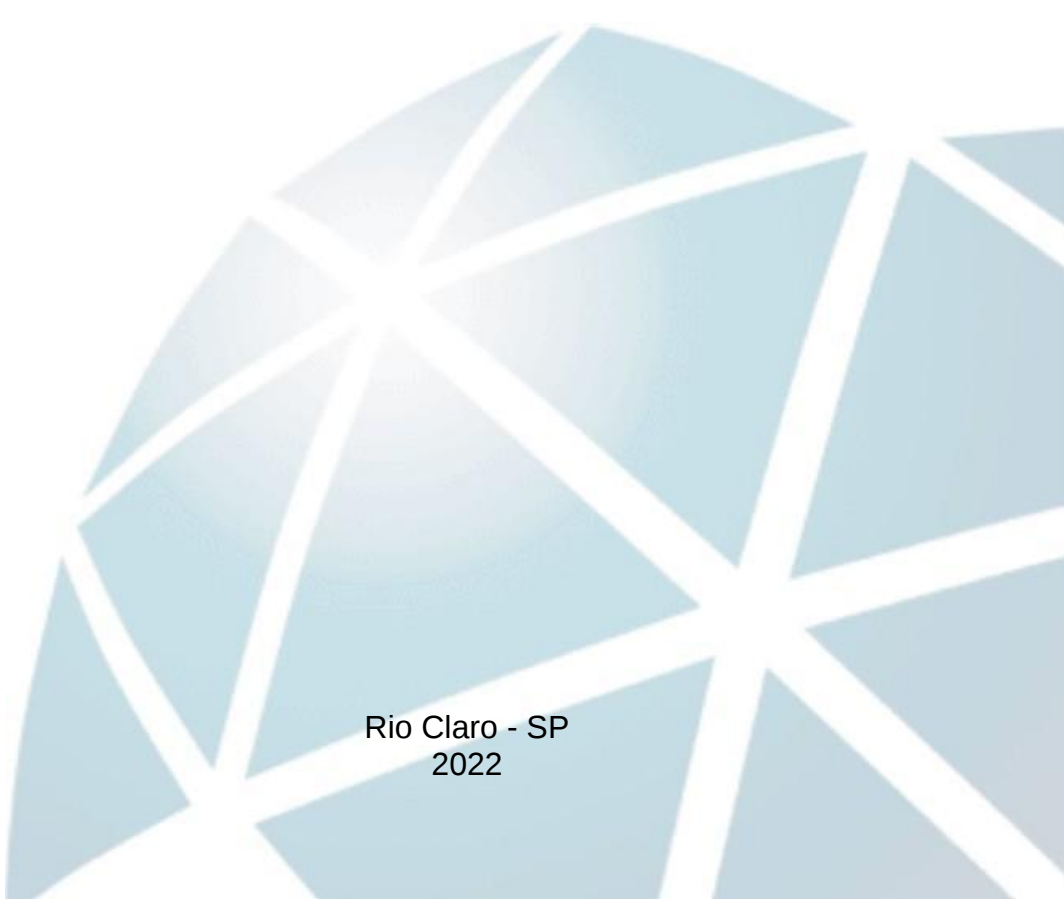

ECOLOGIA

AUGUSTO GONÇALVES PAULINO

**Relação entre estilos de enfrentamento e
respostas comportamentais a infecção induzida
em *Akodon montensis***



Rio Claro - SP
2022

AUGUSTO GONÇALVES PAULINO

**Relação entre estilos de enfrentamento e respostas
comportamentais a infecção induzida em *Akodon montensis***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção do grau de Bacharelado em
Ecólogo.

Orientador: Ariovaldo Pereira da Cruz-Neto

Rio Claro - SP
2022

P328r

Paulino, Augusto Gonçalves

Relação entre estilos de enfrentamento e respostas comportamentais a infecção induzida em *Akodon montensis* / Augusto Gonçalves Paulino. -- Rio Claro, 2022

25 p. : tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ecologia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Ariovaldo Pereira da Cruz Neto

1. Comportamento animal. 2. Lipopolissacarídeos. 3. Roedores. 4. *Akodon montensis*. 5. Sistema imune. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AUGUSTO GONÇALVES PAULINO

**Relação entre estilos de enfrentamento e respostas
comportamentais a infecção induzida em *Akodon montensis***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção do grau de Bacharel em
Ecólogo.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ariovaldo Pereira da Cruz Neto
Prof. Dr. Denis Otávio Vieira de Andrade
Prof. Dr. Matheus Fernandes Viola

Aprovado em: 10 de Novembro de 2022



Assinatura do discente



Assinatura do(a) orientador(a)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para este trabalho, seja com trabalhos de campo, ideias e me consolando em momentos de dificuldade. Um forte abraço para para toda a minha família, Eduardo Akira, Isabela Lopes, Matheus Viola, Pedro Miguel, Ademir Francisco (Chico), Rafael Souza, Airton e qualquer outra pessoa que tenha colaborado com este processo. Uma ressalva a paciência do meu orientador por ter me acompanhado no momento que foi possivelmente o mais desafiador da minha vida. E gostaria de agradecer também a Prope, por ter sido contemplado durante este processo com uma bolsa PIBIC. E agradecer também ao apoio dado pelo processo nº 2014/16320-7, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

RESUMO

A resposta de fase aguda (RFA) é um conjunto de alterações comportamentais e fisiológicas que ocorrem após infecção patogênica. Dentre as alterações comportamentais destaca-se redução nos padrões gerais de atividade, que é vantajosa para minimizar os custos energéticos da ativação da RFA. Todavia a magnitude desta redução é variável, e uma das razões para esta variabilidade pode estar relacionada com a associação entre estilos de enfrentamento e vigor da RFA. Comportamentos reativos e proativos são dois perfis que caracterizam estilos de enfrentamento. Indivíduos reativos (IR) são tímidos, exploram o ambiente de forma minuciosa, são menos propensos a exposição a patógenos e gastam menos energia na manutenção da homeostase; características opostas definem indivíduos proativos (IP). Assim, espera-se que a redução nos padrões de atividades observadas após uma infecção tenha maior magnitude para IP. Neste estudo esta hipótese foi testada usando o roedor *Akodon montensis* como espécie modelo. Foram analisados 9 indivíduos coletados no município de Rio Claro (SP). Os indivíduos foram mantidos individualmente em câmara climática (temperatura constante de 26° C) em gaiola 30 cm de comprimento, por 20cm de altura, por 13cm de largura, durante três dias para aclimação para posteriormente serem realizados os testes de comportamento em arena de buracos. Com a finalidade de analisar a repetibilidade dos comportamentos os testes foram repetidos quatro vezes com intervalo de uma semana. Foram analisados, o tempo de atividade, o número de quadrantes percorridos, o número de vezes que cada buraco era inspecionado e o número de vezes que a postura bípede era acionada. Os dois primeiros experimentos foram conduzidos com o objetivo de categorizar os indivíduos dentro do eixo proativo/reativo. O terceiro e quarto experimentos quantificaram estes comportamentos após os indivíduos serem injetados, respectivamente, com 0,3 ml de solução tampão fosfato (STF) e 0,5mg/kg de lipopolisacarídeo (LPS) diluído em 0,3 ml de STF. LPS é um antígeno largamente utilizado em estudos de imunologia, sendo muito eficaz para indução dos componentes da RFA. Foram capturados 17 indivíduos em campo, destes indivíduos nem todos conseguiram ser utilizados para experimentos de comportamento. Os indivíduos que não foram utilizados, ou não saíram da antessala durante o período de latência, ou vieram a óbito durante período de cativeiro. Administração de LPS afeta

os indivíduos nos comportamentos de movimentação total, tempo total se locomovendo e rearing. Indivíduos reativos e proativos apresentaram diferentes respostas ao tratamento com LPS, aparentemente o decaimento do comportamento de movimentação total dos indivíduos variou de acordo com tratamento. Latência média obteve variação para indivíduos proativos e reativos, provavelmente ocasionada por estresse de cativeiro. Já esperávamos queda na movimentação e também a queda de interações de caráter exploratório, indivíduos proativos neste trabalho apresentaram uma grande queda na movimentação/exploração, em ambientes naturais este tipo de queda na exploração tão severa pode significar a morte do indivíduo, visto que os mesmos gastam mais energia para manutenção da homeostase em comparação a indivíduos reativos. Em conclusão devido a maior tempo enfrentando infecções, indivíduos proativos possuam menores reservas energéticas para investir em imunidade inata.

Palavras-chave: Comportamento, lipopolissacarídeos, roedores, *Akodon montensis*.

ABSTRACT

The acute phase response (APR) is a set of behavioral and physiological changes that occur after pathogenic infection. Among the behavioral changes, there is a reduction in the general patterns of activity, which is advantageous to minimize the energy costs of activating the RFA. However, the magnitude of this reduction is variable, and one of the reasons for this variability may be related to the association between coping styles and RFA strength. Reactive and proactive behaviors are two profiles that characterize coping styles. Reactive individuals (RI) are shy, explore the environment thoroughly, are less likely to be exposed to pathogens and spend less energy on maintaining homeostasis; opposite characteristics define proactive individuals (PI). Thus, the reduction in activity patterns observed after an infection is expected to have greater magnitude for PI. In this study, this hypothesis was tested using the rodent *Akodon montensis* as a model species. Nine individuals collected in the city of Rio Claro (SP) were analyzed. The individuals were kept individually in a climatic chamber (constant temperature of 26° C) in a cage 30 x 20 x 13 for three days for acclimatization to later be carried out the behavior tests in a hole board. In order to analyze the repeatability of the behaviors, the tests were repeated four times with an interval of one week. In this tests were analyzed behaviors like, the activity time, the number of quadrants traveled, the number of times each hole was inspected and the number of times the bipedal posture was activated. The first two experiments were conducted with the aim of categorizing individuals within the proactive/reactive axis. The third and fourth experiments quantified these behaviors after subjects were injected, respectively, with 0.3 ml of phosphate buffer solution (PBS) and 0.5 mg/kg of lipopolysaccharide (LPS) diluted in 0.3 ml of PBS. LPS is an antigen widely used in immunology studies, being very effective for inducing RFA components. Individuals who were not used either did not leave the room during the latency period, or died during the captivity period. LPS administration affects individuals on total movement, total time moving, and rearing behaviors. Reactive and proactive individuals showed different responses to LPS treatment, apparently the decay of individuals' total movement behavior varied according to treatment. Mean latency varied for proactive and reactive individuals, probably caused by stress in captivity. We already expected a drop in movement and also a decrease in exploratory interactions, proactive individuals in this work showed

a large decrease in movement/exploration, in natural environments this type of decrease in exploration can mean the death of the individual, since they expend more energy to maintain homeostasis. In conclusion, due to longer time facing infections, proactive individuals have less energy reserves to invest in innate immunity.

Keywords: Behavior, Lipopolissacarides, Rodent, *Akodon montensis*

SUMÁRIO

[illegible]

1 INTRODUÇÃO

Dentro dos estudos de biologia existe um grande interesse por conjuntos comportamentais, estes conjuntos podem ser chamados de personalidade, “coping styles” e síndromes de comportamento (KOOLHAAS *et al.*, 1999, SIH *et al.*, 2004, RÉALE *et al.*, 2007). Personalidade animal e “coping styles” possuem diferenças conceituais, personalidade animal é definida por conjuntos comportamentais que se repetem ao longo do tempo e em diferentes contextos (DALL *et al.*, 2004, RÉALE *et al.* 2007), já “coping styles”, ou estilos de enfrentamento, são definidos como estudos de fisiologia do estresse, que relacionam respostas comportamentais a situações estressoras (KOOLHAAS *et al.*, 1999, KOOLHAAS 2008).

Diferentes estratégias comportamentais possuem diferentes formas de responder a estímulos, estas estratégias são divididas no eixo reatividade-proatividade (KOOLHAAS *et al.*, 1999). Indivíduos reativos, são de forma geral menos agressivos, com comportamento mais flexível, respondendo a estímulos apenas quando necessário, já indivíduos proativos são mais agressivos, respondem prontamente a qualquer estímulo e não se adaptam bem a mudanças de rotina (COPPENS *et al.*, 2010).

Indivíduos enfrentam diversos desafios imunes como infecções por patógenos durante inúmeros momentos da sua história de vida (LEE 2006) e o estado imune de animais de vida livre não é igual ao estado imune de animais de laboratório (ABOLINS *et al.*, 2018). Em um estudo realizado por ABOLINS (2017) comparou indivíduos da espécie *Mus musculus Domesticus* criados em laboratório, com indivíduos coletados no meio natural, mostrou que o status e capacidade imune de animais selvagens é maior, sendo eles mais capazes de combater um possível patógeno.

Uma das barreiras imunes mais importantes para animais é a resposta de fase aguda (RFA) (SUFFREDINI *et al.*, 1999). RFA é uma resposta fisiológica e comportamental, este mecanismo existe para reestabelecer a homeostase do indivíduo infectado e criar um ambiente que inviabiliza desenvolvimento do patógeno, dentro dos efeitos da RFA estão febre, diminuição do consumo, letargia e queda de atividade (GRUYS, 2005).

A melhor maneira de estimular resposta de fase aguda, são os ensaios com lipopolissacarídeos bacterianos (LPS), uma vez que, simulam infecções com patogênicas, indivíduos afetados por LPS passam por mudanças em seus padrões de

comportamento exploratório, com aumento no comportamento de imobilidade e uma diminuição da interação dos indivíduos a novos objetos (HABA *et al.*, 2012). Estas alterações no comportamento ocorrem em grande parte por causa do “sickness behavior”, resposta imune ocasionada pela ativação do sistema imune de fase aguda. “Sickness behavior” é uma resposta imune, que é manifestada por sintomas como, fadiga, distúrbio do sono, atividade física reduzida, desordem cognitiva suave, anorexia, febre e dor (LASSELIN *et al.*, 2020). Este assunto muito abordado pela biomedicina de maneira experimental, não se utiliza de modelos silvestres de estudo, fazendo experimentos de exploração de “sickness behavior” apenas com modelos de laboratório (LASSELIN *et al.*, 2021).

Roedores da espécie *Akodon monstensis* por serem hiperabundantes e com ampla distribuição pela mata atlântica e cerrado são comumente usados como modelo em estudos com enfoque em ecologia de população e comunidades (GALETTI *et al.*, 2015), genética (VALDES & D'ELÍA, 2013) e patologias relacionadas a *hantavírus* (GOODIN *et al.*, 2009, OLIVEIRA *et al.*, 2014). Estudos de comportamento com o grupo nunca envolveram respostas a desafios imunes, entretanto recentemente um estudo realizado focou a utilização de espaços e movimentação de indivíduos desta espécie (MACHADO *et al.*, 2020). Visto isto apesar de estudos comportamentais com a espécie já terem sido realizados (GÓES, 2011), estudos relacionando comportamento com imunidade não foram realizados.

Estudos de comportamento realizados com esquilos *Sciurus carolinensis* mostram que indivíduos mais exploradores apresentam maior tendência de ser infectados por parasitas gastrointestinais (SANTICCHIA *et al.*, 2019), fator que pode acarretar riscos à saúde do animal, o mesmo efeito para animais mais exploradores pode ser encontrado em um estudo realizado por BOYER *et al.*, (2010), onde indivíduos mais exploradores de *Tamias sibiricus* também possuíam uma maior carga de carrapatos. Estes resultados podem nos levar a crer que o sistema imune de indivíduos mais exploradores (próximos a proatividade em eixos de estilos de enfrentamento) pode ser mais eficiente no processo de resistência/combate a este tipo de infecção, entretanto também podemos levar em conta que durante o desenvolvimento indivíduos que precisam lidar constantemente com parasitas, sejam eles macroscópicos como apresentados, ou microscópicos (VANDEN BROECKE *et al.*, 2018).

Visto isto neste estudo irei avaliar diferentes estilos de enfrentamento (reativo-proativo) em roedores *Akodon montensis* e a reação comportamental quando o sistema imune é desafiado por LPS. Nossas hipóteses são de que indivíduos mais proativos tenham um patamar mais inferior no desenvolvimento do sistema imune inato, fator que trará maiores efeitos da aplicação de LPS no comportamento, visto que indivíduos reativos gastam menos energia para a manutenção da homeostase em comparação a indivíduos proativos (JACQUES-HAMILTON., *et al* 2017). Logo espera-se que indivíduos proativos tenham comportamentos de “sickness behavior”, que debilem mais suas capacidades exploratórias e de movimentação, quando comparados com indivíduos reativos. Indivíduos reativos por já apresentarem uma menor exploração e menor distância e tempo percorrido, vão apresentar uma menor diminuição, provavelmente dado ao seu maior investimento em imunidade inata.

2 JUSTIFICATIVA

Até o momento como apresentado existem poucos estudos que relacionam a capacidade do sistema imune de animais silvestres, com eixos de estilos de enfrentamento proativo e reativo. Estudos deste cunho são importantes, visto que este tema tem considerável importância ecológica e evolutiva (RÉALE, 2007).

Nesse sentido o trabalho que realizei se justifica contribuindo para o estado da arte da área de capacidade imune de animais silvestres, comumente estudos com experimentação laboratorial são realizados com animais criados em cativeiro, não aportando assim toda a diversidade fisiológica e comportamental que animais silvestres podem apresentar (ABOLINS *et al.*, 2017, ABOLINS *et al.*, 2018). Dadas as justificativas este estudo tem como papel no desenvolvimento científico, explorar o comportamento e a resposta imune de fase aguda de uma espécie de roedor silvestre, a fim de gerar arcabouço teórico sobre imunidade e comportamento da espécie *Akodon montensis*.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto foi compreender como a relação entre estilos de enfrentamento e infecções se dão em dois diferentes tratamentos o primeiro cenário sendo pré-exposição ao LPS e o segundo cenários sendo pós-exposição ao LPS. Outro fator importante do objetivo geral é entender como diferentes estilos de enfrentamento afetam os parâmetros hematológicos dos indivíduos.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar os testes de comportamento;
- Comparar os resultados dos testes comportamentais pré e pós exposição ao LPS, para compreender os mecanismos utilizados para cada estilo de enfrentamento.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Captura e cativeiro

A captura dos indivíduos foi realizada na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade, Rio Claro-SP. Para a captura dos espécimes foi utilizado armadilhas Sherman, iscadas com uma massa composta de sardinha, óleo de sardinha, fubá e essência de baunilha (BOVENDORP *et al.*, 2017). Foram feitas 8 trilhas, com espaçamento de 10m entre pontos, onde se armou um total de 180 armadilhas/dia de esforço de captura, com um tempo ótimo de armadilhamento de uma semana.

Após a captura, os indivíduos foram mantidos em cativeiro em caixas biotério separadas de 30cm x 20cm x 20cm, com um espaçamento de 15cm entre cada indivíduo (espaço que era ocupado com uma caixa biotério vazia, com o intuito de evitar qualquer tipo contato entre indivíduos). As porções de alimentos eram oferecidas *ad libitum*, com resquícios de sobra todos os dias, os animais foram alimentados com uma variedade de frutas (bananas, maçãs, goiaba) e sementes de girassol. Os indivíduos foram mantidos em cativeiro por 4 semanas e três dias, sendo os três primeiros dias o tempo de habituação ao cativeiro e as 4 semanas restantes como tempo hábil para a execução dos experimentos propostos.

4.2 Teste comportamental

O teste comportamental utilizado para a quantificação dos traços comportamentais foi o de arena com buracos, este teste criado por BOISSIER, (1962), tem como intuito avaliar a reação dos indivíduos ao se depararem com um ambiente novo e aberto. A padronização do tempo na arena foi de 3 minutos de tempo de habituação, 10 minutos de latência máxima (caso o indivíduo não saia da antessala o experimento acaba) e cinco minutos de filmagem de atividade. Todos os experimentos foram realizados a 27° C, em uma câmara climática Walk-in fitrotron, marca Eletrolab, modelo 011.

Foram realizados no total quatro experimentos de comportamento, um por semana ao longo das quatro semanas de cativeiro. No experimento controle, não se manuseia nenhum tipo de substância nos indivíduos antes do teste. No terceiro experimento se injetou solução tampão fosfato-salino nos indivíduos, como controle para o LPS. No quarto experimento é injetado o LPS proveniente da parede celular de bactérias gram negativa *Escherichia coli* (cepa 026:B6, Sigma-Aldrich Corporation).

Foi administrado por injeção dorsal 0,5 mg/kg de LPS dissolvido em solução tampão (PREVITALI *et al.*, 2012).

Essas filmagens serviram para quantificar os comportamentos a seguir: Latência ao sair da antessala (no máximo 10 minutos); Tempo gasto se locomovendo pelo aparato; Número de quadrantes percorridos no aparato; Frequência a qual o animal levanta as patas anteriores (“rearing”); Frequência de saltos, escaladas e tentativas de fuga em geral; Frequência de “head dipping”, interação do animal com os buracos do aparato onde ele coloca a cabeça inteiramente ou parcialmente dentro do buraco; Frequência de “risk assessment”, comportamento onde o animal coloca a cabeça para fora da antessala até a altura da orelha. Cada bateria experimental realizada teve seus comportamentos quantificados por dois observadores.

4.3 Identificação dos indivíduos

Para a identificação do gênero e espécie dos indivíduos foi utilizado o Guia dos Roedores do Brasil (BONVICINO *et al.*, 2008), esta chave se utiliza de caracteres externos para identificação de gênero. Os indivíduos foram dissecados em busca de vesícula biliar, sabe-se que indivíduos deste gênero que não possuem vesícula biliar são *Akodon montensis*, nenhum indivíduo utilizado nesta pesquisa possuía vesícula biliar (GEISE *et al.*, 2004). Todos os indivíduos foram identificados com supervisão do professor Alexandre Reis Percequillo e se encontram na coleção do Laboratório de Zoologia de Vertebrados ESALQ-USP.

4.4 Métrica usada para pontuação de estilos de enfrentamento

Para a pontuação e classificação dos estilos de enfrentamento foram usadas apenas as baterias controle 1, controle 2 e PBS, visto uma vez que a diminuição da capacidade de movimentação já era esperada em LPS (HABA *et al.*, 2012). Para a classificação foram selecionados comportamentos, os dividindo entre indicadores de movimentação/exploração e somente exploração. Comportamentos considerados como movimentação e exploração são: movimentação total, movimentação no centro, movimentação periférica, tempo total se locomovendo, tempo total se locomovendo na periferia, tempo total se locomovendo no centro. Os comportamentos apenas de exploração são head dipping e rearing, head dipping serve para os animais

investigarem e explorarem um ambiente restrito no chão, a existência da arena com buracos tem a função de separar exploração de movimentação, adicionando esta interação com buracos (FILE & WARDILL, 1975). Já o rearing serve para os animais alcançarem um ponto mais alto, assim sua visão pode alcançar estímulos mais distantes. Comportamentos como tempo de latência ao sair da antessala e acesso a riscos são considerados comportamentos característicos de hesitação, medo e evitar situações de risco.

Visto isto comportamentos ligados a movimentação e exploração serão ranqueados e pontuados de maneira com que o que mais explora e se movimenta obtêm mais pontos e o que menos explora obtêm menos pontos. Já para comportamentos ligados a hesitação e medo, quanto menos medo e hesitação os indivíduos mostrarem mais eles obterão pontos. Uma vez dado os pontos e feita a colocação para cada indivíduo os mesmos serão separados entre reativos e proativos, de maneira com que ao menos 4 indivíduos se mantenham em cada grupo.

4.5 Análise estatística

Uma ANOVA de duas vias foi utilizada para avaliar a diferença entre os indivíduos reativos e proativos em relação aos tratamentos, sendo as variáveis explanatórias grupo de tratamento (Controle 1, controle 2, PBS e LPS) e estilo de enfrentamento (Reativo-Proativo). As variáveis resposta serão todos os comportamentos avaliados, a fim de descobrir como os mesmos são afetados pelo LPS e suas interações com estilos de enfrentamento.

Foi realizado ANOVA de duas vias para cada comportamento avaliado, tanto de movimentação, exploração, movimentação/exploração sendo somente os relevantes ($p < 0,05$), apresentados no trabalho. Desta forma caso necessário métodos de normalização da distribuição dos dados serão aplicados utilizando o método min-max. Outliers foram encontrados, entretanto nenhum outlier foi considerado um outlier extremo, logo não foge das premissas estabelecidas da ANOVA de duas vias.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados gerais

Foram capturados 17 indivíduos em campo, destes indivíduos nem todos conseguiram ser utilizados para experimentos de comportamento. Os indivíduos que não foram utilizados, ou não saíram da antessala durante o período de latência, ou vieram a óbito durante período de cativeiro.

Tabela 1: Animais coletados, sexo e estilos de enfrentamento

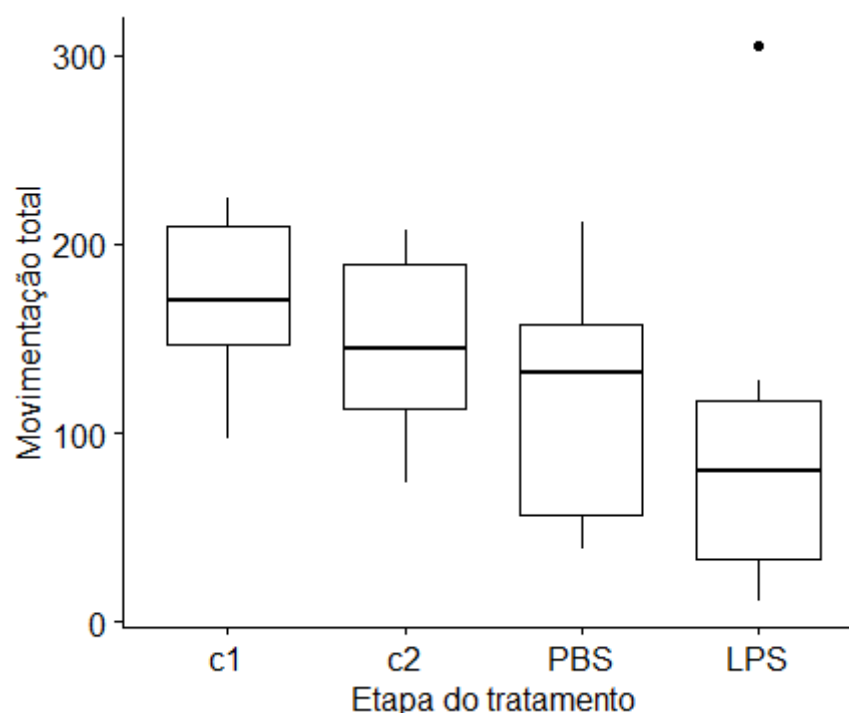
Indivíduo	Sexo	Estilos de enfrentamento (reativo-proativo)
2	M	Sem informações
3	M	Sem informações
6	M	Proativo
7	M	Reativo
8	M	Sem informações
9	F	Proativo
10	M	Sem informações
11	M	Proativo
13	M*	Reativo
14	M*	Reativo
15	M	Proativo
16	F	Reativo
17	M	Proativo

Fonte: Elaborado pelo autor

5.2 Resultados modelos de comportamento

Os resultados encontrados nesta sessão indicam que injeção de LPS afeta os indivíduos nos comportamentos de movimentação total, tempo total se locomovendo e rearing. Para movimentação total encontramos um $p < 0,05$ ($p = 0,01$) para a análise de variação, com LPS se diferenciando dos grupos PBS e controle.

Figura 1. Boxplot de movimentação total por etapa de tratamento, sendo as etapas controle 1 (c1), controle 2 (c2), etapa solução tampão fosfato (PBS) e etapa de lipopolissacarídeos (LPS).



Fonte: Elaborado pelo autor

Tempo total também obteve um resultado significativo para variação entre tratamentos, entretanto com um valor de $p=0,049$, valor considerado estreito para este tipo de análise. O teste post-hoc nos mostrou que neste comportamento LPS se diferencia significativamente apenas do grupo controle. Já rearing também obteve um valor de $p<0,05$, mas com uma margem muito estreita, sendo $p=0.042$ e com o grupo LPS se diferenciando significativamente apenas do grupo controle. Para os demais comportamentos obtivemos resultados não significativos de p , quando comparados apenas a grupos de tratamento.

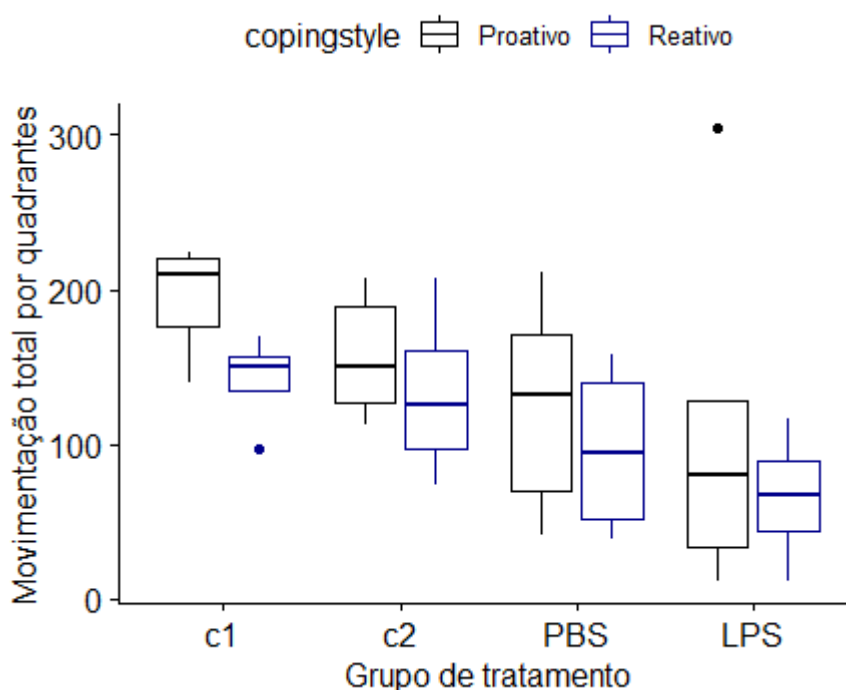
Tabela 2: Resultados dos testes post-hoc

Comportamentos	Valor de p	Relação post-hoc
Tempo total	0,049	LPS se diferencia de controle, mas não de PBS.
Rearing	0,042	LPS se diferencia de PBS, mas não de controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Indivíduos reativos e proativos apresentaram diferentes respostas ao tratamento com LPS, aparentemente o decaimento do comportamento de movimentação total dos indivíduos variou de acordo com tratamento (como mostra o gráfico 1), mas não interagiu com o tipo de estilo de enfrentamento, indivíduos reativos e proativos não variaram em movimentação total, quando grupos de tratamento faziam parte do efeito. Esmiuçando a variável de movimentação podemos ver que a movimentação no centro possui relevância estatística quando relacionada ao tipo de estilo de enfrentamento, uma vez que indivíduos reativos aumentaram sua atividade em controle 2 e decaíram novamente, assim como indivíduos proativos (estes que mantiveram o esperado para seus comportamentos).

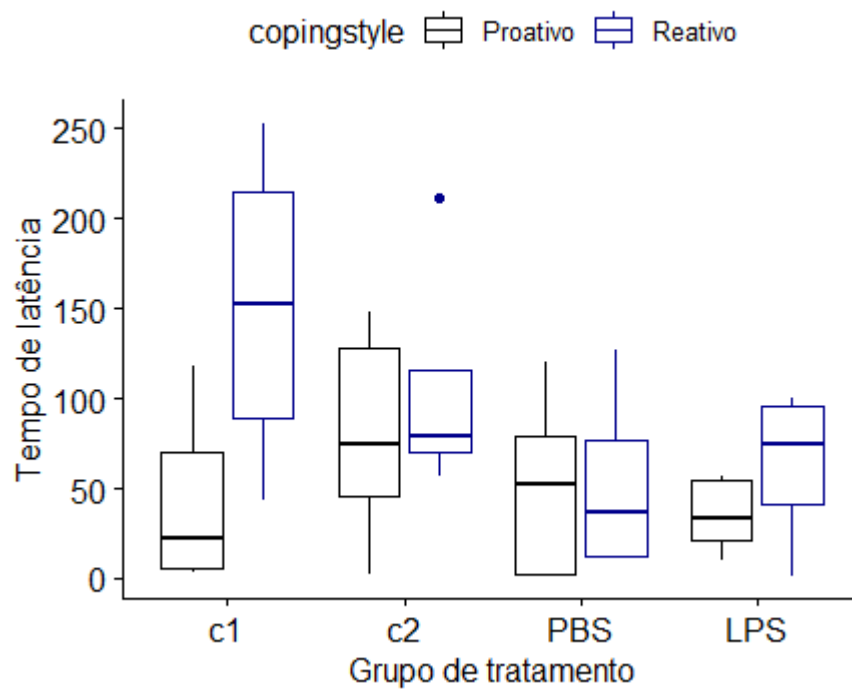
Figura 2. Box plot de movimentação total de quadrantes e grupo de tratamentos separados por estilos de enfrentamento



Fonte: Elaborado pelo autor

Latência média obteve variação para indivíduos proativos e reativos ($p < 0,05$), uma vez que indivíduos reativos diminuíram seu tempo de latência de acordo com a passagem do tempo, de controle 1 para controle 2 os indivíduos diminuem muito seu tempo médio de latência e em controle 2 o tempo de latência se mantém estável até o fim dos experimentos.

Figura 3. Boxplot de tempo de latência e grupos de tratamentos separados por coping style



Fonte: Elaborado pelo autor

Para todos os comportamentos avaliados o tratamento de LPS cumpriu com o efeito, fazendo com que todas variáveis ligadas a movimentação diminuíssem com o tratamento, o mesmo não se aplica.

6 DISCUSSÃO

LPS e comportamento de roedores já possuem um arcabouço bastante robusto, logo se sabia que LPS afetava a capacidade motora de ratos (KOZAK *et al.*, 1994), mas LPS afeta também comportamentos mais intrincados, que nos ajudam a compreender como estes mecanismos operam na espécie *Akodon montensis*. No trabalho realizado por HABA *et al.*, (2012), os autores discutiram sobre como roedores reagem a um teste de arena aberta após efeito do LPS, os resultados encontrados mostram que a exploração dos indivíduos é afetada para novos objetos, mas não para exploração da arena em si, logo os resultados encontrados nesta pesquisa reafirmam em partes as respostas encontradas por HABA. Já esperávamos queda na movimentação e também a queda de interações de caráter exploratório, como por exemplo rearing e head dipping. Entretanto compreendemos que tanto indivíduos reativos, quanto proativos possuem quedas nos comportamentos exploratórios igualmente severas, fator que pode ser limitante durante uma infecção em ambiente natural.

Indivíduos proativos neste trabalho apresentaram uma grande queda na movimentação/exploração, em ambientes naturais este tipo de queda na exploração tão severa pode significar a morte do indivíduo, visto que exploração possui motivos intrínsecos a sobrevivência, como por exemplo obtenção de recursos (HUGHES, 1997; READER, 2015). Esta queda no comportamento de movimentação/exploração pode apresentar também uma queda na capacidade reprodutiva do animal, questão que muda consideravelmente a visão que se tinha acerca de proatividade e seus benefícios (GABRIEL & BLACK, 2012).

Também se pode observar situações onde as mudanças comportamentais podem ter sido em relação a diferentes formas de responder ao estresse de cativeiro (FISCHER *et al.*, 2019), visto que pode-se observar variações em tempo de latência dentro dos controles, indivíduos reativos vieram a quebrar mais rapidamente o tempo de latência em controle 2, fator que pode ser explicado pelo estresse fisiológico gerado pelo cativeiro, onde aparentemente indivíduos reativos respondem melhor ao cativeiro, uma vez que aproximam consideravelmente seu tempo de quebra de latência em relação a indivíduos proativos. Apesar desta aproximação ainda se pode ver que após a aplicação de LPS, os indivíduos reativos voltam a ter uma média de tempo de latência maior que a apresentada por indivíduos proativos.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão foi observado que administração de LPS afeta o comportamento de movimentação e também comportamento exploratório, os resultados corroboram com obras da área (HABA *et al.*, 2012) e apresentam também resultados surpreendentes, como o encontrado para latência média. Os futuros passos da pesquisa provavelmente envolvem aleatorizar os tratamentos, para que se exclua o efeito de tempo de cativeiro. Em termos fisiológicos e evolutivos o trabalho apresentou como se dão possivelmente os investimentos dos diferentes estilos de enfrentamento em capacidade imune, uma vez que provavelmente devido a maior tempo enfrentando infecções, indivíduos proativos possuam menores reservas energéticas para investir em imunidade inata.

REFERÊNCIAS

- ABOLINS, Stephen *et al.* The comparative immunology of wild and laboratory mice, *Mus musculus domesticus*. **Nature communications**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 1-13, 2017.
- ABOLINS, Stephen *et al.* The ecology of immune state in a wild mammal, *Mus musculus domesticus*. **PLoS biology**, [s.l.], v. 16, n. 4, p. e2003538, 2018.
- BOISSIER, J. R. The exploration reaction in mouse. **Thérapie**, [s.l.], v. 17, p. 1225-1232, 1962.
- BONVICINO, C. R. *et al.* **Guia dos roedores do Brasil**. Rio de Janeiro: OPAS/OMS, [s.l.], 2008.
- BOVENDORP, Ricardo S.; MCCLEERY, Robert A.; GALETTI, Mauro. Optimising sampling methods for small mammal communities in Neotropical rainforests. **Mammal Review**, [s.l.], v. 47, n. 2, p. 148-158, 2017.
- BOYER, Nelly *et al.* Personality, space use and tick load in an introduced population of Siberian chipmunks *Tamias sibiricus*. **Journal of Animal Ecology**, v. 79, n. 3, p. 538-547, 2010.
- COPPENS, Caroline M.; DE BOER, Sietse F.; KOOLHAAS, Jaap M. Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 365, n. 1560, p. 4021-4028, 2010.
- DALL, Sasha RX; HOUSTON, Alasdair I.; MCNAMARA, John M. The behavioural ecology of personality: consistent individual differences from an adaptive perspective. **Ecology letters**, [s.l.], v. 7, n. 8, p. 734-739, 2004.
- Vania Regina *et al.* Antimicrobial capacity of plasma from anurans of the Atlantic DE ASSIS Forest. **South American Journal of Herpetology**, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 155-160, 2013.
- DINGEMANSE, Niels J. Parasitism and the evolutionary ecology of animal personality. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 365, n. 1560, p. 4077-4088, 2010.
- FISCHER, Clare Parker; ROMERO, L. Michael. Chronic captivity stress in wild animals is highly species-specific. **Conservation physiology**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. coz093, 2019.
- GABRIEL, Pia O.; BLACK, Jeffrey M. Behavioural syndromes, partner compatibility and reproductive performance in Steller's jays. **Ethology**, v. 118, n. 1, p. 76-86, 2012.
- GALETTI, Mauro *et al.* Defaunation affects the populations and diets of rodents in Neotropical rainforests. **Biological Conservation**, [s.l.], v. 190, p. 2-7, 2015.

GEISE, Lena; WEKSLER, Marcelo; BONVICINO, Cibeles Rodrigues. Presence or absence of gall bladder in some Akodontini rodents (Muridae, Sigmodontinae). **Mammalian Biology**, [s.l.], v. 69, n. 3, p. 210-214, 2004.

GÓES, Mariana Bentim. Síndrome do comportamento em roedores muroides da Reserva Florestal do Morro Grande e suas possíveis implicações: resposta à fragmentação, dinâmica sucessional e taxa metabólica basal. **Repositório UNESP**. 2011.

GOLDE, W. T.; GOLLOBIN, P.; RODRIGUEZ, L. L. A rapid, simple, and humane method for bleeding of mice. 2005. **Lab animal**, [s.l.], v. 34, n. 9, p. 39–43, 2005.

GOODIN, Douglas G. *et al.* Microhabitat characteristics of *Akodon montensis*, a reservoir for hantavirus, and hantaviral seroprevalence in an Atlantic forest site in eastern Paraguay. **Journal of Vector Ecology**, [s.l.], v. 34, n. 1, p. 104-113, 2009.

GRUYS, Erik *et al.* Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, [s.l.], v. 6, n. 11, p. 1045, 2005.

HABA, Ryota *et al.* Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. **Behavioural brain research**, [s.l.], v. 228, n. 2, p. 423-431, 2012.

Hughes RN, 1997. Intrinsic exploration in animals: motives and measurement. **Behav Process** 41:213–226.

JACQUES-HAMILTON, Rowan *et al.* Personality and innate immune defenses in a wild bird: Evidence for the pace-of-life hypothesis. **Hormones and Behavior**, [s.l.], v. 88, p. 31-40, 2017.

KOOLHAAS, J. M. *et al.* Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s.l.], v. 23, n. 7, p. 925-935, 1999.

KOOLHAAS, J. M. Coping style and immunity in animals: making sense of individual variation. **Brain, behavior, and immunity**, [s.l.], v. 22, n. 5, p. 662-667, 2008.

KOPRIVNIKAR, Janet; GIBSON, Chris H.; REDFERN, Julia C. Infectious personalities: behavioural syndromes and disease risk in larval amphibians. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 279, n. 1733, p. 1544-1550, 2012.

KOZAK, W. I. E. S.; CONN, CAROLE A.; KLUGER, MATTHEW J. Lipopolysaccharide induces fever and depresses locomotor activity in unrestrained mice. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [s.l.], v. 266, n. 1, p. R125-R135, 1994.

MACHADO, Arielli F. *et al.* Movement and use of environmental structures, climbing supports and shelters by *Akodon montensis* (Sigmodontinae, Rodentia) in the Atlantic Forest of southern Brazil. **Mammalia**, [s.l.], v. 84, n. 1, p. 107-113, 2020.

LOPPENKE, Lars; DENISSEN, Jaap JA; MILLER, Geoffrey F. The evolutionary genetics of personality. **European Journal of Personality: Published for the European Association of Personality Psychology**, [s.l.], v. 21, n. 5, p. 549-587, 2007.

PREVITALI, M. Andrea; OSTFELD, Richard S.; KEESING, Felicia; *et al.* Relationship between pace of life and immune responses in wild rodents. **Oikos**, [s.l.], v. 121, n. 9, p. 1483–1492, 2012.

LASSELIN, Julie *et al.* Comparison of bacterial lipopolysaccharide-induced sickness behavior in rodents and humans: relevance for symptoms of anxiety and depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s.l.], v. 115, p. 15-24, 2020.

LASSELIN, Julie. Back to the future of psychoneuroimmunology: Studying inflammation-induced sickness behavior. **Brain, Behavior, & Immunity-Health**, [s.l.], v. 18, p. 100379, 2021.

LEE, Kelly A. Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. **Integrative and comparative biology**, [s.l.], v. 46, n. 6, p. 1000-1015, 2006.

LOPES, Patricia C.; SPRINGTHORPE, Dwight; BENTLEY, George E. Increased activity correlates with reduced ability to mount immune defenses to endotoxin in zebra finches. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, [s.l.], v. 321, n. 8, p. 422-431, 2014

OLIVEIRA, Renata Carvalho *et al.* Ecological study of hantavirus infection in wild rodents in an endemic area in Brazil. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 131, p. 1-10, 2014.

READER SM. Causes of individual differences in animal exploration and search. **Top Cogn Sci** 7:451–468. 2015

RÉALE, Denis *et al.* Integrating animal temperament within ecology and evolution. **Biological reviews**, [s.l.], v. 82, n. 2, p. 291-318, 2007.

SANTICCHIA, Francesca *et al.* The price of being bold? Relationship between personality and endoparasitic infection in a tree squirrel. **Mammalian Biology**, v. 97, p. 1-8, 2019.

SIH, Andrew; BELL, Alison; JOHNSON, J. Chadwick. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. **Trends in ecology & evolution**, [s.l.] v. 19, n. 7, p. 372-378, 2004.

SUFFREDINI, Anthony F. *et al.* New insights into the biology of the acute phase response. **Journal of clinical immunology**, v. 19, n. 4, p. 203-214, 1999.

VALDEZ, Lourdes; D'ELÍA, Guillermo. Differentiation in the Atlantic Forest: phylogeography of *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia. **Journal of Mammalogy**, [s.l.], v. 94, n. 4, p. 911-922, 2013.

VANDEN BROECKE, Bram et al. Does exploratory behavior or activity in a wild mouse explain susceptibility to virus infection?. **Current Zoology**, v. 64, n. 5, p. 585-592, 2018.