VANNUCHI e

cols., 2020) e estresse (COSTA e cols., 2022). Porém, é possível que outros aspectos também afetem os níveis de exploração espontânea dos animais nesse tipo de teste, como as características inerentes do objeto (tamanho, cor, forma, textura, etc.), levando a uma preferência ou aversão inata não previsível por um determinado objeto. Além disso, quando o teste é realizado apenas uma vez, o desempenho de cada sujeito, e assim a interpretação do resultado, estará quase sempre baseado em valores reduzidos (i.e., alguns segundos), uma vez que o comportamento exploratório espontâneo do animal foi registrado apenas naquele único teste. AMEEN-ALI e cols. (2012) argumentam que tais fatores podem ser minimizados ao usar a abordagem com sessões contínuas (com vários objetos sendo usados ao longo dos testes), e que o mais indicado é analisar o desempenho com base no ID cumulativo (com o desempenho sendo calculado com base em um valor de exploração maior, obtido pelo somatório dos registros feitos ao longo de todas as sessões realizadas naquele dia).

Ao analisar o desempenho dos micos usando o ID cumulativo, observou-se que, com exceção do teste de REO 5, os animais exploraram significativamente mais o objeto novo do que o familiar (Figura 4.2). Apesar da abordagem de sessões contínuas poder diminuir o ruído comportamental, segundo CHAN e cols. (2018) é possível que a realização de várias tentativas semelhantes em sequência também se torne cada vez mais difícil à medida que o animal avance ao longo dos testes. Isso porque o contexto do aparato e a localização dos objetos são relativamente constantes ao longo dos testes. Sessões que acabaram de ser realizadas poderiam vir a interferir no desempenho e na motivação de sessões realizadas logo em sequência. Entretanto, vale ressaltar que no presente experimento com os micos, os animais continuaram a explorar os objetos ao longo de todos os oito testes realizados, à medida que o tempo de exploração total cumulativa aumentou de forma gradual e consistente (Figura 4.2). Além disso, ainda que a cada teste um conjunto distinto de objetos foi usado (*trial-unique objects*), a exploração total dos objetos não diferiu significativamente entre

as sessões treino e teste, tampouco entre os oito testes de REO realizados (Figura 4.2). Isso sugere que não houve alteração na motivação para explorar os objetos ao longo do procedimento experimental.

A diminuição no desempenho dos micos visto no meio da sequência das sessões contínuas pode ter sido causado por estresse. De fato, micos submetidos a um evento agudo de estresse de contenção logo após a sessão treino, durante a fase de consolidação da informação, apresentaram um ID que não diferiu de zero (i.e., exploraram igualmente os objetos novo e familiar) (COSTA e cols., 2022). Contudo, no presente estudo, os animais passaram por uma fase inicial de habituação ao aparato e procedimento experimental. Além disso, o ID foi aumentando gradativamente após o teste de REO 5, voltando a atingir níveis significativos no último teste realizado.

Portanto, a diminuição no desempenho durante o teste de REO pode talvez estar relacionada a forma com que a fase inicial de habituação foi realizada no presente estudo. Nos micos, essa fase de habituação foi realizada em quatro fases consecutivas - as primeiras duas para habituação ao aparato do CA e outras duas para habituação ao procedimento de transitar e aos objetos. Nessas últimas duas fases, cada sujeito foi submetido diariamente a quatro sessões de 5 min cada, em intervalos de 2 min, ao longo de vários dias. Porém, ao executarem o teste de REO logo após a habituação, os mesmos sujeitos realizaram oito sessões de 5 min cada, em intervalos de 2 min. Portanto, esse aumento no número de sessões realizado no mesmo dia, que passou de quatro na habituação para oito no teste de REO com sessões contínuas, pode ter contribuído para a diminuição do desempenho dos micos visto justamente nos testes de REO 5-7 (Figura 4.1). Na análise de ID cumulativo, devido a diminuição no ruído comportamental, a queda significativa no desempenho foi detectada apenas no teste de REO 5 (Figura 4.2). Novos estudos serão necessários para esclarecer o possível efeito do procedimento de habituação e/ou estresse no desempenho dos micos no teste de REO com sessões contínuas. Sugere-se

inicialmente que o mesmo número de sessões seja realizado na fase de habituação e no teste de REO.

A atividade locomotora não parece ter influenciado o desempenho dos micos no presente teste, uma vez que não houve diferença entre as sessões treino e teste, nem entre os oito testes de REO (Tabela 2). O desempenho dos animais (ID individual e cumulativo) também não estava relacionado ao nível de locomoção registrado na sessão teste (Figura 4.3). Tais aspectos não apenas corroboram estudos em roedores (AGARWAL e cols., 2020; GONZALES e cols., 2015), como também em micos (COSTA e cols., 2022; OLIVEIRA e cols., 2021).

Ademais, o desempenho observado no teste (ID individual e cumulativo) não estava relacionado ao tempo que os sujeitos passaram inicialmente explorando os objetos na sessão treino (Figura 4.3). Isso corrobora resultados anteriores visto em micos submetidos ao teste de ROL (VANNUCHI e cols., 2020), sendo que os níveis de exploração dos micos neste trabalho são comparáveis aos estudos anteriores com essa espécie que utilizaram a abordagem de um único teste de REO (COSTA e cols., 2022; OLIVEIRA e cols., 2021). Tais resultados sugerem que os micos não precisam de muito tempo de exploração para terem um bom desempenho no teste de REO. Segundo AKKERMAN e cols. (2012a), que também não detectaram uma correlação entre esses parâmetros em roedores, mesmo animais que inicialmente exploram pouco um objeto podem adquirir um traço de memória suficiente para permitir que esse item seja posteriormente distinguido de um objeto novo.

Por fim, não foi possível comparar o desempenho entre machos e fêmeas devido a um número pequeno e desigual de sujeitos de cada sexo (quatro machos e duas fêmeas). Apesar dos diversos relatos na literatura de que, em roedores, o reconhecimento de objetos difere entre os sexos, a depender do intervalo de retenção (CYRENNE e BROWN, 2011), VANNUCHI e cols. (2020) não encontraram um efeito

significativo para um comportamento dimórfico sexual em termos da atividade exploratória em uma tarefa de ROL em micos-estrela.

5.2. Desempenho dos macacos-prego no teste de REO com sessões contínuas

Os resultados observados demonstraram que macacos-prego também exibem uma memória de reconhecimento no teste de REO, conforme já relatado em um estudo prévio (AQUINO e cols., 2023). Na sessão teste do presente estudo, os animais exploraram o objeto novo por mais tempo que o familiar. Tanto os dados do ID individual, como os do ID cumulativo, indicaram que o nível de discriminação entre os objetos foi significativamente maior que zero, e não houve diferença entre os oito testes realizados. Dessa forma, assim como os micos, os macacos-prego foram capazes de desempenhar o teste de REO utilizando a abordagem de sessões contínuas.

Apesar de haver estudos avaliando as habilidades cognitivas de macacos-prego, como o uso de ferramentas e testes de memória de DNMS (RESENDE e cols., 2003), até o presente momento apenas AQUINO e cols. (2023) avaliaram a memória de reconhecimento desses animais especificamente na tarefa de REO. Nesse estudo, realizado apenas com sessões únicas, foi demonstrado que esses animais são capazes de discriminar entre objetos novos e familiares após diferentes intervalos de retenção (30 min, 6 h e 24 h) e tempos de familiarização (10 min e 20 min). Portanto, o presente trabalho amplia esses parâmetros, tendo avaliado pela primeira vez o tempo de treino/teste de 5 min e o intervalo de retenção de 2 min.

Ao analisar o ID individual, foi possível observar que, em todos os testes de REO realizados, os animais exploraram mais o objeto novo comparado ao familiar, mas que isso atingiu níveis significativos apenas nos testes de REO 2, 4 e 5 (Figura 4.4). Visto que foram utilizados diferentes conjuntos de objetos para cada teste, é possível que nessas tentativas possa ter ocorrido uma maior preferência inata por

algum dos objetos, apesar de serem aparentemente neutros para os animais em termos de sua relevância biológica. No entanto, esses mesmos valores de ID individual não diferiram significativamente entre os oitos testes de REO realizados (Figura 4.4).

Por outro lado, ao avaliar o desempenho dos macacos-prego usando o ID cumulativo, foi observado que essa variável esteve significativamente acima do valor de zero nos testes de REO 2-8, e em um nível que não diferiu entre os oito testes (Figura 4.5). Essa diferença entre o ID individual e o ID cumulativo pode ter sido devido a uma menor variação interindividual nos dados cumulativos, que por sua vez parece ter contribuído para o maior número de resultados significativos. A redução na variabilidade, ou seja, um menor ruído comportamental, pode ser devido ao tempo de exploração que foi acumulando ao longo dos oito testes realizados, o qual foi utilizado para o cálculo dos ID cumulativos. Por ser um dado cumulativo, minimiza-se uma possível influência pontual de objetos específicos em um determinado teste. Portanto, como visto nos micos, esse procedimento de usar a exploração espontânea cumulativa dos objetos pode estar contribuindo para reduzir variações/influências pontuais em termos de preferência/aversão inata por objetos específicos.

Vale ressaltar que ao longo dos testes de REO houve um aumento gradual e constante em termos da exploração total dos objetos (Figura 4.5). Isso indica que, mesmo após várias sessões, os animais continuaram a explorar os objetos a cada teste e que o desempenho positivo observado provavelmente se deve à capacidade dos sujeitos distinguir o objeto novo do familiar – ou seja, de uma memória de reconhecimento. Além disso, o tempo de exploração dos objetos na sessão treino e teste não diferiu, o que também corrobora a ideia de que a motivação para explorar os objetos permaneceu constante ao longo do procedimento. O desempenho dos macacos-prego na tarefa também não parece ter sido influenciado pela atividade locomotora, visto que não houve diferença entre as sessões de treino e teste ou entre

os diferentes testes de REO (Tabela 3). Por fim, conforme já visto nos micos, os níveis de exploração inicial dos objetos na fase de treino (Figura 4.6) e os níveis de locomoção na sessão teste (Figura 4.6) não estavam capazes de prever ou indicar o desempenho dos animais no teste de REO com sessões cumulativas (ID individual e cumulativo). No estudo de AQUINO e cols. (2023) também não foi relatado haver uma correlação entre esses mesmos parâmetros.

Apesar do número de macacos-prego utilizados ser maior que dos micos, sendo cinco machos e cinco fêmeas, também não foi realizada uma análise por sexo. AQUINO e cols. (2023) não observaram uma influência significativa do sexo desses animais em seu desempenho na tarefa de REO.

5.3. Desempenho geral e influência de sessões contínuas no teste de REO

O desenvolvimento de modelos animais de memória do tipo episódica vem progredindo ao longo dos anos, ajudando a elucidar a natureza dos sistemas neurais subjacentes à memória episódica em humanos (EACOTT e EASTON, 2010). As estruturas cerebrais envolvidas na memória de REO em roedores e primatas são o córtex perirrinal e o lobo temporal medial, que desempenham um papel importante na formação da memória de reconhecimento (AKKERMAN e cols., 2012a; ANTUNES e BIALA, 2012). Apesar do hipocampo não desempenhar papel direto na discriminação das diferentes características de cada objeto, ele possui importante papel na integração da informação de objeto-contexto na memória episódica (AKKERMAN e cols., 2012a; CLARKE e cols., 2010).

Considerando que a memória episódica em humanos não requer treinamento ou aprendizados de regras, uma vez que se trata de uma forma de memória espontânea e inata, os testes empregados em estudos com modelos animais deveriam seguir os mesmos requisitos, não havendo treinamento prévio (EACOTT e EASTON, 2010). Com isso, foi desenvolvida em roedores uma alternativa para

explorar a memória tipo episódica baseada apenas no comportamento espontâneo (EACOTT e NORMAN, 2004). Porém, deve se considerar fatores subjacentes que influenciam o comportamento e o desempenho da memória, que podem afetar diretamente as medidas de discriminação. Por isso, faz-se necessária a familiarização dos animais ao procedimento, para evitar viés durante o experimento (AKKERMAN e cols., 2012a).

Quando as tarefas de REO são executadas com apenas uma tentativa por dia, existe uma série de limitações. Os animais estão passíveis de estresse devido ao manuseio e, embora a memória seja esperada através de uma maior exploração do que é novo, o estresse pode levar a uma preferência por objetos familiares, resultando em um ruído comportamental significativo (COSTA e cols., 2022; SEEL e cols., 2018). Uma vez que a memória é determinada pela preferência de um objeto sobre o outro, com base na experiência passada, essa preferência pode ser direcionada tanto ao objeto novo quanto familiar por fatores externos, como a ansiedade (ROSS e EASTON, 2022).

Quando o teste de REO é realizado utilizando a abordagem de sessões contínuas, é possível aumentar o número de tentativas concluídas por um animal em um único dia e, ao remover o manuseio dos animais dentro da sessão, minimiza um dos fatores de estresse e ruído comportamental (CHAN e cols., 2018). Também é possível reduzir significativamente o número de animais necessários para fornecer o mesmo poder estatístico que a abordagem tradicional de teste único diário, uma vez que a variabilidade interindividual é reduzida, devida a análise de dados cumulativos (SEEL e cols., 2018).

Ao comparar as duas espécies de PNHs usadas no presente estudo, não foram encontradas diferenças significativas em níveis de discriminação de objetos. Dessa forma, estatisticamente não parece haver disparidade entre micos e macacos-prego para execução de tarefas de memória de reconhecimento. Em ambos

os experimentos, os PNHs reafirmaram o benefício potencial de usar um número menor de animais em sessões consecutivas, assim como foi avaliado em estudos semelhantes, usando roedores (AMEEN-ALI e cols. 2012; CHAN e cols., 2018; SEEL e cols., 2018). Com o uso de testes de reconhecimento espontâneo é possível fazer comparações mais confiáveis entre as espécies.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a eficácia do uso de uma abordagem com sessões contínuas no teste de REO em duas espécies de primatas neotropicais. De fato, os micos-estrela e macacos-prego adultos foram capazes de realizar o teste de REO com um tempo de familiarização (treino) de 5 min e um intervalo de retenção de 2 min, conduzido em oito testes sequenciais, caracterizando assim o teste de REO com sessões contínuas. Até então essa forma de aplicar o teste de REO só havia sido empregada em ratos e camundongos. A demonstração desse teste agora em PNHs permitirá que se obtenha dados e/ou que se realize estudos diretos que possibilitam comparar primatas e roedores, favorecendo inclusive uma abordagem mais translacional para a memória de reconhecimento vista no homem.

Os resultados também corroboram estudos anteriores que demonstraram que a atividade exploratória espontânea de micos e macacos-prego adultos parece ser uma boa estratégia para demonstrar a capacidade desses animais em reconhecer objetos neutros vistos anteriormente no ambiente. Contudo, com os dados obtidos no presente estudo, ficou evidente que os animais são capazes de realizar mais de um teste por dia. Vale ressaltar que em ambas as espécies, a motivação dos animais permaneceu inalterada, pelo menos por oito testes em um curto intervalo de tempo, visto que a exploração total dos objetos e a locomoção permaneceram constantes entre as sessões e entre os testes.

Ao comparar os valores de ID individual e ID cumulativo, também ficou evidente a importância do uso de dados cumulativos para redução da variabilidade (ruído) comportamental interindividual, podendo ser usado tanto micos como macacos-prego nesse tipo de abordagem.

Assim, os resultados do presente estudo contribuíram para o estudo sobre a memória de reconhecimento, considerando que: (1) deu continuidade ao desenvolvimento de uma abordagem ainda pouco explorada para o estudo desse tipo

de memória em PNHs; (2) forneceu dados comparativos do desempenho de diferentes espécies de PNHs (micos-estrela x macacos-prego), que inclusive podem vir a ser comparados a resultados obtidos com outros modelos animais (PNHs x roedores); e (3) demonstrou que em PNHs dados cumulativos parecem reduzir a variabilidade comportamental entre os indivíduos em termos de sua atividade exploratória espontânea.

Portanto, o uso de sessões contínuas no teste de REO demonstrou ser um procedimento eficaz para avaliar a memória de reconhecimento em PNHs, gerando menos variabilidade na atividade exploratória espontânea.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

't Hart BA, Abbott DH, Nakamura K, Fuchs E. The marmoset monkey: a multi-purpose preclinical and translational model of human biology and disease. *Drug Discov Today*. 17(21-22):1160-5, 2012.

Abbott DH, Barnett DK, Colman RJ, Yamamoto ME, Schultz-Darken NJ. Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. *Comp Med*. 53(4):339-50, 2003.

Abel T, Lattal KM. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Curr Opin Neurobiol*. 11(2):180-7, 2001.

Agarwal P, Palin N, Walker SL, Glasper ER. Sex-dependent effects of paternal deprivation and chronic variable stress on novel object recognition in adult California mice (*Peromyscus californicus*). *Horm Behav*. 117:104610, 2020.

Aggleton JP, Brown MW. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behav Brain Sci*. 22(3): 444-89, 1999.

Aguiar LM, Cardoso RM, Back JP, Carneiro EC, Suzin A, Ottoni EB. Tool use in urban populations of capuchin monkeys *Sapajus spp.* (Primates: *Cebidae*). *Zoologia (Curitiba)* [online]. 31(5):516-519, 2014.

Ainge JA, Heron-Maxwell C, Theofilas P, Wright P, de Hoz L, Wood ER. The role of the hippocampus in object recognition in rats: examination of the influence of task parameters and lesion size. *Behav Brain Res*. 167(1):183-95, 2006.

Akkerman S, Blokland A, Reneerkens O, van Goethem NP, Bollen E, Gijsselaers HJ, Lieben CK, Steinbusch HW, Prickaerts J. Object recognition testing: methodological considerations on exploration and discrimination measures. *Behav Brain Res.* 232(2):335-47, 2012.

Albasser MM, Chapman RJ, Amin E, Iordanova MD, Vann SD, Aggleton JP. New behavioral protocols to extend our knowledge of rodent object recognition memory. *Learn. Memory.* 17:407–419, 2010a.

Alfaro JW, Silva JD Jr, Rylands AB. How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *sapajus* and *cebus*. *Am J Primatol.* 74(4):273-86, 2012.

Amadio M, Govoni S, Alkon DL, Pascale A. Emerging targets for the pharmacology of learning and memory. *Pharmacol Res.* 50(2):111-22, 2004.

Ameen-Ali KE, Eacott MJ, Easton A. A new behavioural apparatus to reduce animal numbers in multiple types of spontaneous object recognition paradigms in rats. *J Neurosci Methods.* 211(1):66-76, 2012.

Ameen-Ali KE, Easton A, Eacott MJ. Moving beyond standard procedures to assess spontaneous recognition memory. *Neurosci Biobehav Rev.* 53:37-51, 2015.

Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process.* 13(2):93-110, 2012.

Aquino J, Moreira MA, Evangelista NCL, Maior RS, Barros M. Spontaneous object recognition in capuchin monkeys: assessing the effects of sex, familiarization phase and retention delay. *Anim Cogn.* 26(2):551-561, 2023.

Baker KC. Benefits of positive human interaction for socially-housed chimpanzees. *Animal Welfare.* 13(2):239–245, 2004.

Balderas I, Rodriguez-Ortiz CJ, Salgado-Tonda P, Chavez-Hurtado J, McGaugh JL, Bermudez-Rattoni F. The consolidation of object and context recognition memory involve different regions of the temporal lobe. *Learn Mem.* 2008

Bicca-Marques JC, Silva VM, Gomes DF. Ordem Primates. In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP (eds.) *Mamíferos do Brasil*. Londrina, Paraná. 2006.

Blaser R, Heyser C. Spontaneous object recognition: a promising approach to the comparative study of memory. *Front Behav Neurosci.* 2015

Buckmaster CA, Eichenbaum H, Amaral DG, Suzuki WA, Rapp P. Entorhinal cortex lesions disrupt the relational organization of memory in monkeys. *J Neurosci.* 24:9811–25, 2004.

Carducci P, Squillace V, Manzi G, Truppa V. Touch improves visual discrimination of object features in capuchin monkeys (*Sapajus spp.*). *Behav Processes.* 172:104044, 2020.

Chan M, Eacott MJ, Sanderson DJ, Wang J, Sun M, Easton A. Continual trials spontaneous recognition tasks in mice: reducing animal numbers and improving our

understanding of the mechanisms underlying memory. *Front Behav Neurosci.* 12:214, 2018.

Clark RE, Squire LR. An animal model of recognition memory and medial temporal lobe amnesia: history and current issues. *Neuropsychologia.* 48(8):2234-44, 2010.

Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM. Plastic modifications induced by object recognition. *PNAS.* 107:2652–2657, 2010.

Colares Leal TR, de Faria Brino AL, de Almeida Costa LA, de Faria Galvão O, McIlvane WJ. Acquisition and maintenance of delayed matching-to-sample in tufted capuchin monkeys. *J Exp Anal Behav.* 113(3):549-564, 2020.

Costa CS, Oliveira AWC, Easton A, Barros M. A single brief stressful event time-dependently affects object recognition memory and promotes familiarity preference in marmoset monkeys. *Behav Processes.* 199:104645, 2022.

Cowell RA, Bussey TJ, Saksida LM. Components of recognition memory: dissociable cognitive processes or just differences in representational complexity? *Hippocampus.* 20(11):1245–1262, 2010.

Cyrenne DL, Brown GR. Ontogeny of sex differences in response to novel objects from adolescence to adulthood in lister-hooded rats. *Dev Psychobiol.* 53(7):670-6, 2011.

de La Salles AY, da Nóbrega Carreiro A, Medeiros GX, Muniz JA, de Menezes DJ. Aspectos biológicos e comportamentais de *Sapajus libidinosus*: Revisão. Pubvet. 12:139, 2018.

Donaldson W. The role of decision processes in remembering and knowing. *Memory & Cognition*. 24(40):523–533, 1996.

Doostdar N, Kim E, Grayson B, Harte MK, Neill JC, Vernon AC. Global brain volume reductions in a sub-chronic phencyclidine animal model for schizophrenia and their relationship to recognition memory. *J Psychopharmacol*. 33(10):1274-1287, 2019.

Eacott MJ, Easton A. Episodic memory in animals: Remembering which occasion. *Neuropsychologia*. 48(8):2273-2280, 2010.

Eacott MJ, Norman G. Integrated memory for object, place, and context in rats: a possible model of episodic-like memory? *J Neurosci*. 24(8):1948-53, 2004.

Eichenbaum H, Otto T, Cohen NJ. Two functional components of the hippocampal memory system. *Behav.BrainSci*. 17:449–517, 1994.

Ennaceur A. One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behav Brain Res*. 215(2):244-54, 2010.

Ennaceur A e Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res*. 31(1):47-59, 1988.

Falótico T, Ottoni EB. Social learning, behavioral traditions, and the evolution of sociality in non-human animals: the case of tufted capuchin monkeys. In C. Pléh, G. Csibra, & P. J. Richerson (Eds.), *Naturalistic Approaches to Culture*. Budapest: Akadémiai Kiadó. 135–156, 2014.

Fonseca GAB. Ecology and behavior of neotropical primates, volume 1. Eds: Coimbra-Filho A, Mittermeier RA. Rio de Janeiro, Brasil: Academia Brasileira de Ciências. 1981.

Forster FC. Exploratory behavior and learning in laboratory marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*): Comparisons between experimental-cage and home-cage activity. *Primates*. 36(4):501-514, 1995.

Fragaszy DM, Bard K. Comparison of development and life history in Pan and Cebus. *International Journal of Primatology*. 18:683–701, 1997.

Gaffan D. Recognition impaired and association intact in the memory of monkeys after transection of the fornix. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86:1100–1109, 1974.

Gaffan, D. Amnesia for complex naturalistic scenes and for objects following fornix transection in the rhesus monkey. *Eur J Neurosci*. 4(5):381-388, 1992.

Gigg J, McEwan F, Smausz R, Neill J, Harte MK. Synaptic biomarker reduction and impaired cognition in the sub-chronic PCP mouse model for schizophrenia. *J Psychopharmacol*. 34(1):115-124, 2020.

Gonzales EL, Yang SM, Choi CS, Mabunga DF, Kim HJ, Cheong JH, Ryu JH, Koo BN, Shin CY. Repeated neonatal propofol administration induces sex-dependent long-term impairments on spatial and recognition memory in rats. *Biomol Ther (Seoul)*. 23(3):251-60, 2015.

Griffiths D, Dickinson A, Clayton N. Episodic memory: what can animals remember about their past? *Trends Cogn Sci*. 3(2):74-80, 1999.

Harrison, M.L. Ecology and behavior of neotropical primates, volume 2. Eds: Mittermeier RA, Rylands AB, Coimbra-Filho A, Fonseca GAB. World Wildlife Fund. Washington, D.C. 610 pp/*International Journal of Primatology*, 11:615–617, 1988.

Hirshman E, Master S. Modeling the conscious correlates of recognition memory: reflections on the remember-know paradigm. *Mem Cognit*. 25(3):345-51, 1997.

Judge PG, Essler JL. Capuchin Monkeys Exercise Self-control by Choosing Token Exchange Over an Immediate Reward. *International Journal of Comparative Psychology*. 26(4), 2013.

Kalinichenko LS, Abdel-Hafiz L, Wang AL, Mühle C, Rösel N, Schumacher F, Kleuser B, Smaga I, Frankowska M, Filip M, Schaller G, Richter-Schmidinger T, Lenz B, Gulbins E, Kornhuber J, Oliveira AWC, Barros M, Huston JP, Müller CP. Neutral sphingomyelinase is an affective valence-dependent regulator of learning and memory. *Cerebral Cortex* 31: 1316-1333, 2021a.

Kalinichenko LS, Wang AL, Mühle C, Abdel-Hafiz L, Gulbins E, Kornhuber J, Oliveira AWC, Barros M, Huston JP, Müller CP. Neutral ceramidase is a marker for cognitive performance in rats and monkeys. *Pharmacological Reports*. 73: 73-84, 2021b.

Kandel E, Schwartz J, Jessell T, Siegelbaum S, Hudspeth AJ. Aprendizado e memória. In: *Princípios de Neurociências*. AMGH Editora. 1256-1273, 2014.

Kinnavane L, Albasser MM, Aggleton JP. Advances in the behavioural testing and network imaging of rodent recognition memory. *Behav Brain Res*. 285:67-78, 2015.

Kishi N, Okano H. Neuroscience Research Using Non-human Primate Models and Genome Editing. In: Jaenisch R, Zhang F, Gage F, editors. *Genome Editing in Neurosciences* [Internet], 2017.

Lent, R. Cem bilhões de neurônios?: Conceitos fundamentais de neurociência (2. ed.). São Paulo, SP: Atheneu, 2010.

MacDonald SE, Pang JC, Gibeault S. Marmoset (*Callithrix jacchus jacchus*) spatial memory in a foraging task: Win-stay versus win-shift strategies. *Journal of Comparative Psychology*. 108(4):328, 1994.

Mahut H, Zola-Morgan S, Moss M. Hippocampal resections impair associative learning and recognition memory in the monkey. *J Neurosci*. 2(9):1214-20, 1982.

Melamed JL, de Jesus FM, Aquino J, Vannuchi CRS, Duarte RBM, Maior RS, Tomaz C, Barros M. Differential modulatory effects of cocaine on marmoset monkey recognition memory. *Prog Brain Res.* 235:155-176, 2017b.

Melamed JL, de Jesus FM, Maior RS, Barros M. Scopolamine induces deficits in spontaneous object-location recognition and fear-learning in marmoset monkeys. *Front Pharmacol.* 8:395, 2017a.

Mourão Júnior CA, Faria NC. Memória. *Psicologia: Reflexão e Crítica.* 28(4):780-788, 2015.

Mishkin M. Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature.* 273:297-298, 1978.

Mishkin M, Delacour J. An analysis of short-term visual memory in the monkey. *J Exp Psychol Anim Behav Process.* 1(4):326-34, 1975.

Munger EL, Takemoto A, Raghanti MA, Nakamura K. Visual discrimination and reversal learning in aged common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Neuroscience Research.* 124:57-62, 2017.

Murray EA, Mishkin M. Visual recognition in monkeys following rhinal cortical ablations combined with either amygdalectomy or hippocampectomy. *J Neurosci.* 6(7):1991-2003, 1986.

Nakamura K, Koba R, Miwa M, Yamaguchi C, Suzuki H, Takemoto A. A Method to Train Marmosets in Visual Working Memory Task and Their Performance. *Front Behav Neurosci.* 12:46, 2018.

Oliveira AWC, Pacheco JVN, Costa CS, Aquino J, Maior RS, Barros M. Scopolamine and MK-801 impair recognition memory in a new spontaneous object exploration task in monkeys. *Pharmacol Biochem Behav.* 2021.

Peissig JJ, Singer J, Kawasaki K, Sheinberg DL. Effects of long-term object familiarity on event-related potentials in the monkey. *Cereb Cortex.* 17(6):1323-34, 2007.

Perry S. Social traditions and social learning in capuchin monkeys (*Cebus*). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 366(1567):988-96, 2011.

Perry S, Baker M, Fedigan L, Gros-Louis J, Jack K, MacKinnon KC, Manson JH, Panger M, Pyle K, Rose L. Social conventions in wild white-faced capuchin monkeys: Evidence for traditions in a neotropical primate. *Current Anthropology*, 44(2):241–268, 2003.

Petrides M, Tomaiuolo F, Yeterian EH, Pandya DN. The prefrontal cortex: comparative architectonic organization in the human and the macaque monkey brains. *Cortex.* 48:46–57, 2012.

Phillips KA, Bales KL, Capitanio JP. Why primate models matter. *Am J Primatol.* 76(9):801-27, 2014.

Phillips KA, Sherwood CC. Cortical development in brown capuchin monkeys: a structural MRI study. *Neuroimage*. 43(4):657-64, 2008.

Platt ML, Brannon EM, BrieeseTL, French JA. Differences in feeding ecology predict differences in performance between golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*) and Wied's marmosets (*Callithrix kuhli*) on spatial and visual memory tasks. *Animal Learning & Behavior*. 24(4):384-393, 1996.

Prins NW, Pohlmeier EA, Debnath S, Mylavarapu R, Geng S, Sanchez JC, Rothen D, Prasad A. Common marmoset (*Callithrix jacchus*) as a primate model for behavioral neuroscience studies. *Journal of Neuroscience Methods*. 284:35–46, 2017.

Purdy KS, McMullen PA, Freedman M. Changes to the object recognition system in patients with dementia of the Alzheimer's type. *Brain Cogn*. 49(2):213-216, 2002.

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hal, WC, LaMantia AS, McNamara JO, White LE. *Neurociências* (4. ed.). Porto Alegre, RS: Artmed, 2010.

Reed JM, Squire LR. Impaired recognition memory in patients with lesions limited to the hippocampal formation. *Behav Neurosci*. 111(4):667-675, 1997.

Resende BD de, Ottoni EB. Brincadeira e aprendizagem do uso de ferramentas em macacos-prego (*Cebus apella*). *Estudos de Psicologia*. 7(1):143-149, 2002.

Resende MC, Tavares MC, Tomaz C. Ontogenetic dissociation between habit learning and recognition memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neurobiol Learn Mem*. 2003.

Ross TW, Easton A. Rats use strategies to make object choices in spontaneous object recognition tasks. *Sci Rep.* 12(1):16973, 2022.

Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, Hanazawa K, Oiwa R, Kamioka M, Tomioka I, Sotomaru Y, Hirakawa R, Eto T, Shiozawa S, Maeda T, Ito M, Ito R, Kito C, Yagihashi C, Kawai K, Miyoshi H, Tanioka Y, Tamaoki N, Habu S, Okano H, Nomura T. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature.* 459(7246):523-527, 2009.

Saunders RC, Murray EA, Mishkin M. Further evidence that amygdala and hippocampus contribute equally to recognition memory. *Neuropsychologia.* 22(6):785-96, 1984.

Seel SV, Eacott MJ, Langston RF, Easton A. Cholinergic input to the hippocampus is not required for a model of episodic memory in the rat, even with multiple consecutive events. *Behav Brain Res.* 354:48-54, 2018.

Serbena AL, Monteiro-Filho ELA. A behavioral description of captive young Capuchin Monkey (*Cebus apella*). *Rev. etol.* [Internet]. 4(2):109-116, 2002.

Singer P, Boison D, Möhler H, Feldon J, Yee BK. Enhanced recognition memory following glycine transporter 1 deletion in forebrain neurons. *Behav Neurosci.* 121(5):815-25, 2007.

Smith TE, French JA. Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in marmoset monkeys (*Callithrix kuhli*). *Physiol Behav.* 62(2):225-232, 1997.

Spinelli S, Pennanen L, Dettling AC, Feldon J, Higgins GA, Pryce CR. Performance of the marmoset monkey on computerized tasks of attention and working memory. *Cognitive Brain Research*. 19(2):123-137, 2004.

Squire LR. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*. 82(3):171–177, 2004.

Tardif SD, Mansfield KG, Ratnam R, Ross CN, Ziegler TE. The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR J*. 52(1):54-65, 2011.

Tavares MC, Tomaz C. Working memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Behav Brain Res*. 2002.

Truppa V, De Simone DA, De Lillo C. Short-term memory effects on visual global/local processing in tufted capuchin monkeys (*Sapajus spp.*). *J Comp Psychol*. 2016.

Tulving E. Memory and consciousness. *Can Psychol*. 26(1):1–12, 1985.

Vannuchi CRS, Costa CS, de Jesus FM, Maior RS, Barros M. Sex, diurnal variation and retention interval differently affect performance of marmoset monkeys in a recognition memory task for object location. *Behav Brain Res*. 379:112334, 2020.

Ward JM, Vallender EJ. The resurgence and genetic implications of New World primates in biomedical research. *Trends Genet*. 28(12):586-591, 2012.

Winters BD, Saksida LM, Bussey TJ. Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neurosci Biobehav Rev.* 32(5):1055-1070, 2008.

Yonelinas AP. Components of episodic memory: The contribution of recollection and familiarity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B.* 356:1363–1374, 2001.

Yun JW, Ahn JB, Kang BC. Modeling Parkinson's disease in the common marmoset (*Callithrix jacchus*): overview of models, methods, and animal care. *Laboratory Animal Research.* 31(4):155–165, 2015.

Zola-Morgan S, Squire LR. Amnesia in monkeys after lesions of the mediodorsal nucleus of the thalamus. *Ann Neurol.* 17(6):558-64, 1985.

Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG, Suzuki WA. Lesions of perirhinal and parahippocampal cortex that spare the amygdala and hippocampal formation produce severe memory impairment. *J Neurosci.* 9(12):4355–4370, 1989.

Zola-Morgan S, Squire LR, Mishkin M. The neuroanatomy of amnesia: amygdala-hippocampus versus temporal stem. *Science.* 218(4579):1337-9, 1982.

Brasília, 23 de setembro de 2021.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"TESTE DE RECONHECIMENTO ESPONTÂNEO DE OBJETO COM SESSÕES CONTÍNUAS: UMA ANÁLISE COMPARATIVA EM PRIMATAS NEOTROPICAIS (*Sapajus spp.* e *Callithrix penicillata*) PARA O ESTUDO TRANSLACIONAL DA MEMÓRIA"**, SEI n.º 23106.051653/2020-26, sob responsabilidade da Professora Marília Barros, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.º 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 161ª reunião ordinária, realizada em 23/9/2021. Este projeto foi aprovado para utilização de *Sapajus spp.* (12 machos e fêmeas) e *Callithrix penicillata* (12 machos e fêmeas), com procedência do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília. O presente certificado é válido pelo período de 23/09/2021 a 23/9/2025.



Carina Krewer

Dra. Carina da Costa Krewer
Coordenadora da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.