

Tiago Siebert Altavini

**AVALIAÇÃO DA PERCEPÇÃO DE  
CORES EM MACACO-PREGO  
(*CEBUS LIBIDINOSUS*) PELO  
TESTE PSEUDOISOCROMÁTICO  
DE HRR (HARD, RAND E RITTLER)**

BRASÍLIA  
2009

Tiago Siebert Altavini

(ts.altavini@gmail.com)

**AVALIAÇÃO DA PERCEPÇÃO DE  
CORES EM MACACO-PREGO  
(*CEBUS LIBIDINOSUS*) PELO  
TESTE PSEUDOISOCROMÁTICO  
DE HRR (HARD, RAND E RITTLER)**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Instituto de Biologia da Universidade de  
Brasília, como requisito para obtenção do  
título de Mestre em Biologia Animal.

Prof. Dr. Valdir Filgueiras Pessoa

Orientador

BRASÍLIA

2009

Esta dissertação foi desenvolvida no Laboratório de Neurociências e Comportamento e Centro de Primatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Prof. Dr. Valdir Filgueiras Pessoa.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Valdir Filgueiras Pessoa, por ter me orientado durante todo o mestrado, e exemplificado de forma clara o que significa ser um mestre;

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Clotilde Henriques Tavares, pela presteza em resolver os assuntos relativos ao Centro de Primatologia;

Aos tratadores Geinaldo Vieira da Silva e Adão Pedro Nunes da Silva e aos médicos veterinários Raimundo Silva de Oliveira e Danilo Teixeira, pelos cuidados prestados aos sujeitos experimentais;

Aos alunos de graduação Cintia Carla da Silveira e Leonardo Dutra Henriques, pela ajuda na coleta dos dados;

Ao colega Antônio C. Araújo Júnior, pela troca de experiências e pela ajuda com a análise dos dados;

A Patrícia Grandizoli Saletti, por compartilhar o interesse e a paixão pelo o que fazemos. Sua companhia tem valor inestimável;

A minha família, por sempre apoiar minhas decisões em relação a minha escolha profissional;

Aos amigos de graduação, até hoje presentes e cuja presença e amizade sempre tornaram tudo mais divertido, em especial aos amigos Gabriel Batista de O. Borges, Marcelo de Moraes B. A. de Oliveira, Fábio Viegas Caixeta e Marcelo Ribeiro Moraes;

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

## RESUMO

A cor é uma experiência individual e subjetiva relacionada aos diferentes comprimentos de onda que compõe a luz. Para que a visão de cores seja possível deve haver pelo menos dois fotorreceptores envolvidos neste processo. A maioria dos mamíferos tem a percepção de cores mediada por dois fotorreceptores, sendo considerados então dicromatas. A maioria dos mamíferos tricromatas é de primatas, sendo que os primatas do Velho Mundo, os catarrinos, são tricromatas uniformes, incluindo o *Homo sapiens*. Os primatas do novo mundo possuem um polimorfismo de visão de cores ligado ao cromossomo sexual X. Os machos e as fêmeas homozigotas para o gene que codifica o fotopigmento presente na retina são dicromatas, as fêmeas heterozigotas são tricromatas. O estudo de visão de cores nos primatas é importante para a compreensão de vários aspectos da ecologia destes animais. A visão de cores influencia as técnicas de forrageio, a detecção de predadores e a seleção sexual entre outros aspectos do comportamento destes animais. Para classificar alguns indivíduos da espécie *Cebus libidinosus* quanto ao tipo de visão de cores utilizamos o teste pseudoisocromático de Hard, Rand e Rittler (HRR). O teste consiste em pranchas com uma matriz de círculos que variam em cor e brilho. Os círculos que formam o fundo de todas as pranchas são cinza e figuras formadas por círculos coloridos (um xis, X; um círculo, O ou um triângulo,  $\Delta$ ) podem ser discriminadas do fundo cinza. Seis indivíduos foram testados em seus cativeiros, no Centro de Primatologia da Fazenda Água Limpa – UnB. Os testes foram realizados sob iluminação natural sem que os sujeitos fossem privados de alimento ou água. Eram apresentadas duas pranchas, uma com figura e outra apenas com círculos cinza, sendo que a tarefa do indivíduo consistia em escolher a prancha com figura. Levando em conta a quantidade de acertos e em quais pranchas estes acertos

ocorreram, pudemos então determinar o tipo de visão de cores dos indivíduos testados. Utilizamos um limite de confiança de 95% sobre a aleatoriedade calculado por meio do teste binomial. Dois sujeitos foram classificados como dicromatas protan, três como deutan e uma fêmea como tricromata. Os resultados mostram que o teste HRR pode ser utilizado com sucesso para a classificação da visão de cores em primatas não humanos.

**Palavras-chave:** visão de cores, teste pseudoisocromático HRR, macaco-prego, platirrinos.

## ABSTRACT

Color vision is a psychological experience, not a physical property of objects and lights. The comparison of the signals generated by at least two photoreceptors is necessary for color vision to be possible. It is among primates we find most trichromatic mammals. Humans, as most Old World Monkeys, are usually trichromats and can see color by matching signals from three kinds of cones. Like most of Platyrrhine, *Cebus* have polymorphic color vision. All males and homozygous females for the M/L opsin-coding gene are dichromats, while heterozygous females can be trichromats. Understanding color vision is essential to fully comprehend primate foraging techniques, sexual selection and predator detection among other aspects of primate's life. HRR consists of plates with a matrix composed of gray circles, varying in size and brightness. Differently colored circles form a geometric shape (X, O or  $\Delta$ ), which is segregated from the gray pattern. The identification of these shapes (or not) determines the dichromatops kind. Six *Cebus libidinosus* were tested in their own cages under natural sunlight. The subjects had to choose between two HRR plates in each trial: one with the gray pattern and the other with a colored shape. The test was presented 40 times randomly and the 95% confidence limits around chance were calculated based on the binomial test. Two subjects were diagnosed as protan dichromats, three as deutan dichromats and one female as trichromat. Results show that the methodology used here can be applied to diagnose *C. libidinosus* color vision.

**Keywords:** color vision, HRR pseudoisochromatic test, capuchin-monkey, Platyrrhine.

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Capacidade de absorção de luz por um fotorreceptor	2
<b>Figura 2.</b> Capacidade de absorção de luz de dois fotorreceptores	3
<b>Figura 3.</b> Possíveis genótipos de visão de cores de platirrinos	7
<b>Figura 4.</b> Placas de testes pseudoisocromáticos	12
<b>Figura 5.</b> Pranchas 2, 17 e 19 do teste HRR	17
<b>Figura 6.</b> Aparato utilizado para apresentação do teste HRR	18
<b>Figura 7.</b> Etapas do procedimento de aplicação do teste HRR	19
<b>Figura 8.</b> Resultados da fase de treino do indivíduo Tábata	23
<b>Figura 9.</b> Resultados da fase de treino do indivíduo Noé	24
<b>Figura 10.</b> Resultados da fase de treino do indivíduo Ronalzinha	25
<b>Figura 11.</b> Resultados da fase de treino do indivíduo Belo	26
<b>Figura 12.</b> Resultados da fase de treino do indivíduo Talita	27
<b>Figura 13.</b> Resultados da fase de treino do indivíduo Kiko	28
<b>Figura 14.</b> Resultados da fase de teste do indivíduo Ronalzinha	29
<b>Figura 15.</b> Resultados da fase de teste do indivíduo Talita	29
<b>Figura 16.</b> Resultados da fase de teste do indivíduo Tábata	29
<b>Figura 17.</b> Resultados da fase de teste do indivíduo Noé	30
<b>Figura 18.</b> Resultados da fase de teste do indivíduo Kiko	30
<b>Figura 19.</b> Resultados da fase de teste do indivíduo Belo	30



## LISTA DE TABELAS

	Pág.
<b>Tabela 1.</b> Resumo das discriminações das pranchas de diagnóstico na fase de teste	31
<b>Tabela 2.</b> Comparação dos pigmentos do <i>Saimiri</i> com a visão de cores humana	34

# ÍNDICE

	Pág.
1. Introdução	1
1.1 Visão de cores em primatas	4
1.2 Fundamentos genéticos da visão de cores	5
1.3 Implicações ecológicas da visão de cores em primatas	7
1.4 Visão de cores no macaco-prego	9
1.5 O teste HRR	11
2. Objetivos	15
2.1 Objetivos gerais	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. Metodologia	16
3.1 Sujeitos	16
3.2 Aparato	16
3.3 Procedimento	19
3.4 Análise estatística	22
3.5 Comitê de ética	22
4. Resultados	23
5. Discussão	33
6. Referências	38
7. Anexo	45

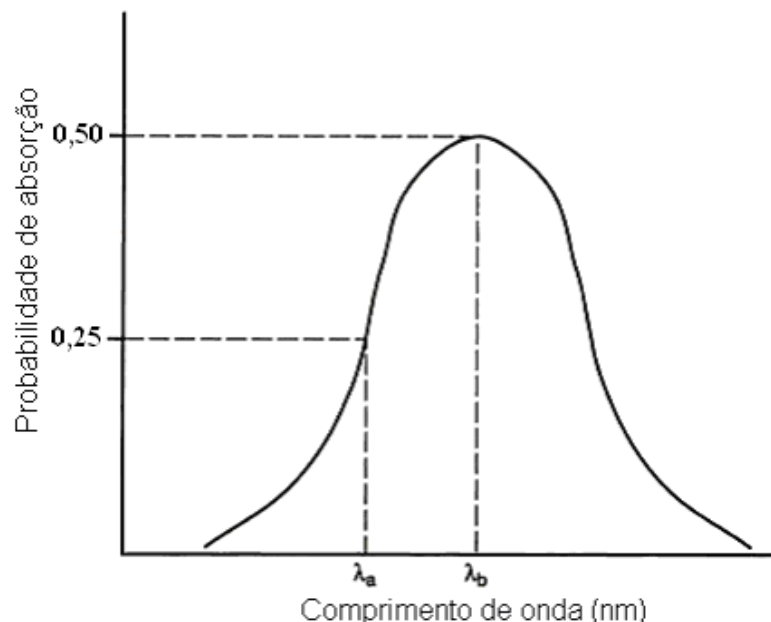
## 1. INTRODUÇÃO

Os objetos possuem a propriedade de refletir de forma diferenciada a luz que os ilumina, tornando possível a discriminação dos mesmos por meio da percepção de cores. Contudo, a cor é uma percepção subjetiva e individual dos diferentes comprimentos de onda da luz, e não uma propriedade intrínseca dos objetos (Palmer, 1999).

O interesse sobre os mecanismos envolvidos na percepção de cores foi intensificado após o famoso experimento de Isaac Newton (1642 – 1727), em que um feixe branco de luz era decomposto em um segundo feixe multicolorido por meio de um prisma de cristal. Mais tarde, o inglês Thomas Young (1773 – 1829) sugeriu que não seria possível a retina conter tantos fotorreceptores quanto o número de cores perceptíveis. Young sugeriu, então, que a vasta percepção de cores se daria pela combinação de três diferentes “partículas” receptoras na retina do olho (Lent, 2004).

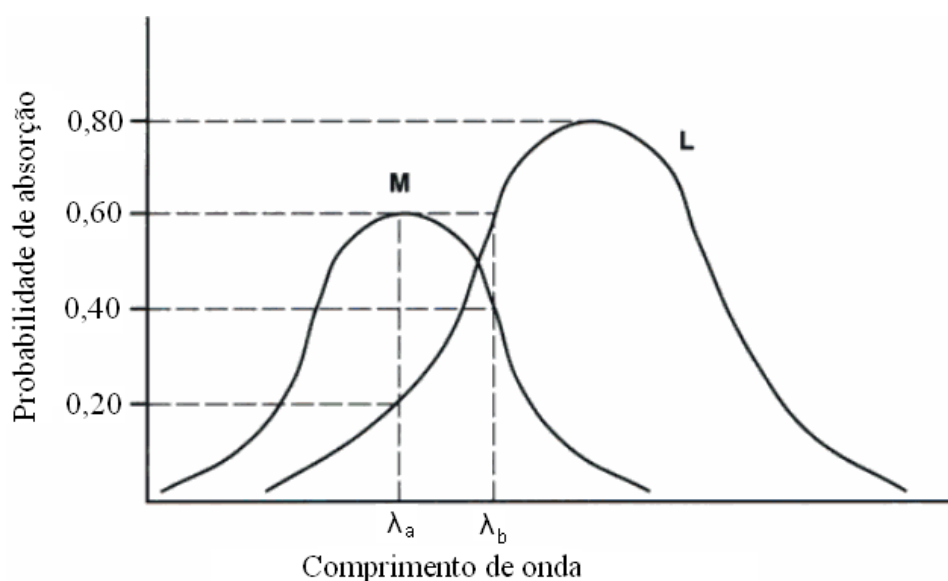
Hoje sabemos que, para possibilitar a visão de cores, um animal deve possuir pelo menos dois tipos diferentes de fotopigmentos na retina (situação conhecida como dicromacia). Os fotopigmentos dos cones são chamados de fotopsinas (compostos pela proteína opsina e pelo retinal 11-*cis*, componente sensível a luz) e os fotopigmentos dos bastonetes são chamados de rodopsinas. Esses diferentes pigmentos absorvem a luz com diferentes eficiências dependendo do comprimento de onda da luz, resultando em duas curvas de absorção, ou curvas espectrais. As duas curvas de absorção devem possuir então algum grau de sobreposição, para que o sinal gerado pelos fotorreceptores possa ser comparado e processado pelo sistema nervoso. Os picos das curvas de absorção dos cones humanos estão em 440 (cone S), 535 (cone M) e 560nm (cone L). (Gegenfurtner & Kiper, 2003).

Na Figura 1 temos um exemplo de uma situação onde há apenas uma curva espectral. Digamos que uma onda de comprimento  $\lambda_a$  tem 25% de probabilidade de ser absorvida e uma onda de comprimento  $\lambda_b$  tem 50% de probabilidade de ser absorvida. Se ambas incidirem sobre este sistema fotorreceptor com a mesma intensidade, poderão ser discriminadas pela diferença na capacidade de absorção do receptor (que resultará em uma percepção diferenciada de brilho). No entanto, se  $\lambda_a$  possuir o dobro da intensidade de  $\lambda_b$ , a quantidade de luz absorvida será igual e um sinal de mesma intensidade será gerado pelo receptor para ambos os comprimentos de onda. O potencial gerado pelo receptor contém informações unicamente relativas à quantidade de luz absorvida, sem informar ao sistema nervoso a natureza espectral do estímulo. Esta característica é conhecida como princípio da univariância (Schwartz, 2004). Portanto, quando há duas curvas espectrais de absorção, com certo grau de sobreposição, a visão de cores se torna possível (Figura 2). Neste caso,



**Figura 1.** Capacidade de absorção de luz por um fotorreceptor para dois comprimentos de onda (adaptado de Schwartz, 2004)

cada fotorreceptor irá gerar um sinal de diferente intensidade para o mesmo comprimento de onda. A luz de comprimento  $\lambda_a$ , por exemplo, será absorvida com 60% de eficiência pelo cone M e 20 % pelo cone L. A percepção de cores depende então da comparação destes sinais (Schwartz, 2004).



**Figura 2.** Capacidade de absorção de luz de dois fotorreceptores (M e L) para dois comprimentos de onda. (adaptado de Schwartz, 2004)

Basicamente, o papel dos cones como fotorreceptores é realizar a transdução da energia eletromagnética (a luz) para uma corrente elétrica (Jindrova, 1998). Essa corrente elétrica será transmitida por uma rede de células retinianas (células bipolares, horizontais e amácrinas) e será transformada em potenciais de ação nas células ganglionares. Os potenciais de ação das vias visuais percorrem o núcleo geniculado lateral rumo ao córtex visual. O núcleo geniculado lateral possui três canais separados de otonência cromática que serão combinados no córtex visual permitindo a percepção de cores. A visão de cores,

embora desperte a atividade de áreas corticais bem específicas, é resultado da atividade combinada de neurônios de diferentes áreas. A percepção de cores, portanto, não depende unicamente da existência de dois ou mais fotorreceptores, mas também da existência de um circuito neural adequado para o processamento dos potenciais gerados por estes receptores (Kelber *et al.*, 2003). Portanto, estudos comportamentais são de fundamental importância quando se deseja fazer alguma afirmativa quanto ao tipo de visão de cores de uma determinada espécie, pois avaliam o sistema como um todo, da recepção do estímulo até a percepção.

Um exemplo da importância da abordagem comportamental é encontrado nos experimentos de Jacobs e colaboradores (1999) em camundongos, animais que são normalmente dicromatas. Estes pesquisadores produziram camundongos transgênicos, que expressavam três diferentes opsinas, e que, pelo teste de eletrorretinografia, eram tidos como tricromatas. Quando submetidos a testes comportamentais, no entanto, o diagnóstico era de dicromacia. Uma continuação do estudo (Jacobs *et al.*, 2007) revelou a presença de tricromacia em camundongos transgênicos, e, novamente, o teste comportamental foi utilizado para averiguação final. Recentemente, um mico-de-cheiro (*Saimiri sciureus*) dicromata adulto foi submetido à terapia gênica para expressar uma terceira opsina nos cones da retina (Mancuso *et al.*, 2009). Além de exames fisiológicos para determinar a expressão da opsina em questão, os indivíduos foram submetidos a testes comportamentais para confirmar se havia processamento neural do novo sinal captado. O resultado foi positivo e os indivíduos antes caracterizados como dicromatas passaram a ser tricromatas.

### *1.1 - Visão de cores em primatas*

A maior parte dos mamíferos é dicromata, ocorrendo tricromatismo entre os primatas (Jacobs, 1993; Jacobs & Rowe, 2004). O grupo dos catarrinos (primatas do Velho Mundo) é formado essencialmente de tricromatas (Toveé, 1994; Kremers *et al.*, 1999). Já os platirrinos (primatas do Novo Mundo, entre eles o gênero *Cebus*) possuem um polimorfismo de visão de cores, ligado ao cromossomo sexual. Existem duas exceções conhecidas para este polimorfismo, o gênero *Alouatta*, que possui tricromacia uniforme, semelhante a dos catarrinos (Jacobs *et al.*, 1996; Regan *et al.*, 1998 e Araújo *et al.*, 2008) e o *Aotus*, possivelmente um monocromata (Jacobs *et al.*, 1993).

O estudo de visão de cores em primatas é de grande interesse para a compreensão das relações sociais entre populações da mesma espécie, entre diferentes espécies de primatas e entre primatas e outros grupos de animais (principalmente nas relações de predação). Também é importante para compreender as técnicas de forrageio utilizadas por este grupo, visto que a seleção natural favoreceu a visão como principal meio de percepção do ambiente para os primatas (em detrimento de outros sistemas sensoriais) (Fleagle, 1999).

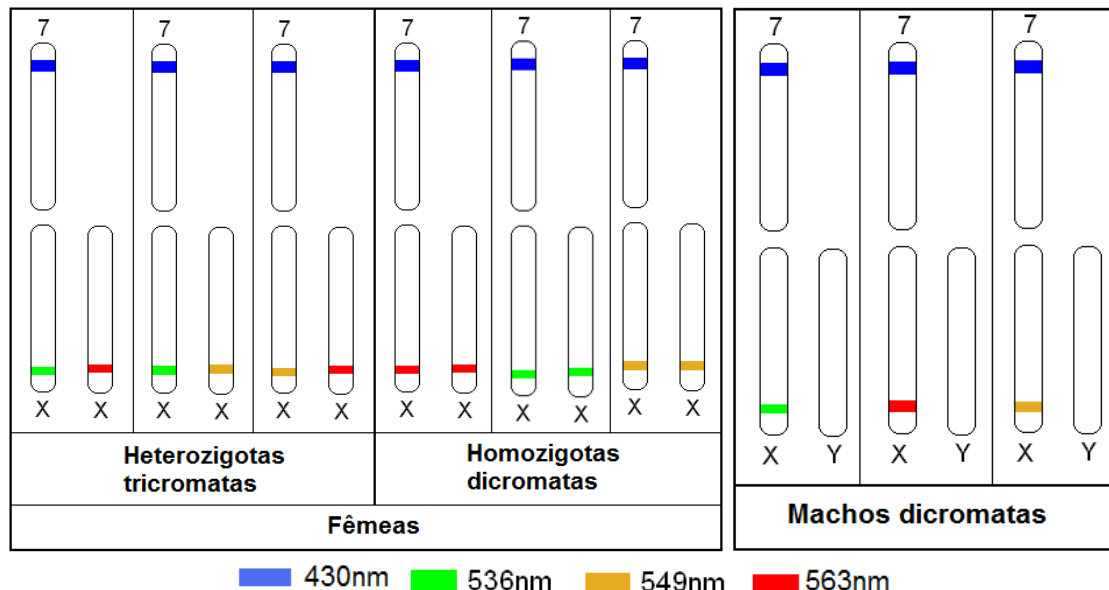
### *1.2 - Fundamentos genéticos da visão de cores*

Os tricromatas possuem três *loci* para genes que produzem opsinas, um no cromossomo autossômico sete e outros dois no cromossomo sexual X, sendo que no caso dos catarrinos existe apenas um alelo que pode ocupar cada *locus* (Jacobs & Deegan II, 1999). Entre os humanos, os dicromatas são popularmente conhecidos como daltônicos e possuem apenas um alelo, repetido nos dois *loci* do cromossomo X, para expressão de opsinas. Por este motivo a dicromacia é mais comum em homens (que possuem apenas um cromossomo X) do que em mulheres (que possuem dois cromossomos X) (Nathans *et al.*, 1986). Os dicromatas humanos são classificados em três tipos: protanopos, deuteranopos e

tritanopos, caracterizados pela ausência do cone L, M e S, respectivamente (Palmer, 1999). Existe ainda a situação onde os genes M e L podem gerar híbridos, por *crossing over* desigual durante a meiose, substituição de seqüências correspondentes de nucleotídeos, recombinação intragênica ou perda de bases (Deeb, 2004 e Sharpe *et al.*, 1999). As opsinas sintetizadas a partir destes genes híbridos podem ter seus picos espectrais deslocados (Hiramatsu *et al.*, 2004 e Toveé, 1994). Caso os picos espectrais, que possuem uma distância de 30nm em um tricromata, estejam a menos de 4nm de distância, o indivíduo, embora seja tricromata, terá a percepção de cores típica de um dicromata. Caso a distância fique entre 15 e 4nm o indivíduo poderá ser caracterizado como um tricromata anômalo. (Toveé, 1994 e Neitz & Neitz, 1998). Os tricromatas anômalos podem ser classificados como protanômalos ou deuteranômalos.

A polimorfia de visão de cores dos platirrinos ocorre quando existem apenas dois *loci* para produção de opsinas e mais de um alelo que pode ocupar o *locus* do cromossomo sexual. O gene do cromossomo autossômico sete produz a opsina S (S de “short”, que absorve luz, preferencialmente, na faixa de  $\lambda$  curto do espectro). O gene do cromossomo sexual X pode ser representado por três alelos (no caso dos *Cebus*), que produzem opsinas na faixa M/L (M de “Medium” e L de “Large”) com picos de absorção de luz em 536nm, 549nm e 563nm (Jacobs & Deegan II, 2003). A regra geral, portanto, é de que as fêmeas homocigotas para o gene das opsinas M/L e todos os machos são dicromatas, enquanto que as fêmeas heterocigotas para as opsinas M/L são tricromatas (Figura 3).





**Figura 3.** Possíveis genótipos de visão de cores de platirrinos. Cada cor representa um alelo responsável pela síntese de uma diferente opsina.

### 1.3 - Implicações ecológicas da visão de cores em primatas

O polimorfismo de visão de cores parece ter sido a situação ancestral à tricromacia uniforme dos catarrinos (Jacobs, 2008). Com o intuito de explicar a permanência desta situação de polimorfismo nos platirrinos, os pesquisadores têm procurado analisar as vantagens de cada fenótipo para situações específicas. Os primeiros esforços nesse sentido foram relativos à situação de forrageio. Existem duas correntes que tentam explicar as vantagens dos fenótipos tricromatas, uma pela frugivoria e outra pela folivoria. A frugivoria defende que a visão tricromata evoluiu para possibilitar a detecção de frutos maduros em meio à folhagem, já que provavelmente a dieta dos primatas ancestrais era constituída por um grande número de frutos, como ocorre com a maioria dos primatas diurnos atuais (Regan *et al.*, 2001). Já a folivoria sugere que a tricromacia surgiu para possibilitar a segregação das folhas novas contra um ambiente de folhas maduras (Dominy e Lucas,

2001), uma vez que observações sugerem que os primatas geralmente consomem as folhas jovens, menos fibrosas e mais protéicas (Lucas *et al.*, 1998)

Na tentativa de embasar as hipóteses de folivoria e frugivoria, procurou-se então avaliar a diferença no sucesso de reconhecimento de itens forrageados entre machos e fêmeas (lembrando que apenas as fêmeas podem ser tricromatas). Experimentos com *Cebus capucinus* (Vogel *et al.*, 2007), *Saguinus imperator imperator* e *Saguinus fuscicollis weddelli* (Dominy *et al.*, 2003) concluíram não haver diferença no sucesso de aquisição de frutos entre machos e fêmeas quando guiados pela pista de coloração. Em um estudo recente, Melin e colaboradores (2008) demonstraram não haver divergência de nicho de forrageamento, quanto ao tempo investido na procura de alimento, entre *Cebus capucinus* dicromatas e tricromatas.

Uma procura pelas vantagens da dicromacia também foi estabelecida. Os dicromatas podem, por exemplo, ter mais facilidade em discriminar objetos camuflados pela cor (Saito *et al.*, 2005), já que poderiam utilizar outras pistas, como brilho, textura e forma (Morgan *et al.*, 1992). Assim, insetos crípticos podem ser avistados primeiramente pelos dicromatas, especialmente em condições de baixa luminosidade (Melin *et al.*, 2007).

Outro aspecto que pode ter influenciado as pressões seletivas na evolução da visão de cores dos platirrinos é a seleção sexual. Segundo Charles Darwin, quando machos e fêmeas coespecíficos escolhem um parceiro e/ou competem pela escolha de potenciais parceiros para reprodução, está sendo construído um processo de seleção sexual naquela espécie (Alcock, 1984). Fêmeas da espécie *Macaca mulatta*, por exemplo, ficam mais atentas a machos com a face avermelhada quando comparados com machos de face mais pálida (Waite *et al.*, 2003). Sabe-se que machos podem variar o grau de coloração da pele de acordo com a taxa de testosterona, e que a testosterona possui efeitos imunossupressores

(Folstad & Karter, 1992). Portanto, apenas machos em boas condições de saúde podem manter uma coloração avermelhada. A coloração da pele pode, então, servir como pista para a escolha das fêmeas por um bom parceiro sexual (Waitt *et al.*, 2003).

A coloração das fêmeas pode também influenciar a seleção sexual. Mudanças na coloração da pele da genitália de fêmeas de várias espécies de primatas podem ser reguladas pelos hormônios estrogênicos (Czaja *et al.*, 1977). O estrógeno atua no sentido de aumentar a vascularização sob a superfície da pele, que passa a apresentar uma coloração rosa avermelhada (Dixson, 1998). Waitt e colaboradores (2006) observaram que machos da espécie *Macaca mulatta* apresentaram preferência por imagens da região genital de fêmeas quando estas apresentavam uma coloração mais avermelhada. Outro estudo, realizado na mesma espécie, evidenciou que fêmeas prestam mais atenção em outras fêmeas quando estas apresentavam genitália e face avermelhadas, e que isto poderia servir como pista visual de período reprodutivo (Gerald *et al.*, 2007).

Além da seleção sexual, ainda restam vários aspectos da vida dos platirrinos a serem estudados e que podem envolver visão de cores. Sumner e Mollon (2003) sugerem alguns aspectos, como visibilidade para outros membros do grupo, conspicuidade dos indivíduos infantes e visibilidade para outros grupos. Pode existir diferença ainda no sucesso de detecção de certos predadores entre os fenótipos de platirrinos.

#### *1.4 - Visão de cores no macaco-prego*

O gênero *Cebus* foi utilizado desde o início do estudo de visão de cores com platirrinos, quando Walter F. Grether determinou, com um teste discriminativo em laboratório, que dois indivíduos deste gênero possuíam visão de cores semelhante a um humano daltônico (Grether, 1939 *apud* Jacobs, 2007). No estudo de Grether, ainda, foi

identificado que uma fêmea do gênero *Ateles* respondeu ao mesmo teste de forma semelhante a um humano com visão de cores normal, ou seja, um tricromata. Estes resultados curiosos estimularam pesquisas com metodologias diferentes ao longo dos anos e hoje o gênero *Cebus* é um dos mais estudados na área de visão de cores de platirrinos.

Para citar algumas destas metodologias, temos estudos de eletrorretinografia (Jacobs & Neitz, 1987a), genéticos (Saito *et al.*, 2005b) e comportamentais (Gomes *et al.*, 2002) que evidenciam que o macaco-prego, assim como a maioria dos primatas neotropicais, possui um polimorfismo na visão de cores com três possíveis alelos para o gene que codifica a opsina M/L. Desta maneira, entre machos e fêmeas da espécie *Cebus apella* podemos encontrar seis fenótipos diferentes de visão de cores (Saito *et al.*, 2005a).

Embora a maioria destes estudos tenha sido feita com a espécie *Cebus apella*, é razoável considerá-los quando tratamos também da espécie *Cebus libidinosus*, já que não encontramos na literatura sobre visão de cores resultados significativamente diferentes para espécies do mesmo gênero. Além disso, a nomenclatura que utilizamos é a proposta por Rylands e colaboradores (2005). Segundo este estudo, a espécie de *Cebus* que ocorre no Cerrado, e até então reconhecida como *Cebus apella* na literatura, se trata na verdade de *Cebus libidinosus*.

Importantes estudos também já foram realizados no sentido de se caracterizar a morfologia e funcionamento eletrofisiológico da retina e dos mecanismos pós-receptores do macaco-prego. A retina do *Cebus* é especialmente interessante, pois se assemelha mais a retina do *Macaca fascicularis* do que a retina de *Callithrix jacchus* (outro platirrino frequentemente estudado) (Silveira *et al.*, 1998). As comparações de estrutura da retina e funcionamento das células ganglionares do *Cebus* forneceram uma contribuição valiosa no entendimento da evolução de visão de cores nos primatas. Ao que tudo indica, o arranjo de

células ganglionares que encontramos no *Cebus*, e que também se assemelha bastante ao arranjo encontrado no gênero *Macaca*, já estava presente no ancestral comum entre platirrinos e catarrinos (Silveira *et al.*, 2004).

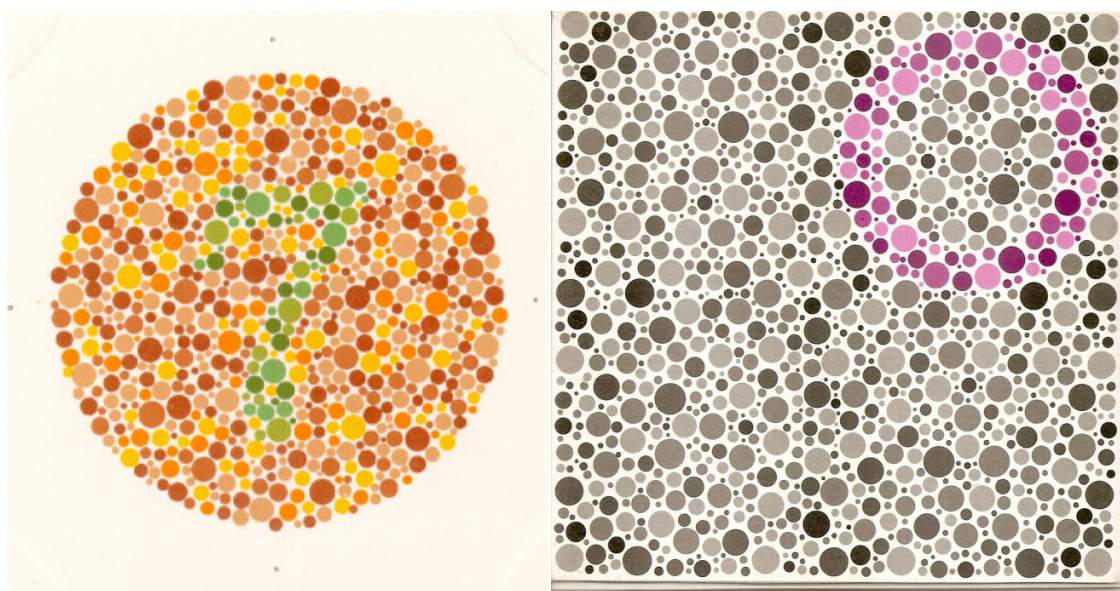
Além dos inúmeros estudos envolvendo visão de cores, o macaco-prego é conhecido por possuir capacidade de memória operacional comparável a do gênero *Macaca* (Tavares & Tomaz 2002), um gênero do grupo dos catarrinos extensamente utilizado em pesquisas de cognição, memória e neurociências de forma geral. Outra vantagem da utilização do gênero *Cebus* é sua ampla distribuição geográfica, que se estende por todo o território brasileiro (o que indica grande capacidade adaptativa) (Janson & Boinski 1992).

Somando todo este histórico de pesquisa de visão de cores com o *Cebus*, sua capacidade de aprendizagem e significância quanto a sua adaptabilidade para ocupar diferentes ambientes, o resultado é que temos em mãos a espécie ideal para avaliarmos a possibilidade de se aplicar o teste de visão de cores Hard, Rand e Rittler (HRR).

### *1.5 - O teste HRR*

Os testes pseudoisocromáticos consistem normalmente em placas com pontos ou manchas coloridas. Estes pontos são distribuídos de forma a permitir a discriminação de uma figura por parte de indivíduos com visão de cores normal, mas impedem tal discriminação por parte de indivíduos portadores de alguma discromatopsia. O teste mais conhecido deste tipo é o Ishihara (Birch, 1993). O teste Ishihara foi considerado por muito tempo como o teste pseudoisocromático mais eficiente disponível (Birch *et al.*, 1979). Hoje, já existem pesquisadores que defendem que a quarta edição do teste HRR superou a eficiência do Ishihara (Cole *et al.*, 2006). De qualquer forma, o teste HRR se mostrou mais viável para o estudo presente por sua natureza mais simples que o teste Ishihara. Enquanto

as placas de Ishihara apresentam uma grande variação de cores de fundo e figuras como números e traçados complexos sendo segregados do fundo, as placas de HRR apresentam figuras geométricas simples (triângulos, círculos e a letra X) sobre um fundo de círculos cinza (Birch *et al.*, 1979) (Figura 4). Imaginamos então que seria mais fácil para os animais associarem uma recompensa às formas simples do HRR do que aos complicados números do Ishihara.



**Figura 4.** Placas de testes pseudoisocromáticos. Placa do teste Ishihara (a esquerda) e do teste HRR (a direita)

O teste HRR foi criado em 1954 por LeGrand Hardy, Gertrude Rand e M. Catherine Rittler (daí o nome “HRR”, Hardy, Rand e Rittler). O teste já foi revisado e aperfeiçoado várias vezes, sendo a quarta versão a mais atual (Neitz *et al.* 2002). As quatro edições do teste HRR foram analisadas com medidas espectrofotométricas e comparadas (Dain 2004). Constatou-se que a quarta edição é a que mais se aproxima daquela publicada em 1954. A quarta edição do teste HRR também foi comparada com a edição original quanto à precisão do diagnóstico fornecido (Bailey *et al.* 2005), onde se concluiu que a quarta edição era mais

eficiente (como controle foi utilizado um anomaloscópio, que consiste no pareamento de uma luz monocromática com outra luz formada por dois picos espectrais). A edição original, de 1954, ainda é considerada como a melhor das três primeiras. Também foi feita uma avaliação importante do HRR sob diferentes iluminantes. Baseando-se em medidas espectrofotométrais das pranchas sob diferentes iluminantes, desde lâmpadas que imitam a luz natural do sol até vários tipos de lâmpadas fluorescentes, constatou-se que estes iluminantes pouco influenciariam os resultados do teste, especialmente para a faixa verde-vermelho da quarta edição do teste HRR (Dain 2006).

O teste HRR oferece como estímulo, ao indivíduo testado, uma cena com variação aleatória de brilho, que, somada às condições de iluminação natural do teste, consiste em uma situação que se aproxima mais da realidade natural vivida pela espécie estudada, quando comparada a estudos realizados com luzes monocromáticas (Jacobs & Neitz, 1987b). Portanto, testes pseudoisocromáticos são de extremo interesse para testes comportamentais com primatas (Mollon, 1989). Apesar disso, não se encontram citações na literatura sobre o uso do HRR em primatas não-humanos.

O HRR possui ainda uma vantagem em relação aos testes comportamentais realizados com o pareamento de papéis de Munsell (Gomes *et al.*, 2002; Pessoa *et al.*, 2005 e Araújo Jr. *et al.*, 2008). Tanto o teste HRR quanto o teste com pareamento de papéis de Munsell permitem a diferenciação entre indivíduos tricromatas e dicromatas, e a classificação dos dicromatas em uma de duas categorias: protan ou deutan. Para a classificação do tipo de dicromacia, no entanto, o procedimento pelos papéis de Munsell requer um grande número de pareamentos (Prado, 2008), enquanto a classificação pelo teste HRR acontece de forma mais rápida e simples.

Os termos protan e deutan foram criados para o diagnóstico humano. Um indivíduo classificado como protan possui uma deficiência na discriminação de cores de onda longa (L) enquanto o indivíduo deutan possui uma deficiência de discriminação para as ondas de comprimento médio (M). Esta deficiência pode ser decorrente da ausência do cone em questão ou da produção de um cone anômalo. Existe ainda uma gradação de severidade dentro destas duas classificações. O indivíduo pode ser classificado como protan ou deutan suave, médio ou severo. Bailey e colaboradores (2005) encontraram uma relação entre os indivíduos classificados como portadores de discromatopsia severa pelo HRR e como dicromatas pelo anomaloscópio.



## **2. OBJETIVOS**

### *2.1 - Objetivos gerais*

- Estabelecer um protocolo de aplicação do teste HRR para utilização no gênero *Cebus* que forneça um diagnóstico da visão de cores de cada indivíduo

### *2.2 - Objetivos específicos*

- Avaliar o padrão da visão de cores da espécie *Cebus libidinosus* por meio do teste HRR

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 - Sujeitos

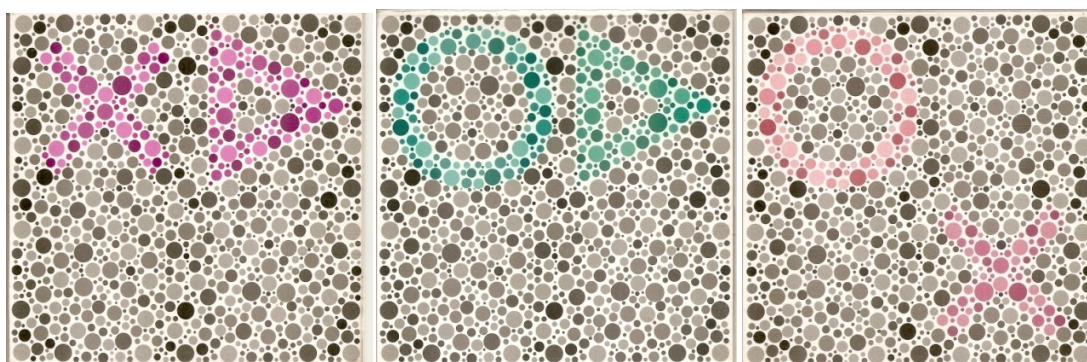
Seis indivíduos adultos da espécie *Cebus libidinosus* foram utilizados, sendo três fêmeas (Ronaldinha, Tábata e Talita) e três machos (Kiko, Noé e Belo). Estes animais são mantidos em cativeiro (2,5m x 2,0m x 4,0m; altura, largura e profundidade, respectivamente) no Centro de Primatologia da Fazenda Água Limpa – UnB, em grupos de pelo menos dois, e alimentados uma vez por dia, entre 6h e 7h, com alimentos que variam entre frutas frescas, legumes, raízes, ração e complementos vitamínicos. A água era fornecida *ad libitum* e os animais não foram privados de água ou alimento antes, durante ou após os experimentos.

Dentre os indivíduos estudados, Ronaldinha e Noé possuíam experiência anterior com testes de memória, discriminação de cores e ilusões visuais. Ronaldinha foi sujeito de trabalhos envolvendo discriminação seqüencial concorrente e teste de memória operacional (DNMTS) (Coutinho, 2003), percepção de cores (Gomes *et al.*, 2002), ilusões visuais (Suganuma *et al.*, 2007) e em estudo de correlação entre hormônio sexual e memória emocional (Abreu, 2006). O indivíduo Noé participou de testes de memória operacional (Tavares & Tomaz 2002), discriminação seqüencial concorrente (Coutinho, 2003), percepção de cores (Gomes *et al.* 2002) e ilusões visuais (Suganuma *et al.*, 2007).

#### 3.2 - Aparato

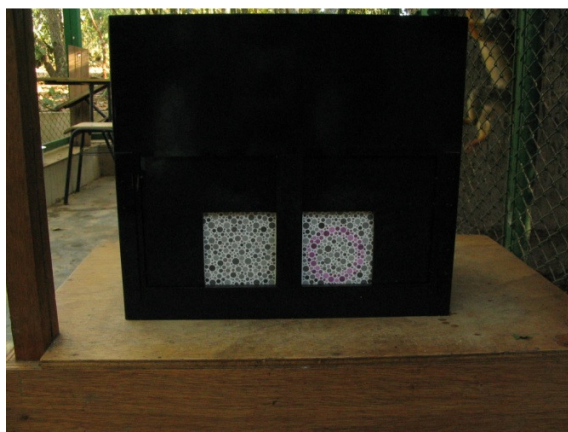
O teste HRR consiste em pranchas com uma matriz de círculos que variam em cor e brilho. Os círculos que formam o fundo de todas as pranchas são cinza. As figuras são formadas por círculos coloridos e podem formar um xis (X) um círculo (O) ou um triângulo

( $\Delta$ ) (Figura 5). O teste pode ser adquirido em um único volume que contém 23 pranchas ou em dois volumes separados, um para diagnosticar discromatopsias na faixa do azul-amarelo (pranchas 01, 04 e de 21 a 24, totalizando 6 pranchas) e outro para a faixa do verde-vermelho (pranchas 0, 2, 3 e de 07 a 20, totalizando 17 pranchas).



**Figura 5.** Pranchas 2, 17 e 19 do teste HRR.

No treino e no teste, as pranchas com figuras coloridas formam o estímulo positivo (SD+), ou seja, aquele que estava relacionado à recompensa. Como recompensa era utilizada meia uva passa (para os sujeitos Ronaldinha e Kiko) e 1/8 de uva verde do tipo *Thompson* (para o restante dos sujeitos). A prancha com apenas círculos cinzas formava o estímulo negativo (SD-). As pranchas foram mantidas dentro de um envelope de acrílico (1mm de espessura) como proteção à manipulação direta. Uma versão modificada do *Winsconsin General Test Apparatus* confeccionada em acrílico preto foi utilizada para demonstração das pranchas, de forma que apenas uma figura fosse apresentada por vez. Este aparato consiste de uma caixa (30cm x 25cm x 20cm) com duas janelas basculantes, onde as pranchas eram encaixadas (Figura 6). Quando o indivíduo sendo testado visualizava o estímulo, empurrava a janela e ganhava a recompensa através dela.

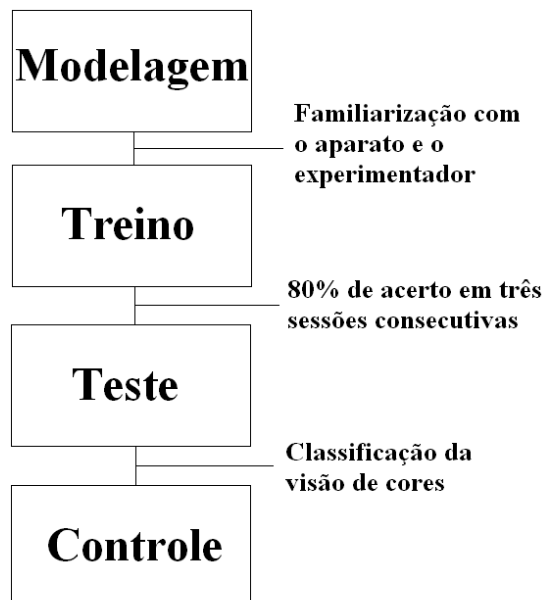


**Figura 6.** Aparato utilizado para apresentação do teste HRR. Acima a visão frontal, abaixo o aparato em frente ao viveiro na perspectiva do experimentador (esquerda) e em uma visão lateral (direita).

O aparato foi posicionado sobre uma pequena mesa de madeira (60cm de altura), com um anteparo que possibilitou ao experimentador encaixar as pranchas sem que o indivíduo pudesse vê-las. A mesa, com o aparato, foi colocada em frente ao viveiro, de forma que o indivíduo pudesse alcançar o envelope de acrílico contendo a figura através da grade que limita o viveiro. Os indivíduos observavam o estímulo a uma distância que ficava entre 25cm e 30cm, aproximadamente, sendo utilizada sempre a distância mínima para que os animais pudessem tocar as janelas do aparato. Esta distância variava, portanto, de acordo com o comprimento do braço de cada sujeito.

### 3.3 - Procedimento

O protocolo foi dividido em quatro partes: modelagem (aprendizado do funcionamento do aparato), treino (associação do SD+ ao reforço), teste (diagnóstico da visão de cores) e controle (eliminação de pistas adicionais) (Figura 7). Os procedimentos foram realizados entre 8h00min e 11h00min de março de 2008 a março de 2009 e entre 12h00min e 15h00min a partir de março a outubro de 2009. Esta mudança no horário ocorreu por motivo de manejo dos experimentos no Centro de Primatologia.



**Figura 7.** Etapas do procedimento de aplicação do teste HRR no macaco-prego

Na fase de modelagem era permitido aos indivíduos manipular o aparato sem restrições. Assim, na primeira sessão não eram utilizadas pranchas de HRR, sendo o reforço visualizado através das aberturas do aparato. Na segunda sessão, as pranchas 2 e 3 do HRR eram colocadas no aparato. As portas eram mantidas abertas no início da sessão e foram gradualmente fechadas ao passar das tentativas, de modo que no final da sessão o indivíduo

já não visualizasse o reforço, mas apenas as figuras apresentadas. A fase de modelagem terminava quando o indivíduo abria as portas do aparato sem visualizar o reforço. Nesta fase foram apresentadas figuras das pranchas 2 e 3 (cujas figuras são facilmente visualizadas até mesmo por humanos diagnosticados com discromatopsias severas pelo teste HRR) simultaneamente e o reforço era colocado em ambos os lados do aparato.

Na fase de treino são apresentadas as pranchas 2, 3 e 0. A prancha 0 é o SD-, que não possui figuras. As figuras das pranchas 2 e 3 são então apresentadas de forma variada entre as posições esquerda e direita, seguindo uma versão modificada da tabela de Gellerman para números aleatórios (Gellerman, 1933). Atrás da prancha com figura sempre estava o reforço, e no lado oposto ao da figura, sempre era apresentada a prancha 0. As sessões de treino seguiam por uma hora ou até que o indivíduo realizasse 53 tentativas. Com o início da fase de treino por parte de alguns sujeitos, foi identificada uma preferência de posição de estímulo em alguns casos. Essa preferência consiste em um sujeito escolher uma das janelas do aparato (entre a esquerda e a direita) por um número de vezes maior do que o esperado de forma aleatória e insistir neste comportamento ao longo das sessões. Esse comportamento prejudica o aprendizado discriminativo uma vez que o indivíduo parece ignorar as mudanças no estímulo apresentado. Isto pode ser um sinal de que o indivíduo está satisfeito com a quantidade limitada de recompensa que consegue desta forma. O que propomos para eliminar essa preferência é um sistema de correção, onde as tentativas em que o sujeito escolhe a janela com o SD- sejam repetidas, até que o sujeito mude sua escolha para o SD+.

Para atingir a fase de teste, o indivíduo deve obter 80% de acerto (escolha do SD+) em três sessões consecutivas de treino, com 53 tentativas cada. No teste foram utilizadas as pranchas de 1 a 3 (demonstração) de 7 a 10 (averiguação de discromatopsias na faixa M-L,

também chamadas de pranchas de *screening*) e de 11 a 20 (diagnóstico), num total de 27 figuras (algumas pranchas possuem mais de uma figura). As pranchas de diagnóstico são divididas entre pranchas que podem ser discriminadas por indivíduos protan (indivíduos cujos cones para absorção de luz no comprimento longo estão ausentes ou absorvem com um pico espectral muito próximo do médio) e pranchas que podem ser discriminadas por indivíduos deutan (cones para absorção de comprimentos de onda médio da luz ausentes ou com pico espectral muito próximo ao pico espectral dos cones para absorção de luz no comprimento de onda longo). A severidade da discromatopsia é interpretada de acordo com a prancha em que o indivíduo comete o último erro.

Em cada sessão de teste as 27 figuras são apresentadas duas vezes, com um total de 54 tentativas por sessão. O teste é completado com 20 sessões, somando 40 apresentações do HRR. No início de cada sessão de teste é feita uma avaliação prévia do desempenho do indivíduo naquele dia em específico, da seguinte forma: são realizadas dez tentativas com as pranchas 0, 2 e 3 e somente demos seqüência com o teste caso o indivíduo consiga nove acertos.

Na fase de controle foram apresentados estímulos negativos em ambos os lados do aparato e colocado reforço em apenas um lado (que variava aleatoriamente). O desempenho esperado para esta fase é o aleatório, já que não existe pista visual que indique ao indivíduo testado de que lado está o reforço. Esta fase é utilizada para identificar outras pistas que possam influenciar o experimento (como pista olfativa). Foram realizadas 53 tentativas de controle em apenas uma sessão.

### 3.4 - Análise estatística

Para análise dos dados, utilizamos um limite superior de confiança de 95% para um desempenho aleatório, calculado por meio do teste binomial (Gomes *et al.*, 2002; Pessoa *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2008). Levando em conta que a probabilidade de acerto caso o animal responda de forma aleatória é 0,5; para as 53 tentativas de treino o limite superior calculado foi de 64,15%, ou 34 acertos, e o inferior 35,85%, ou 19 acertos. Para as 40 tentativas do teste (40 apresentações de cada prancha) o limite superior é 67,5% (27 acertos) e o inferior 32,5% (13 acertos). Isso significa que considerando X o número de acertos do sujeito testado, na fase de treino um  $X \geq 34$  ou  $X \leq 19$  representaria um valor de  $P < 0,025$ . Na fase de teste um  $X \geq 27$  ou  $X \leq 13$  também representaria um valor de  $P < 0,025$  (Gonick e Smith, 1993). Como o limite de confiança utilizado foi de 95%, um valor de P menor que 0,025 sugere que o desempenho do animal não se deu de forma aleatória. Não foram utilizados *softwares* específicos para realização dos testes estatísticos.

### 3.5 - Comitê de Ética

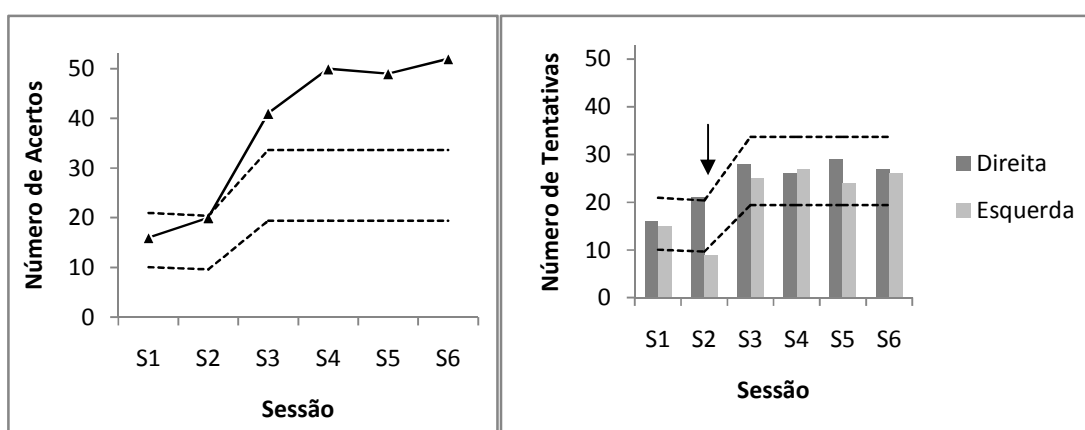
O protocolo foi submetido ao Conselho de Ética no Uso Animal (CEUA) e aprovado, conforme consta em declaração anexa.



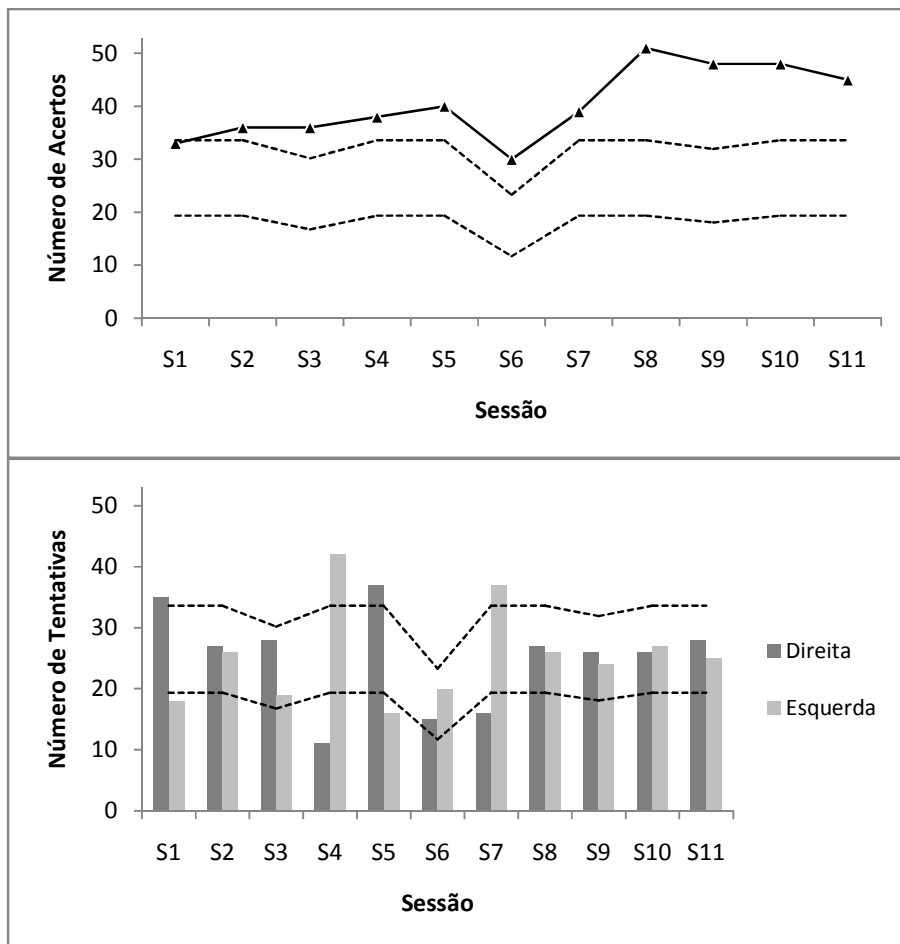
#### 4. RESULTADOS

Os seis indivíduos executaram as quatro fases do protocolo de aplicação do teste HRR com sucesso. A quantidade de sessões necessárias para atingir o critério de 80% de acertos variou pouco entre os indivíduos. O sujeito que apresentou aprendizado mais rápido foi Tábata (seis sessões), seguida de Noé e Ronaldinha (11 sessões de treino cada), Belo (13 sessões), Talita (14 sessões) e Kiko com 16 sessões (Figuras de 8 a 13).

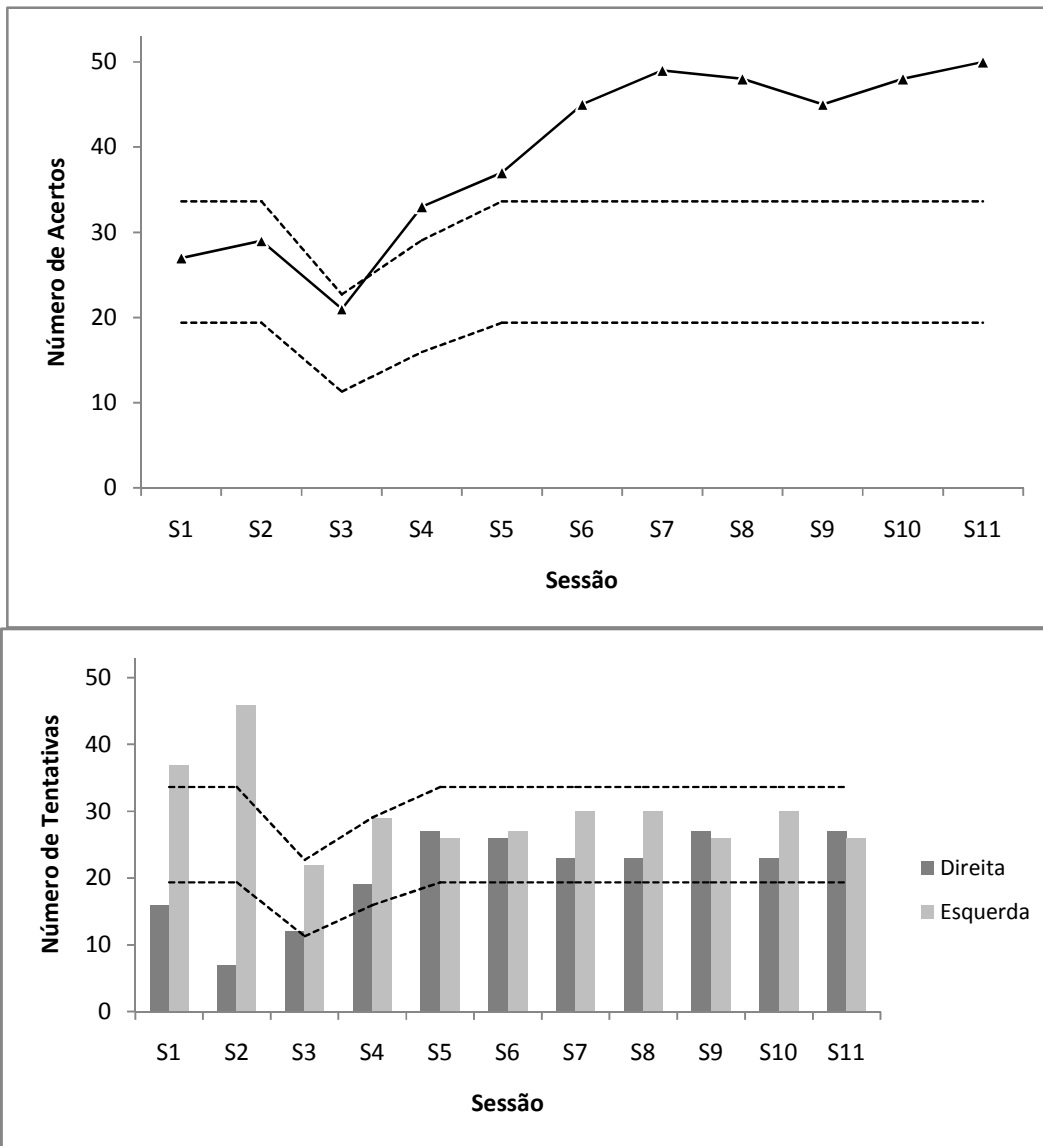
A preferência pela posição do estímulo mostrou-se presente em pelo menos uma sessão de treino para todos os indivíduos. A prática de correção não foi aplicada aos sujeitos Ronaldinha e Noé. Estes estão entre os primeiros animais a realizarem a fase de treino e a idéia de aplicar a correção surgiu somente após estes sujeitos terminarem a fase. O sujeito Kiko passou a ser corrigido a partir de sua 11ª sessão de treino, Belo a partir da 5ª sessão, Talita a partir da 7ª sessão e Tábata a partir da 2ª sessão (Fig. de 1 a 6).



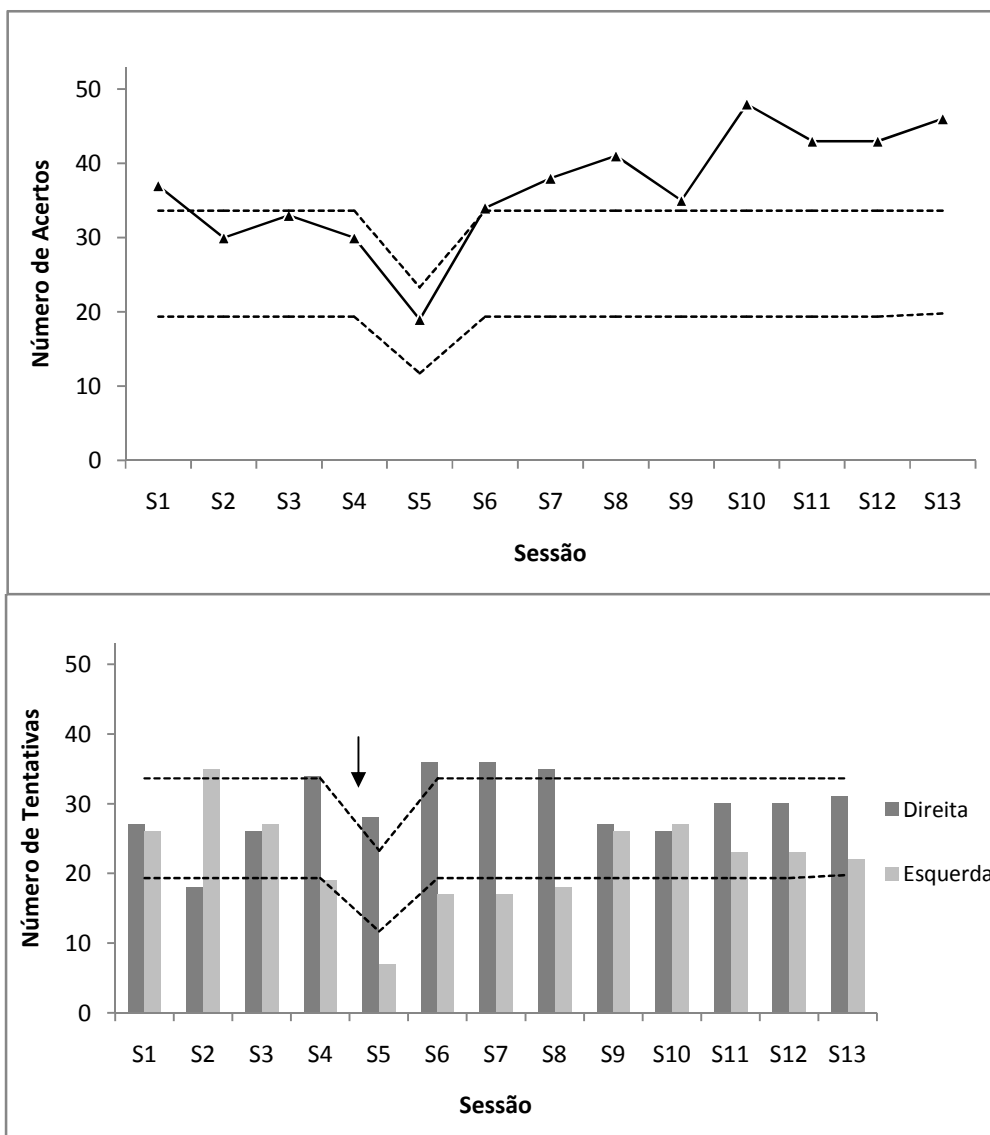
**Figura 8.** Resultados da fase de treino do indivíduo Tábata. À esquerda o desempenho de acordo com o número de acertos. À direita o número de tentativas feitas de cada lado do aparato. A seta indica a sessão em que se iniciou o processo de correção. Em ambos os gráficos as linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



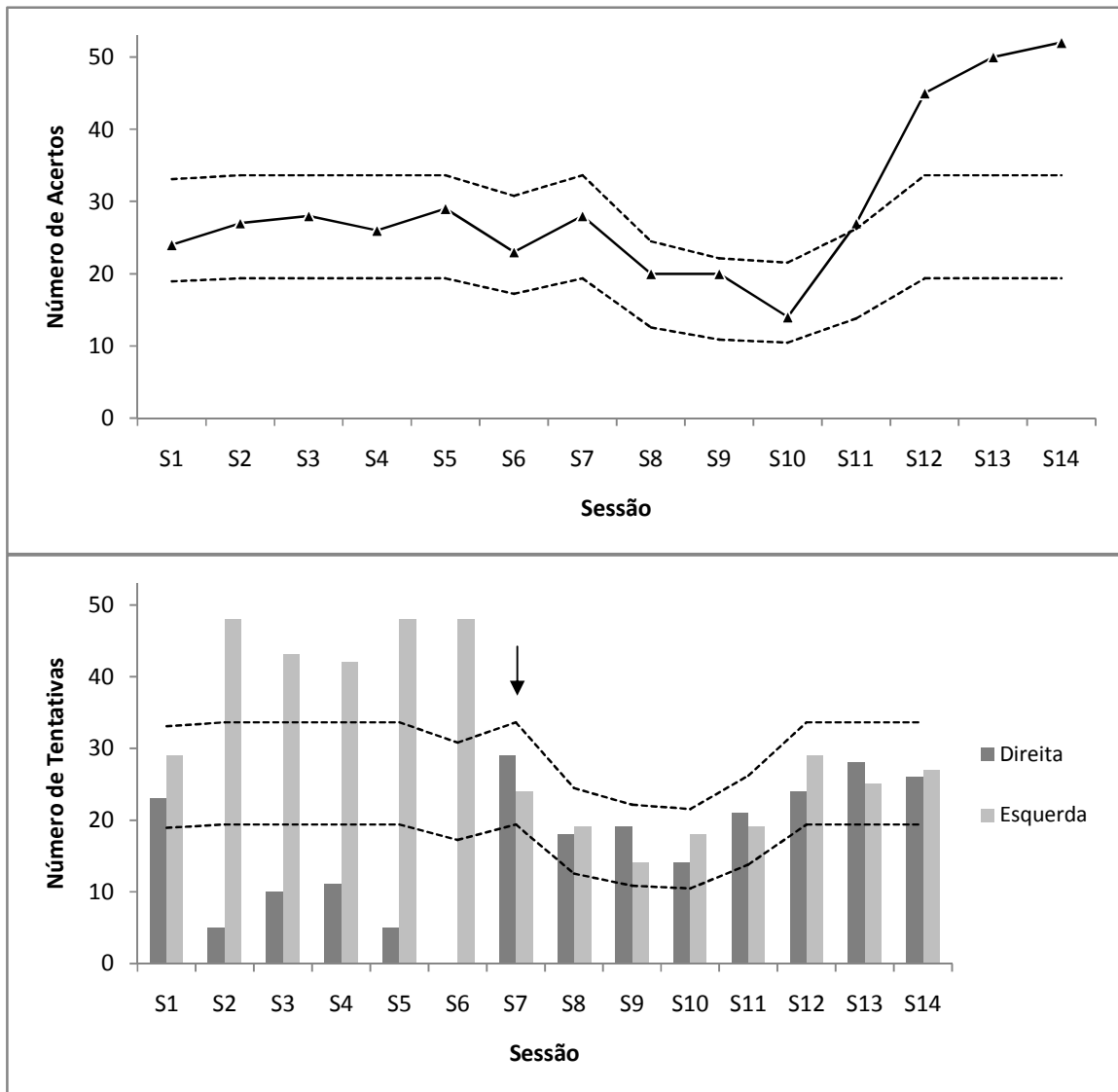
**Figura 9.** Resultados da fase de treino do indivíduo Noé. Acima o desempenho de acordo com o número de acertos. Abaixo o número de tentativas feitas de cada lado do aparato. Em ambos os gráficos as linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



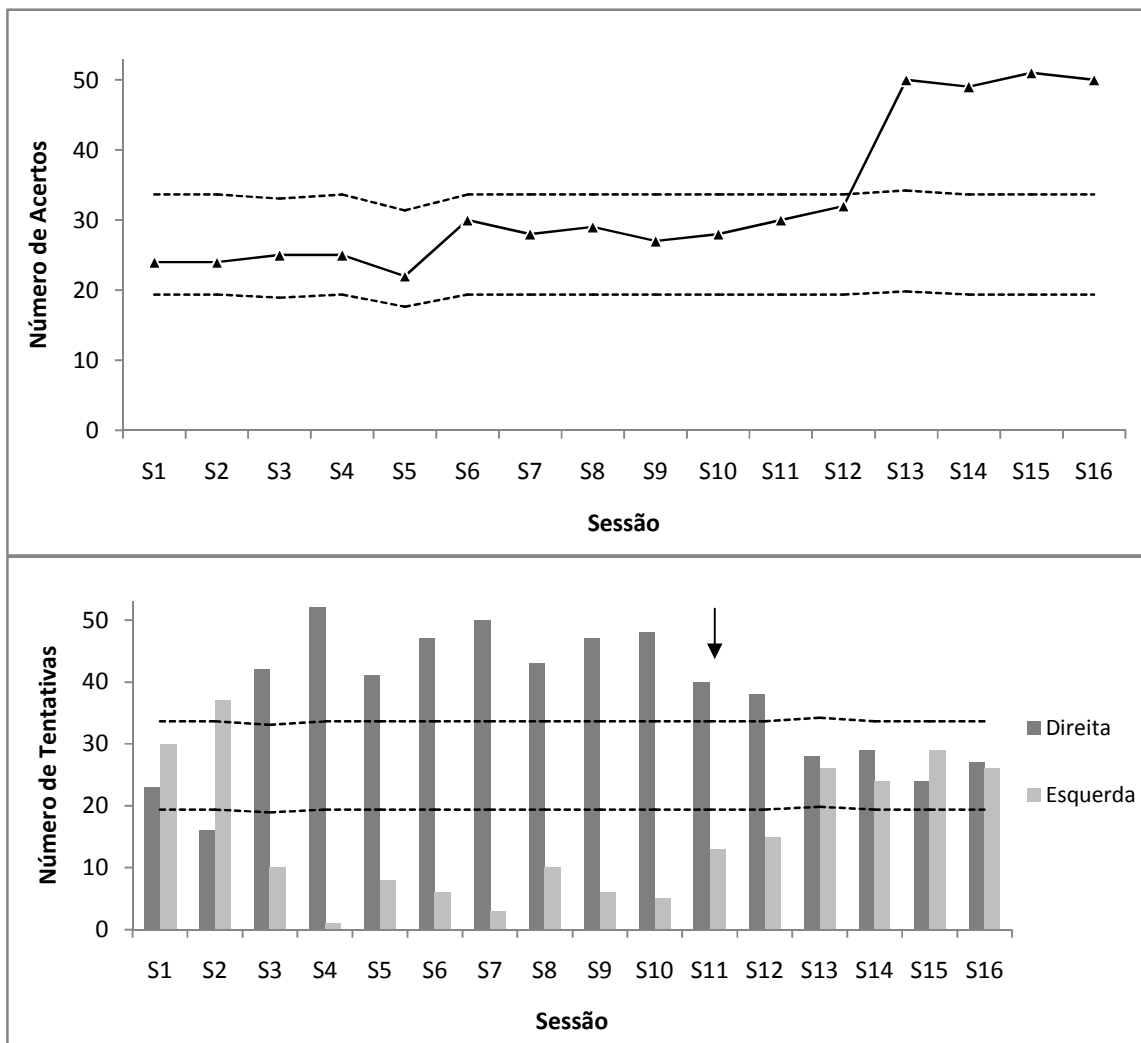
**Figura 10.** Resultados da fase de treino do indivíduo Ronaldinha. Acima o desempenho de acordo com o número de acertos. Abaixo o número de tentativas feitas de cada lado do aparato. Em ambos os gráficos as linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



**Figura 11.** Resultados da fase de treino do indivíduo Belo. Acima o desempenho de acordo com o número de acertos. Abaixo o número de tentativas feitas de cada lado do aparato. A seta indica a sessão em que se iniciou o processo de correção. Em ambos os gráficos as linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.

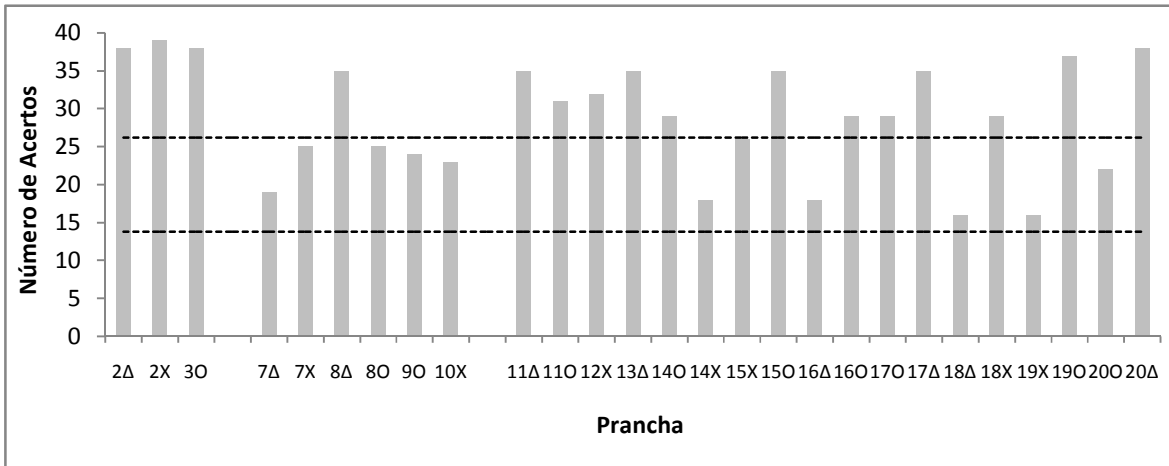


**Figura 12.** Resultados da fase de treino do indivíduo Talita. Acima o desempenho de acordo com o número de acertos. Abaixo o número de tentativas feitas de cada lado do aparato. A seta indica a sessão em que se iniciou o processo de correção. Em ambos os gráficos as linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.

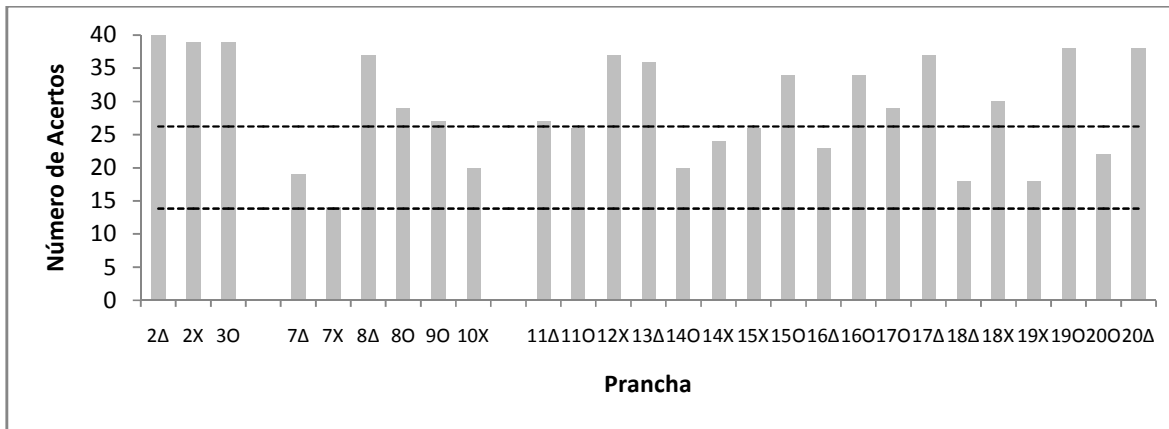


**Figura 13.** Resultados da fase de treino do indivíduo Kiko. Acima o desempenho de acordo com o número de acertos. Abaixo o número de tentativas feitas de cada lado do aparato. A seta indica a sessão em que se iniciou o processo de correção. Em ambos os gráficos as linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.

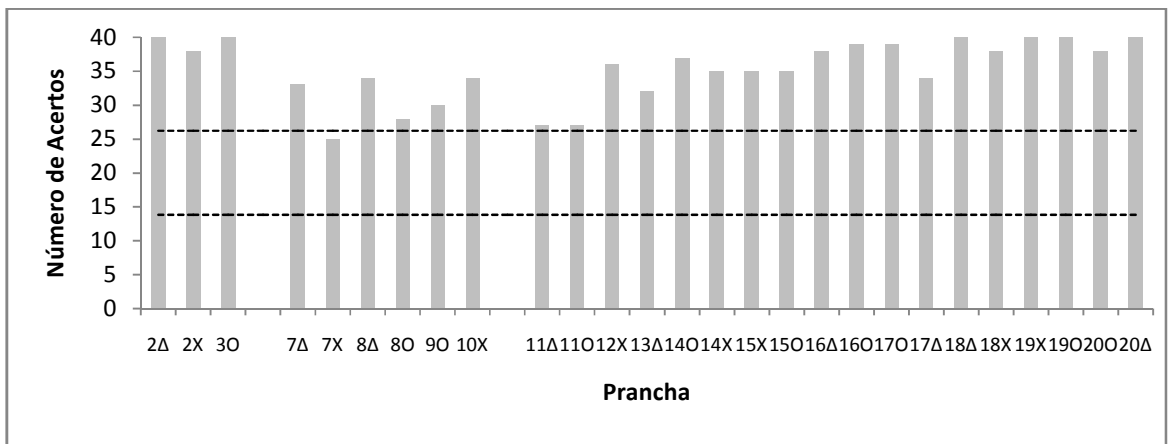
Conforme os sujeitos atingiam o critério de 80% de acertos em três sessões consecutivas de treino, passavam então para a fase de teste. Os resultados completos da fase de teste de cada sujeito estão nas Figuras de 14 a 19.



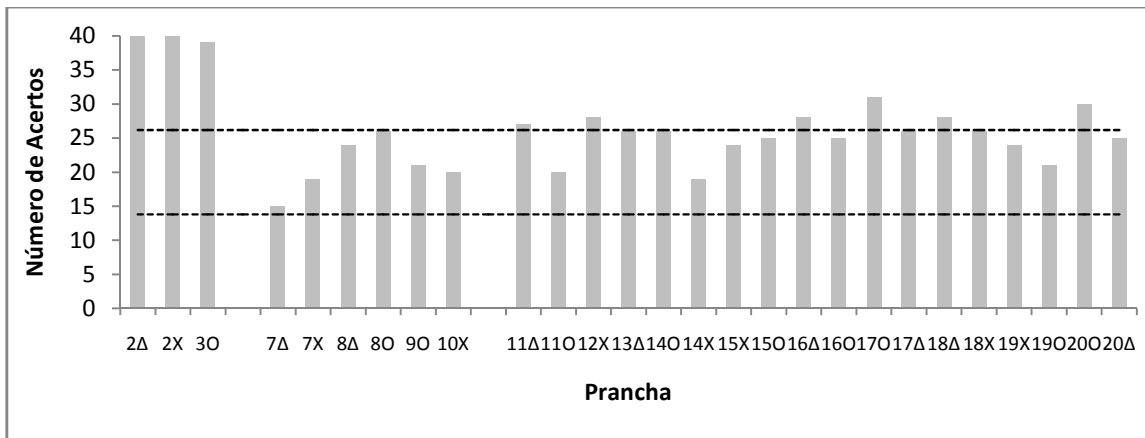
**Figura 14.** Número de acertos em cada uma das 40 apresentações de cada prancha do HRR para o indivíduo Ronaldinha. As linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



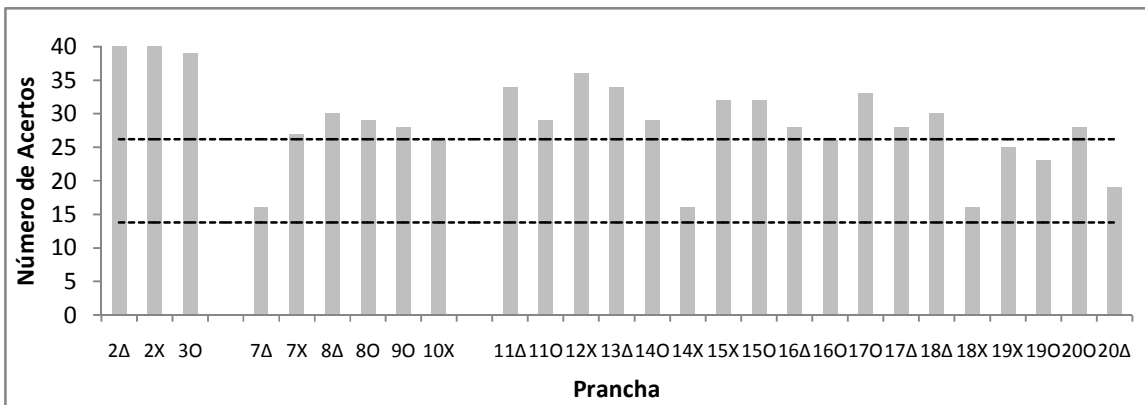
**Figura 15.** Número de acertos em cada uma das 40 apresentações de cada prancha do HRR para o indivíduo Talita. As linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



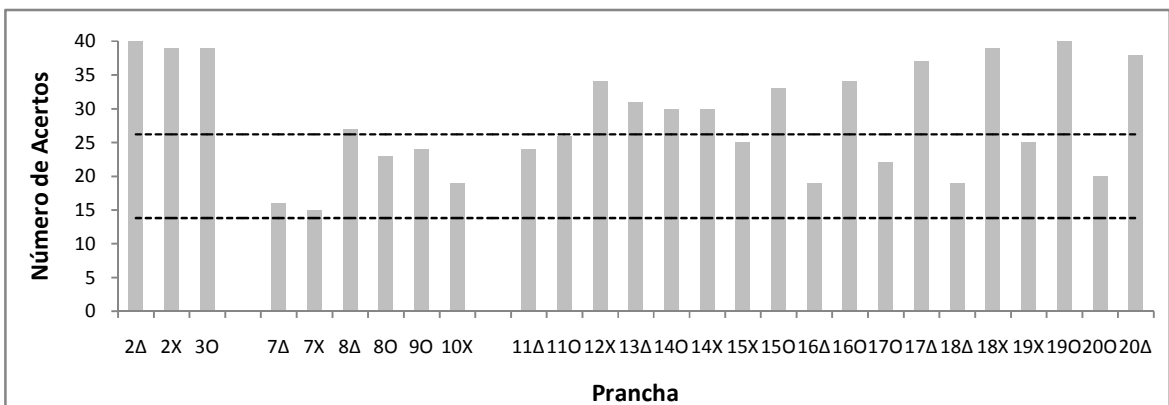
**Figura 16.** Número de acertos em cada uma das 40 apresentações de cada prancha do HRR para o indivíduo Tábata. As linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



**Figura 17.** Número de acertos em cada uma das 40 apresentações de cada prancha do HRR para o indivíduo Noé. As linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



**Figura 18.** Número de acertos em cada uma das 40 apresentações de cada prancha do HRR para o indivíduo Kiko. As linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



**Figura 19.** Número de acertos em cada uma das 40 apresentações de cada prancha do HRR para o indivíduo Belo. As linhas pontilhadas determinam a faixa de aleatoriedade.



Os resumos das pranchas de diagnóstico discriminadas por cada sujeito podem ser encontrados na Tabela 1. As classificações, segundo as instruções do HRR, foram portanto as seguintes: Ronaldinha e Talita são deutans severas, Tábata é uma tricromata, Noé e Kiko foram classificados como protans severos e Belo como deutans severos. Os únicos indivíduos que não apresentaram preferência pela posição do estímulo em nenhuma sessão de teste foram Ronaldinha e Kiko. Talita apresentou preferência nas duas últimas sessões, Tábata apresentou preferência nas sessões S12 e S13, Noé apresentou preferência em 13 sessões de teste e Belo em quatro sessões.

**Tabela 1.** Resumo das discriminações das pranchas de diagnóstico na fase de teste. O número 1 indica a prancha discriminada, 0 indica prancha não discriminada. A classificação acontece verificando-se onde ocorreu o maior número de discriminações, se nas pranchas para protans ou deutans. A severidade é verificada de acordo com o último erro do sujeito.

Tipo de Prancha	Prancha	Ronaldinha	Talita	Tábata	Noé	Kiko	Belo
Protans	11O	1	0	1	0	1	0
	13Δ	1	1	1	0	1	1
	14O	1	0	1	0	1	1
	15X	0	0	1	0	1	0
	16Δ	0	0	1	1	1	0
	17O	1	1	1	1	1	0
	18Δ	0	0	1	1	1	0
	19X	0	0	1	0	0	0
	20O	0	0	1	1	1	0
	Total protans		4	2	9	4	8
Deutans	11Δ	1	1	1	1	1	0
	12X	1	1	1	1	1	1
	14X	0	0	1	0	0	1
	15O	1	1	1	0	1	1
	16O	1	1	1	0	0	1
	17Δ	1	1	1	0	1	1
	18X	1	1	1	0	0	1
	19O	1	1	1	0	0	1
	20Δ	1	1	1	0	0	1
	Total deutans		8	8	9	2	4
Classificação	-	Deutans	Deutans	Tricromata	Protans	Protans	Deutans
Severidade	-	Severos	Severos	-	Severos	Severos	Severos

Todos os indivíduos obtiveram desempenho aleatório na fase controle, sugerindo que não houve influência de pistas olfativas ou outras pistas externas que os sujeitos pudessem ter utilizado para melhorar seu desempenho.

## 5. DISCUSSÃO

O teste HRR fornece um diagnóstico baseado nos tipos de visão humana (tricromatas, tricromatas anômalos e dicromatas). Indivíduos diagnosticados como portadores de discromatopsias severas provavelmente são dicromatas (Bailey *et al.*, 2005). Visto que o HRR nos permite definir qual o tipo de dicromacia detectada (se protan ou deutan), é possível, portanto, a partir do diagnóstico fornecido pelo HRR e tendo conhecimento dos picos de absorção de luz (de acordo com o comprimento de onda) da espécie estudada, chegar a uma conclusão aproximada a respeito do genótipo do indivíduo em questão.

Neitz e colaboradores (1996) já evidenciaram este tipo de relação em indivíduos deuteranômalos. Neitz evidenciou que a severidade da deuteranomalia medida pelo HRR estava relacionada à variação do fotopigmento anormal. Quanto mais alterado era o fotopigmento, mais severa era a discromatopsia diagnosticada pelo HRR. Este tipo de comparação já pode ser encontrado na literatura para espécies de primatas neotropicais (Osorio *et al* 2004). Levando em conta os picos de absorção do *Cebus apella* (536nm, 549nm e 563nm, em Jacobs & Deegan II 2003) e a comparação feita por Osorio e colaboradores (2004), com três espécies do gênero *Samiri* é possível fazer algumas inferências sobre os fotopigmentos de nossos sujeitos, baseadas nas respostas comportamentais (o gênero *Saimiri* possui visão de cores bem semelhante ao *C. apella*, com alelos que sintetizam opsinas com picos de absorção em 535, 550 e 562nm (Jacobs 2007)).

Osório e colaboradores (2004) comparam os micos-de-cheiro dicromatas com opsinas de pico em 535nm a humanos protanopos, micos com pico de absorção em 562 a deuteranopos, micos tricromatas com opsinas de 535 e 562nm a humanos tricromatas

normais, tricromatas com opsinas de 535 e 550nm a tricromatas protanômalo e tricromatas com opsinas de 550 e 562nm a tricromatas deuteranômalo (Tabela 2). Assim, provavelmente os indivíduos Ronaldira, Talita e Belo são dicromatas deuteranopos (opsina M/L absorvendo em 563nm) e os indivíduos Kiko e Noé dicromatas protanopos (opsina M/L absorvendo em 536nm) e Tábata se trata de uma tricromata com opsinas de pico de absorção em 536 e 563nm.

**Tabela 2.** Relação entre os fenótipos humanos para visão de cores e as opsinas do mico-de-cheiro

Mico-de-cheiro, $\lambda_{max}$	Fenótipo
535	protanopo
550	-
562	deuteranopo
535, 562	tricromata
535, 550	protanômalo
550, 562	deuteranômalo

Contudo, esta interpretação possui limitações, pois pelos diagnósticos providos pelo HRR não seria possível determinar um indivíduo como possuindo a opsina M/L com pico de absorção em 549nm. Para termos uma noção mais acurada da eficácia deste método é necessário averiguar as opsinas expressas por estes indivíduos por meio de técnicas de determinação genética.

Um aspecto da visão abordado indiretamente neste experimento foi o do processamento global *versus* local de figuras hierarquicamente compostas (como círculos que formam um triângulo). Spinozzi e colaboradores (2003) evidenciaram que o *Cebus apella* possui uma priorização inversa a do homem neste processamento, dando prioridade para a percepção do estímulo local (círculos) sobre o global (triângulo). No entanto, mais tarde, Spinozzi e colaboradores (2006) notaram também que esta inversão depende do nível

de agrupamento das frações que compõem o estímulo, ou seja, se os círculos estiverem próximos o suficiente, o *C. apella* irá priorizar o processamento global. O que provavelmente observamos neste experimento foi o segundo caso, visto que os indivíduos conseguiram discriminar com taxa de acerto superior a 80% as pranchas de treino.

Testes pseudoisocromáticos são importantes em estudos comportamentais de visão de cores, pois representam uma situação em que os estímulos possuem uma distribuição espacial complexa. O alvo a ser segregado está inserido em um contexto com variação aleatória de brilho, uma condição mais próxima a que ocorre em um ambiente natural (Mollon, 1989). Entre os estudos recentes de utilização de testes pseudoisocromáticos com primatas podemos citar a avaliação feita por Saito e colaboradores (2003) de utilização do teste Ishihara com chimpanzés e a adaptação feita por Mancuso e colaboradores (2006) do *Cambridge Colour Test*. As placas de Ishihara, entretanto, não possuem uma variação de contraste entre figura e fundo que possibilite a verificação das discromatopsias em suas nuances além de não existirem pranchas para verificação do eixo amarelo-azul da visão de cores. O *Cambridge Colour Test*, no entanto, apresenta estímulos que possibilitam tanto a classificação da discromatopsia quanto a sua severidade, quanto estímulos próprios para discromatopsias no eixo amarelo-azul. Além disso, teve sua eficácia na aplicação com platirrinos recentemente corroborada (Mancuso *et al.*, 2009). A principal vantagem do HRR em relação ao *Cambridge Colour Test* está na facilidade de aquisição. Custo do Cambridge Colour Test chega a ser 35 vezes o custo do teste HRR.

Quanto ao sistema de correção utilizado para extinguir o comportamento de preferência de posição do estímulo, a aplicação deste parece ter sido bem sucedida. A repetição das tentativas que consistiam em escolhas erradas, por parte dos sujeitos, parece não só ter acabado com a preferência que o indivíduo demonstrava por um dos lados, como

ter possibilitado o aprendizado discriminativo necessário para o prosseguimento com o teste. Observou-se que, justamente após as sessões em que foi aplicado o sistema de correção, o indivíduo elevou sua taxa de acerto para acima da faixa de aleatoriedade. Com a repetição das tentativas erradas, se torna extremamente desvantajoso, em termos de recebimento de reforço, insistir em responder sempre do mesmo lado, o que pode ter ocasionado uma mudança de estratégia por parte do sujeito para responder aos estímulos. Esta pode vir a ser uma ferramenta essencial para o treino de um maior número de indivíduos e em menor tempo.

Investigações da percepção visual em primatas não-humanos têm produzido excelentes modelos para a averiguação de mecanismos perceptuais e cognitivos semelhantes em humanos normais, com distúrbios neurológicos ou sob o efeito de diversas drogas (Matsuno e Fujita, 2009). Mais especificamente, já foram encontrados relatos de deficiência em visão de cores em pacientes com esquizofrenia (Shuwairi, 2002), mal de Parkinson (Müller *et al.*, 1998 e Büttner *et al.*, 2005), síndrome de *Gilles de la Tourette* (Melun *et al.*, 2001) e usuários de cocaína (Desai, 1997). A possibilidade do uso do HRR para averiguar perturbações da percepção de cores em macacos, incluindo discromatopsias na faixa amarelo-azul, abre uma importante via de pesquisas e permite a realização de testes psicofísicos comparativos entre primatas humanos e não-humanos, submetidos a diversas condições.

Finalmente, o teste HRR pode ser utilizado com sucesso para a classificação da visão de cores em macacos-prego. Os macacos-prego responderam de forma positiva à associação das figuras coloridas ao reforço na fase de treino. Os dados obtidos pela fase de teste permitem uma classificação mais detalhada do tipo de visão de cores que outras

técnicas comportamentais, que apenas classificam os sujeitos testados como di- ou tricromatas.

## 6. REFERÊNCIAS

- Abreu, C. T. 2006. Memória emocional em macacos-prego (*Cebus spp.*): desenvolvimento de um novo teste e efeitos dos hormônios estradiol e progesterona. Tese (doutorado). Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas.
- Alcock, J. 1984. *Animal Behavior*. Sunderland, Sinauer Associates, 596p.
- Araújo Jr, A. C.; Didonet, J.J.; Araújo, C.S.; Saletti, P.G.; Borges, T.R.J. & Pessoa V.F. 2008. Color vision in the black howler monkey (*Alouatta caraya*). **Visual Neuroscience** **25**: 243-248.
- Bailey, J.E.; Neitz, M.; Tait, D.M. & Neitz, J. 2005. Evaluation of an updated HRR color vision test. **Visual Neuroscience** **21**: 431-436.
- Birch, J.; Chisholm, I.A.; Kinnear, P.; Pinckers, A.J.L.G.; Pokorny, J.; Smith, V.C. & Guy Verriest. 1979. *Clinical Testing Methods*, p. 83-135. In: Pokorny, J.; Smith, V.C.; Verriest, G. & Pinckers, A.J.L.G. *Congenital and Acquired Colour Vision Defects*. New York, Grune & Stratton.
- Birch, J. 1993. *Diagnosis of Defective Colour Vision*. Oxford, Oxford University Press, 187 p.
- Büttner, Th. Kuhn, W.; Patzold, T. & Przuntek, H. 1994. L-dopa improves colour vision in Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission: Parkinson's Disease and Dementia Section** **7**: 13-19.
- Cole, B.L.; Lyan, K. & Lakkis, C. 2006. The new Richmond HRR pseudoisochromatic test for colour vision is better than the Ishihara test. **Clinical & Experimental Optometry** **89**: 73-80.



- Coutinho, M. R. 2003. Ontogenese dos sistemas de memoria em primatas humanos e nao-humanos (cebus apella e macaca mulatta). Tese (doutorado). Universidade de Brasília, Faculdade de Saúde.
- Czaja, J.A.; Pobinson, J.A.; Eisele, S.G.; Scheffler, G. & Goy, R.W. 1977. Relationship between sexual skin colour of female rhesus monkeys and midcycle plasma levels of oestradiol and progesterone. **Journal of Reproduction and Fertility** **49**:147-150.
- Dain, S.J. 2004. Colorimetric analysis of four editions of the Hardy-Rand-Rittler pseudoisochromatic tests. **Visual Neuroscience** **21**: 437-443.
- Dain, S.J. 2006. Illuminant and observer metamerism and the Hardy-Rand-Rittler color vision test editions. **Visual Neuroscience** **23**: 685-694.
- Deeb, S.S. 2004. Molecular genetics of color vision deficiencies. **Clinical and Experimental Optometry** **87**: 224-229.
- Desai, P.; Roy, M.; Roy, A.; Brown, S. & Smelson, D. 1997. Impaired color vision in cocaine-withdrawn patients. **Archives of General Psychiatry** **54(8)**: 696-699.
- Dixson, A.F. 1998. Primate sexuality: comparative studies of prossimians, monkeys, apes, and human beings. New York, Oxford University Press.
- Dominy, N.J. & Lucas, P.W. 2001. Ecological importance of trichromatic vision to primates. **Nature** **410**: 363-366.
- Dominy, N.J.; Garber, P. A.; Bicca-Marques, J.C. & Azevedo-Lopes, M. A. de O. 2003. Do female tamarins use visual cues to detect fruit rewards more successfully than do males? **Animal Behavior** **66**: 829-837.
- Fleagle, J. G. 1999. Primate Adaption and Evolution. San Diego, Academic Press, 596 p.
- Folstad, I. & Karter, A.J. 1992. Parasites, bright males and the immunocompetence handicap. **American Naturalist** **139**: 603-622.

- Gegenfurtner, K.R. & Kiper, D.C. 2003. Color vision. **Annual Reviews of Neuroscience** **26**: 181-206.
- Gellerman, L.W. 1933. Chance orders of alternating stimuli in visual discrimination experiments. **Journal of General Psychology** **42**: 207-208.
- Gerald, M.S.; Waitt, C.; Little, A.C. & Kraiselburd, E. 2007. Females pay attention to female secondary sexual color: an experimental study in *Macaca mulatta*. **International Journal of Primatology**, **28**:1-7.
- Gomes, U.R.; Pessoa, D.M.A.; Tomaz, C. & Pessoa, V.F. 2002. Color vision perception in the capuchin monkey (*Cebus apella*): a re-evaluation of procedures using Munsell papers. **Behavioural Brain Research** **129**: 153–157.
- Gonick, L. & Smith, W. 1993. The Cartoon Guide to Statistics. New York, HarperCollins Publishers, 231 p.
- Hiramatsu, C.; Radlwimmer, F.B.; Yokoyama, S. & Kawamura, S. 2004. Mutagenesis and reconstitution of middle-to-long-wave-sensitive visual pigments of New World monkeys for testing the tuning effect of residues at sites 229 and 233. **Vision Research** **44**: 2225-2231.
- Jacobs, G. H. 1993. The distribution and nature of colour vision among the mammals. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society** **68(3)**: 413-471.
- Jacobs, G.H. & Neitz, J. 1987a. Polymorphism of the middle wavelength cone in two species of South American monkey: *Cebus apella* and *Callicebus moloch*. **Vision Research** **27(8)**: 1263-1268.
- Jacobs, G.H. & Neitz, J. 1987b. Inheritance of color vision in a New World monkey (*Saimiri sciureus*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** **84**: 2545-2549.

- Jacobs, G.H.; Neitz, M.; Deegan, J.F. & Neitz, J. 1996. Trichromatic color vision in New World monkeys. **Nature** **382**: 156-158.
- Jacobs, G.H.; Deegan II, J.F.; Neitz, J.; Crognale, M.A. & Neitz, M. 1993. Photopigments and color vision in the nocturnal monkey, *Aotus*. **Vision Research** **33(13)**:1773-1783.
- Jacobs, G.H. & Deegan II, J.F. 1999. Uniformity of colour vision in Old World Monkeys. **Proceeding of the Royal Society of London B** **266**: 2023-2028.
- Jacobs, G.H.; Fenwick, J.C.; Calderone, J.B. & Deeb, S.S. 1999. Human cone pigment expressed in transgenic mice yields altered vision. **The Journal of Neuroscience** **19(8)**: 3258-3265.
- Jacobs, G.H. & Deegan II, J.F. 2003. Cone pigment variations in four genera of new world monkeys. **Vision Research** **43**: 227-236.
- Jacobs, G.H. & Rowe, M.P. 2004. Evolution of vertebrate color vision. **Clinical and Experimental Optometry** **97**: 206-216.
- Jacobs, G.H. 2007. New world monkeys and color. **International Journal of Primatology** **28**: 729-759.
- Jacobs, G.H.; Willians, G.A.; Cahill, H. & Nathans, J. 2007. Emergence of novel color vision in mice engineered to express a human cone photopigment. **Science** **315**: 1723-1725.
- Jacobs, G.H. 2008. Primate color vision: A comparative perspective. **Visual Neuroscience** **25**: 619-633.
- Janson, C.H. & Boinski, S. 1992. Morphological and behavioral adaptations for foraging in generalist primates: the case of cebines. **American Journal of Physical Anthropology** **88**: 483-498.

- Jean-Pierre, M.; Morin, L.M.; Muise, J.G. & DesRosiers, M. 2001. Color vision deficiencies in Gilles de la Tourette syndrome. **Journal of Neurological Sciences** **186**: 107-110.
- Jindrova, H. 1998. Vertebrate phototransduction: activation, recovery, and adaptation. **Physiology Research** **47**: 155-68.
- Kelber, A.; Vorobyev, M. & Osorio, D. 2003. Animal colour vision – behavioral tests and physiological concepts. **Biology Review** **78**: 81-118.
- Kremers, J.; Silveira, L.C.L.; Yamada, E.S. & Lee, B.B. 1999. The ecology and evolution of primate color vision, p. 123-142. In: K.R Gegenfurtner & L.T. Sharpe (eds.) *Color vision: from genes to perception*. Cambridge, Cambridge University Press, 503 p.
- Lee, D.Y. 2006. Color changes in the red-green plates of the 50-year-old AO HRR color vision test. **Visual Neuroscience** **23**: 681–684.
- Lent, R. 2004. Cem bilhões de neurônios: Conceitos fundamentais de neurociências. São Paulo, Editora Atheneu, 698 p.
- Lucas, P. W., B. W. Darvell, P. K. Lee, T. D. Yuen, and M. F. Choong. 1998. Colour cues or leaf food selection by long-tailed macaques with a new suggestion for the evolution of trichromatic colour vision. **Folia Primatologica** **69**:139–152.
- Mancuso, K.; Neitz, M. & Neitz, J. 2006. An adaptation of the Cambridge Colour Test for use with animals. **Visual Neuroscience** **23**: 695-701.
- Mancuso, K.; Hauswirth, W.W.; Li, Q.; Connor, T.B.; Kuchenbecker, J.A.; Mauck, M.C.; Neitz, J. & Neitz, M. 2009. Gene therapy for red–green colour blindness in adult primates. **Nature** **461**: 784-788.
- Matsuno, T. & Fujita, K. 2009. A comparative psychophysical approach to visual perception in primates. **Primates** **50**: 121-130.

- Melun, J.P.; Morin, L.M.; Muise, J.G. & DesRosiers, M. 2001. Color vision deficiencies in Gilles de la Tourette syndrome. **Journal of the Neurological Sciences** **186**: 107-110.
- Mollon, J.D. 1989. "Tho' she kneel'd in that place where they Grew..." The uses and origins of primate colour vision. **Journal of Experimental Biology** **146**: 21-38.
- Morgan, M.L.; Adam, A. & Mollon, J.D. 1992. Dichromats detect colour-camouflaged objects that are not detected by trichromats. **Proceedings: Biological Sciences** **248**: 291-295.
- Melin, A.D.; Fedigan, L.M.; Hiramatsu, C.; Sendall, C. L. & Kawamura, S. 2007. Effects of colour vision phenotype on insect capture by a free-ranging population of white-faced capuchins, *Cebus capucinus*. **Animal Behaviour** **73**: 205-214.
- Melin, A.D.; Fedigan, L.M.; Hiramatsu, C. & Kawamura, S. 2008. Polymorphic color vision in white-faced capuchins (*Cebus capucinus*): Is there foraging niche divergence among phenotypes? **Behavioral Ecology and Sociobiology** **62**: 659-670.
- Müller, T.; Wilfried, K.; Büttner, T.; Eising, E.; Coenen, H.; Haas, M. & Przuntek, H. 1998. Colour vision abnormalities do not correlate with dopaminergic nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease. **Journal of Neurology** **245**: 659-664.
- Nathans, J.; Thomas, D. & Hogness, D.S. 1986. Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green, and red pigments **Science** **232**: 193-202.
- Neitz, J.; Neitz, M. & Kainz, P.M. 1996. Visual pigment gene structure and the severity of color vision defects. **Science** **274**: 801-804.
- Neitz, M. & Neitz, J. 1998. Molecular genetics and the biological basis of color vision, p. 101-119. In: W.G.K. Backhaus, R. Kliegl & J.S. Werner (eds.). *Color Vision – Perspectives from different disciplines*. Berlin, Walter de Gruyter.

- Neitz, J.; Neitz, M. & Bailey J. 2002. H.R.R. Pseudoisochromatic Plates, Fourth Edition, reengineered by Neitz, Neitz and Bailey. Florida, Richmond Products Inc.
- Osorio, D.; Vorobyev, M. & Buchanan-Smith, H.M. 2004. Detection of fruit and the selections of primate visual pigments for color vision. **American Naturalist** **164**: 696-708.
- Palmer, S. E. 1999. Vision Science – Photons to Phenomenology. Massachusetts, Massachusetts Institute of Technology Press, 810 p.
- Pessoa, D. M. A.; Perini, E. S.; Carvalho, L. S.; Tomaz, C. & Pessoa, V.F. 2005. Color vision in *leontopithecus chrysomelas*: A Behavioral Study. **International Journal of Primatology** **26(1)**: 147-158.
- Prado, C.C.; Pessoa, D.M.A.; Sousa, F.L.L. & Pessoa, V.F. 2008. Behavioural evidence of sex-linked colour vision polymorphism in the Squirrel Monkey *Saimiri ustus*. **Folia primatologica** **79**: 172-184.
- Regan, B.C.; Julliot, C.; Simmen, B.; Viénot, F.; Charles-Dominique, P. & Mollon, J.D. 1998. Frugivory and colour vision in *Alouatta seniculus*, a trichromatic platyrrhine monkey. **Vision Research** **38**: 3321-3327.
- Regan, B.C.; Julliot, C.; Simmen, B.; Viénot, F.; Charles-Dominique, P. & Mollon, J.D. 2001. Fruits, foliage, and the evolution of color vision. **Philosophical Transactions of the Royal Society, London B** **356**: 229-283.
- Rylands, A.B.; Kierulff, M.C.M. & Mittermeier R.A. 2005. Notes on the taxonomy and distributions of the tufted capuchin monkeys (*Cebus*, Cebidae) of South America. **Lundiana** **6**: 97-110.
- Saito, A.; Mikami, A.; Hasegawa, T.; Koida, K.; Terao, K.; Koike, S.; Onishi, A.; Takenaka, O.; Teramoto, M. & Mori, Y. 2003. Behavioral evidence of color vision deficiency in a protanomaly chimpanzee (*Pan troglodytes*). **Primates** **44**: 171-176.

- Saito, A.; Mikami, A.; Kawamura, S.; Ueno, Y.; Hiramatsu, C.; Widayati, K.A.;  
Suryobroto, B.; Teramoto, M.; Mori, Y.; Nagano, K.; Fujita, K.; Kuroshima, H. &  
Hasegawa, T. 2005a. Advantage of Dichromats Over Trichromats in Discrimination  
of Color-Camouflaged Stimuli in Nonhuman Primates. **American Journal of  
Primateology 67**: 425-436.
- Saito, A.; Kawamura, S.; Mikami, A.; Ueno, Y.; Hiramatsu, C.; Koida, K.; Fujita, K.;  
Kuroshima, H. & Hasegawa, T. 2005b. Demonstration of a genotype-phenotype  
correlation in the polymorphic color vision of a non-callitrichine New World monkey,  
capuchin (*Cebus apella*). **American Journal of Primatology 67(4)**: 471-85.
- Schwartz, S.H. 2004. Visual Perception: a clinical orientation. McGraw-Hill Professional,  
471 p.
- Sharpe, L.T.; Stockman, A.; Jägle H. & Nathans, J. 1999. Opsin genes, cone pigments,  
color vision and color blindness, p 3-51. In: Color vision: from genes to perception.  
K.R Gegenfurtner & L.T. Sharpe (eds), Cambridge, Cambridge University Press, 503  
p.
- Shuwairi, S.M.; Cronin-Golomb, A.; McCarley, R.W. & O'Donnell, B. F. 2002. Color  
discrimination in schizophrenia. **Schizophrenia Research 55**: 197-204.
- Silveira, L.C.L.; Lee, B.B.; Yamada, E.S.; Kremers, J. & Hunt, D.M. 1998. Post-receptoral  
mechanisms of colour vision in new world primates. **Vision Research 38**: 3329-3337.
- Silveira, L.C.L., Saito, C.A., Lee, B.B., Kremers, J., Filho, M.S., Kilavik, B.E., Yamada,  
E.S. & Perry, V.H. 2004. Morphology and physiology of primate M- and P-cells, p.  
21-46. In: Heywood, C.A., Milner, A.D. & Blakemore, C. (eds.) The Roots of Visual  
Awareness. Amsterdam, Elsevier, 332 p.

- Spinozzi, G.; De Lillo, C. & Truppa, V. 2003. Global and local processing of hierarchical visual stimuli in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). **Journal of Comparative Psychology** **117**: 15-23.
- Spinozzi, G.; De Lillo, C. & Salvi, V. 2006. Local advantage in the visual processing of hierarchical stimuli following manipulations of stimulus size and element numerosity in monkeys (*Cebus apella*). **Behavioral Brain Research** **166**: 45-54.
- Suganuma, E.; Pessoa, V.F.; Monge-Fuentes, V.; Castro, B.M. & Tavares, M.C.H. 2007. Perception of the Müller-Lyer illusion in capuchin monkeys (*Cebus apella*). **Behavioral Brain Research** **182**: 67-72.
- Sumner, P. & Mollon, J.D. 2003. Colors of Primate Pelage and Skin: Objective Assessment of Conspicuousness. **American Journal of Primatology** **59**: 67-91.
- Tavares, M.C.H. & Tomaz, C. 2002. Working memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). **Behavioral Brain Research** **131**: 131-137.
- Tovée, M.J. 1994. The molecular genetics of primate colour vision. **Trends in Neurosciences** **17**: 30-36.
- Vogel, E. R.; Neitz, M. & Dominy, N. J. 2006. Effect of color vision phenotype on the foraging of wild white-faced capuchins, *Cebus capucinus*. **Behavioral Ecology** **18**: 292-297.
- Waite, C.; Little, A.C.; Wolfensohn, S.; Honess, P.; Brown, A.P.; Buchanan-Smith, H.M. & Perret, D.L. 2003. Evidence from rhesus macaques suggests that male coloration plays a role in female primate mate choice. **Proceedings of the royal society of London – Biological Sciences**. **270**:144-146.



Waitt, C.; Gerald, M.S.; Little, A.C. & Kraiselburd, E. 2006. Selective attention to female secondary sexual coloration among male rhesus macaques. **American Journal of Primatology**, **68**:738-744.




UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL

Brasília, 25 de março de 2008.

### **DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DA PERCEPÇÃO DE CORES NO MACACO PREGO (CEBUS APELLA) PELO TESTE PSEUDOISOCROMÁTICO DE HRR**”, UNBDOC nº 16724/2008, sob responsabilidade do Prof. Valdir Filgueiras Pessoa, foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

  
Prof. Anamélia Lorenzetti Bocca  
Coordenadora do CEUA