

Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Pró - Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Escola de Ciências Sociais e da Saúde
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Psicologia

**Efeitos comportamentais do benzoato de emamectina nas respostas
mantidas por um esquema múltiplo de reforçamento em ratos**

LEANDRO FARIAS GARCIA

Goiânia, março de 2019

Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Pró - Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Escola de Ciências Sociais e da Saúde
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Psicologia

**Efeitos comportamentais do benzoato de emamectina nas respostas
mantidas por um esquema múltiplo de reforçamento em ratos**

LEANDRO FARIAS GARCIA

Projeto apresentado para o Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Psicologia – Mestrado - 2017/1, Linha de pesquisa: Análise e Evolução do Comportamento, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Coelho.

Goiânia, março de 2019

Garcia, Leandro Farias.

Efeitos comportamentais do benzoato de emamectina nas respostas mantidas por um esquema múltiplo de reforçamento em rato / Leandro Farias Garcia. – Goiânia, 2019. – 70f.

Dissertação – Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás. Mestrado em Psicologia.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Coelho
Bibliografia.

1. Psicologia 2. Reforço comportamental.
3. Benzoato de emamectina I.Título

CDD:155.072

AGRADECIMENTOS

A meus pais, Luiz e Edna pelo apoio incondicional que tem ofertado ao longo de toda a minha vida acadêmica e profissional, que não foi diferente ao longo da realização dessa pesquisa.

A minha esposa Ivanillian, pela presença afetiva e companheirismo de sempre, mas também pelas revisões do texto e pelas prozas regadas a café, a costurar os rumos dos nossos empreendimentos de pós-graduação.

A minha amada filha Isis, raio brilhante que me motiva a seguir em frente sempre. A minha sogra Ivany pelo apoio logístico e afetivo.

Ao Romário, por ter gentilmente cedido uma amostra do produto usado no método, vinda do Laboratório de Entomologia Agrícola do Instituto Federal Goiano- Campus Rio Verde.

Aos colegas e servidores do Laboratório de Análise Experimental do Comportamento e do biotério da PUC-Goiás. Décio, José e Pedro, com quem aprendi sobre o manejo de animais de laboratório e à Stefhany, pela participação na coleta dos dados.

Aos meus professores: Lauro, Lorismário, Weber, Sônia pela oportunidade de aprender conteúdos extremamente relevantes, em especial aqueles situados no campo da Análise do Comportamento. E à Martha, pela prontidão e simpatia de sempre na secretaria do programa.

Ao meu orientador Cristiano, com quem tive a oportunidade de conviver e aprender durante esses dois anos e também ao Reginaldo pelas contribuições na qualificação desse trabalho de pesquisa.

Por último, um agradecimento aos ratos pela sua contribuição histórica à pesquisa básica nos campos da Psicologia e da Toxicologia.

“...el secreto que custodia la semilla es el de la vida; pero esta semilla es de cicuta:
también de la muerte...”

(El Señor Alessandro, 1988).

LISTA DE TABELA

Tabela 01 -	Doses e ordem de exposição de cada sujeito às doses de BE	43
Tabela 02 -	Variação do peso médios dos três sujeitos durante as fases de pré-exposição (Linha de Base); exposição (Dose 1 e Dose 2) e lavagem (Lv 1 e Lv 2). Unidade gramas.....	44
Tabela 03 -	Dados do suj 01, relativos às taxas médias de respostas e reforços nos componentes VI e VR, nas fases de Pré-exposição (Linha de Base); Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1 e Lv 2)	45
Tabela 04 -	Dados do suj 02, relativos às taxas médias de respostas e reforços nos componentes VI e VR, nas fases de pré exposição (Linha de Base); exposição (Dose 1 e Dose 2) e lavagem (Lv 1 e Lv 2)	47
Tabela 05 -	Dados do suj 03, relativos às taxas médias de respostas e reforços nos componentes VI e VR, nas fases de pré exposição (Linha de Base); exposição (Dose 1 e Dose 2) e lavagem (Lv 1 e Lv 2)	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 -	Informações extraídas da bula do Proclain 50 sobre intoxicações por Benzoato de Emamectina.....	16
Figura 02 -	Fórmula estrutural do Benzoato de Emamectina.....	17
Figura 03 -	Quantidade de sessões realizadas com cada sujeito, nas etapas de pré-exposição exposição-dose 1 e exposição dose 2.....	44
Figura 04 -	Gráfico contendo as taxas médias de respostas emitidas pelo Suj. 01 nos componentes VI e VR, sessão por sessão, nas fases de pré-exposição (Linha de Base), Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1)	46
Figura 05 -	Gráfico contendo as taxas médias de respostas emitidas pelo Suj. 02 nos componentes VI e VR, sessão por sessão, nas fases de pré-exposição (Linha de Base), Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1 e Lv 2)	47
Figura 06 -	Gráfico contendo as taxas médias de respostas emitidas pelo Suj. 03 nos componentes VI e VR, sessão por sessão, nas fases de pré-exposição (Linha de Base), Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1 e Lv 2)	48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 O ESTADO DA ARTE DA PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA E O PROBLEMA DOS AGROTÓXICOS NO BRASIL	11
2.1 O Benzoato de Emamectina	15
3 A Avaliação de riscos	17
3.1 Testes com animais	20
3.2 Testes comportamentais.....	26
4 Mecanismos operantes de ação de drogas e intoxicantes	30
5 MÉTODO	39
6 RESULTADOS	43
7. Discussão	49
7 CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE A – protocolo aquisição múltiplo VI/VR.....	66

RESUMO

A toxicidade subcrônica do benzoato de emamectina foi testada em três ratos machos mantidos em condições controladas por um período total de 120 dias. Observações sistematizadas do comportamento sob o efeito das doses de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg geraram dados que foram comparados àqueles obtidos em linha de base e em uma fase de pós exposição, para os mesmos sujeitos, realizando uma tarefa operante de pressão a barra. Os resultados revelam que a emamectina prejudicou a produção comportamental até mesmo na menor dosagem, reduzindo a taxa de acesso a reforços e a produção de respostas nos dois componentes do esquema múltiplo utilizado. A maior dose do experimento gerou sinais de toxicidade em um dos sujeitos e as menores inibiram as respostas e a obtenção de reforços, sem uma relação dose-dependente. Revelou-se ainda que os efeitos do benzoato de emamectina podem se estender por um período de 5 dias após a retirada do agente, o que aponta efeitos mais duradouros sobre o responder.

Palavra-chave: Análise do Comportamento. Benzoato de emamectina. Esquemas Múltiplos de Reforço.

ABSTRACT

The behavioral effects of emamectin benzoate were tested on three rats maintained in a multiple regimen of reinforcement over a 45 days exposure period. The doses 0.5mg / kg, 1.0mg / kg and 2.0mg / kg were administered orally and tested on their ability to modify a baseline of behavior controlled by ratio and interval schemes in succession. The results show that emamectin impaired behavioral production even at the lowest dosage, reducing the rate of access to reinforcements and the production of responses in the two schemes. The highest dose of the experiment generated signs of toxicity in one of the subjects and the lower doses inhibited the responses and reinforcements without a dose-dependent relationship. It has further been shown that the effects of emamectin benzoate can be extended for a period of 5 days after removal of the agent, which reveals long-term effects.

Keywords: Behavior Analysis. Emamectin Benzoate. Multiple Schedules of Reinforcement.

1 INTRODUÇÃO

A presença de inovações tecnológicas, na forma de compostos químicos úteis, tem provocado uma verdadeira revolução na cadeia produtiva de países agroexportadores como o Brasil. Essa revolução se dá por meio da criação de condições para o aumento da produtividade dos sistemas agropecuários e de interferências causadas nos indicadores econômicos e sociais do país. Segundo o levantamento feito pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), o Brasil tem colhido safras cada vez maiores de grãos, utilizando as mesmas áreas, graças a um conjunto de esforços técnicos e políticos, nos quais os produtos fitossanitários têm um papel de destaque.

Estima-se que na faixa tropical do globo, aonde está localizado o Brasil, estejam reunidas algumas das condições edafoclimáticas mais propícias para o desenvolvimento de culturas econômicas, como a soja, condições essas, as mesmas que possibilitam a vida de um sem fim de populações de insetos e microrganismos que causam problemas fitossanitários e perdas na produtividade das lavouras (ROCHA, 2008). Segundo Matos (2011), o emprego sistemático de moléculas químicas objetivando o controle de insetos-praga, ervas daninhas, fungos ou bactérias, teve os seus começos na Revolução Verde, na década de setenta, e ainda hoje constitui um dos pilares fundamentais da produção agropecuária moderna.

Certamente isso não tem acontecido sem duras perdas e efeitos colaterais ao longo desses quase 50 anos. Setores representantes da comunidade científica, sociedade civil, governo e ONGs tem enrijecido o discurso contra o despejo de agrotóxicos no meio ambiente, justificado pelo grande número de casos de intoxicação, poluição ambiental e mortes. Se por um lado a interação desses agentes com os organismos alvo, orientam avaliações no campo da eficiência de produtos, por outro, as avaliações toxicológicas têm constituído os mecanismos fundamentais para o exame de efeitos em organismos não-alvo, diga-se humanos, animais, solo, cursos d'água (PELAEZ; TERRA & DA SILVA, 2010).

A avaliação dos riscos toxicológicos ligados a pesticidas é feita no Brasil através de Agências Regulatórias ligadas ao Governo Federal, as quais valem-se do conhecimento produzido em testes de checagem com animais, avaliações clínicas com humanos e um grande número de métodos capazes de extrair o perfil toxicológico dos ingredientes que intentam entrar e permanecer no mercado nacional (BRILHANTE &

CALDAS, 1999). A investigação da toxicidade humana de um agente, para fins de registro como agrotóxico, é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), enquanto o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) é encarregado da avaliação da toxicidade ambiental (Lei nº 7.802/89).

Considerando o fato de que os pesticidas, assim como outros químicos não terapêuticos, por definição, são categorias de produtos potencialmente prejudiciais à saúde de organismos vivos, cabe aos governos produzir conhecimento, bem como valer-se do que já existe na literatura científica da área, afim de levantar aspectos relevantes das interações molécula-organismo e rastrear efeitos mutagênicos, teratogênicos, carcinogênicos ou neurotóxicos prováveis, associados aos mais diferentes tipos ou níveis de exposição a um dado produto útil (LUCHEESE, 2005). Não raras vezes, a alta periculosidade constatada experimentalmente pode impedir o deferimento do pedido de registro de um agente e colocá-lo na condição de intoxicante inaceitável para usos humanos e ambientais (GARCIA GARCIA; BUSSACOS & FICHER, 2005).

Por outro lado, importância semelhante também é dada à prospecção de agentes com alto valor utilitário, cuja magnitude dos riscos toxicológicos não justifique a sua proibição (WEISSMAN, 1990). Grosso modo, isso acontece quando se identifica um ingrediente menos tóxico do que outros preexistentes e utilizados para os mesmos fins, como resultado de avaliações de toxicocinética e toxicodinâmica. A toxicocinética diz respeito à trajetória do agente a partir da sua introdução no organismo, concentração em determinados tecidos alvo e eliminação completa, e a toxicodinâmica, à caracterização das transformações bioquímicas que ocorrem na molécula ao longo desse percurso (CANTARUTTI, 2005). A produção de conhecimento nesse campo tem relevância científica e social, uma vez que orienta a criação de políticas públicas de proteção à saúde de trabalhadores e de defesa dos consumidores.

Grande atenção tem sido dada à compreensão dos danos crônicos provocados pelo contato de pessoas com pesticidas, sendo essa uma importante linha de investigação no campo da saúde pública nos dias de hoje. O rastreamento do efeito de exposição a pequenas doses continuadas requer o uso de metodologias investigativas sensíveis, orientadas pela obtenção e análise de dados epidemiológicos dos casos de intoxicação crônica na população, bem como do resultado de testes de toxicidade crônica e subcrônica em animais (COUTINHO, 2005).

Segundo Tilson (1987), a psicologia é uma ciência que tem trazido contribuições para o campo da avaliação de riscos desde a década de 60, sobretudo no que diz respeito

ao conhecimento dos efeitos interruptivos de agentes intoxicantes sobre o cérebro, sobre a cognição ou sobre o comportamento de organismos humanos e animais, fenômenos nomeados de neurotoxicidade. Uma das principais contribuições da ciência psicológica para o campo da neurotoxicologia, foi o uso dos conhecimentos teóricos e, sobretudo, metodológicos como tecnologias sensíveis para a checagem da segurança de produtos, como demonstram algumas pesquisas anteriores que avaliaram as interferências de intoxicantes no comportamento controlado por esquemas de reforçamento (TODOROV, 1981; RICE, 1988; LEONARDI & BRAVIN, 2014).

Tomando essa orientação metodológica e conceitual vinda da Análise Experimental do Comportamento (AEC), esta pesquisa realiza-se a partir de uma avaliação dos efeitos comportamentais do Benzoato de Emamectina (BE) sobre um esquema múltiplo de reforçamento em ratos, visando estabelecer comparações entre os dados extraídos da frequência de respostas alvo e da frequência de reforçadores recebidos em três etapas nomeadas de Pré-Exposição, Exposição e Lavagem.

Uma linha de base do responder estável de três animais sob esquemas múltiplos foi obtida, e em seguida, obteve-se o registro do efeito da administração oral de três concentrações do BE sobre o responder em estabilidade, bem como o registro dos efeitos da posterior retirada do BE por um tempo fixo. Os dados obtidos em linha de base foram por último comparados aos obtidos nas etapas subsequentes, afim de motivar as discussões sobre a toxicidade comportamental subcrônica desse pesticida.

A primeira parte do trabalho traz um apanhado do estado da arte da produção agropecuária no Brasil, com enfoque na evolução dos agrotóxicos e dos meios de aplicação. Ainda nesse capítulo inicial, são expostos alguns dos problemas que acompanharam o crescimento do uso de ingredientes ativos no campo, bem como a relação desse tema com os objetivos da presente pesquisa.

A segunda parte traz uma descrição da molécula do BE, contendo informações sobre o grupo químico, classe, composição e classificação toxicológica a que pertence, bem como as culturas e pragas a que se destinam. A terceira, expõe alguns aspectos ligados ao desenvolvimento das investigações no campo da toxicologia, com ênfase nas diferentes metodologias de pesquisas realizadas com humanos e animais, e nos pontos finais da investigação comportamental em toxicologia. Nesse capítulo são ainda apresentados os resultados de avaliações dose-resposta com BE e com outros agentes intoxicantes utilizando sobretudo metodologias comportamentais.

2 O ESTADO DA ARTE DA PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA E O PROBLEMA DOS AGROTÓXICOS NO BRASIL

Os esforços orientados para atender a uma demanda cada vez maior por alimentos, fibras e energia, destinados a uma população mundial em crescimento acelerado, produziram o contexto no qual destacam-se os volumosos investimentos de capital privado alocados na criação de produtos tecnológicos e o crescente clima de competição entre as empresas multinacionais do chamado agronegócio (BENETTI, 2004). A biotecnologia, a engenharia genética e a agroquímica são algumas das áreas que empregam substância à atividade dessas multinacionais, que atuam dentro e fora do Brasil, impulsionadas sobretudo pelos incentivos governamentais dados à produção e à distribuição de insumos químicos para o mercado interno (FREDERICO, 2011).

Empresas multinacionais como a suíça Syngenta e a alemã Bayer são algumas das responsáveis (em colaboração com o Estado brasileiro), portanto, pela participação expressiva no mercado nacional de insumos cujos mecanismos de ação são capazes de promover a eliminação de carrapatos em bovinos, a inibição de processos fotossintéticos em plantas daninhas ou a instauração de prejuízos neurotóxicos em lagartas da soja, entre outras soluções, que podem ser melhor conhecidas em (XIA, 2006; AHMAD; ARIF & AHMAD, 2003).

Ainda que a produção de conhecimento no campo da eficiência agrônômica de produtos químicos supere em muito a produção no campo da avaliação de riscos (PERES; MOREIRA; DUBIOS, 2003), tem crescido também o número de publicações que revelam a existência de interações prejudiciais de químicos com organismos não alvo, algumas delas indicando efeitos deletérios associados até mesmo a exposição em baixas concentrações (TERRY, 2014; HORTA, 2017). Esses polêmicos agentes químicos, representados nesta pesquisa pelo BE, pertencem a uma ampla categoria de produtos conhecidos por defensivos agrícolas, agrotóxicos, pesticidas ou produtos fitossanitários.

A Lei Nº 7.802 de 1989, que trata a questão dos agrotóxicos no Brasil, traz a seguinte definição sobre eles:

São produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos. (BRASIL, 1989)

Essas substâncias químicas, naturais ou sintéticas, como contextualizam Aktar; Sengupta e Chowdhury (2009), têm sido empregadas sistematicamente para matar, controlar ou combater vários tipos de pragas, plantas daninhas ou doenças nas lavouras, tendo já nas décadas de 80 e 90 um consumo anual expressivo e ascendente em várias partes do globo. Entretanto, foi somente com o aquecimento de setores como a mecânica agrícola e, posteriormente, o georreferenciamento feito por satélites, a cibernética e a robótica, que se criaram as condições para um uso cada vez mais expressivo de agrotóxicos nos grandes latifúndios brasileiros e em outras regiões produtoras do mundo (AKTA; SENGUPTA e CHOWDHURY, 2009). No Brasil, estima-se que o consumo atual seja de 2,5 bilhões de litros/ano, o que torna o país líder mundial no consumo de agrotóxicos desde o ano de 2015 (BOMBARDI, 2017).

Impulsionadas pelo crescimento da demanda mundial por agrotóxicos, surgiram também as novas tecnologias de aplicação, como máquinas pulverizadoras, aviões agrícolas e até mesmo os Veículos Aéreos não Tripulados (VANTS). Operados por um contingente reduzido de técnicos (enclausurados e protegidos da exposição), os diferentes mecanismos de pulverização são capazes de despejar quantidades sistematizadas de soluções contendo grupos químicos como o das avermectinas, neonicotinóides e piretróides em diferentes proporções, sozinhos ou combinados sobre os ecossistemas de interesse (BAYER, 2011). As diretrizes para a aplicação segura de agrotóxicos por meio de aviões pulverizadores são descritas na Instrução Normativa (IN) N° 02/2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entretanto, têm crescido o número de casos de intoxicações acidentais provenientes desse tipo de aplicação e, conseqüentemente, de manifestações contrárias a seus usos.

A despeito da hegemonia desse modelo de produção tecnológica praticado nas principais regiões produtoras do Brasil, ainda há, contudo, uma expressiva participação de arranjos produtivos menos tecnificados na produção de itens do chamado agrocomércio. Enquadram-se aí, sobretudo as pequenas e médias propriedades rurais, que realizam investimentos modestos na aquisição de insumos e maquinários, e onde existe uma maior dependência da mão de obra humana para a execução de manejos de rotina, incluindo a manipulação e a aplicação de agrotóxicos (IBGE, 2009).

Manejos químicos, feitos por trabalhadores rurais usando equipamentos manuais de aplicação, requerem por lei o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI) (BRASIL, 2003), o que nem sempre é respeitado, haja vista a expressão de variáveis como

o custo desses equipamentos, o nível de instrução de trabalhadores rurais e a oferta de assistência técnica, questões essas apontadas e discutidas em (SILVA, 2005).

As circunstâncias que controlam a distribuição de renda e terras no país admitem ainda que esses pequenos empreendimentos agroecológicos, familiares, extrativistas ou cooperativistas coexistam nos mesmos espaços territoriais com os grandes latifúndios agroexportadores, sofrendo por vezes os efeitos dessa proximidade (SILVA, 2005). Um caso que exemplifica essa problemática pode ser apontado no acidente químico que aconteceu em uma escola rural no município de Rio Verde - GO, no ano de 2013, onde, na ocasião, crianças tiveram sintomas de intoxicação aguda após a exposição direta a um inseticida a base de neonicotinóides e piretróides, lançado acidentalmente sobre o local (TALGA, 2014). O caso não é isolado, já que fenômenos de carreamento de agentes tóxicos pelo vento também foram notificados no município mato grossense de Lucas do Rio Verde - MT, aonde o evento foi batizado de “chuva de agrotóxicos” (PIGNATI, 2007).

Segundo os dados do Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos (VSPEA), só no estado de Goiás já foram notificados 5924 casos de intoxicação humana por agrotóxicos entre os anos de 2009 a 2016, com um total de 112 registros de óbito associados a essa causa (BRASIL, 2018). Os casos de intoxicação são mais numerosos nos estados e municípios onde mais se usam agrotóxicos, e parece haver também uma correlação positiva entre o consumo de agrotóxicos e a prevalência de doenças crônicas na população (BRASIL, 2018).

A constatação de que não só a exposição direta, mas também aquela que se dá pelo contato indireto com pesticidas, é capaz de elevar as chances de ocorrência de prejuízos sobre o funcionamento normal de organismos não alvo (incluindo humanos e animais), tem colocado em xeque a confiabilidade desses produtos frente à opinião pública e incentivado a adoção de medidas cada vez mais criteriosas por parte do poder público. Há casos de veto, por exemplo, como o do diclorodifeniltricloroetano (DDT), um Poluente Orgânico Persistente (POP) da classe química dos organoclorados, que teve seus usos proibidos no Brasil e em diversas partes do mundo a partir da Convenção de Estocolmo para Poluentes Orgânicos Persistentes (D’MATO; TORRES e MALM, 2002).

A Resolução N. 2.297 de 2016 da Anvisa, também apresenta um parecer que determina a proibição de defensivos agrícolas contendo um ingrediente ativo da classe dos Organofosforados, a Parationa Metílica, enquadrada nos seguintes critérios proibitivos de registro da Legislação Brasileira: é mutagênico; causa danos no sistema

reprodutor; é mais perigoso ao homem do que demonstrado em testes com animais e possui indícios de causar distúrbios hormonais.

Naturalmente, a descoberta da existência de mecanismos de intoxicação menos evidentes, associados ao contato continuado com pequenas doses de ingredientes químicos (BUSHNELL; MOSER; SAMSAM, 2001), assim como da existência de efeitos que permanecem mesmo algum tempo após o fim do período de exposição Wenger (1990), têm trazido alguns dos novos desafios no campo da criação de protocolos de segurança de produtos. Em linhas gerais, a produção de conhecimento nessa área visa orientar as agências regulatórias em seus processos decisórios, afim de evitar o indeferimento desnecessário de agentes que sejam seguros, bem como o de identificar e barrar aqueles cuja periculosidades humana e ambiental demonstrem ser inaceitáveis (WEISSMAN, 1990).

Em meio a um cenário macroeconômico no qual empresas transnacionais como a Syngenta, dominam uma expressiva fatia do mercado bilionário da confecção e venda de agrotóxicos (HEREDIA; PALMEIRA; LEITE, 2010), os governos de países de economia agroexportadora, como o Brasil, buscam cumprir o seu papel constitucional em defesa da adoção de medidas capazes de maximizar indicadores econômicos sem interferir na saúde de trabalhadores e consumidores. Ainda que não seja parte do escopo do presente trabalho, uma análise das variáveis que influenciam os processos decisórios no campo do controle químico feito por trabalhadores, poderá levar o leitor a compreender Reis Filho (2009), quando explanam que no Brasil, especialmente em Goiás, a questão do uso de agrotóxicos parece manter relação tanto com questões técnicas (desconhecimento de alternativas aos agrotóxicos, medo de prejuízos), como também com questões mercadológicas (brindes, incentivos e propagandas de empresas).

Entre os anos de 2003 a 2013, a Anvisa indeferiu em uma ocasião o pedido de registro para o BE, em razão dos resultados encontrados nos testes de neurotoxicidade em animais e da existência de outros produtos com menor periculosidade usados para os mesmos fins. Ainda assim, o pesticida passou a ser legalmente importado em Goiás e em outros estados em caráter de emergência fitossanitária, diante da alta densidade encontrada e da magnitude dos prejuízos econômicos causados por lagartas do gênero *Helicoverpa*. (ANVISA, 2017).

No ano de 2017, diante de um novo pedido de registro, o BE foi reavaliado, obtendo então o registro na Relação de Monografias dos Ingredientes Ativos de Agrotóxicos junto ao MAPA. Com alocação na classificação toxicológica I (produto

extremamente tóxico), a decisão da ANVISA sobre o BE foi comemorada sobretudo pela classe de produtores rurais, mas criticada por cientistas, ambientalistas e por outros setores da sociedade civil.

Em nota técnica, a ANVISA esclareceu que os estudos que indicavam neurotoxicidade foram revistos, a partir de uma avaliação de novos documentos enviados pela empresa. A substância continua sendo reconhecida como neurotóxica pela Agência, no entanto fatores tais como as diferenças de reações nas diferentes espécies, diferenças de reações em indivíduos de uma mesma espécie (incluindo crianças) e as doses que não apresentaram efeitos adversos nos estudos pesaram como justificativa para o deferimento desse agente.

Trazendo a questão dos protocolos de segurança para a triagem de produtos como um fio condutor, a presente pesquisa apresenta um estudo dos efeitos comportamentais do BE em ratos, motivado então pela necessidade de ampliação do número de estudos capazes de revelar a neurotoxicidade associada a esse ingrediente. Afinal de contas, a exposição ao BE em concentrações subclínicas pode implicar em distúrbios comportamentais observáveis? Existem faixas de doses para as quais não há efeitos em se tratando de animais experimentais?

A pesquisa busca preencher, em especial, uma lacuna revelada pela falta de estudos que investigam os processos comportamentais induzidos pela exposição a esse ingrediente, uma vez que a maioria das pesquisas estão assentadas em evidências bioquímicas e neuroquímicas. Partindo de um método empírico empregado na investigação do comportamento operante, objetiva-se examinar as relações dose-efeito para três concentrações do BE e a capacidade de persistência dos efeitos comportamentais após o fim de um período de exposição. Espera-se que o tratamento quantitativo aplicado ao exame dessas questões possa nos conduzir ao objetivo maior de apontar se há efeitos comportamentais associados a concentrações subclínicas do BE.

2.1 O BENZOATO DE EMAMECTINA

As emamectinas são moléculas da classe das avermectinas, um grupo de agentes antihelmínticos produzidos na fermentação do fungo *Streptomyces Avemetilis* (YEN e LIN, 2004). Segundo Ikeda e Omura (1997), as avermectinas foram introduzidas na década de 80 na medicina veterinária para o tratamento e profilaxia de endoparasitoses e

ectoparasitoses. Dos 16 membros da família dessas lactonas pentacíclicas, 4 são usados comercialmente, sendo eles: a abamectina, a ivermectina, a doramectina e mais recente a emamectina. Ishaaya; Kontsedalov e Horowitz (2002) explicam que a emamectina age principalmente se engolida, tendo também alguma ação de contato. Uma vez pulverizada nos ecossistemas de interesse, ela penetra nos tecidos das folhas, formando um reservatório dentro da lâmina foliar. Quando ingerido pelo artrópode fitófago, essa lactona é capaz de promover efeitos sobre o sistema nervoso, por meio do aumento do fluxo de íons cloreto na junção neuromuscular. (FANIGLIULO e SACCHETTI, 2008)

Jansson (1997) complementa que o aumento desse fluxo resulta em perda de função celular e em ruptura de nervo, o que por sua vez está associado à cessação da alimentação e à paralisia irreversível em lepidópteros praga, tais como: *Plutella xylostella*, *Trichoplusia ni*, *Heliiothis virecens* e *Spodóptera exígua*.

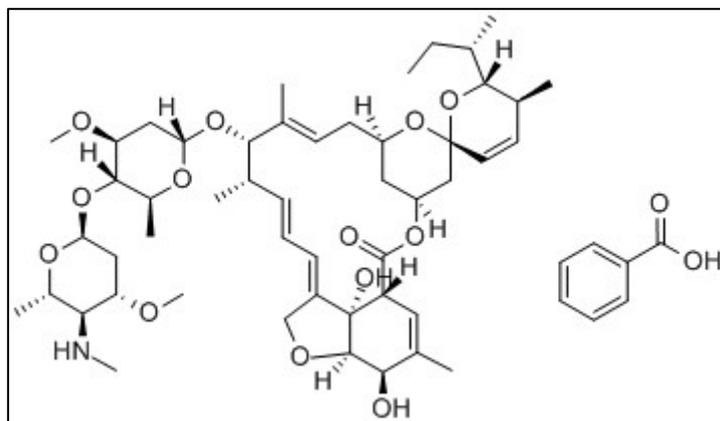
Figura 01- Informações extraídas da bula do Proclain 50 sobre intoxicações por Benzoato de Emamectina

Grupo Químico	Benzoato de Emamectina: Inseticida do grupo químico avermectinas (lactona macrocíclica)
Classe Toxicológica	Classe I- Extremamente tóxico
Vias de absorção	oral, dérmica e inalatória.
Periculosidade Ambiental	Muito Perigoso ao Meio Ambiente.
Fórmula bruta	Mistura de C ₅₆ H ₈₁ NO ₁₅ (Benzoato de Emamectina B1a) e C ₅₅ H ₇₉ NO ₁₅ (Benzoato de Emamectina B1b).
Toxicocinética	O BE é parcialmente absorvido no trato gastrointestinal de ratos após única administração oral na dose de 0,5 mg/kg peso corpóreo (aproximadamente 55% e 74% da dose em machos e fêmeas, respectivamente) e é distribuído em todos os tecidos e órgãos. O agente é rapidamente eliminado, principalmente na forma inalterada. A meia vida após administração oral na dose 0,5 mg/kg foi de 34,4 e 51,1 horas para machos e fêmeas respectivamente.

Mecanismo de Toxicidade	A emamectina é um agonista GABA e interfere com a neurotransmissão mediada por GABA.
-------------------------	--

Fonte: Bula do Proclain 50

Figura 02 - Fórmula estrutural do Benzoato de Emamectina



Fonte: Portal Anvisa (2019).¹

3 A AVALIAÇÃO DE RISCOS

A avaliação dos efeitos de exposição a substâncias químicas potencialmente neurotóxicas para o desenvolvimento de organismos humanos e animais é feita por meio um conjunto de medidas de segurança, cujas diretrizes são apontadas por agências regulatórias e laboratórios de estudos toxicológicos. Esses padrões foram criados com a contribuição da pesquisa básica em áreas consagradas, tais como psicologia experimental, farmacologia, etologia, fisiologia e outras, que ofertaram ao longo do tempo uma série de raciocínios sobre os distintos pontos finais de investigação adequados ao tratamento de problemas no campo da toxicologia (RUBENSTEIN, 1993).

Admite-se que a investigação dos fenômenos prejudiciais provocados por agentes químicos tenha origem nas considerações clínicas extraídas de casos de intoxicação aguda provocados pelo contato episódico de humanos e infra-humanos com doses e agentes muitas vezes desconhecidas (WEISS, 1988). Tremores grosseiros, vômitos, danos sensoriais ou mesmo a morte do organismo são alguns dos eventos que podem ser

¹Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/B55+%E2%80%93+Benzoato+de+Emamectina/105e6460-eee9-49a8-8588-dad729f657cc> Último acesso em: 05/08/2019

provocados até 24h após a ingestão, inalação ou contato dérmico com intoxicantes em altas concentrações (IKEDA; TOSHIKO, 1994).

Em um dos raros exemplos de intoxicação aguda documentados na literatura do Proclaim, descritas em Sung (2009), as manifestações clínicas mais evidentes em humanos foram dadas por transtornos gastrointestinais transitórios com erosão gástrica e gastrite superficial, aparecendo, ainda, sintomas de depressão leve do sistema nervoso central e pneumonia aspirativa. Yen & Lin (2004) também descreveram outro caso de intoxicação aguda provocada então pela ingestão oral de dose muito alta de avermectinas (414,2 mg / kg), o que foi acompanhado por coma, mioclonia e polineuropatia.

Ainda que as avaliações clínicas compreendam um conjunto de procedimentos orientados para a compreensão diagnóstica do contato prejudicial molécula-organismo, essa modalidade, por definição, opera circunscrita apenas ao campo dos processos qualitativos de investigação, em um nível de compreensão necessário, no entanto insuficiente para que os governos atuem através de suas agências regulatórias ao deliberar sobre a criação de políticas públicas de proteção à saúde humana (CORY-SLETCHA, 2001).

Para Weiss (1988), o cenário mundial que fora desenhado a partir dos anos 60, de crescente procura por ingredientes químicos úteis, dentre eles os pesticidas, foi o fator crítico que impulsionou a quantificação dos procedimentos de investigação toxicológica e a busca pela precisão na avaliação dos riscos para a saúde humana. Integraram-se, então, definitivamente as modalidades de investigação toxicológica de natureza antecipatória ao já existente campo dos processos clínicos de investigação (WEISS, 1988).

Elaborada a partir do esforço de cientistas treinados para operar em laboratórios experimentais de pesquisa com animais, mas também em espaços naturalísticos ou em ambientes organizacionais humanos, a moderna avaliação de riscos usa de recursos conceituais e metodológicos apoiados em tradições biológicas e comportamentais, bem como de ferramentas matemáticas e estatísticas (MAURISSEN, 1988). Acrescenta-se ainda o uso de tecnologias para o registro automatizado de dados ao conjunto de fatores que tem elevado a avaliação de riscos a uma posição privilegiada na descrição de relações dose-resposta provocados por pesticidas úteis e na proposição de modelos empíricos capazes de apontar a continuidade ou reversibilidade de efeitos interruptivos (CARR & CHAMBERS, 1991).

Em Annau (1990), o trabalho de caracterização dos potenciais efeitos adversos à saúde da exposição humana a perigos ambientais tem suas bases científicas fundadas em

quatro domínios investigativos principais. O primeiro deles, o da identificação de perigos, inclui operações voltadas para o levantamento de dados epidemiológicos existentes sobre um determinado perigo ambiental, para os quais a literatura do chumbo, de Flora, Gautam e Kushwara, (2012), e de Lanphear (2005), emprestam modelos interessantes de entendimento. Outros dois domínios são o das avaliações dose-resposta, comumente obtidos em estudos com animais, e o da estimativa de exposição, que busca promover a quantificação da exposição aos quais os humanos estão realmente expostos nos ambientes naturais e ocupacionais. A caracterização final dos riscos consiste em um quarto domínio proveniente da combinação dos modelos anteriores (WEISSMAN, 1990).

Quando se trata do monitoramento preventivo realizado em ambientes organizacionais humanos, admite-se que, em todos os casos, o trabalho seja feito sobre aqueles agentes que já estão sendo usados regularmente nos campos de produção, tais como alguns inseticidas organofosforados, estando, portanto, circunscritos a um conjunto de recomendações legalmente prescritas para a sua manipulação e uso. Apesar dessa questão, há, contudo, uma forte suspeição de que a expressão de alguns tipos de câncer e problemas neurológicos em populações de trabalhadores esteja associada à exposição crônica a produtos químicos no exercício da profissão (FIGUEIREDO; DETRAPE, & ALONZO, 2011). Tais incertezas tem motivado pesquisadores de diversas partes do globo a se engajarem cada dia mais na investigação dos comprometimentos pouco evidentes, aqueles descritos por Weiss como possíveis pontos de partida para a instalação de prejuízos mais graves (WEISS, 1988).

É natural pensar que os limites éticos que operam na pesquisa científica com humanos, somados a outras questões de ordem prática, como as dificuldades de se extraírem níveis precisos de exposição ou graus satisfatórios de controle de variáveis, imponham uma densidade de obstáculos reais à exequibilidade desses empreendimentos, o que, entretanto, não diminui a sua importância no atual cenário da avaliação de riscos.

No entanto, cabe destacar que, ainda que o BE venha sendo utilizado nos estados brasileiros de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e Bahia desde 2013, tendo a sua regulação junto à ANVISA legitimada no ano de 2017, não foram encontrados até então estudos epidemiológicos ou organizacionais que apontem interações prejudiciais entre esse composto e organismos humanos.

Alguns dos principais métodos utilizados em avaliações toxicológicas de humanos expostos a pesticidas foram levantados em Eckerman *et al.* (2009), destacando três deles: a comparação de grupos expostos e não expostos; a estimativa de exposições por

autorrelato dos indivíduos, e a estimativa da exposição através da avaliação de biomarcadores ou níveis ambientais. Essas modalidades foram pontuadas no estudo como importantes, no entanto insuficientes para o rastreamento dos perigos associados sobretudo a exposições de longo prazo (ECKERMAN *et al*, 2009). A comparação entre grupos de indivíduos foi também a abordagem utilizada em Bazylewicz-Walkzak; Majczakowa e Szymczak (1999), para investigar os efeitos comportamentais de pesticidas organofosforados em trabalhadoras de estufas e em Bravin (2014), para investigar a rotina de trabalhadores de empresas de extração de óleos vegetais, expostos rotineiramente a baixas doses de Hexano, um poderoso solvente industrial capaz de gerar efeitos neurotóxicos dose-dependentes.

3.1 TESTES COM ANIMAIS

A adoção de exemplos da literatura de solventes e de outros químicos industriais tem a sua importância no contexto desta pesquisa, sobretudo quando considera o grande número de neurotoxinas conhecidas e não integrantes da categoria de pesticidas, capazes, porém de emprestar modelos empíricos para o estudo das perturbações quimicamente provocadas.

Tanto na literatura do hexano como na de outros hidrocarbonetos como o tolueno, mas também na de drogas farmacológicas ou de metais pesados, observa-se uma grande quantidade de publicações direcionadas àquela que ainda hoje é considerada modelo indispensável para a profícua avaliação dos riscos: a testagem animal. Essa modalidade investigativa busca suprir algumas lacunas deixadas pelas metodologias não experimentais na contribuição ao conhecimento sobre os fenômenos neurobiológicos e comportamentais que acompanham as exposições químicas (DEMELLO, 2012).

Muito do que se conhece hoje sobre os fenômenos interruptivos provocados por agentes como o BE, provem das pesquisas feitas em laboratórios com animais experimentais nos chamados testes de segurança. Esses procedimentos de triagem estão assentados em tradições epistemológicas naturalistas que assumem o estudo comparativo de atributos morfofisiológicos e comportamentais entre diferentes espécies como modelos indispensáveis para a produção de conhecimento de relevância social e científica em campos como o da saúde pública (ROWAN, 1993).

Ainda que a avaliação de segurança de novos agentes em animais anteceda, necessariamente, o acúmulo de achados humanos definitivos, agências regulatórias espalhadas pelo mundo continuam exigindo, corretamente, na visão de Weissmann (1990), que os ativos em tais testes sejam estabelecidos clinicamente ao deliberarem sobre o registro desses ingredientes químicos.

Parece razoável confiar que agentes como a nicotina, que sabe-se gerar um aprimoramento significativo nos testes de memória em Macaca fascicularis (BUCCAFUSCO e JACKSON, 2001) ou o Parathion, inseticida organofosforado que produz a diminuição dose dependente da atividade de neurotransmissores em ratos (TIMOFEEVA, 2008), poderão exercer também interferências modificadoras no sistema nervoso e no comportamento de crianças e de adultos humanos. As noções de continuidade das espécies e de seleção natural, concebidas primeiro em Charles Darwin (1809 - 1882), fundamentaram a busca de comparações possíveis entre humanos e infra-humanos para diversos fins, incluindo o da checagem de perigos toxicológicos associados a substâncias suspeitas.

Todas as razões levavam a esperar que podíamos ver as origens dos nossos traços anatômicos em outras espécies, incluindo as de nossos próprios traços mentais (BAUM, 2014). Sidman (2016) descreve uma situação na qual os dados extraídos do comportamento de macaco rhesus não eram distinguíveis daqueles extraídos do comportamento de humanos, usando as mesmas máquinas e contingências de reforçamento. A essa semelhança, revelada pelos princípios de comportamento, somava-se ainda a das amostras de sangue, que tampouco podiam ser diferenciadas entre essas espécies em exames de laboratório.

Segundo Slikker (1996), alguns desses raciocínios têm levado a comunidade científica ao entendimento de que a descoberta da interferência de moléculas nos processos da divisão celular, nos processos da respiração celular ou no transporte de íons através da membrana dos neurônios, em uma espécie, pode indicar que as mesmas substâncias sejam capazes de afetar todos os organismos que necessitam desses três processos. Às semelhanças morfofisiológicas, Lattal (2016) e Sidman (1979) acrescentam a generalidade dos processos comportamentais, que dão substância a modelos animais para o estudo de drogas e intoxicantes a partir do comportamento.

Se a validade de um teste aplicado a animais é entendida ainda em Weissman (1990) como uma função da sua capacidade para detectar perigos químicos em humanos, percebe-se na literatura de algumas drogas psicofarmacológicas que a simples

extrapolação dos resultados encontrados de uma espécie para outra podem produzir equívocos sérios. Um exemplo vem dos resultados iniciais que indicavam efeitos carcinogênicos para Clorpromazina em ratos, e que, no entanto, não impediram a chegada dessa droga terapêutica considerada, ainda hoje, segura para usos humanos e de grande importância no campo da psiquiatria (TILSON e WRIGHT, 1985).

Em compensação, em Annau (1990) encontra-se um outro exemplo no qual uma única dose de chumbo (Pb), considerada até então baixa (15wg/dl), foi capaz de mostrar efeitos significativos de toxicidade comportamental em pelo menos três espécies diferentes, incluindo humanos. Esse fato contribuiu para que as suposições sobre os níveis potencialmente prejudiciais de Pb no sangue, que já havia diminuído de 50-80 wg/dl para 15wg/dl, diminuísse ainda mais, empurrando-o definitivamente para o campo das substâncias químicas para as quais não há níveis de exposição sem efeito.

Categorias biológicas comparativas entre humanos e outros mamíferos incluem semelhanças críticas no número de cavidades do coração, na diferenciação dos lóbulos cerebrais ou ainda na constituição de membranas embrionárias que formam o cordão umbilical e a placenta (POUGH; HEISER; MCFARLAND, 2003). Em ensaios experimentais realizados no campo da Neurotoxicologia do Desenvolvimento (DNT), de Ulbrich e Stahlmann (2004) e Wise (1997), a extensa base de dados históricos sobre processos anatômicos, fisiológicos e comportamentais comparados é usada em favor da avaliação do potencial teratogênico de substâncias como o BE e o bifenilpoliclorado em roedores neonatos, modalidade essa de importância para a compreensão dos fenômenos que acompanham a transmissão placentária de substâncias químicas do corpo da mãe para o feto.

Em Burbacher, Rodier e Weiss (1990), a anormalidade estrutural, as deficiências funcionais, o crescimento alterado e a morte do organismo em desenvolvimento foram alguns dos efeitos adversos encontrados como resultado da exposição precoce de ratos ao metil-mercúrio (MeHg), em doses elevadas. As comparações estabelecidas entre dados de exposições controladas com animais e dados epidemiológicos vindos da população humana revelaram ainda a existência de semelhanças qualitativas e quantitativas nos efeitos neuropatológicos produzidos pelo MeHg em altos níveis de exposição. Nos testes de exposição crônica, o BE foi considerado não teratogênico para ratos ou coelhos (BULA PROCLAIM 50).

Interferências químicas podem comprometer ainda os processos de produção e transporte de gametas, o comportamento sexual, a fertilidade, a gestação, o parto e o

aleitamento, podendo oferecer tanto os órgãos reprodutores masculino e feminino, quanto o sistema endócrino alguns *endpoints*² possíveis para a investigação da toxicidade reprodutiva (OCDE). Em Pascotto (2011), por exemplo, ratas Sprague-Dawley, Wistar e Lewis com seis semanas de vida mostraram como baixas doses de uma mistura de pesticidas organoclorados podem comprometer o funcionamento reprodutivo, quando comparados os grupos expostos e não expostos.

Compostos organoclorados também podem produzir infertilidade em humanos, como fora visto nos inúmeros casos de intoxicação provocada em exposições ocupacionais, um deles ocorrido na cidade de Paulínia-SP, envolvendo trabalhadores de uma antiga empresa de pesticidas organoclorados (FLORES, 2004). Em um estudo de toxicidade reprodutiva do BE, observou-se uma diminuição na fertilidade em ratos submetidos a doses de 2,5mg/kg. Considerou-se, no entanto, que os feitos observados são indicativos de uma consequência secundária de comprometimento neurológico em machos levando a cópula ineficaz (BULA DO PROCLAIM 50).

De maneira semelhante, os recentes avanços nas pesquisas sobre o cérebro em roedores, primatas e humanos também têm revelado o importante papel de neurotransmissores tais como a acetilcolina e o Ácido Gama-aminobutírico (GABA) na transmissão do impulso nervoso, bem como o efeito provocado por agentes sobre a integridade do funcionamento do Sistema Nervoso Central (SNC).

A acetilcolina, descoberta no ano 1914 pelo farmacologista britânico Henry Hallett Dals, é um neurotransmissor que atua no SNC associada ao funcionamento dos processos atencionais e mnemônicos, tendo junto às enzimas que a degradam, as colinesterases, o papel de biomarcadores no campo da investigação neurotoxicológica de (TERRY Jr., 2014). Da mesma forma, a densidade de receptores gabaérgicos no SNC, assim como as concentrações de neurotransmissores GABA serviram de indicadores em Horta (2017) e Ferri (2013), na avaliação dos efeitos de exposição ao BE e à Doramectina, respectivamente. Acredita-se que o BE aumente a atividade dos receptores GABA em mamíferos, uma vez que a emamectina é um agonista GABA e interfere com a neurotransmissão mediada por GABA (YEN e LIN, 2004).

Também nos vertebrados, mas não nos invertebrados, encontra-se uma estrutura formada de tecido endotelial com função de proteção do SNC contra a entrada de toxinas

² O *endpoint* é um parâmetro da avaliação de toxicidade, e diz respeito à natureza do efeito provocado por um dado agente.

ambientais, a Barreira Hemato Encefálica (BHE). Neurotoxinas são aquelas substâncias capazes de atravessar a BHE e promover danos à estrutura ou ao funcionamento do cérebro, dos nervos periféricos (de pernas e braços) ou dos centros moduladores do funcionamento de órgãos como coração, bexiga, pulmões, genitais e intestinos (SLIKKER,1996).

As propriedades físicas e bioquímicas de um dado agente químico, que permitem ou não a sua passagem por essa barreira, e o tipo de interação que estes promovem quando em contato com as diferentes regiões do SNC constituem critérios investigativos de importância para o campo da Farmacologia, na prospecção de novas drogas, também para o campo da triagem de químicos não terapêuticos. Yen e Lin (2004), justificam a segurança do BE para humanos e outros mamíferos a partir da provável impermeabilidade da BHE a esse agente.

A toxicocinética de um composto, ou o rastreamento da sua trajetória a partir da introdução no organismo, concentração em determinados tecidos alvo e eliminação completa, e também a toxicodinâmica, ou a caracterização das transformações bioquímicas (imediatas e atrasadas) provocadas em razão dessa interação, permitem a composição de categorias que identificam neurotoxinas, toxinas carcinogênicas ou toxinas teratogênicas, com base nos seus sítios de atuação e na natureza dos efeitos promovidos sobre o funcionamento normal dos organismos (CORY-SLECHTA, 2001). Em Sumner (2003), encontra-se uma demonstração da variabilidade de formas de metabolização da acrilamida entre espécies diferentes, bem como uma comparação dos efeitos distribuídos por essa substância em exposições dérmica e oral para as mesmas espécies.

Um grande salto para a ciência da toxicologia se deu quando da criação dos primeiros modelos matemáticos de distribuição probabilística para o estudo de relações dose-efeito e as considerações de Chaster Bliss (1899-1979) sobre a Dose-Letal 50 (DL-50), parâmetro ainda aplicado com sucesso a problemas no campo da testagem de substâncias, que indica a dose mínima necessária para matar 50% dos indivíduos de uma determinada população de vertebrados ou invertebrados (SALSBURG, 2009).

O modelo probabilístico proposto por Bliss surgiu como consequência dos seus primeiros ensaios experimentais testando a eficiência de pesticidas, nos quais se observou que mesmo as concentrações mais altas das formulações em teste não eram capazes de matar todos os indivíduos de um grupo de insetos, assim como as concentrações mais fracas muitas vezes bastavam para matar ao menos alguns dos indivíduos. Essa óbvia

variabilidade revelou a complexidade das relações dose-efeito ao mesmo tempo que estimulou a emergência de um modelo razoável para o seu entendimento (SALSBURG, 2009).

Quando se tem um ingrediente ativo, como o BE, cuja DL-50 oral para ratos ou para coelhos é conhecida na literatura dos pesticidas, presente na bula do Proclaim, a este parâmetro de identificação das doses associadas aos níveis mais evidentes de comprometimento, seguem-se outros estudos sistemáticos do fracionamento das concentrações do agente, visando atender a importante questão sobre a existência de medidas toleráveis àquelas espécies, ou seja, que não demonstrem efeitos toxicológicos significantes em medidas biológicas ou neurocomportamentais, também em estudos de exposição crônica.

Se a DL-50 representa o valor limite a partir do qual, são grandes as chances de acontecerem efeitos declarados seguidos de morte do organismo, também em uma escala mais complexa da investigação dos efeitos adversos, tem sido possível identificar os limiares relacionados a ocorrência de comprometimentos menos evidentes, ou ainda a existência de níveis de exposição sem efeitos (MCMASTER, 1993).

Por convenção, para estudos de relações dose-efeito, as menores doses testadas, nas quais efeitos interruptivos não são observados, são conhecidas como de Níveis de Efeitos Adversos não Observados (NOAEL), enquanto as menores doses conhecidas, a partir das quais iniciam-se efeitos adversos observáveis, são chamadas de Menor Nível de Efeito Adverso Observado (LOAELs). Em de Rosa; Stara & Durkin (1985) encontra-se uma explanação sobre a origem desse sistema de classificação desenvolvido pela Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA), com base na toxicidade crônica de produtos, com os quais é possível caracterizar tanto a dose mínima efetiva quanto o tipo de efeito induzido naquela dose para cada substância química.

Wise (1997), em uma pesquisa DNT, estipulou o NOAEL de 0,6mg/kg para efeitos de neurotoxicidade do BE, usando de uma combinação de pontos finais de investigação, incluindo aqueles baseados em avaliações do cérebro e do comportamento naturalístico de ratos. Dentre os insultos tóxicos associados à exposição crônica desse animal ao BE estão também as chamadas neuropatias centrais, descritas em Horta (2017) a partir de um estudo no qual ratos submetidos a concentrações subclínicas demonstraram a existência de prejuízos dose dependentes em medidas de oxidação do cérebro, após biópsia. O NOEAL de 1,0mg/kg foi estipulado para efeitos neurocomportamentais do BE.

Já no trabalho de Spinoza (2000), com um isômero do BE, as evidências de neurotoxicidade animal foram extraídas do comprometimento da neurotransmissão e explicadas pela interação do agente químico com os receptores GABA no sistema nervoso. Fato a se destacar, é que nesse caso as desordens neurobioquímicas apontadas não foram acompanhadas de lesões estruturais aparentes. Um aspecto que marca a metodologia adotada tanto nessa pesquisa como na de Horta (2017), é a promoção de testes neurocomportamentais não invasivos (aplicados aos animais ainda em vida), e a tentativa de se compreender os fenômenos de neurotoxicidade a partir de suas bases comportamentais observáveis.

3.2 TESTES COMPORTAMENTAIS

Segundo Wenger (1990), as técnicas comportamentais para o estudo da toxicidade são tentativas de se obter efeitos ordenáveis e reproduzíveis de substâncias químicas no comportamento, devendo ser sensíveis o suficiente para separar efeitos não relativos ao SNC, ou seja, periféricos, de um agente na função motora, por exemplo, de eventos que são mediados por modificações de eventos neurais. Ainda segundo esse autor, embora seja difícil determinar um mecanismo neural de ação para efeitos observados sobre um teste comportamental, a sensibilidade de um teste poderá fornecer informações sobre a faixa de dose efetiva para efeitos comportamentais e uma indicação sobre se esses efeitos são o resultado de um efeito específico ou inespecífico sobre o sistema nervoso (WENGER, 1990).

Em Horta (2017), os testes comportamentais consistiram em avaliações da função motora dos ratos, com o auxílio dos equipamentos: Labirinto em cruz elevada (LCE), teste da arena de campo aberto (ACA) e o *Hole-Board* (HB). Os resultados, extraídos após a administração das três doses de BE, indicaram a existência de efeitos significantes sobre a coordenação motora e alterações de caráter ansiolítico no grupo experimental, quando comparados com o grupo controle, tratado com água destilada (HORTA, 2017).

De acordo com de Pinto (2012), o LCE representa um importante instrumento de pesquisa na área experimental para estudos de comportamentos relacionados à ansiedade, em especial na análise do efeito farmacológico de novas drogas para esse transtorno. Alguns parâmetros comportamentais avaliados a partir desse teste são o número total de entradas nos braços abertos ou fechados do labirinto e o tempo gasto em cada um deles,

em que os dados são comparados e interpretados à luz dos comportamentos naturalísticos da espécie.

Assim também é realizado no Teste de Campo Aberto (TCA), em que o animal é confrontado com a novidade de um ambiente artificial constituído por uma arena circular bem iluminada com aproximadamente 97 cm de diâmetro, circundada por parede de 32 cm de altura. Os pesquisadores observam comportamentos de locomoção, tempo de limpeza, defecação ou tempo gasto para deixar a área central, comparando grupos expostos e não expostos a agentes químicos de interesse (LACERDA, 2006). Os dados do TCA, ainda em Horta (2017), revelam que os sujeitos tratados com 1mg/kg e 2mg/kg de BE aumentaram a frequência de passagens pela área central ($P < 0,05$), o que não aconteceu no grupo 0,5mg/kg. Esse aumento foi interpretado como um efeito ansiolítico produzido pelo BE, uma vez que ratos, em ambiente semelhantes, tendem a passar mais tempo nos cantos do equipamento.

A coordenação motora dos ratos também foi avaliada no mesmo estudo por meio do teste Hole-Board (HB). No HB, utiliza-se uma caixa quadrada (28 x 28 x 20 cm) contendo 36 orifícios com 2 cm de diâmetro e 1 cm de profundidade, onde são avaliados o número de vezes que a pata do animal mergulha em um buraco ou que ele enfia a cabeça no sentido de explorar o lugar. Os resultados mostraram que, embora o número de mergulhos das patas tenha aumentado em todos os grupos expostos, apenas o grupo 2mg/kg apresentou diferença significativa com relação ao controle, demonstrando um maior prejuízo na coordenação motora nessa dose.

Segundo a categorização usada em Bushnell (2015), os testes propostos em Horta (2017) para avaliação dos efeitos comportamentais do BE são do tipo "triagem", ou seja, são aqueles que não exigem treinamento e medem comportamentos incondicionais ou espontâneos. Em sua grande maioria, mostram-se sensíveis à detecção de neurotoxinas capazes de comprometer a função motora do organismo, podendo apontar evidências de toxicidade nos movimentos espontâneos (alteração na marcha, tremores ou mioclonias), nos movimentos induzidos (reflexos condicionados e reações), ou ainda nos comportamentos incondicionados (reposta pupilar, reações do rato a um estímulo sonoro). Em Heise & Boff (1962) encontra-se uma defesa dos testes de triagem para o estudo da anfetamina: "... de fato, a atividade motora espontânea oferece uma das medidas mais sensíveis e objetivas relacionadas à dose dos efeitos comportamentais desse composto" (HEISE & BOFF, 1962, p.269).

Outra categoria de investigação, porém, é dada pela função cognitiva, por meio do uso de testes do tipo "complexo". Esses testes exigem treinamento e são representados pela evasão ativa e passiva, labirintos, e por uma variedade de testes do comportamento operante. Eles apontam modelos empíricos para a avaliação de fenômenos como aprendizagem, memória e processos de atenção, dos quais derivam as classes de respostas: distração, impulsividade, sensibilidade ao atraso, nível de atividade, perseverança, atenção sustentada, capacidade de gerenciar o atraso da recompensa e outros (VORHEES e MAKRIS, 2015). Ainda que exista uma clara recomendação decretada por parte da OCDE para o uso de testes cognitivos na checagem de químicos suspeitos, as publicações sobre esse assunto ainda são escassas na literatura do BE, o que dificulta uma compreensão mais aprofundada dos efeitos neurocomportamentais associados a doses baixas e continuadas dessa substância.

A complexidade aplicada aos testes cognitivos faz com que estes geralmente sejam mais demorados do que os não cognitivos, ou ainda que demandem técnicos especializados, animais e equipamentos, o que tem gerado dúvidas sobre a sua eficácia para checagem de substâncias (BUSHNELL, 2015; CORY-SLECHTA, 2001). Levin (2015), ao expor razões empíricas para se empregarem avaliações cognitivas em estudos de toxicologia, defende que os testes cognitivos abordam aspectos da função do SNC não avaliados por outros testes, funções de importância biológica essenciais para a sobrevivência e de grande relevância para seres humanos. Seu valor, portanto, continua o autor, não é simplesmente uma questão de sensibilidade em relação a outros testes, mas diz respeito também à capacidade de adicionar informações sobre processos neurais interferidos pela exposição tóxica ou de revelar a natureza dos efeitos fundamentalmente diferentes do avaliado por outros testes.

Bushnell (2015), traçando as razões pelas quais os testes complexos de função cognitiva foram desenvolvidos e implantados em laboratórios experimentais há décadas, defende que as funções cognitivas superiores permitiram que a espécie humana se proliferasse em um mundo de incrível diversidade biológica, e que as ameaças a essas capacidades essenciais não devem ser ignoradas. Na visão desse autor, como as pessoas expostas a produtos químicos frequentemente se queixam de confusão e esquecimento, é comum pensar que as funções cognitivas devam ser indicadores sensíveis de consequências adversas da exposição a substâncias químicas.

Cory-Slechta (2001), realizaram uma explanação sobre o uso de procedimentos de treino nos testes de cognição animal, destacando que a mensuração repetida do

comportamento em sessões se presta para o conhecimento dos efeitos de aprendizagem sobre o comportamento. Na fala dos autores: "Quando múltiplos dados são derivados de um único assunto, eles não são considerados replicações independentes, ou seja, o comportamento de um animal individual deve estar relacionado à sua performance passada" (CORY-SLECHTA, 2001) Assim sendo, a EPA e a OCDE, que deliberam orientações para o uso de testes cognitivos em estudos de toxicologia, aquiescem que medidas de memória, por exemplo, devem ser relatadas na presença de uma medida de aquisição obtida a partir do mesmo teste (BUSHNELL, 2015).

Vejamos agora alguns exemplos da aplicação de testes cognitivos a problemas de toxicologia experimental, a partir das pesquisas de Buccafusco e Jackson (2001) e Terry (2014). Ambos se utilizaram de procedimentos comportamentais de complexidade baixa, em que se espera um nível razoável de precisão, ou seja, de frequência de "respostas corretas". Níveis altos de precisão foram apontados em Cory-Slechta (2005), como variáveis que diminuem a probabilidade de detectar uma alteração induzida por tóxico.

O primeiro deles realizou um experimento em que macacos de duas espécies foram separados entre jovens e velhos, e treinados em um procedimento de Delayed Matching to Sample (DMTS), que avalia processos de atenção, formação de estratégias, tempo de reação em situações complexas e memória de eventos recentes. A precisão e a latência de respostas foram os operandos utilizados para entender se o comportamento dos macacos poderia ser afetado após a administração da nicotina, e se os efeitos poderiam ser mantidos por pelo menos 24 horas após a sessão.

Diante de uma tela sensível, sempre que o animal escolhia (por meio do toque) o estímulo de cor correspondente ao estímulo amostra apresentado algum tempo antes, a ele era apresentado uma pequena porção de alimentos. Entre a saída do estímulo amostra e a apresentação dos estímulos de comparação, foram colocados atrasos sistemáticos, curtos e longos, para verificar se os macacos eram capazes de "lembrar" da situação anterior. Nessa fase de treinamento, eles recebiam a aplicação de uma solução salina antes das sessões.

A administração da nicotina nas doses de 1,25; 2,5; 5,0 e 10 txg/Kg iniciou-se após o alcance do limite exibido para a capacidade individual e a extração de uma linha de base para o desempenho individual. Sob o efeito das concentrações de nicotina, os animais foram expostos às mesmas contingências da fase anterior, e os dados comparados com a linha de base. Os resultados mostraram que a nicotina produziu um aprimoramento significativo no DMTS, com grau de aprimoramento maior para atrasos mais longos.

Observou-se ainda que o desempenho se manteve até o dia seguinte após a administração da nicotina, uma característica crônica.

Terry (2014), avaliou o efeito de exposição a uma única dose continuada de um pesticida organofosforado, usando um modelo animal de atenção sustentada conhecido como Tempo de Reação Serial de 5 escolhas. Quarenta ratos Wistar, mantidos a 85% do peso, foram treinados a emitir toques de nariz em telas sensíveis de acordo com uma sequência luminosa apresentada, de maneira que o acerto liberava um reforço alimentar por meio de dispositivo automático. Medidas como porcentagem de respostas corretas, omissões, perseverança e respostas prematuras foram extraídas do desempenho individual, e uma linha de base foi obtida dos dados daqueles que mantiveram um nível de precisão maior que 80% em pelo menos quatro dias consecutivos.

Os 24 ratos selecionados nessa fase, foram divididos em um grupo controle e um grupo experimental, e os segundos sistematicamente submetidos a doses subcutâneas de 0,5mg/Kg por trinta dias. Os resultados revelaram que a dose baixa do pesticida foi capaz de promover prejuízos na atenção sustentada e o aumento da ocorrência de comportamentos impulsivos prolongados. Tanto os efeitos comportamentais como aqueles extraídos da concentração de colinesterases cerebrais mostraram-se reversíveis, ou seja, eles retornam aos níveis de linha de base algum tempo após o contato.

4 MECANISMOS OPERANTES DE AÇÃO DE DROGAS E INTOXICANTES

Para Sidman (1976), a checagem de substâncias novas também pode se dar através da investigação sistemática do comportamento observável dos organismos, sem a necessidade do levantamento de seus correlatos neurais ou fisiológicos explicativos, em concordância com os postulados de Skinner (1974), para quem os fenômenos comportamentais abertos (públicos), bem como os encobertos pela pele (privados), são igualmente considerados uma função das variáveis físicas e sociais presentes no ambiente externo, com as quais o comportamento mantém um conjunto de relações funcionais.

Os mecanismos fisiológicos e neurobioquímicos subjacentes não são as causas dos comportamentos na visão de Tourinho; Teixeira e Maciel (2000), ainda que representem um elo da cadeia comportamental, cuja determinação, antes, deve ser analisada na história de reforços e punições da espécie e do organismo. Para Neves Filho (2018), quando a unidade de análise tem como foco o comportamento, as variáveis fisiológicas não estão sendo ostracizadas. Entretanto, por razões práticas, essas variáveis

podem ficar de fora do recorte ou, de acordo com o recorte, podem fazer parte integral da análise, como vê-se em algumas publicações aplicadas ao campo da Farmacologia e da Toxicologia Comportamental.

Starling (2000) endossa essa visão quando aponta que o exame das condições estabelecedoras do comportamento passa pelo estudo das relações funcionais que operam na relação entre os organismos e o ambiente, para o qual são igualmente indispensáveis a biologia evolutiva, no seu exame da filogênese dos organismos, a etologia, no estudo das suas possibilidades interativas, e a fisiologia, na investigação da plataforma biológica. Mas, continua o autor, "análises funcionais do comportamento dispensam qualquer apelo aos mecanismos biológicos subjacentes, mantendo intactas o seu poder descritivo, explicativo e as suas possibilidades de intervenção sobre o fenômeno" (STARLING, 2000, p. 8).

Analisar funcionalmente um fenômeno comportamental, segundo Tourinho (2009), pressupõe fazer um recorte tomando como constantes algumas variáveis que fazem parte do mesmo, tais como as fisiológicas. Em Matos (1999), vê-se que a análise funcional é uma explicação do evento pela descrição de suas relações com outros eventos, tendo como vantagens a possibilidade de identificação de variáveis importantes para a sua ocorrência e a abertura para explicações históricas. De acordo com essa autora, a importância das análises históricas aplicadas ao comportamento (assentadas nas noções de tríplice contingência), consiste sobretudo na proteção que elas oferecem à emergência de explicações mediacionistas, incompatíveis com o modelo de investigação das ciências naturais (MATOS, 1999).

As explicações mediacionistas são aquelas que propõe o uso de construtos mediadores para falar de eventos que acontecem no interior dos organismos sensientes, quase sempre tomados como as causas do comportamento manifesto (ZILIO e KARRARA, 2008). O uso de construtos como cognição, inteligência, memória ou consciência tem sido frequentemente encontrados em pesquisas de neurotoxicologia humana e animal, aonde fazem parte do sistema tóxico-cognição-resposta. Por um conjunto de razões levantadas em Ryle (2009), Skinner (1953), Zilio (2016), vê-se que a invocação desses construtos além de não necessários, podem ofuscar a compreensão das variáveis das quais um comportamento é função.

O comportamento é um fenômeno natural, determinado por variáveis atuais e históricas que também devem ser identificadas no universo natural (BAUM, 2014). Matos (1999), define que isso deve ser feito por meio da análise funcional e descreve os

principais passos para a sua realização: (1) definir precisamente os comportamentos de interesse; (2) identificar e descrever o efeito comportamental; (3) identificar relações ordenadas entre variáveis ambientais e o comportamento de interesse; (4) formular previsões sobre o efeito de manipulação dessas variáveis sobre o comportamento de interesse e (5) Testar essas previsões. Acrescenta-se ainda a importância da análise funcional das variáveis que mantêm comportamento em estabilidade e a sua importância no contexto da pesquisa com intoxicantes (SIDMAN, 1976; CATANIA, 1999).

Os efeitos de manipulações e operações sobre o responder, quando descritos de maneira genérica, podem revelar sólidas e ordenadas relações entre eventos naturais, conforme nos orienta Zilio (2016), ao discorrer sobre as bases teóricas que fundamentam o nível ontogenético do princípio de seleção pelas consequências, e a sua importância para uma ciência do comportamento. Sobre esse princípio, Moore (2017) explica que se refere ao nível das interações entre organismos e ambiente que selecionam e mantêm respostas comportamentais durante o tempo de vida do organismo individual.

Moore (2017), afirma ainda que as principais respostas de interesse neste nível são as operantes, classe comportamental a que Neves Filho (2018, p. 123), descreve da seguinte forma:

"Comportamento operante é todo comportamento que é sensível às suas consequências. Uma consequência, quando contingente, i.e. ocorre em função de um comportamento, atua como selecionadora daquele comportamento, aumentando ou diminuindo sua probabilidade de ocorrência futura. Além disso, todo comportamento ocorre sempre em um contexto. Parcelas relevantes desse contexto a uma determinada resposta podem ser categorizados como estímulos discriminativos, e a análise destes estímulos levam ao entendimento de que variáveis contextuais controlam um determinado comportamento. A unidade base dessa análise é então uma resposta, que ocorre em um contexto discriminativo, e a qual se segue uma consequência".

Moreira e Medeiros (2018) descrevem exemplos de comportamentos operantes a partir de uma ampla gama de ações que os organismos humanos realizam nos mais variados contextos, como por exemplo o falar na presença de um ouvinte ou o ler silenciosamente em uma biblioteca. No campo da pesquisa básica com infra-humanos, ratos pressionando barras e pombos bicando chaves iluminadas também constituem exemplos de relações no nível operante, extensamente descritos no campo da Análise do Comportamento, a partir da análise funcional dos constituintes de um episódio comportamental.

Estando especialmente interessados em compreender o papel das variáveis ambientais na produção comportamental, os precursores da AC foram impulsionados a criar aparelhos de medida, e sobretudo metodologias experimentais para o estudo dos processos comportamentais básicos (SCHULTZ e SCHULTZ, 2005). Segundo Harzem e Miles (1978), ainda que os aparelhos de medida tenham representado um avanço no entendimento da aprendizagem em animais, o triunfo do modelo analítico comportamental é mais do método, e menos da tecnologia.

Dos esforços iniciais de pioneiros como Pavlov, Thorndike e Skinner surgiram procedimentos como os esquemas de reforçamento, feitos com o auxílio de caixas de condicionamento operante, nas quais o comportamento pode ser estudado com a mínima intervenção do experimentador (HARZEM e MILES, 1978). Segundo Todorov (1981), os esquemas de reforçamento apresentam um modelo para o estudo do comportamento em estado-estável e para a compreensão do efeito de introdução de uma variável, com graus satisfatórios de confiabilidade e generalidade entre espécies.

Muitas publicações envolvendo o uso de procedimentos operantes tem mostrado como é possível colocar o comportamento de ratos sob o controle de estímulos antecedentes e consequentes, através de exposições sistemáticas a ambientes programados. A modificação comportamental proveniente da exposição aos esquemas temporais, por exemplo, prevê alterações previsíveis e ordenadas na frequência de uma resposta, quando esta é seguida da apresentação de um estímulo reforçador dependente da passagem do tempo. Quando o intervalo é fixo (FI), os ratos frequentemente emitem pausas entre reforços, seguido por um período de aceleração e uma alta taxa terminal, e quando o intervalo é variável (VI), eles mantêm uma frequência constante de respostas, sem pausas (MOREIRA e MEDEIROS, 2018; RICE, 1988).

Assim também acontece nos procedimentos que se utilizam de esquemas de razão, onde a ocorrência de uma resposta em linha de base é modificada após a exposição do organismo (em privação) a contingências sinalizadas, que preveem a liberação de estímulos reforçadores dependentes da razão fixa ou variável de uma resposta (GIMENES & VASCONCELOS, 1999; TODOROV & SOBRINHO TEIXEIRA, 2012). Os esquemas de razão fixa (FR) podem mobilizar pausas, que são mais frequentes quanto maiores forem as exigências da resposta, o que não é esperado nos esquemas de razão variável (VR). Esse último também é conhecido por produzir as mais altas frequências de respostas, superando até mesmo aquelas esperadas para os esquemas de tempo fixo e variável (MOREIRA e MEDEIROS, 2018).

Uma das características também importantes dos esquemas intermitentes apresentados, é que, uma vez treinados, eles geram desempenhos estáveis por longos períodos, o que pode ser extremamente útil para rastreamento do início e/ou reversibilidade da toxicidade comportamental. Isto está em contraste marcante com muitos outros testes simples, onde as condições podem ser testadas apenas uma ou algumas vezes, necessitando assim de muitos animais (RICE, 1988).

Para Sidman (1976), uma linha de base comportamental constitui-se de uma replicação sistemática na qual um fenômeno pode ser usado a serviço da investigação de outras variáveis, como para a avaliação do efeitos de drogas e químicos não terapêuticos, devendo para isso ter três virtudes principais: (1) estabilidade; (2) sensibilidade e (3) controle de variáveis estranhas.

A estabilidade quase sempre permite que o experimentador avalie a sua manipulação experimental através da replicação intra-sujeito, na qual, segundo Wenger (1990), cada animal é usado como seu próprio controle. Essa abordagem, adotada na presente pesquisa com o BE, é considerada ambientalmente econômica porque usa de um pequeno número de animais para avaliar repetidamente o comportamento. Considera-se ainda que ela tem um maior poder de resolução em relação àquela que estabelece comparações entre grupos, já que a variabilidade inter sujeitos pode gerar perturbações em uma linha de base.

Sidman (1976), explica que a estabilidade de uma linha de base não garante que ela será sensível. Em esquemas de razão fixa, por exemplo, as frequências de respostas são relativamente insensíveis ao efeito de certas drogas, uma vez que geram uma forma muito rígida de coesão interna. Para Weissman (1990), um método comportamental é sensível quando ele pode detectar alterações na ausência de toxicidade evidentemente marcada. Sobre os processos estranhos, o autor explica ainda que se tratam de processos comportamentais indesejados, aonde linhas de base particulares podem gerar a complicação e o obscurecimento dos resultados experimentais (SIDMAN, 1976).

Leslie (2003) fez o levantamento de alguns aspectos fundamentais de uma linha de base na caracterização dos efeitos das drogas farmacológicas, incluindo, dentre outras coisas, o monitoramento do tempo do efeito comportamental, a demonstração da curva dose-efeito e a identificação da via de administração mais efetiva para provocar mudanças comportamentais, ao que Todorov (1981), citando Bernie, inclui a estabilidade e a geração de um sistema comportamental capaz de ser impulsionado para cima ou para baixo pela ação do intoxicante.

A taxa média de uma resposta (que é extraída do número total de respostas dividido pelo tempo total de uma sessão), representa uma das medidas mais simples dos esquemas de reforçamento, capaz de gerar uma compreensão da maneira como o esquema governa o comportamento, podendo ainda sugerir possíveis mecanismos comportamentais afetados por agentes tóxicos (RICE, 1988). Segundo Catania (1999), a taxa média de uma resposta tenderá a não se modificar, caso não sejam alteradas as condições que a mantém. Ainda segundo RICE (1988), outras medidas sensíveis podem envolver a avaliação das pausas entre respostas, de respostas espassadas (DRL), scallops, ou da taxa de reforçadores liberados em diferentes esquemas de reforçamento, medidas que Paule e Merle (1999), caracterizam como sensíveis a uma variedade de manipulações comportamentais, farmacológicas, nutricionais, perinatais e gerontológicas.

A demonstração do comportamento controlado por esquemas de tempo e razão, portanto, tem servido como ponto de partida aos testes de triagem do efeito de neurotóxicos em infrahumanos, onde é possível comparar a performance produzida antes e depois da introdução de um agente para os mesmos sujeitos (TILSON, 1987). Tais procedimentos trazem informações relevantes sobre os mecanismos que operam na ação de drogas e intoxicantes, que serão explicados pelo estudo do comportamento a partir das relações intoxicante-comportamento ou fármaco-comportamento, definindo: (1) as variáveis que controlam uma determinada resposta em linha de base, (2) o agente químico, as dosagens e a via de administração (3) o efeito produzido pela ação do agente sobre a produção comportamental em estabilidade (LEONARDI e BRAVIN, 2011).

Os ensaios experimentais propostos por Ikeda (1994) sobre o comportamento operante de ratos expostos a xenobióticos, revelam como a exposição a uma mistura de inalantes podem gerar desorganizações dose-dependentes na estabilidade das respostas alvo extraídas em uma tarefa de pressão a barra.

Carr e Chambers (1991) avaliaram os efeitos comportamentais e bioquímicos do Parathion, um pesticida organofosforado, empregando ratos treinados em um esquema de reforçamento. Um dos objetivos do experimento foi identificar possíveis relações entre análises bioquímicas e dados comportamentais para aquele agente. Trinta e dois animais foram divididos em quatro grupos iguais e submetidos a um procedimento constituído de quatro fases: Modelagem do comportamento, treino no Esquema de Razão Fixa 10 (FR 10), Pré-Tratamento e Tratamento.

As três primeiras fases foram concluídas quando a emissão da resposta alvo passou a ocorrer de maneira independente e estável, atendendo ao critério de estabilidade

adotado no experimento. Na fase de tratamento, o grupo controle recebeu uma dose de óleo de milho, enquanto os demais receberam as doses: 0,5 mg/Kg; 0,75 mg/Kg e 1 mg/kg de Parathion, respectivamente, todos por administração intraperitoneal. A taxa de respostas para cada grupo de tratamento foi comparada em pré-tratamento e pós tratamento.

Os resultados mostraram diferenças significativas na taxa de respostas pré e pós-tratamento com 0,75 mg/Kg e 1 mg/Kg, mas não na concentração 0,5 mg/kg. As duas doses mais altas geraram uma diminuição significativa na quantidade de respostas de pressão à barra em relação ao controle, assim como provocaram sinais típicos de intoxicação nos animais. Houve ainda uma diminuição dose-dependente da atividade da acetilcolinesterase no cérebro. Carr e Chambers (1991) discutem a partir de seus dados que déficits comportamentais podem ocorrer também na ausência de sinais evidentes de toxicidade e que pode haver correlação entre sinais evidentes e déficits comportamentais.

Ritchie *et al.* (2001) também usaram uma série de tarefas operantes, que variaram de uma simples resposta de pressão de alavanca até uma tarefa complexa na qual os sujeitos precisavam emitir uma sequência de respostas em diferentes alavancas, para entender a influência dos vapores de combustíveis aeronáuticos sobre as respostas aprendidas e mantidas por reforço. Os quarenta e oito ratos Sprague-Dawley usados na pesquisa foram divididos em três grupos, sendo os dois primeiros expostos às concentrações de 1000 mg/m³ e 500 mg/m³, respectivamente, e o grupo controle a 70 L/min. de ar atmosférico. Completadas 180 horas de exposição, a 6 horas por dia, os ratos foram privados a 80% do peso corporal, e treinados nas tarefas operantes para as quais recebiam alimento.

Nos resultados, o grupo exposto repetidamente a 1000 mg/m³ mostrou uma performance de aprendizagem inferior à apresentada pelo grupo exposto a 500 mg/m³, no caso de tarefas difíceis ou moderadamente difíceis, mas não nas tarefas mais simples. A concentração mais elevada produziu um déficit na aprendizagem, evidenciado por performances quase sempre inferiores às do grupo controle. Um aspecto interessante, é que em 500 mg/m³ os ratos responderam com índices de aprendizagem superiores à linha de base para desempenhos complexos, revelando um fenômeno de hormose neurocomportamental. Esse fenômeno acontece, segundo o autor, quando a ação de um agente tem efeitos opostos em doses altas e em doses baixas (RITCHIE, 2001).

Um outro método de examinar os efeitos de uma droga sobre o comportamento operante mantido sob várias condições dos esquemas complexos de reforço (SKINNER,

1957). Nesses, os esquemas de reforçamento simples, como VI e VR, FI e FR são combinados em esquemas mais complexos, apresentados em sucessão (esquemas múltiplos) ou simultaneamente (esquemas concorrentes), por exemplo. Como cada esquema está associado a um estímulo exteroceptivo próprio, discriminações são estabelecidas entre os esquemas componentes e um padrão apropriado de comportamento chega a ser emitido na presença de cada estímulo discriminativo (CLARK e STEELE, 1966).

Rice (1988), explica que esses esquemas múltiplos têm revelado vantagens, reconhecidas e exploradas por toxicologistas comportamentais. Uma delas, segundo Todorov (1981) é que os esquemas múltiplos fornecem a oportunidade de observar o efeito de um fármaco em dois ou mais padrões de respostas diferentes no mesmo sujeito e na mesma sessão, e outra, levantada por Sidman (1976) é que eles oferecem uma solução elegante para a eliminação da variabilidade inter-sujeitos, tanto da linha de base, quanto da sua interação com a operação experimental.

Peele e Krofton (1987), demonstraram que alguns piretróides podem provocar efeitos comportamentais diferenciais não identificáveis por meio dos esquemas de reforçamento mais simples, mas identificáveis com o uso de uma programação múltipla e complexa envolvendo diferentes esquemas de reforçamento em sucessão. Em contraste, algumas substâncias como a anfetamina demonstraram efeitos em todos os componentes do esquema, como em Clark e Steele (1966), indicando que o agente em questão produz um comprometimento generalizado do desempenho.

Peele e Krofton (1987) projetaram uma linha de base comportamental composta por várias taxas diferentes de respostas em ratos para comparar os efeitos de exposição a dois tipos de piretróides, a permetrina e a cipermetrina. O esquema múltiplo escolhido foi composto de quatro componentes VI separados por extinção (Ext). Sete ratos Long-Evans com 90 dias de idade foram treinados individualmente a pressionar uma barra na caixa operante, para a qual recebiam porções definidas de alimento. Assim que a presença desse estímulo conseqüente passou a operar sobre a produção das respostas alvo, os sujeitos foram então apresentados ao esquema múltiplo em uma ordem fixa (VI270; Ext; VI90; Ext; VI30; Ext; VI10; Ext), e mantidos nessa condição durante 60 sessões diárias antes dos tratamentos químicos. Essa quantidade de sessões foi utilizada como critério de estabilidade na linha de base.

As doses de PTM (0; 100; 200; 300 e 400 mg/kg) e de CPM (0; 7,5; 15; 30 e 60 mg/kg) foram administradas sempre 1,5 horas antes das sessões, com a adoção do critério de tempo mínimo de uma semana sem tratamento anterior para cada dosagem. Os dados extraídos no dia anterior à dosagem foram utilizados para determinar o controle não injetado para cada sujeito.

Os resultados para a PTM revelaram sinais de intoxicação aberta nas doses mais altas. Para as demais dosagens, houve diminuição das taxas de respostas nos componentes VI10 e VI270 e efeitos sobre VI30 e VI90, que permaneceram evidentes mesmo após 24 horas. Em relação à CPM, observou-se uma diminuição das taxas de respostas em muito maior extensão no componente VI270 em relação aos demais componentes, bem como uma recuperação mais rápida do efeito decrescente em relação à PTM.

Houve uma redução proporcional à dose na taxa de respostas em todos os componentes do VI após a administração do PTM, mas esse não foi o caso com o CPM, onde a resposta no componente VI10, por exemplo, era mais resistente aos efeitos de redução de taxa do que em VI270. O autor discute que a supressão induzida por PTM e a sua independência do esquema de reforço sugerem uma possível interrupção da função motora. Já o mecanismo comportamental da toxicidade CPM foi tido como de natureza motivacional, tal como as consequências comportamentais de uma perda ou degradação das propriedades de reforço alimentar. Os efeitos diferenciais dos 2 piretróides testados, conclui o autor, não teriam sido determinados se um único esquema VI fosse usado.

Clark e Steele (1966) também usaram um esquema múltiplo, agora para investigar os efeitos comportamentais da anfetamina em ratos. Seis ratos Sprague Dawley foram mantidos em um ciclo de privação alimentar de 24h, a 80 ou 85% dos seus pesos iniciais, e treinados em uma tarefa de pressão a barra, para a qual recebiam alimentos. O esquema múltiplo usado ao longo do experimento consistiu nos seguintes componentes: Ext (4min), onde respostas não eram reforçadas, seguido por FI (4min.) e por três blocos de FR(25). Os componentes seguiram na mesma ordem por quatro horas diárias durante os 90 dias do experimento.

Durante a vigência do componente Ext, as caixas ficavam escuras, durante o componente FI, apenas a luz da caixa foi iluminada, e durante FR, tanto uma luz externa quanto à luz da caixa foram iluminadas ao mesmo tempo. Na linha de base, os animais foram submetidos à aplicação de doses salinas, enquanto na fase de tratamento foram

submetidos às doses de 4,0mg/kg, 2,0mg/kg, 1,0mg/kg e 0,5mg/kg de anfetamina, com aplicação intramuscular. Cada nível de dose foi dado duas vezes a cada sujeito.

Os resultados mostraram que em Ext (4min), as baixas taxas de resposta em linha de base foram aumentadas conforme a dose. Em FI (4min), as pausas iniciais foram abolidas e substituídas por respostas constantes a uma taxa moderada, e em FR (25), a taxa de respostas é baixada em função da dose. Sob todos os três esquemas de reforço, o padrão de controle de resposta foi interrompido pela droga, sendo que os padrões de respostas sob os três esquemas permanecem indistinguíveis nas doses mais altas. Uma descrição precisa, abrangente e empírica dos efeitos comportamentais de uma droga, conclui o autor, pode contribuir na direção de uma busca por seus mecanismos centrais de ação.

Em Geller *et al.* (1979), também foram utilizados esquemas múltiplos de reforço para avaliar os efeitos comportamentais provocados por vapores de tolueno e acetona em ratos. Os componentes VI(60) e VR(50) foram colocados em sucessão e emparelhados cada qual a um estímulo físico, dando origem a linhas de base do comportamento, que, aqui, foram confrontadas com as diferentes concentrações de inalantes escolhidas no experimento. Após a exposição aos vapores químicos, as taxas FR e FI aumentaram de maneira semelhante para as duas substâncias nas exposições de mais curta duração, e diminuíram durante as exposições mais longas.

No contexto da AC compreende-se tanto comportamento manifesto como as condições que o motivam como sendo eventos circunscritos ao universo natural, ou seja, eventos passíveis de análises objetivas e cujas causas devem ser apontadas no tempo e no espaço (BAUM, 2014). Apoiada, portanto, nessa abordagem, que explica o comportamento por meio de suas relações funcionais (históricas e atuais) com estímulos antecedentes e consequentes, esta pesquisa propõe a replicação de um modelo experimental utilizado na investigação do comportamento operante, onde as noções de tríplice contingência são aplicadas à avaliação da segurança de um produto, o BE.

5 MÉTODO

A proposta de uma avaliação dos efeitos comportamentais do BE foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica de Goiás

(CEUA/PUC GOIÁS). O Laboratório de Análise Experimental do Comportamento (LAEC/PUC GOIAS) foi o local escolhido para a realização da coleta dos dados, uma vez que dispõe de biotério adequado e de equipamentos para a manipulação e registro de eventos comportamentais com infra-humanos.

O registro sistemático dos processos de aquisição e estabilização de uma resposta alvo controlada por um esquema múltiplo de reforçamento serviu ao objetivo maior dessa pesquisa, de avaliar a existência de prejuízos associados a doses subclínicas desse agente em ratos.

- **Sujeitos:**

Os sujeitos foram três ratos machos da raça Wistar, ingênuos em treinos experimentais anteriores. Todos iniciaram a primeira fase do experimento com uma média de 120 dias de vida e pesos corporais médios de 352g. Os animais são provenientes do biotério da PUC Goiás e foram mantidos ao longo de todas as fases da pesquisa em gaiolas individualizadas, em condições controladas de temperatura e umidade. A alimentação com pellets foi livre, e o acesso à água controlado, com privação máxima de 24h.

- **Materiais:**

Os equipamentos utilizados na coleta de dados foram três caixas de condicionamento operante do modelo INSIGHT, com chaves analógicas de controle. As caixas são compostas igualmente por lateral de alumínio, com teto e frente em acrílico transparente. Possuem fecho magnético na porta, piso em barras de aço inox, barra em aço inox para acionamento pelo rato (lado direito), bebedouro (parte inferior) e luz (topo da caixa). As medidas externas são as seguintes: 310 mm altura x 260 mm frente x 225 mm fundo.

Foram utilizados ainda os seguintes materiais: protocolos de registro em esquemas múltiplos, balança digital, cronômetro digital, seringas, Equipamentos de Proteção Individual (EPI), caixa de leite condensado industrializado e solução a base de BE.

O composto químico utilizado nos procedimentos experimentais foi o Proclaim 50® (Syngenta), cuja composição é de Benzoato de Emamectina a 50 g/kg (5,0 % m/m). Foi cedido pelo Laboratório de Entomologia Agrícola do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde para fins de realização dessa pesquisa.

- **Procedimento:**

O comportamento de três ratos adultos e ingênuos expostos a um ambiente controlado foi observado por um período de 120 dias, compreendendo os meses de

setembro/2017 a janeiro/2018. Cada animal foi privado de água por aproximadamente 24h e em seguida colocado na caixa experimental contendo em um de seus lados uma barra metálica programada para apresentar uma pequena quantidade de água quando ativada. A liberação desse estímulo reforçador era dependente da emissão da resposta de pressão à barra em todas as etapas do experimento, exceto na fase inicial da primeira etapa, chamada de modelagem, em que a liberação também é feita por intermédio do experimentador.

A aquisição da resposta de pressão à barra foi feita a partir do procedimento de modelagem do comportamento, que consiste em reforçar gradualmente as respostas de aproximação, e depois somente a emissão da resposta alvo. Uma vez aprendida, em duas sessões, a resposta foi então fortalecida e colocada em estabilidade após cinco sessões em Esquema de Reforço Contínuo (CRF).

Um segundo momento se iniciou quando a distribuição de água em CRF deu lugar a um esquema de reforço intermitente, no qual se passou a reforçar intermitentemente a resposta alvo, e não em todas as ocasiões em que ela é emitida. Um esquema múltiplo, composto de duas programações sinalizadas e alternadas foi então selecionado para apresentar as condições capazes de promover ajustes observáveis na frequência de respostas emitidas pelos ratos, quando na presença de estímulos reforçadores apresentados, ora dependentes da emissão de respostas em intervalos variáveis de tempo (VI), ora dependentes da razão variável de respostas emitidas (VR).

As sessões em esquema múltiplo tiveram duração total de 40 (quarenta) minutos, em que se alternaram os componentes de Razão Variável (VR) e Intervalo Variável (VI) a cada 10 (dez) minutos. Cada componente somou 2 (duas) apresentações por sessão, onde ambos tiveram a mesma probabilidade de aparecer em primeiro. Os componentes foram separados nas categorias VR1 VI1, VR2 e VI2, de maneira a facilitar a confecção de análises dos eventos comportamentais desencadeados no curso desses quatro períodos, tais como os efeitos provocados pelos diferentes cronogramas e os efeitos provocados pelas diferentes doses do BE sobre a sensibilidade comportamental.

Por meio de um sorteio, convencionou-se que para os sujeitos 02 e 03, o esquema VR (VR1 e VR2) entraria em vigência sempre na presença de uma lâmpada acesa no teto da caixa, enquanto o esquema VI (VI1 e VI2) operava sempre com a lâmpada apagada. Para o sujeito 01, essa condição se inverteu, visando assim evitar a expressão do efeito do emparelhamento da luz com um dos esquemas sobre a produção de respostas.

O número médio de respostas e o tempo médio do intervalo escolhidos foram os mesmos utilizados no estudo de Geller (1979), utilizando um esquema múltiplo para avaliar o efeito da aplicação de vapores de tolueno e acetona em comportamentos operantes. O esquema VR prevê a apresentação do estímulo reforçador mediante a emissão de uma média de 50 respostas de pressão a barra, variando no intervalo de 1 a 225 respostas exigidas. Já no esquema VI, a apresentação do reforço depende da primeira resposta emitida pelo rato após a passagem de um tempo médio de 60 segundos, podendo variar de 1 a 225 segundos. As frações de tempo dispostas entorno da média de 60 segundos e a razão de respostas requeridas em torno de uma média de 50 respostas foram combinadas aleatoriamente pelo programa excel (Microsoft), gerando uma sequência de 12 números.

A apresentação das contingências de esquema múltiplo foi realizada de maneira progressiva aos animais, a fim de evitarem-se as chances de a resposta alvo entrar em extinção. Assim sendo, as cinco primeiras sessões de treino em múltiplos consistiram de requisitos de razão médias de repostas que variaram de 10 a 40 respostas, e de requisitos de intervalos médios de tempo que variaram de 10 a 50 segundos.

A etapa de Pré-Exposição marcou o início do treino em esquema múltiplo VR (50) / VI (60), e do registro sistemático dos operanda: respostas de pressão a barra e número de reforços recebidos durante a sessão, separados por cada componente. Os dados extraídos dessa etapa serviram como linha de base para a comparação com o desempenho ulterior mostrado nas etapas de Exposição e Lavagem. Foi adotado um critério de estabilidade para o encerramento dessa etapa, que consistiu na verificação de percentuais de dessemelhança iguais ou inferiores a 20% para a taxa média de respostas emitidas em três sessões consecutivas, entre cada um dos componentes.

A etapa de Exposição marcou a entrada da variável independente no estudo, dada pelas diferentes concentrações do pesticida. As doses estipuladas em 0,5 mg/Kg, 1 mg/Kg e 2 mg/Kg foram as mesmas utilizadas em Horta (2017), investigando os efeitos do BE em parâmetros neurobioquímicos e comportamentais usando ratos. Essas doses representam valores 3000x, 1500x e 750x menores que a DL-50 oral pra ratos, que é de 1516 mg/kg de peso corpóreo (Bula do Proclaim). Os animais foram pesados antes de cada sessão, de maneira a extrair-se a dose correspondente ao peso vivo de cada um.

O produto foi misturado a uma quantidade fixa de leite condensado (0,15 ml/dose) e administrado por via oral, ingerido sempre 30 minutos antes do início de cada sessão. Cada animal foi exposto a duas diferentes concentrações do produto, apresentadas em

ordens diferentes entre participantes, afim de controlar-se possíveis efeitos indesejados de ordem de exposição. Nessa etapa do delineamento foi adotado o mesmo critério de estabilidade da Pré-Exposição, com a ressalva de que passou a valer somente após a realização de um mínimo de dez sessões em exposição à dose. Continuaram sendo contabilizadas, nessa etapa, a frequência de respostas de pressão a barra e a frequência de reforços obtidos em cada componente em cada sessão.

O delineamento do experimento, incluindo o ordenamento das etapas e das doses para cada sujeito, é demonstrado na Tabela 1:

Tabela 1 – doses e ordem de exposição de cada sujeito às doses de BE.

Suj. 01	Pré-Exposição	0,5mg/kg	Lavagem	2,0mg/kg	Lavagem
Suj. 02	Pré-Exposição	1,0mg/kg	Lavagem	2,0mg/kg	Lavagem
Suj. 03	Pré-Exposição	2,0mg/kg	Lavagem	0,5mg/kg	Lavagem

Fonte: Autoria própria (2019).

Após o fim dos períodos de exposição à primeira e à segunda doses, os sujeitos passaram por um período de cinco dias de Lavagem, que consistiu em um retorno às condições de linha de base. Nessa etapa os sujeitos receberam somente a quantidade fixa de leite condensado, também 30 minutos antes do início da atividade na caixa. A retirada do BE, característica dessa etapa, teve o objetivo de revelar algo sobre a reversibilidade/continuidade dos efeitos comportamentais que acompanham a exposição ao pesticida em baixas concentrações.

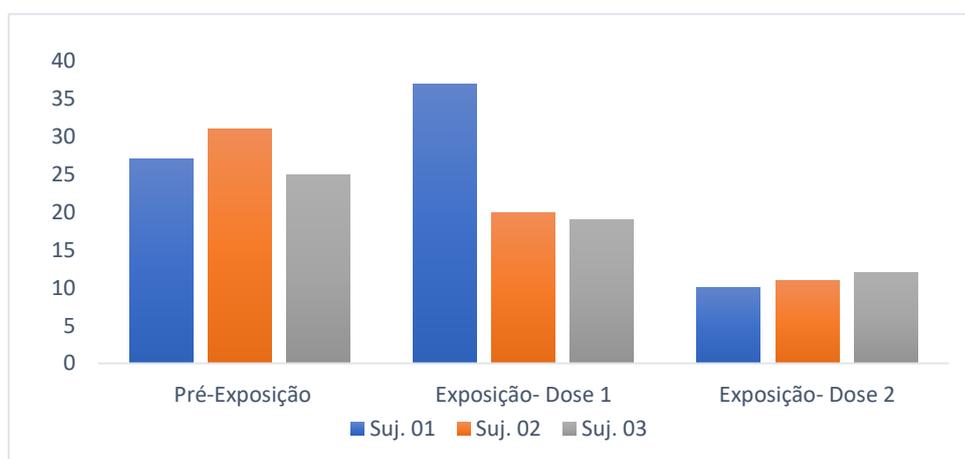
6 RESULTADOS

Uma vez apresentados ao esquema múltiplo de dois componentes, foram necessárias em média 27,66 sessões para que os três sujeitos atingissem o critério de estabilidade proposto para a etapa de Pré-Exposição. Com o Suj. 01 foram realizadas 27 sessões, com o Suj. 02, 31 e com o Suj. 03, 25.

Na etapa “dose 1” da fase de exposição, uma média total de 25,3 sessões foram requeridas para que os três sujeitos entrassem em estabilidade. O Suj. 01, tratado inicialmente com 0,5mg/kg, passou por 37 sessões até a estabilidade; o Suj. 02, com 1,0mg/kg passou por 20 sessões e o Suj. 03 passou por 19 sessões na dose de 2,0mg/kg.

Na etapa “dose 2” da fase de Exposição, os três sujeitos receberam novas doses do BE, seguindo o cronograma de doses exposto na Figura 01. Nessa etapa, foram contabilizadas 12 sessões para que o Suj. 03 alcançasse a estabilidade, exposto à dose de 0,5mg/kg. O Suj. 02 passou a mostrar efeitos declarados de toxicidade comportamental a partir do nono dia de exposição à dose de 2,0mg/kg, e em razão disso foi deslocado para a fase seguinte sem atingir o critério de estabilidade, após o fim de onze sessões em Exposição. O Suj. 01 terminou o experimento sem alcançar a estabilidade comportamental na segunda dose, de 2,0mg/kg. Foram realizadas, em média, onze sessões contando os três sujeitos.

Figura 03- Quantidade de sessões realizadas com cada sujeito, nas etapas de pré-exposição, exposição-dose 1 e exposição-dose 2.



Fonte: Autoria própria (2019).

Tabela 02 - Variação do peso médios dos três sujeitos durante as fases de pré-exposição (Linha de Base); exposição (Dose 1 e Dose 2) e lavagem (Lv 1 e Lv 2). Unidade: gramas

	Suj.01	Suj.02	Suj.03
Linha de base	354	372	366
Dose 1	366	374	373
Lv 1	359	368	370
Dose 2	361	362	362
Lv 2	361	359	359

Fonte: Autoria própria (2019).

Para todos os sujeitos, o início da etapa de pré-exposição foi marcado pela variabilidade comportamental, típica dos estados de aquisição. O comportamento foi considerado estável quando as diferenças entre as taxas médias de respostas emitidas em três sessões consecutivas não superaram o percentual de 20% nos componentes VR e VI.

Em linha de base, o Suj. 01 emitiu uma taxa média de 15,3 respostas por minuto (resp/min) no componente VI e 13,4 resp/min. no componente VR, obtendo uma média de 0,80 reforços por minuto (ref/min) no primeiro e 0,26 ref/min no segundo. A Diferença Percentual Média (DPM) entre os dados da taxa de respostas das três últimas sessões foi de 6,6% para o componente VI e de 13,7% para o componente VR. Exposto à dose de 0,5mg/kg, o Suj. 01 emitiu os seguintes resultados para a taxa média de respostas: 10,2 resp/min no componente VI e 9,8 resp/min no componente VR. A taxa média de reforços recebidos no VI foi de 0,81 ref/min, enquanto no VR, a taxa média obteve 0,22 ref/min. A DPM foi de 13,6% no componente VI e de 16,3% para o componente VR. Na primeira etapa da fase de Lavagem, os sujeitos ficaram cinco dias sem receber nenhuma dose de BE. Nessa condição, a taxa média de respostas para o Suj. 01, chegou a 8,08 resp/min no componente VI e 7,06 resp/min no VR. A taxa média de reforços ficou da seguinte forma: 0,85 ref/min no VI e 0,24 ref/min no VR.

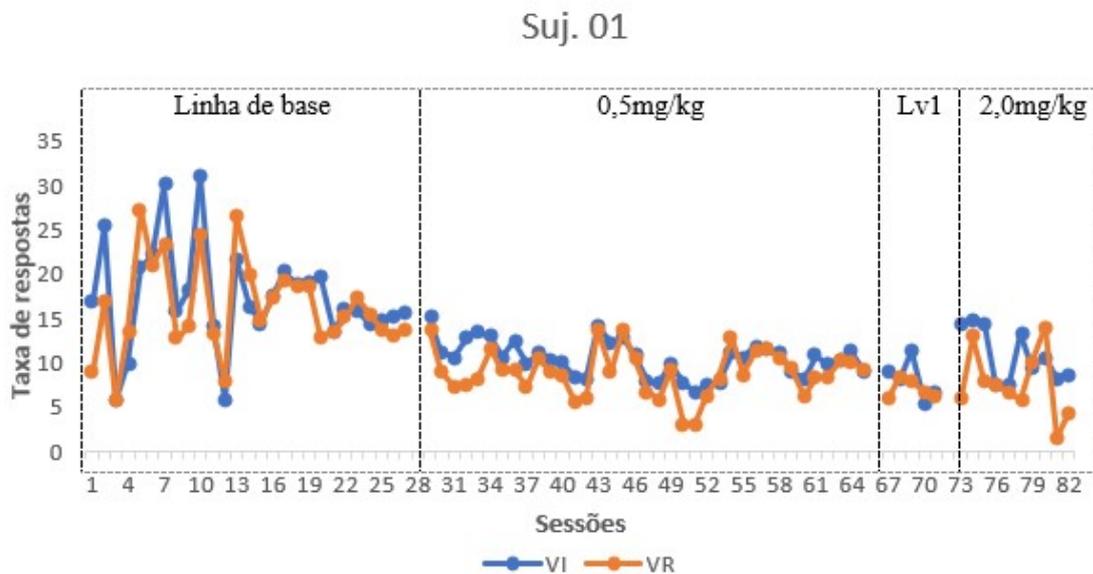
Para o Suj. 01, exposto a 2,0mg/kg, as três últimas sessões, mostraram uma DPM de 35,5% para o componente VI e 79,2% no componente VR. Esse suj. não atingiu o critério de estabilidade próprio da fase, e em razão disso, não foi colocado em Lv 2. Os dados do suj 01 na dose de 2,0 mg/kg correspondem ao intervalo entre a primeira e a décima primeira sessão, momento onde foi encerrado o experimento. Sob a influência dessa dosagem, registrou-se a emissão de 9,2 resp/min no componente VI e 6,5 resp/min no VR, com a liberação de 0,83 ref/min no primeiro e 0,13 ref/min no segundo.

Tabela 03 - Dados do suj 01, relativos às taxas médias de respostas e reforços nos componentes VI e VR, nas fases de Pré-exposição (Linha de Base); Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1 e Lv 2). Os dados marcados com (*) são os únicos que não representam o comportamento em estado estável

	Linha de Base	0,5mg/kg	Lv 1	2,0mg/kg	Lv 2
Taxa média de respostas em VI	15.3	10,2	8,08	*9.2	
Taxa média de respostas em VR	13.4	9.8	7,06	*6.5	
Taxa média de reforços em VI	0,80	0,81	0,85	*0,83	
Taxa média de reforços em VR	0,26	0,22	0,24	*0,13	

Fonte: Autoria Própria (2019).

Figura 04 - Gráfico contendo as taxas médias de respostas emitidas pelo Suj. 01 nos componentes VI e VR, sessão por sessão, nas fases de pré-exposição (Linha de Base), Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1).



Fonte: Autoria Própria (2019).

Em pré-exposição, o Suj. 2 emitiu uma taxa média de 16,3 resp/min em VI e 23 resp/min em VR, obtendo as taxas médias de 0,85 e 0,3 ref/min nos respectivos componentes. A DPM foi de 10% no componente VI e 5,9% no VR. Quando exposto à primeira dose, 1,0mg/kg, o Suj. 02 apresentou os seguintes resultados para a taxa média de respostas: 7,85 resp/min no componente VI e 7,25 resp/min. no componente VR. Naquele que libera estímulos reforçadores dependentes da passagem do tempo, o Suj. 02 recebeu uma média de 0,85 ref/min, enquanto no que libera reforços dependentes da razão de respostas emitidas, obteve uma média de 0,26 ref/min. A DPM foi de 14,4% no componente VI e de 10,9% no VR. Nos cinco dias de lavagem, os valores encontrados foram de 18,5 resp/min no componente VI; 16,6 resp/min no VR; 0,85 ref/min no componente VI e 0,27 ref/min no VR.

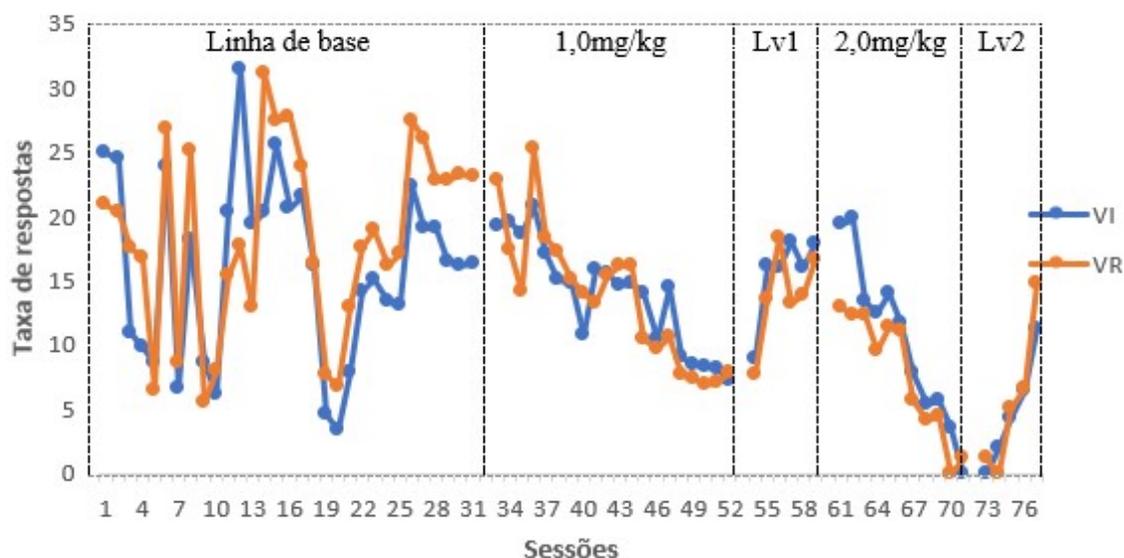
Nas últimas três sessões, exposto à dose de 2,0mg/kg, o Suj.02 emitiu uma média de 3 resp/min no componente VI e 1,83 resp/min no VR, obtendo uma taxa média de 0,48 ref/min no primeiro e 0,08 ref/min no segundo. A DPM esteve acima de 50% para ambos os componentes. Na segunda etapa da fase de lavagem os valores encontrados foram de 4,77 resp/min no componente VI e 5,48 resp/min no VR. A taxa média de reforços recebidos foi de 0,37 ref/min no componente VI e 0,15 ref/min no VR.

Tabela 04 - Dados do suj 02, relativos às taxas médias de respostas e reforços nos componentes VI e VR, nas fases de pré exposição (Linha de Base); exposição (Dose 1 e Dose 2) e lavagem (Lv 1 e Lv 2). Os dados marcados com (*) são os únicos que não representam o comportamento em estado estável

	Linha de Base	1,0mg/kg	Lv 1	2,0mg/kg	Lv 2
Taxa média de respostas em VI	16.3	7,85	18,5	*3,00	4,77
Taxa média de respostas VR	23.0	7,25	16,6	*1.83	5,48
Taxa média de reforços em VI	0,85	0.85	0,85	*0,48	0,37
Taxa média de reforços em VR	0,3	0,26	0,27	*0,08	0,15

Fonte: Autoria Própria (2019).

Figura 05 - Gráfico contendo as taxas médias de respostas emitidas pelo Suj. 02 nos componentes VI e VR, sessão por sessão, nas fases de pré-exposição (Linha de Base), Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1 e Lv 2).



Fonte: Autoria Própria (2019).

O suj. 03 também emitiu uma maior frequência de respostas no componente de intervalo em comparação com o de razão, na etapa de pré-exposição. No primeiro, a taxa média de respostas emitidas foi de 13,5 resp/min, contrastadas às 9,60 resp/min emitidas no segundo componente. Quanto à taxa média de reforços, esta marcou 0,76 ref/min no componente VI e 0,35 ref/min no VR. A DPM ficou em 16% para o componente VI e em 7,5% para o componente VR. Exposto à maior dosagem (2 mg/kg), o suj.03 apresentou uma taxa média de 9,68 resp/min no componente VI, e 6,73 resp/min no componente VR, obtendo uma média de 0,85 ref/min no primeiro e 0,25 ref/min no segundo. A DPM no componente VI foi de 12,7%, e no componente VR 13,8%. Na primeira etapa da

lavagem, obteve-se os seguintes resultados: 5,5 resp/min no componente VI e 3,5 resp/min no componente VR, com a liberação média de 0,85 ref/min no primeiro e 0,14 ref/min no segundo.

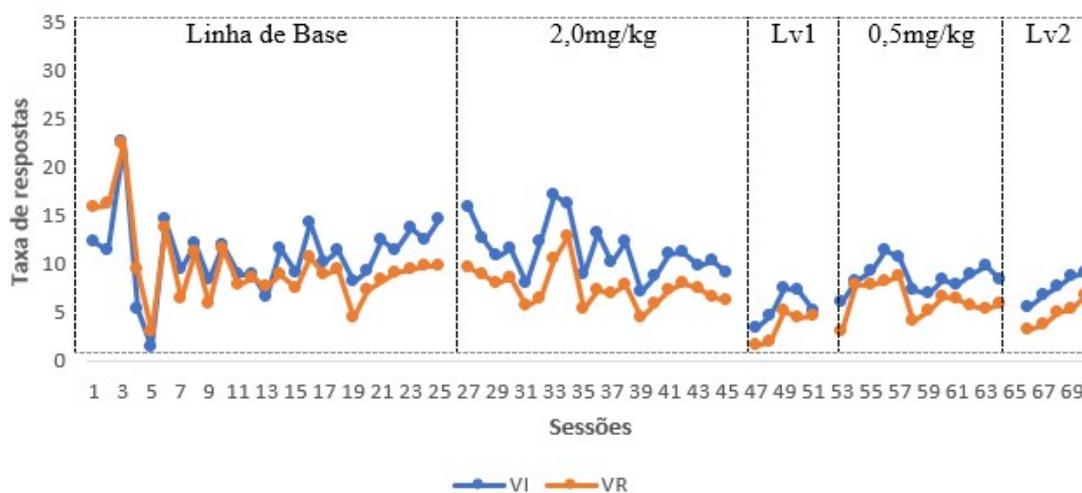
O Suj. 03, exposto à menor dosagem (0,5 mg/kg), apresentou uma taxa média de 13,5 resp/min no componente VI, e 9,6 resp/min no componente VR, obtendo uma média de 0,85 ref/min no primeiro e 0,25 ref/min no segundo. A DPM no componente VI foi de 15,4%, e no componente VR, de 13,3%. Na segunda etapa da fase de Lavagem, os sujeitos foram novamente acompanhados durante cinco dias, sem receber nenhuma dose de BE. Nessa condição, a taxa média de respostas para o Suj. 03, chegou a 7,53 resp/min no componente VI e 4,77 resp/min no VR, obtendo 0,85 ref/min no VI e 0,18 ref/min no VR.

Tabela 05 - Dados do suj 03, relativos às taxas médias de respostas e reforços nos componentes VI e VR, nas fases de pré exposição (Linha de Base); exposição (Dose 1 e Dose 2) e lavagem (Lv 1 e Lv2).

	Linha de Base	2,0mg/kg	Lv 1	0,5mg/kg	Lv 2
Taxa média de respostas em VI	13,5	9,68	5,50	9,00	7,53
Taxa média de respostas em VR	9,60	6,73	3,50	5,60	4,77
Taxa média de reforços VI	0,76	0,85	0,85	0,85	0,85
Taxa média de reforços VR	0,35	0,25	0,14	0,25	0,18

Fonte: Autoria Própria (2019).

Figura 06 - Gráfico contendo as taxas médias de respostas emitidas pelo Suj. 03 nos componentes VI e VR, sessão por sessão, nas fases de pré-exposição (Linha de Base), Exposição (Dose 1 e Dose 2) e Lavagem (Lv 1 e Lv 2)



Fonte: Autoria Própria (2019).

Para os sujeitos 01, 02 e 03, os resultados encontrados na etapa de exposição mostram que o BE interfere na taxa de respostas e na distribuição de reforços nas doses de 0,5 mg/kg; 1,0mg/kg e 2,0mg/kg. A exposição a 0,5mg/kg reduz as taxas de respostas nos dois esquemas, com mais respostas no VI. A exposição a 1mg/kg reduz a taxa de respostas para menos da metade nos dois esquemas e as iguala. A exposição a 2mg/kg reduz a taxa de respostas e reforços, com mais respostas no componente VI. Para um dos animais (Suj 02), essa dose provocou efeitos intoxicantes declarados, com supressão de respostas e reforços e tremores visíveis.

A retirada das doses de 0,5mg/kg e 2,0mg/kg, na fase de Lavagem, manteve a redução taxa de respostas nos Suj.01 e Suj. 03 respectivamente, chegando em níveis ainda mais baixos do que aqueles demonstrados na exposição. Para os dois sujeitos, a taxa de reforçadores retornou aos níveis de linha de base no componente VI, mas diminuiu no VR. Para o Suj. 02, a supressão da exposição à dose de 1,0mg/kg provou a recuperação na taxa de respostas e o colocou o esquema VI como componente no qual se oferta maior frequência de respostas. Já na retirada da dose de 2,0mg/kg, as taxas de respostas e reforços não retornam a níveis próximos à linha de base, ainda que mostrem uma franca recuperação e retorno do VR como componente no qual se deposita mais respostas.

7. DISCUSSÃO

A interação do organismo com o ambiente, pode ser explicada pela contingência tríplice, em que o primeiro termo é o evento antecedente, que é ocasião para as respostas; o segundo a resposta propriamente dita e o terceiro as consequências produzidas pelas respostas (SKINNER, 1974, CATANIA, 1999). Na caixa operante, a presença ou a ausência de uma luz constituem as condições antecedentes que servem de estímulo para a emissão de uma resposta discriminada, que é então mantida pela consequência de acesso à água, o estímulo reforçador.

Tomamos como exemplo o sujeito 1, que emitiu uma média de 680 respostas de pressão à barra por sessão ao longo de uma linha de base. Essa alta frequência demonstra a sensibilidade aos estímulos físicos antecedentes e consequentes programados pelo experimento. Nota-se também que a sensibilidade animal se estende ao controle do comportamento pelas propriedades de tempo e razão de respostas, associadas à distribuição de reforçadores nos esquemas VI e VR, respectivamente. Em linha de base, os esquemas VI (60) e VR (50) controlaram de maneiras distintas o comportamento dos

três sujeitos, de maneira que dois deles apresentaram mais respostas em VI e apenas um respondeu mais em VR.

Na presente pesquisa, a linha de base do comportamento operante representa um recorte da história de aprendizagens em esquemas múltiplos para cada um dos sujeitos, de quando o comportamento sai do seu estado transitório e passa a ser tomado por estável. Sendo assim, ela contempla os critérios dos testes complexos de toxicidade, de Bushnell (2015), já que envolvem um nível de treino de desempenho “anterior”, e os de estabilidade de Todorov (1981) e Sidman (1976), ao mesmo tempo em que oferecem um modelo para explicações histórica de eventos comportamentais, em concordância com Matos (2011).

Usando de um delineamento do tipo N=1, mostrou-se por meio dos dados que o BE é capaz de interferir sobre a produção comportamental nas doses de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg, provocando a diminuição do fluxo de respostas nos componentes VI e VR, que não retornam a níveis basais mesmo após o período de 5 dias de suspensão química. Quando a análise toxicológica recai sobre a sensibilidade de ratos a contingências de reforçamento, a dose de 0,5mg/kg parece se deslocar da sua condição de NOAEL, confirmada em Horta (2017), para a condição de LOAEL comportamental, ou seja, de primeiro nível de dose com efeitos adversos observáveis.

Os resultados fortalecem a hipótese da inexistência de níveis de exposição segura do BE em ratos, uma vez que os sujeitos da pesquisa foram afetados em todas as doses do agente. Essa suspeição obviamente deverá ser testada em outras pesquisas interessadas na investigação dos efeitos comportamentais do BE. Não foi possível também afirmar a existência de efeitos dose dependentes para o BE em ratos, tendo a dose de 0,5mg/kg suprimido a taxa de respostas em níveis semelhantes do que a de 2,0mg/kg, em exposição (Dose 1). No entanto, a alta supressão de respostas e reforços encontrados em 1,0mg/kg, e os prejuízos de doses sucessivas, parecem favorecer o entendimento de que os prejuízos aumentam com a dosagem.

Para os três sujeitos, a reação à maior dosagem seguiu um padrão de elevação inicial da taxa de respostas, seguida de queda, o que só pode ser visto por meio do comportamento em transição. Uma hipótese é que esse pode ser um efeito do tipo narcótico associado ao BE nessa concentração, que se inicia com o aumento nas taxas de respostas, seguido de queda ao longo da continuidade da exposição. Fenômeno comportamental semelhante também foi apontado na exposição de ratos ao hexano. (IKEDA, 1994). Considera-se por meio dos dados aqui encontrados, que o BE é capaz de

distribuir efeitos declarados de toxicidade em doses iguais ou maiores que 2,0mg/kg, o que foi confirmado em (WISE, 1997).

Na primeira etapa da fase de lavagem (Lv1), o comportamento de linha de base foi completamente recuperado após a exposição a 1,0mg/kg, mas continuou sendo suprimido nas doses de 0,5mg/kg e 2,0mg/kg durante os cinco dias dessa fase. Quando se trata da lavagem de segunda dose (Lv 2), os sujeitos não recuperam as taxas de respostas de linha de base para nenhuma das doses, o que fortalece a hipótese de que os efeitos comportamentais de doses sucessivas de BE permanecem mesmo algum tempo após a retirada do agente. Esses dados são coerentes com aqueles apresentados na bula do Proclain 50, que afirmam haver diferenças da toxicocinética do BE para machos e fêmeas, sendo que os primeiros retêm a emamectina na forma inalterada por mais tempo no organismo (BULA PROCLAIN 50).

Houve ainda uma queda na taxa de respostas do primeiro para o segundo nível de dose, para dois dos sujeitos e a diminuição apenas no componente VR para um terceiro, o que sugere a sensibilidade das respostas ao efeito acumulado da ação do BE no organismo e a potencialização dos efeitos comportamentais. A hipótese da acumulação é coerente com dados da lavagem, que indicam que os sujeitos geralmente não recuperam o comportamento de linha de base ao final de cinco dias. O acúmulo das duas doses mais altas produziu efeitos de toxicidade declarada.

O componente VR mostrou uma maior sensibilidade aos efeitos do BE para todos os sujeitos. Uma explicação analítico-comportamental sugere que BE pode provocar a degradação das propriedades reforçadoras do estímulo, afetando as forças motivacionais contidas na operação estabelecadora. Uma das consequências dessa interferência seria o aumento do custo da resposta nos dois componentes e a diminuição do acesso a reforços no componente VR, mas não no VI. Os dados dessa pesquisa mostram que a taxa de respostas caiu para os três sujeitos na fase de exposição, entretanto, a taxa de reforços acompanhou a queda da taxa de respostas em VR, mas manteve-se praticamente inalterada em VI.

Ainda assim, a distribuição de efeitos comportamentais nos dois componentes do esquema múltiplo é um dado que fortalece a hipótese de que a emamectina afeta o funcionamento do organismo de maneira inespecífica. A falta de especificidade, por sua vez, poderia estar associada a prejuízos na função motora do organismo, com consequências secundárias sobre as respostas de pressão à barra nos dois componentes. Um possível comprometimento da capacidade para se alimentar pode ser levantado

apenas no caso do suj.02, uma vez que os demais sujeitos mantiveram os pesos corporais médios pouco alterados ao longo das diferentes fases do experimento (tabela de pesos).

Mesmo antes que esses dados possam ser confirmados ou refutados por outros achados no campo da avaliação toxicológica de pesticidas, essa pesquisa fortalece as evidências de que os testes operantes emprestam um método sensível para a investigação dos efeitos comportamentais do BE em baixas concentrações. Se por um lado, a confiabilidade dos resultados reflete o uso de um método amplamente consolidado na triagem de efeitos comportamentais de substâncias, por outro, é preciso considerar que a coleta de dados apresentou limitações que devem ser apontadas e discutidas a partir da sua capacidade de alterar os resultados.

Em primeiro, destaca-se o tempo gasto com a coleta de dados. Foram cinco meses entre o início do procedimento de modelagem da resposta de pressão à barra e o fim do experimento. Cory-Slechta (2000) já tem destacado que os testes complexos, de uma maneira geral, são mais demorados que os testes de triagem, uma vez que envolvem situações de treino do comportamento. A quantidade média de sessões necessárias para as diferentes fases foi sobrestimada, e o alargamento do número de sessões fez com que o experimento se encerrasse antes que um dos sujeitos tivesse passado por todas as suas fases. O suj. 01 não atravessou por completo a exposição a 2,0mg/kg e não foi colocado em lavagem (Lv 2), o que não permitiu a investigação dos fenômenos comportamentais que de dão da menor para maior dose de BE.

Uma outra questão a se considerar é a dependência do treino do experimentador em todas as suas etapas do experimento. Foram coletas nas quais o experimentador manipulou caixas analógicas, e, por meio dessas, organizou a apresentação dos estímulos antecedentes e consequentes ao comportamento de pressão a barra. Esses sistemas têm sido substituídos há algumas décadas por caixas ligadas a computadores e softwares, que permitem um controle qualificado dos dados experimentais.

Cabe apontar também que a ausência de uma caixa de atenuação sobre a caixa de condicionamento operante não tornou possível o isolamento completo de sons vindos do lado externo da caixa. Sabe-se que os ratos são animais sensíveis a estímulos auditivos e olfativos, e que essas variáveis podem oferecer riscos à obtenção de dados limpos de pesquisa. A despeito dessa importante questão, as condições gerais de controle de estímulos intervenientes nessa pesquisa foram satisfatórias.

Uma outra questão a se considerar é mostrada pelo controle exercido pelo esquema múltiplo sobre a produção de respostas em linha de base. É esperado, em

compatibilidade com a literatura analítico comportamental, que os esquemas VR produzam maiores frequências de respostas que os esquemas VI, o que não foi visto para dois dos sujeitos da pesquisa. O Suj.01 entrou em estabilidade apresentando uma taxa média de 15,3 respostas em esquema VI e 13,4 em VR. Já o Suj. 03, entrou em estabilidade apresentado 13,5 resp/min no componente VI, e 9,6 resp/min no componente VR, uma taxa percentual pequena de diferença em ambos os casos. Sobre isso, vale salientar que a escolha do esquema VR (50) impôs a presença de requisitos altos de respostas, que chegavam a 140 ou 225 respostas necessárias para o acesso ao reforço, fator esse que pode ter enfraquecido o valor da resposta e aumentado o seu custo.

Espera-se que o produto dessa pesquisa venha a compor a ampla literatura sobre os efeitos de produtos químicos usados como agrotóxicos no Brasil, em especial a do BE, podendo servir de referência a estudos de metanálise futuros que investiguem a neurotoxicidade desse agente para organismos não alvo. A pesquisa poderá ainda servir como um projeto piloto para replicações que usem de caixas operantes automatizadas, que enfim elevarão a confiabilidade dos resultados a limites mais elevados, podendo reduzir o tempo da coleta.

Para os psicólogos interessados, a pesquisa poderá servir como um exemplo da aplicação dos princípios comportamentais descritos no campo da pesquisa básica em comportamento, em benefício da produção de conhecimento em outras áreas das ciências naturais. Por fim sugere-se também a aplicação de testes estatísticos aos dados comparados nas diferentes fases do experimento.

Essa pesquisa corrobora que a queda na taxa de respostas e reforçadores são os efeitos comportamentais provocados na exposição de ratos a dose de 0,5mg/kg de BE. A exposição a essa dose está associada a uma diminuição do acesso a reforços dependentes do trabalho do animal. A análise aqui é colocada fora das fronteiras do sistema nervoso ou no domínio causal dos construtos, como coloca Skinner (1974), e assenta-se tão somente nas relações funcionais organismo-ambiente, sensíveis aos efeitos de intoxicantes.

A sensibilidade às contingências foi mostrada nessa pesquisa através de uma linha de base comportamental, que é a história anterior de aprendizagens nos esquemas de tempo e razão. Já a sensibilidade do comportamento ao BE foi revelada por meio de seu efeito na distribuição de respostas aprendidas. Ainda na dose de 0,5 mg/kg, considerada baixa, os animais não mostram efeitos declarados de toxicidade crônica, no entanto a diminuição das taxas de respostas e reforços vistas no componente VR é uma evidência

comportamental de que houve uma degradação das propriedades de controle exercido pelo esquema nessa dose.

Ainda que o BE tenha afetado prontamente o componente VR, os prejuízos também se estenderam ao componente VI, o que reforça a hipótese de que os prejuízos não são discriminativos, mas motivacionais. Isso por sua vez pode indicar também que o BE provoca a degradação de propriedades da função motora, mas não a de propriedades da memória ou da atenção, o que, em doses de 0,5mg/kg é visto na queda da taxa respostas e nas doses iguais ou maiores que 2,0mg/kg, nos tremores e espasmos visíveis. Esses resultados poderiam ser confrontados com aqueles provenientes de imagens ou de avaliações da fisiologia do cérebro, que, se confirmados, aumentariam o poder explicativo da pesquisa.

De fato, os estudos toxicológicos geralmente encontram-se ligados a tradições epistemológicas, cujo pressuposto é de que as coisas que acontecem no cérebro governam o comportamento, e que, por extensão, os fenômenos comportamentais que acompanham as exposições químicas são o resultado de seus mecanismos neurais subjacentes (WENGER, 1990). A neurofisiologia, como argumenta Skinner (1974/1953), ainda continua fazendo sentido à luz das interações do organismo com o ambiente que lhe é externo. Oportunamente, também nos conduzimos a Weiss (1988) para quem os efeitos comportamentais de intoxicantes em pequenas doses antecipam a instalação de desorganizações no substrato neurológico, podendo acontecer temporalmente não associados a problemas no cérebro.

Segundo esse entendimento, os pontos finais neurobioquímicos poderiam não ser sensíveis aos prejuízos gerados em doses de 0,5mg/kg de BE, mas certamente seriam sensíveis às doses de 2,0mg/kg, dada a alta associação entre efeitos comportamentais explícitos e problemas neurológicos. A sensibilidade comportamental a dose de 0,5mg/kg também não foi vista em Horta (2017), usando um método baseado no comportamento naturalístico para investigar a toxicidade crônica do BE.

Comportamentos tipificados como: entocar-se em buracos, passar ou não por uma área central aberta ou enfiar a cabeça em furos dispostos no chão não foram aprendidos em uma situação anterior, nem tampouco colocados sob o controle de consequências conhecidas nessa pesquisa, o que lhes inviabiliza o emprego de avaliações históricas baseadas no comportamento de um único indivíduo. Ainda que seja admitido que respostas incondicionadas se liguem a outros estímulos durante a vida de um único organismo (via condicionamento reflexo, por exemplo), o locus da análise, em Horta

(2017), está circunscrito tão somente àquele que Skinner (1974) chamou de primeiro nível de seleção comportamental, ou nível filogenético.

Vale destacar na pesquisa de Horta (2017), que o exame das alterações comportamentais induzidas pela introdução do BE não é tomada como condições suficientes para explicar o fenômeno de intoxicação, ainda que necessárias. Tais condições só se satisfazem quando um construto mediador ou metáfora é inferido dos dados comportamentais, tomando para si o protagonismo da explicação. A grosso modo, o entendimento que parte da utilização desse construto, é de que o rato passa com maior frequência pela área aberta da caixa porque a ansiedade está controlada pelo efeito da dose de BE.

O uso dessas metáforas e construtos abstratos, também aplicados ao campo da toxicologia, tem sido considerado problemático pelo críticos das abordagens cognitivas, uma vez que tratam-se de ficções explicativas que obscurecem a compreensão das variáveis que controlam o comportamento (ZILIO & KARRARA, 2008; RYLE, 2009). Uma alternativa a esse modelo explicativo foi mostrada na presente pesquisa, que se diferencia por utilizar-se de linguagem teórica e metodologia analítico-comportamental, e por depositar os seus pontos finais de investigação toxicológica não nos comportamentos respondentes, mas nos operantes.

Humanos operam no ambiente tal como animais, aonde respondem de maneira altamente discriminada às contingências naturais e sociais de reforço. Considera-se que esses resultados podem sugerir a existência de perigos relacionados a exposição de humanos e outros mamíferos ao BE, o que deverá ser comprovado por outras pesquisas no campo da avaliação dose-respostas com animais, pelos dados epidemiológicos de intoxicação por BE e por avaliações da exposição crônica de trabalhadores a esse agente, meios de se promover a caracterização dos riscos desse agente.

7 CONCLUSÃO

O Brasil tem um papel de importância no cenário mundial da produção de alimentos e cogita-se que até o ano de 2050, esse seu protagonismo será ainda maior, diante da grande procura por alimentos, fibras, biocombustíveis e outras matérias primas, associadas a uma estimativa populacional que chega a 10 bilhões de pessoas no mundo.

Há fortes razões para se concordar com o IBAMA, para quem não é possível produzir alimentos sem agrotóxicos para um mundo de 10 bilhões de habitantes, uma vez que a densidade de pragas de culturas econômicas é muito elevada, sobretudo nas regiões tropicais. Por outro lado, não restam dúvidas também de que os pesticidas podem implicar danos em organismos não alvo, em modalidade crônicas e agudas de exposição, relatadas em bancos de informações epidemiológicas de casos de intoxicação humana e animal.

A relação entre pesticidas e saúde começou a ser conhecida melhor depois que casos de suicídio ou de exposições acidentais agudas revelaram a emergência de efeitos declarados de toxicidade tais como comas, tremores ou a morte de pessoas em até vinte e quatro horas depois dos incidentes. Os prejuízos continuados também foram vistos nos casos de câncer e doenças neurológicas quimicamente provocados, que podem acontecer até mesmo anos depois dos episódios de exposição, mas ainda serem provocados por estes. Estima-se que não só as pessoas que manipulam agrotóxicos, mas também aquelas que vivem em comunidades próximas aos setores produtivos e ainda os consumidores de alimentos “convencionais”, de uma maneira geral, estejam expostos a pequenas quantidades de pesticidas ao longo de suas vidas.

O governo, através de suas agências regulatórias, mantém protocolos de segurança, que são instrumentos para a triagem de produtos, que formatam as principais decisões no campo regulatório. Logicamente, um dos grandes desafios é encontrar instrumentos confiáveis e sensíveis para se investigar o efeito de doses pequenas e continuadas sobre a saúde. Modelos animais têm então sido usados nessas avaliações e mantidos pela sua capacidade de detectar perigos de agentes químicos em humanos.

A natureza antecipatória desses testes e a possibilidade de se investigar as relações dose efeito em ambientes controlados também justificam os seus usos. Não raras vezes, são descobertas por meio da pesquisa que alguns níveis de doses não geram efeitos adversos observáveis em animais, circunstância que pesam de maneira favorável na regulação do uso desses ingredientes ativos, e de onde são calculados os valores proporcionais de concentrações consideradas seguras para usos humanos.

Em outras circunstâncias, a avaliação de riscos de um pesticida pode revelar a inexistência de níveis de doses sem efeitos adversos, o que pode contribuir para o banimento daqueles ingredientes ativos da categoria dos químicos aceitáveis para usos humanos e ambientais. Sabe-se, contudo, que testes não sensíveis podem produzir também falsos positivos na pesquisa toxicológica, o que pode resultar no não deferimento de um produto seguro, questões essas que foram levantadas ao longo da pesquisa.

A emamectina faz parte de uma terceira geração de pesticidas que entraram recentemente no catálogo das mais de cem moléculas químicas registradas como agrotóxicos junto ao MAPA. A sua alta especificidade com lepidópteros e a baixa persistência no ambiente foram comprovados em testes de eficiência, mas ainda pouco se conhece sobre as suas implicações para a saúde. Entretanto, uma quantidade razoável de pesquisas aponta que o BE pode interferir na saúde de organismos não alvo, ainda que não existam dados que indiquem prejuízos em humanos.

Nessa pesquisa, os efeitos do BE foram investigados com o uso de testes comportamentais, propondo o uso de poucos ratos adultos expostos a pequenas doses. Com o método comportamental baseado na AC, foi possível demonstrar que os ratos diminuem a produção comportamental e o acesso a reforços nas doses de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg, quando comparados os desempenhos dos sujeitos nas fases de linha de base e exposição. A continuidade dos efeitos mesmo após o fim da exposição, sugere que o BE pode representar perigos crônicos nas doses investigadas, podendo o evento comportamental indicar os começos de problemas de ordem neurológica na dose mais baixa, com alta probabilidade na dose mais alta.

Sugere-se a partir dos dados encontrados nessa pesquisa que a emamectina pode ser prejudicial em ratos mesmo nas menores dosagens e que podem não existir níveis de concentração seguros para esse ingrediente, quando os pontos finais da investigação estão no comportamento operante. Isso por sua vez é um alerta para que essa substância possa ser extensivamente avaliada e compreendida, dada a sua importância central na produção de itens agropecuários.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. **Concluída avaliação do Benzoato de Emamectina**. ASCOM, 2017. Disponível: http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/concluida-avaliacao-toxicologica-do-benzoato-de-emamectina/219201?p_p_auth=OQjGNyPr&inheritRedirect=false. Acesso em: 18 out. 2018.
- AHMAD, Mushtaq; ARIF, M. Iqbal; AHMAD, Zahoor. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to new chemistries in Pakistan. **Crop Protection**, v. 22, n. 3, p. 539-544, 2003.
- AKTAR, Wasim; SENGUPTA, Dwaipayan; CHOWDHURY, Ashim. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2009.
- ANNAU, Zoltán. Behavioral toxicology and risk assessment. **Neurotoxicology and teratology**, v. 12, n. 5, p. 547-551, 1990.
- BAUM, William M. **Compreender o behaviorismo: ciência, comportamento e cultura**. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- BAYER, Tânia. *et al.* Equipamentos de pulverização aérea e taxas de aplicação de fungicida na cultura do arroz irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 15, n. 2, 2011.
- BAZYLEWICZ-WALCZAK, B.; MAJCZAKOWA, W.; SZYMCZAK, M. Behavioral effects of occupational exposure to organophosphorous pesticides in female greenhouse planting workers. **Neurotoxicology**, v. 20, n. 5, p. 819-826, 1999.
- BENETTI, Maria D.. A internacionalização real do agronegócio brasileiro-1990-03. **Indicadores Econômicos FEE**, Porto Alegre, v. 32, n. 2, p. 197-222, ago. 2004.
- BOMBARDI, Larissa Mies. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. São Paulo: USP, 2017.
- BRASIL. **Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, 1989. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm. Acesso: nov. 2018.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 2.297, de 25 de agosto de 2016. Cancelar os informes de avaliação toxicológica de todos os produtos técnicos e formulados à base de parationa metílica. **Diário oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 166, p. 30, 29 ago. 2016. Disponível em: <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=29/08/2016&jornal=1&pagina=30&totalArquivos=68>. Acesso em: 01 mar. 2019.

BRASIL. **Decreto-Lei nº 917, de 08 de fevereiro de 1969**. Dispõe sobre o emprego da aviação agrícola no país e dá outras providências. Brasília, DF. Presidência da República. 1969. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/1965-1988/Del0917.htm. Acesso em: 03 mar. 2019.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Norma Regulamentadora 6: NR 6 - equipamento de proteção individual - EPI**, v. 4, n. 3, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relatório nacional de vigilância em saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2018. 193 p.

BRAVIN, André Amaral. **Avaliação neurocomportamental da exposição ao n-hexano em trabalhadores de indústrias de extração de óleo vegetal**. 2014. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências do Comportamento) - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

BRILHANTE, Ogenis M.; CALDAS, Luiz Querino de A., **Gestão e avaliação de risco em saúde ambiental**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1999.

BUCCAFUSCO, Jerry J.; JACKSON, William J. Beneficial effects of nicotine administered prior to a delayed matching-to-sample task in young and aged monkeys. **Neurobiology of aging**, v. 12, n. 3, p. 233-238, 1991.

BUSHNELL, Philip J. Testing for cognitive function in animals in a regulatory context. **Neurotoxicology and teratology**, v. 52, p. 68-77, 2015.

BUSHNELL, Philip J ; MOSER, Virginia C.; SAMSAM, Tracey E. Comparing cognitive and screening tests for neurotoxicity: Effects of acute chlorpyrifos on visual signal detection and a neurobehavioral test battery in rats. **Neurotoxicology and teratology**, v. 23, n. 1, p. 33-44, 2001.

CANTARUTTI, Tony Francis Pleus. **Risco tóxico de resíduos de pesticidas em alimentos e toxicidade reprodutiva em ratos wistar**. 2005. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

CARR, Russell L.; CHAMBERS, Janice E. Acute effects of the organophosphate paraoxon on schedule-controlled behavior and esterase activity in rats: dose-response relationships. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 40, n. 4, p. 929-936, 1991.

CATANIA, A. C. **Aprendizagem comportamento, linguagem e cognição**. Porto Alegre: Artmed, 1999.

CLARK, Fogle C.; STEELE, Bobby J. Effects of d-amphetamine on performance under a multiple schedule in the rat. **Psychopharmacologia**, v. 9, n. 2, p. 157-169, 1966.

COMPANHIA Nacional de Abastecimento - CONAB, C. D. Acompanhamento da Safra Brasileira - Grãos. **Observatório Agrícola**, n. 2, v. 4, 2016.

CORY-SLECHTA, Deborah A. *et al.* Methods to identify and characterize developmental neurotoxicity for human health risk assessment. I: behavioral effects. **Environmental health perspectives**, v. 109, n. suppl 1, p. 79-91, 2001.

CORY-SLECHTA, Deborah A. Studying toxicants as single chemicals: does this strategy adequately identify neurotoxic risk?. **Neurotoxicology**, v. 26, n. 4, p. 491-510, 2005.

COUTINHO, Cláudia F. B. *et al.* Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. [S.l.] v. 15, dez. 2005. ISSN 0103-7277. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/pesticidas/article/view/4469>>. Acesso em: 13 ago. 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v15i0.4469>.

D'AMATO, Claudio; TORRES, João PM; MALM, Olaf. DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane): toxicity and environmental contamination-a review. **Química Nova**, v. 25, n. 6A, p. 995-1002, 2002.

DEMELLO, Margo. **Animals and society: an introduction to human-animal studies**. Columbia University Press, 2012.

ECKERMAN, David A. *et al.* Behavioral observation used to estimate pesticide exposure for farm workers in Brazil. **Psychology & Neuroscience**, v. 2, n. 1, p. 43, 2009.

FANIGLIULO, A., and M. Sacchetti. "Emamectin benzoate: new insecticide against *Helicoverpa armigera*." **Communications in agricultural and applied biological sciences**, n.73, v.3, p. 651-653. 2008.

FERRI, R. *et al.* Doramectin reduces sexual behavior and penile erection in male rats. **Neurotoxicology and teratology**, v. 39, p. 63-68, 2013.

FIGUEIREDO, G. M.; DETRAPE, A. Z.; ALONZO, Herling Aguilar. Exposição a múltiplos agrotóxicos e prováveis efeitos a longo prazo à saúde: estudo transversal em amostra de 370 trabalhadores rurais de Campinas (SP). **Rev Bras Med Trab**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2011.

FLORA, Swaran JS; GAUTAM, Pratibha; KUSHWAHA, Pramod. Lead and ethanol co-exposure lead to blood oxidative stress and subsequent neuronal apoptosis in rats. **Alcohol and alcoholism**, v. 47, n. 2, p. 92-101, 2012.

FLORES, Araceli Verônica *et al.* Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, 2004.

FREDERICO, Samuel. As cidades do agronegócio na fronteira agrícola moderna brasileira. **Caderno Prudentino de Geografia**, n.33, v.1, p.5-23, jan./jul.2011.

GARCIA GARCIA, Eduardo; BUSSACOS, Marco Antonio, FISCHER, Frida Marina. Impacto da legislação no registro de agrotóxicos de maior toxicidade no Brasil. **Rev. Saúde Pública** [online]. 2005, vol.39, n.5, p.832-839. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v39n5/26306.pdf>. Acesso em: out. 2018.

GELLER, I. *et al.* Effects of acetone and toluene vapors on multiple schedule performance of rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 11, n. 4, p. 395-399, 1979.

HARZEM, Peter; MILES, Thomas. **Conceptual issues in operant psychology**. Wiley, 1978.

HEISE, George A.; BOFF, Edward. Continuous avoidance as a base-line for measuring behavioral effects of drugs. **Psychopharmacologia**, v. 3, n. 4, p. 264-282, 1962.

HEREDIA, Beatriz; PALMEIRA, Moacir; LEITE, Sérgio Pereira. Sociedade e Economia do" Agronegócio. **Revista brasileira de ciências sociais**, v. 25, n. 74, 2010.

HORTA, Daniel França. **Exposição subcrônica de ratos ao benzoato de emamectina: toxicidade neurocomportamental e hepática**. 2017. Dissertação (Mestrado em Farmacologia e Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus Botucatu, Botucatu – SP, 2017.

IBGE Censo Agropecuário. Agricultura familiar: primeiros resultados. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. MDA/MPOG, 2009.

IKEDA, Haruo; ÔMURA, Satoshi. Avermectin biosynthesis. **Chemical reviews**, v. 97, n. 7, p. 2591-2610, 1997.

IKEDA, Toshiko. *et al.* Acute neurobehavioral effects of co-inhalation of toluene and n-hexane on schedule-controlled behavior in rats. In: **Neurobehavioral Methods and Effects in Occupational and Environmental Health**. Academic Press, 1994. p. 857-868.

ISHAAYA, Isaac; KONTSEDALOV, Svetlana; HOROWITZ, A. Rami. Emamectin, a novel insecticide for controlling field crop pests. **Pest management science**, v. 58, n. 11, p. 1091-1095, 2002.

JANSSON, R. K. *et al.* Emamectin benzoate: a novel avermectin derivative for control of lepidopterous pests. In: PROCEEDINGS OF THE 3RD INTERNATIONAL WORKSHOP ON MANAGEMENT OF DIAMONDBACK MOTH AND OTHER CRUCIFER PESTS. MARDI, Kuala Lumpur, Malaysia. 1997. p. 1-7.

LACERDA, Guilherme Frederico Miranda Lima de. **Ansiedade em modelos animais: efeito de drogas nas dimensões extraídas da análise fatorial**. 2006. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2006.

LANPHEAR, Bruce P. *et al.* Low-level environmental lead exposure and children's intellectual function: an international pooled analysis. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 7, p. 894-899, 2005.

LATTAL, Kennon A. O lado humano do comportamento animal. **Revista Brasileira de Análise do Comportamento**, v. 2, n. 1, 2016.

LEONARDI, Jan Luiz; BRAVIN, André Amaral. Uma introdução à farmacologia comportamental. **Interação em Psicologia**, Curitiba, v. 15, n. 2, dez. 2011. ISSN 1981-8076. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/psicologia/article/view/20514>>. Acesso em: 13 mar. 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/psi.v15i2.20514>.

LESLIE, Julian C. A history of reinforcement: The role of reinforcement schedules in behavior pharmacology. **The Behavior Analyst Today**, v. 4, n. 1, p. 98, 2003.

LEVIN, Edward D. Learning about cognition risk with the radial-arm maze in the developmental neurotoxicology battery. **Neurotoxicology and teratology**, v. 52, p. 88-92, 2015.

- LUCCHESI, Geraldo. **Agrotóxicos: construção da legislação**. Brasília: Câmara dos Deputados, 2005.
- MATOS, Alan Kardec Veloso. Revolução verde, biotecnologia e tecnologias alternativas. **Cadernos da FUCAMP**, v. 10, n. 12, p. 1-17, 2011.
- MATOS, Maria Amélia. Análise funcional do comportamento. **Estudos de Psicologia**, v. 16, n. 3, p. 8-18, 1999.
- MAURISSEN, Jacques PJ. Quantitative sensory assessment in toxicology and occupational medicine: applications, theory, and critical appraisal. **Toxicology letters**, v. 43, n. 1-3, p. 321-343, 1988.
- MCMMASTER, Suzanne B. Developmental toxicity, reproductive toxicity, and neurotoxicity as regulatory endpoints. **Toxicology letters**, v. 68, n. 1-2, p. 225-230, 1993.
- MOORE, Jay. Seleção comportamental por consequências. **Revista Brasileira de Análise do Comportamento**, v. 13, n. 2, 2018.
- MOREIRA, Márcio Borges; DE MEDEIROS, Carlos Augusto. **Princípios básicos de análise do comportamento**. São Paulo: Artmed, 2018.
- NEVES FILHO, Hernando Borges. **Criatividade: suas origens e produtos sob uma perspectiva comportamental**. Fortaleza: Imagine Publicações, 2018.
- PASCOTTO, Viviane M. *et al.* Effects of a mixture of pesticides on the adult female reproductive system of Sprague-Dawley, Wistar, and Lewis rats. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 78, n. 9, p. 602-616, 2015.
- PAULE, MERLE G. *et al.* The use of timing behaviors in animals and humans to detect drug and/or toxicant effects. **Neurotoxicology and teratology**, v. 21, n. 5, p. 491-502, 1999.
- PELAEZ, Victor; TERRA, Fábio Henrique Bittes; DA SILVA, Letícia Rodrigues. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, v. 36, n. 1, 2010.
- PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa; DUBOIS, Gaetan Serge. **Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema**, Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 2003. p.21-41.
- PEELE, David B.; CROFTON, Kevin M. Pyrethroid effects on schedule-controlled behavior: time and dosage relationships. **Neurotoxicology and teratology**, v. 9, n. 5, p. 387-394, 1987.
- PIGNATI, W. A. *et al.* **Resumo executivo dos impactos dos agrotóxicos na saúde e no ambiente nos municípios do “interior” de Mato Grosso, Brasil**. [S.n]:Cuiabá, 2013.
- PINTO, Wladimir Bocca Vieira Rezende de. *et al.* Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 1, n. 1, p. 102-120, 2012.

- POUGH, F. Harvey; HEISER, John B.; MCFARLAND, William N. **A vida dos vertebrados**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2003.
- PROCLAIM 50: Inseticida de contato e ingestão. São Paulo: Syngenta Proteção de Cultivos, [2019?]. Bula de Remédio.
- REIS FILHO, J.; MARIN, J.; FERNANDES, P. OS agrotóxicos na produção de tomate de mesa na região de Goianápolis, Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, v. 39, n. 4, p. 307-316, 19 nov. 2009.
- RICE, D. C..Quantification of operant behavior. **Toxicology letters**, v. 43, p. 361-379, 1988.
- RITCHIE, Glenn D. *et al.* Effects of repeated exposure to JP-8 jet fuel vapor on learning of simple and difficult operant tasks by rats. **Journal of Toxicology and Environmental Health Part A**, v. 64, n. 5, p. 385-415, 2001.
- ROCHA, Cleonice. **Cerrado, sociedade e ambiente: desenvolvimento sustentável em Goiás**. Goiânia: UCG, 2008.
- ROSA, Christopher T. de; STARA, Jerry F.; DURKIN, Patrick R. Ranking chemicals based on chronic toxicity data. **Toxicology and industrial health**, v. 1, n. 4, p. 177-191, 1985.
- RODIER, Patricia M.; WEISS, Bernard. BURBACHER, Thomas M.. Methylmercury developmental neurotoxicity: a comparison of effects in humans and animals. **Neurotoxicology and teratology**, v. 12, n. 3, p. 191-202, 1990
- ROWAN, Andrew N. Formulation of ethical standards for use of animals in medical research. **Toxicology letters**, v. 68, n. 1-2, p. 63-71, 1993.
- RUBENSTEIN, Reva. Human health and environmental toxicity issues for evaluation of halon replacements. **Toxicology letters**, v. 68, n. 1-2, p. 21-24, 1993.
- RYLE, Gilbert. **The concept of mind**. Routledge, 2009.
- SALSBURG, David S. **Uma senhora toma chá...: como a estatística revolucionou a ciência no século XX**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 2009.
- SCHULTZ, Duane P.; SCHULTZ, Sydney Ellen. **História da psicologia moderna**. São Paulo: Cultrix, 2005.
- SIDMAN, Murray. A análise do comportamento humano em contexto. **Revista Brasileira de Análise do Comportamento**, v. 1, n. 2, 2016.
- SIDMAN, Murray. **Táticas da pesquisa científica: avaliação dos dados experimentais na psicologia**. [S.l]: Brasiliense, 1976.
- SILVA, Jandira Maciel da. *et al.* Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & saúde coletiva**, v. 10, p. 891-903, 2005.
- SILVA, Gimenes Lincoln da; VASCONCELOS, Laércia Abreu. Efeitos da radiação ionizante sobre comportamentos mantidos por contingências operantes. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 15, n. 3, p. 219-225, 1999.

SKINNER, Burrhus Frederic. **Science and human behavior**. Simon and Schuster, 1953.

SKINNER, Burrhus Frederic. **Sobre o behaviorismo**. São Paulo: Cultrix, 1974.

SLIKKER JR, William *et al.* Biologically based, quantitative risk assessment of neurotoxicants. **Toxicological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 18-30, 1996.

STARLING, R. R. A interface comportamento/neurofisiologia numa perspectiva behaviorista radical: o relógio causa as horas. **Sobre comportamento e cognição: da reflexão teórica à diversidade da aplicação**, v. 5, p. 1-13, 2000.

SUMNER, Susan CJ *et al.* Acrylamide: A comparison of metabolism and hemoglobin adducts in rodents following dermal, intraperitoneal, oral, or inhalation exposure. **Toxicological Sciences**, v. 75, n. 2, p. 260-270, 2003.

SUNG, Yueh-Feng *et al.* Avermectin intoxication with coma, myoclonus, and polyneuropathy. **Clinical toxicology**, v. 47, n. 7, p. 686-688, 2009.

TALGA, Dagmar Olmo. Pontal do buriti/brincando na chuva de veneno: alternativa comunicacional de massa. *In*: SEMINÁRIO NACIONAL AGROTÓXICO, IMPACTOS SOCIOAMBIENTAIS E DIREITOS HUMANOS, v. 1, n. 1, [S.l.], 2014. **Anais [...]** p. 132-136.

TERRY JR, Alvin V. *et al.* Repeated exposures to diisopropylfluorophosphate result in impairments of sustained attention and persistent alterations of inhibitory response control in rats. **Neurotoxicology and teratology**, v. 44, p. 18-29, 2014.

TILSON, H. A.. Behavioral indices of neurotoxicity: what can be measured?. **Neurotoxicology and teratology**, v. 9, n. 6, p. 427-443. 1987.

TILSON, Hugh A.; WRIGHT, Dennis C. Interpretation of behavioral teratology data. **Neurobehavioral Toxicology & Teratology**. [S.l.] 1985.

TIMOFEEVA, Olga A. *et al.* Persistent behavioral alterations in rats neonatally exposed to low doses of the organophosphate pesticide, parathion. **Brain research bulletin**, v. 77, n. 6, p. 404-411, 2008.

TODOROV, João Claudio. Behavior analysis and experimental pharmacology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.5, n. 3, p. 307-314. 1981.

TODOROV, João Claudio ; SOBRINHO TEIXEIRA, Joyce Paola. Pausas em esquemas encadeados razão fixa, intervalo fixo: será o tempo senhor da razão? **Revista Brasileira de Análise do Comportamento**, v. 5, n. 1, 2012.

TOURINHO, Emmanuel Zagury. **Subjetividade e relações comportamentais**. São Paulo: Paradigma, 2009.

TOURINHO, Emmanuel Zagury; TEIXEIRA, E. da R.; MACIEL, Josiane Miranda. Fronteiras entre análise do comportamento e fisiologia: Skinner e a temática dos eventos privados. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, v. 13, n. 3, p. 425-434, 2000.

ULBRICH, Beate; STAHLMANN, Ralf. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. **Archives of toxicology**, v. 78, n. 5, p. 252-268, 2004.

VORHEES, Charles V.; MAKRIS, Susan L. Assessment of learning, memory, and attention in developmental neurotoxicity regulatory studies: synthesis, commentary, and recommendations. **Neurotoxicology and teratology**, v. 52, p. 109-115, 2015.

WEISS, Bernard. Quantitative perspectives on behavioral toxicology. **Toxicology letters**, v. 43, n. 1-3, p. 285-293, 1988.

WEISSMAN, Albert. What it takes to validate behavioral toxicology tests: a belated commentary on the Collaborative Behavioral Teratology Study. **Neurotoxicology and teratology**, v. 12, n. 5, p. 497-501, set./ out. 1990

WENGER, Galen R. Operant behavior as a technique for toxicity testing. **Neurotoxicology and teratology**, v. 12, n. 5, p. 515-521, 1990.

WISE, L. David *et al.* Developmental neurotoxicity evaluation of the avermectin pesticide, emamectin benzoate, in Sprague–Dawley rats. **Neurotoxicology and teratology**, v. 19, n. 4, p. 315-326, 1997.

XIA, X. J., Huang, Y. Y., Wang, L., Huang, L. F., Yu, Y. L., Zhou, Y. H., & Yu, J. Q.. Pesticides-induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 86, n. 1, p.42-48. 2006.

YEN, Tzung-Hai; LIN, Ja-Liang. Acute poisoning with emamectin benzoate. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 42, n. 5, p. 657-661, 2004.

ZILIO, Diego. Who, what, and when: Skinner's critiques of neuroscience and his main targets. **The Behavior Analyst**, v. 39, n. 2, p. 197-218, 2016.

ZILIO, Diego; CARRARA, Kester. Mentalismo e explicação do comportamento: aspectos da crítica behaviorista radical à ciência cognitiva. **Acta Comportamentalia: Revista Latina de Análisis de Comportamiento**, v. 16, n. 3, 2008.

