

# Comportamento Exploratório e Ansiolítico de Ratos e Ratas Submetidos à Estimulação Somatossensorial

## *Exploratory and Anxiolytic Behavior of Rats Submitted to Somatosensory Stimulation*

Eder João de Arruda\*, Jefferson Hisamo Kitamura,  
Taila Penteado Chaves, Carlos Alberto da Silva, André Lico Mascarim

Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP

**Resumo:** Contextualização: No mundo todo, a pesquisa científica evolui com expressividade no que diz respeito a investigações realizadas em animais. No entanto, pouco se sabe sobre a influência da estimulação somatossensorial envolvida no manuseio experimental. **Objetivo:** Avaliação do comportamento ansiolítico de ratos submetidos ao manuseio similar a de procedimentos experimentais, por meio da estimulação somatossensorial. **Métodos:** A partir da idade pós-desmame, os animais foram separados em 4 grupos (n=10), a saber: fêmea estimulada (FE), fêmea não estimulada (FNE), macho estimulado (ME) e macho não estimulado (MNE). A estimulação foi realizada 5 vezes por semana durante 3 meses. O comportamento exploratório, bem como o ansiolítico, foram avaliados por meio do campo aberto (CA) e labirinto em cruz elevado (LCE). A estatística foi baseada nos testes ANOVA e Tukey ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Constatou-se que os grupos FE e ME apresentaram maior atividade exploratória (44% e 28% respectivamente) em relação aos outros grupos. Em relação à ansiedade, o grupo FE apresentou-se 16% mais ansioso que o FNE ( $p < 0,05$ ). Surpreendentemente, o grupo ME apresentou-se 433% menos ansioso que o MNE ( $p < 0,05$ ), visto que o maior tempo de permanência nos braços fechados do LCE é indicativo de ansiedade. **Conclusão:** Conclui-se que a estimulação somatossensorial realizada em ambiente laboratorial pode alterar o comportamento exploratório e ansiolítico dos animais em experimentação. Sugere-se que as condições experimentais sejam o mais homogêneas possível.

**Palavras-chave:** Ratos, Estimulação Somatossensorial, Comportamento Exploratório, Comportamento ansiolítico.

**Abstract:** *Contextualization:* Worldwide, scientific research evolves with expression with respect to investigations carried out on animals. However, few is known about the influence of somatosensory stimulation, involved in experimental handling. *Objective:* Evaluation of the anxiolytic and exploratory behavior of rats similar to the handling of experimental procedures, by means of somatosensory stimulation. *Methods:* From the old post-weaning, the animals were separated into 4 groups (n=10), namely, stimulated female (FE), non-stimulated female (FNE), stimulated male (ME) and non-stimulated male (MNE). Stimulation was performed five times a week for 3 months. The exploratory and anxiolytic behaviors were assessed using the open field (OF) and elevated plus maze (EPM). The statistical analysis was based on the ANOVA and Tukey ( $p < 0.05$ ) tests. *Results:* We found that the FE and ME groups had a higher exploratory activity (44% and 28%, respectively), related to the other groups. Regarding anxiety, the FE group was 16% more anxious than the FNE ( $p < 0.05$ ). Surprisingly, group ME was 433% less anxious than the MNE ( $p < 0.05$ ), since the larger time spent in the closed arms of the EPM is indicative of anxiety. *Conclusion:* We conclude that somatosensory stimulation performed in the laboratory can change the anxiolytic and exploratory behavior of animals in experiments. It is suggested that the experimental conditions are most homogeneous as possible.

**Keywords:** Rats, Somatosensory stimulation, Exploratory behavior, Anxiolytic behavior.

## 1. Introdução

Os modelos animais são fundamentais para a pesquisa, por mimetizarem algumas características elementares de um estado patológico específico e reduzir o número de variáveis cujo controle é inacessível, oferecendo assim, maior grau de controle experimental, além de permitir manipulações experimentais que poderiam ser impossíveis em outras circunstâncias<sup>7</sup>.

Algumas vezes por descuido metodológico o grupo controle pode não ser submetido às mesmas condições que o grupo teste, em especial quanto ao manuseio para o ambiente laboratorial. Desta forma,

entende-se que o grupo submetido a procedimentos que envolvam a manipulação através do toque, possa apresentar comportamento diferenciado.

Nos últimos anos, estudos relacionados aos mecanismos biológicos envolvidos nos distúrbios ansiosos vêm abrindo novos rumos para a compreensão de sua gênese que convergem para hipóteses neuroquímicas relevantes por influenciarem o comportamento<sup>1</sup>.

É sabido que alterações bioquímicas, fisiológicas e hormonais ocorrem em qualquer animal mantido em contenção, e o manuseio destes durante a prática experimental pode potencializar estas alterações<sup>4</sup>.

A ansiedade é uma experiência fundamental que preenche um papel funcional na interação com o

\*Autor correspondente: E-mail: [ftederarruda@gmail.com](mailto:ftederarruda@gmail.com)

meio ambiente, mas a ansiedade persistente pode ocorrer como sintoma de várias doenças ou mesmo induzir a um estado patológico. A desordem da ansiedade compreende um estado de apreensão que perdura por longo tempo, cuja causa é identificável ou não, sendo geralmente acompanhada de tensão motora e hiperatividade neurovegetativa, manifestações autonômicas, tais como, palpitação, dificuldade de respirar, transpiração, micção e variação do peristaltismo<sup>19</sup>

Os organismos se desenvolvem em ambientes que constantemente fornecem estímulos e interação com influências genéticas controladoras da ontogênese comportamental. Durante a maturação, os estímulos externos auxiliam no funcionamento dos receptores sensoriais, crescimento e funcionamento do cérebro. O desenvolvimento completo dos receptores e do cérebro é decisivo para o desenvolvimento das habilidades do animal<sup>20</sup>.

No âmbito experimental, é possível avaliar os índices de ansiedade através de diferentes testes comportamentais dos quais destacam-se o teste de campo aberto (*open field*), que é um teste comportamental empregado na avaliação do comportamento exploratório de ratos, e o labirinto em cruz elevado (*elevated plus-maze*), que é considerado um instrumento válido para medir ansiedade, investigando aspectos comportamentais, fisiológicos e farmacológicos<sup>24</sup>.

Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade, ou seja, quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos<sup>18</sup>

Visto que a pesquisa científica desenvolvida com animais é de grande aplicabilidade e pode fornecer resultados homogêneos, é importante que os métodos sejam cada vez mais refinados. Assim, o presente estudo objetivou investigar o comportamento exploratório, bem como o comportamento ansiolítico de ratos e ratas mantidos em condições de experimentação, mediante ao estímulo somatossensorial por meio do manuseio experimental.

## 2. Material e Métodos

O presente estudo contou com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob protocolo nº 010/07. Os cuidados experimentais seguiram recomendações do Institute of Laboratory Animal Research<sup>9</sup>.

Foram utilizados sete casais de ratos *Wistar* adultos adquiridos junto à empresa ANILAB. Os animais foram condicionados em um casal por caixa durante sete dias, no intuito de se obter a concep-

ção. Ao término deste período, os machos foram retirados das caixas e 14 dias após, as fêmeas deram cria. Deste modo, garantiu-se que todos os animais participantes da pesquisa não tinham qualquer alteração e/ou vício comportamental. Após o nascimento, os filhotes permaneceram com as mães até o final do período de amamentação, em ambiente climatizado ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e com ciclo fotoperiódico entre claro/escuro de 12h, com água e ração *ad libitum*. No pós-desmame (21º dia) foram separados das mães e distribuídos por gênero, em gaiolas coletivas. Na sequência, os animais foram distribuídos em quatro grupos (n=20), a saber: fêmeas estimuladas (FE), fêmeas não estimuladas (FNE), machos estimulados (ME) e machos não estimulados (MNE).

Os grupos não estimulados foram mantidos em condições similares as do grupo controle em condições de experimentação. Ou seja, população de no máximo 5 animais por gaiola, confinados somente no biotério (não foram levados ao laboratório) e manuseados somente 2 vezes por semana, durante a limpeza das gaiolas. Já os grupos estimulados, foram levados ao laboratório, cinco vezes por semana, percorrendo um trajeto de 300 metros (do biotério ao laboratório).

A estimulação somatossensorial foi realizada desde o pós-desmame até a idade adulta (3 meses de idade), sendo cinco dias por semana, cinco minutos em cada animal, sendo caracterizada por toques digitais de leve pressão nos principais locais de interpretação somatossensorial do animal (vibrissas, membros anteriores e posteriores).

Os testes experimentais foram realizados no final do 3º mês de vida no início da noite, que é considerado o período de maior atividade da espécie. Os animais foram filmados durante a exposição ao teste de campo aberto (*Open Field*), permanecendo no ambiente durante 3 minutos para avaliação do comportamento exploratório segundo a proposta de Royce<sup>23</sup>. Neste tempo é contado o número de campos deslocados, considerando-se um campo deslocado quando o animal coloca três membros na área demarcada. O campo aberto pode ser observado na Figura 1A.

Para avaliação do estado ansiolítico, utilizou-se o teste de labirinto em cruz elevado (LCE), que consiste em colocar o animal em um labirinto elevado a 90 cm do solo, sendo formado por dois braços fechados com paredes laterais e dois braços transparentes e sem paredes, conforme observa-se na Figura 1B. A tendência é que os animais permaneçam maior parte do tempo nos braços fechados. Assim, considera-se a porcentagem de preferência (tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maior o nível de ansiedade, menor a porcentagem de permanência nos braços abertos<sup>15,5</sup>.

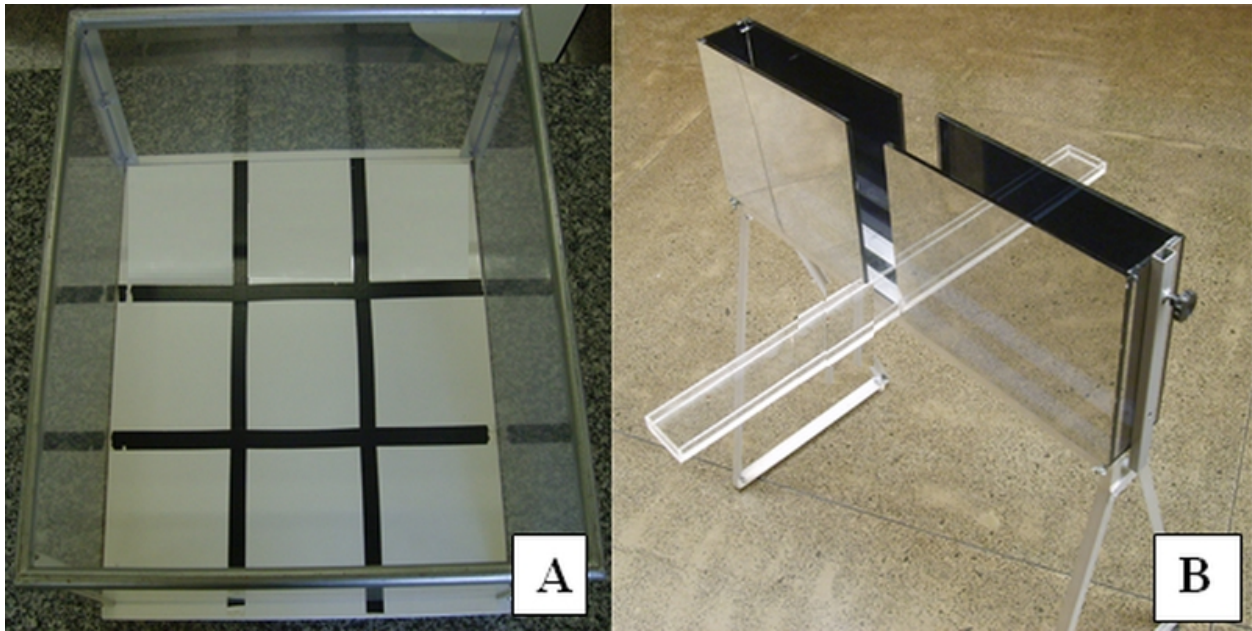


Figura 1: (A) Instrumento de avaliação exploratória (campo aberto). (B) Instrumento de avaliação da ansiedade (labirinto em cruz elevado).

Após as avaliações, os dados foram submetidos a análise estatística no programa Bioestat 5.0, por meio do teste de ANOVA seguida do teste de Tukey, com significância estabelecido em  $p < 0,05$ .

### 3. Resultados

Inicialmente foi avaliada a locomoção das ratas submetidas ao teste de campo aberto, sendo constatado que o grupo não estimulado deslocou-se em média 32 campos, enquanto que o estimulado deslocou em média 46 campos, o que expressa elevação de 44% na atividade exploratória. No que tange a locomoção dos machos, foi verificado que o grupo não estimulado deslocou-se em média 22 campos, o que indica elevação de 28% na atividade exploratória, como pode ser observado na Figura 2.

A seguir foi realizada a avaliação da ansiedade, por meio do labirinto em cruz elevado, onde estão expressos em percentual de tempo de permanência nos braços abertos e/ou fechados.

Pode-se constatar que o grupo FNE permaneceu 55% do tempo no braço aberto e 45% no braço fechado. Por outro lado, o grupo FE apresentou resultado inverso, visto que permaneceram 46% do tempo no braço aberto e 54% no braço fechado, indicando que o grupo FE apresentou 9% ( $p < 0,05\#$ ) mais ansioso que o FNE, tendo como parâmetro de comparação o braço fechado, conforme apresentado na Figura 3.

Em relação aos animais machos, verificou-se que o grupo não estimulado (MNE) permaneceu 3% do tempo no braço aberto e 97% no braço fechado. Por outro lado, o grupo estimulado (ME), permaneceu 16% do tempo no braço aberto e 84% no braço fechado. Um fato a se destacar é a expressividade da diferença observada nos braços abertos, 3% e 16% nos grupos MNE e ME, que em uma análise mais primorosa revela diferença de 433% ( $p < 0,05^*$ ). Ou seja, o grupo ME se expõe mais, indicando menor nível de ansiedade.

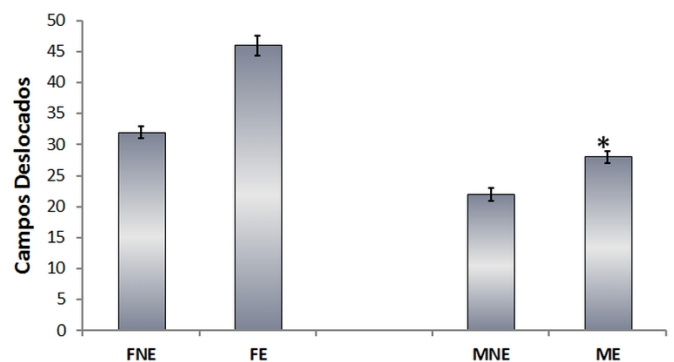


Figura 2: Deslocamento exploratório no teste de campo aberto (*open field*) de fêmeas (F) e machos (M) não estimulados (NE) e estimulados (E). Os valores correspondem a média  $\pm$  epm,  $n=20$ ,  $*p < 0,05$ .

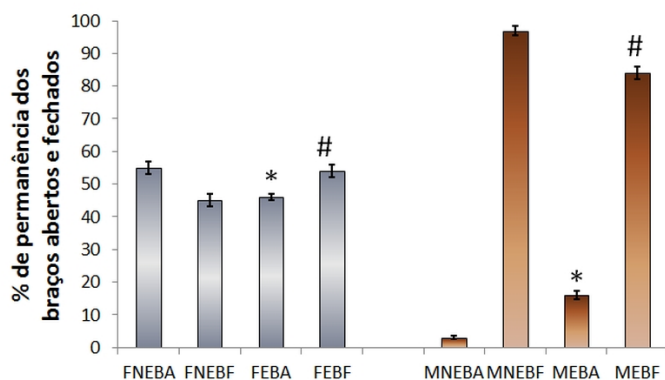


Figura 3: Percentual de permanência temporal no labirinto em cruz elevado nos braços aberto (BA) e fechado (BF), dos grupos estimulados (E) e não estimulado (NE) de ratos (M) e ratas (F). Os valores correspondem a média $\pm$ epm, n=10. \*p<0,05 comparado ao braço aberto e #p<0,05 comparado ao braço fechado.

#### 4. Discussão

Muito embora pareça simples a situação do teste, inúmeros são os fatores influentes na aversão aos braços abertos e alguns deles são inerentes ao sujeito ou a condição de estímulo a que está submetido <sup>14,25</sup>.

Estudos realizados recentemente forneceram evidências indicando que experiências adversas precoces, como separação materna ou isolamento neonatal, juntamente com a interrupção das interações mãe-filho, afetam o desenvolvimento do sistema nervoso central e conseqüentemente levam ao aumento da suscetibilidade aos efeitos negativos do estresse quando adultos, fato notado também em crianças de orfanatos, as quais desenvolvem profundas alterações comportamentais, endócrinas e na homeostasia do sistema imunológico <sup>12,11</sup>.

Na vertente da experimentação animal, é consenso que no teste de exploração em campo aberto, o número de campos deslocados tem relação com o perfil psicoemocional da espécie, cuja maior emocionalidade se manifesta em ambientes amplos, já que os roedores, por instinto, se locomovem perto das paredes onde se sentem mais protegidos <sup>2,3</sup>.

Neste contexto, ao avaliar a locomoção dos animais, foi constatado que ambos os grupos estimulados (macho e fêmea) apresentaram uma elevação no deslocamento, que pode refletir uma adaptação diferenciada onde os animais manifestam maior segurança no recinto em que foram expostos. Desta forma, as emoções básicas representadas por redes neurais inatas podem estar coordenando as estratégias comportamentais, permitindo aos animais interagirem com mudanças contínuas no ambiente, assim corroborando com dados de Zangrossi Jr. & File <sup>26</sup>.

Independente do sexo, a natureza adaptativa no comportamento animal pode ser elicitada numa situação neutra como no teste de campo aberto. No entanto, as fêmeas apresentaram um maior padrão exploratório do que os machos, e ainda foi verificado que estas exibiram comportamento exploratório maior do que as não estimuladas. Este acompanha a literatura, pois também aponta para as diferentes relações hormonais entre machos e fêmeas, onde nas fêmeas a maturação hormonal e comportamental ocorre precocemente <sup>16</sup>.

O desenvolvimento da estrutura cerebral é influenciado não apenas pelas duas primeiras semanas de vida, mas também pelo período posterior de latência. Neste contexto, eventos precoces na vida exercem impacto significativo no desenvolvimento estrutural do cérebro, incluindo o córtex pré-frontal e o sistema límbico <sup>10,6</sup>.

Experimentos que avaliaram, em ratos, os cuidados maternos recebidos durante as duas primeiras semanas de vida indicaram efeitos imprescindíveis na resposta do sistema neuroendócrino ao estresse, sobre a cognição, aprendizado e memória <sup>7</sup>.

Os dados coletados no labirinto em cruz elevado demonstraram que as ratas estimuladas apresentaram-se mais ansiosas quando comparadas às não estimuladas. Nesta análise, considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos de acordo com Morato <sup>18</sup>.

Ploj et al. <sup>21</sup> verificaram que a estimulação tátil em filhotes também tem um efeito distinto no desenvolvimento da reatividade do estresse, visto que ratos que foram submetidos à estimulação tátil apresentaram aumento da curiosidade e da habilidade de resolver problemas, além de menor emocionalidade em situações estressantes.

Dentro de um perfil neuroendócrino tem sido relatado que a estimulação sensorial acelera a atividade da via hipotálamo/hipófise/adrenal, exercendo assim um papel importante no comportamento do animal adulto, além de evidenciar que filhotes manipulados apresentam elevação na quantidade de colesterol no cérebro, fato que tem relação direta tanto com a maturação da substância branca quanto das funções cerebrais <sup>17,22</sup>.

O presente estudo acompanha um recente trabalho que mostrou que ratos sob isolamento neonatal submetido à estimulação tátil manifestaram alteração no índice de ansiedade em ambos os sexos <sup>8</sup>. Estes achados indicam que adequada estimulação tátil desempenha um importante papel na prevenção de distúrbios comportamentais e respostas emocionais aos estímulos ambientais no adulto, induzidos

por experiências adversas precoces.

Convém ressaltar que dentro da abordagem da psicobiologia, é sabido que a estimulação provoca inúmeras alterações neurais e endócrinas com grande reflexo no padrão comportamental e na elevação da concentração plasmática de corticosteróides<sup>13</sup>.

## 5. Conclusão

No que diz respeito a atividade exploratória, tanto o grupo de fêmeas, quanto o grupo de machos que receberam estímulo somatossensorial, apresentaram maior atividade exploratória. Em relação ao nível de ansiedade, as fêmeas estimuladas apresentaram-se mais ansiosas quando comparadas ao grupo de fêmeas não estimuladas. Por outro lado, os machos estimulados apresentaram-se expressivamente menos ansiosos que os machos não estimulados. Por fim, recomenda-se que a rotina experimental seja o mais semelhante possível, a fim de minimizar as variações causadas pelo manuseio experimental.

## Referências

- [1] Anseloni, V.Z. & Brandão, M.L., Ethopharmacological analysis of behavior of rats using variations of the elevated plus-maze. *Behavioral Pharmacology*, 8(6-7):533-540, 1997.
- [2] Daniels, W.M.U.; Pietersen, C.Y.; Carstens, M.E. & Stein, D.J., Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metabolic Brain Disease*, 19(1-2):3-14, 2004.
- [3] Dollinger, M.J.; Holloway, W.R. & Denenberg, V.H., The development of behavioral competence in the rat. In: Bell, R.W. & Smotherman, W.P. (Eds.), *Maternal Influences and Early Behavior*. New York, EUA: SP Medical & Scientific Books, 1ª edição, p. 27-56, 1980, 442 p.
- [4] Flecknell, P.A., Refinement of animal use - assessment and alleviation of pain and distress. *Laboratory Animals*, 28(3):222-231, 1994.
- [5] Garcia, A.M.B.; Cardenas, F.P. & Morato, S., Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. *Physiology & Behavior*, 85(3):265-270, 2005.
- [6] Heim, C. & Nemeroff, C.B., The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biological Psychiatry*, 49(12):1023-1039, 2001.
- [7] Huot, R.; Plotsky, P.M. & McNamara, R.H.L.R.K., Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats. *Brain Research*, 950(1-2):52-63, 2002.
- [8] Imanaka, A.; Morinobu, S.; Toki, S.; Yamamoto, S.; Matsuki, A.; Kozuru, T. & Yamawaki, S., Neonatal tactile stimulation reverses the effect of neonatal isolation on open-field and anxiety-like behavior, and pain sensitivity in male and female adult Sprague-Dawley rats. *Behavioural Brain Research*, 186(1):91-97, 2007.
- [9] Institute of Laboratory Animal Research, *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, EUA: The National Academies Press, 1996. 140 p.
- [10] Kikusui, T.; Nakamura, K.; Kakuma, Y. & Mori, Y., Early weaning augments neuroendocrine stress responses in mice. *Behavioural Brain Research*, 175(1):96-103, 2006.
- [11] Knuth, E.D. & Etgen, A.M., Long-term behavioral consequences of brief, repeated neonatal isolation. *Brain Research*, 1128(1):139-147, 2007.
- [12] Kosten, T.A.; Sanchez, H.; Zhang, X.Y. & Kehoe, P., Neonatal isolation enhances acquisition of cocaine self-administration and food responding in female rats. *Behavioural Brain Research*, 151(1-2):137-149, 2004.
- [13] Kuhn, C.M.; Butler, S.R. & Schanberg, S.M., Selective depression of serum growth hormone during maternal deprivation in rat pups. *Science*, 201(4360):1034-1036, 1978.
- [14] Levine, S. & Mody, T., The long-term psychobiological consequences of intermittent postnatal separation in the squirrel monkey. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(1-2):83-89, 2003.
- [15] Liu, D.; Caldji, C.; Sharma, S.; Plotsky, P.M. & Meaney, M.J., Influence of neonatal rearing conditions on stress-induced adrenocorticotropin responses and norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Journal of Neuroendocrinology*, 12(1):5-12, 2000.
- [16] McGaugh, J.L. & Whalen, N.M.W.R.E., *Psicobiologia - As Bases Biológicas Do Comportamento*. São Paulo, SP: Livros Técnicos e Científicos, 1975. 415 p.
- [17] Meaney, M.J., Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience*, 24:1161-1192, 2001.
- [18] Morato, S., O papel da visão na aversão aos espaços abertos no labirinto em cruz elevado. *Psicologia USP*, 17(4):159-174, 2006.
- [19] Pedrazza, E.L.; Riboldi, G.P.; Pereira, G.S.; Izquierdo, I. & Bonan, C.D., Habituation to an open field alters ectonucleotidase activities in rat hippocampal synaptosomes. *Neuroscience Letters*, 413(1):21-24, 2007.
- [20] Pihoker, C.; Owens, M.J.; Kuhn, C.M.; Schanberg, S.M. & Nemeroff, C.B., Maternal separation in neonatal rats elicits activation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: a putative role for corticotropin-releasing factor. *Psychoneuroendocrinology*, 18(7):485-493, 1993.
- [21] Ploj, K.; Pham, T.M.; Bergström, L.; Mohammed, A.H.; Henriksson, B.G. & Nylander, I., Neonatal handling in rats induces long-term effects on dynorphin peptides. *Neuropeptides*, 33(6):468-474, 1999.
- [22] Rinne, T.; Westenberg, H.G.M.; den Boer, J.A. & van den Brink, W., Serotonergic blunting to meta-chlorophenylpiperazine (m-CPP) highly correlates with sustained childhood abuse in impulsive and autoaggressive female borderline patients. *Biological Psychiatry*, 47(6):548-556, 2000.
- [23] Royce, J.R., On the construct validity of open field measures. *Psychological Bulletin*, 84(6):1098-1106, 1977.
- [24] Schmitt, U. & Hiemke, C., Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 59(4):807-811, 1998.
- [25] Sánchez, M.M.; Ladd, C.O. & Plotsky, P.M., Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. *Development and Psychopathology*, 13(3):419-449, 2001.
- [26] Zangrossi Jr., H. & File, S.E., Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. *Brain Research Bulletin*, 29(3-4):381-388, 1992.

## Notas Biográficas

**Eder João de Arruda** é graduado em fisioterapia (Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, 2009), especialista em fisioterapia aquática (UNICID, 2012) e mestre em Fisioterapia (UNIMEP, 2012). Atualmente é professor da Anhanguera Educacional. *Link para o currículo Lattes:* <http://lattes.cnpq.br/1053987995334336>.

**Jefferson Hisamo Kitamura** é graduado em fisioterapia (UNIMEP, 2009) e especialista em fisioterapia desportiva (UNIMEP, 2011). Atualmente é técnico de laboratório de fisioterapia da UNIMEP. *Link para o currículo Lattes:* <http://lattes.cnpq.br/6368989981009031>.

**Taila Penteado Chaves** é graduada em odontologia (São Leopoldo Mandic, 2009) e atualmente é mestranda em endodontia pela mesma instituição. *Link para o currículo Lattes:* <http://lattes.cnpq.br/0874677136389841>.

**Carlos Alberto da Silva** é graduado em biologia (UNIMEP, 1985), é mestre e doutor em ciências biológicas (UNICAMP, 1990 e 1997) Atualmente é professor titular da UNIMEP. *Link para o currículo Lattes:* <http://lattes.cnpq.br/4175556325372922>.

**André Lico Mascarim** atualmente é aluno de graduação da UNIMEP.

## Histórico

Submetido em 26/08/2011

Revisado em 12/12/2011

Aceito em 23/12/2011

Publicado *on-line* em 29/02/2012