



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Urutaí  
Programa de Pós-Graduação em Conservação de  
Recursos Naturais do Cerrado

# TADBIO: UM *SOFTWARE* ASSISTENTE PARA ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE GIRINOS EM AMBIENTE LABORATORIAL

TENILCE GABRIELA DA SILVA ALVAREZ

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Aline Sueli de Lima Rodrigues

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane de Fátima dos Santos Cardoso

Urutaí, maio de 2021



## **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano**

*Reitor*

Prof. Dr. Elias de Pádua Monteiro

*Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação*

Prof. Dr. Alan Carlos da Costa

### **Campus Urutaí**

*Diretor Geral*

Prof. Dr. Paulo César Ribeiro Cunha

*Diretor de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação*

Prof. Dr. Anderson Rodrigo da Silva

## **Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado**

*Coordenador*

Prof. Dr. Daniel de Paiva Silva

Urutaí, maio de 2021

**TENILCE GABRIELA DA SILVA ALVAREZ**

**TADBIO: UM *SOFTWARE* ASSISTENTE PARA ANÁLISE  
COMPORTAMENTAL DE GIRINOS EM AMBIENTE  
LABORATORIAL**

*Orientadora*

Prof.<sup>a</sup> Dra. Aline Sueli de Lima Rodrigues

*Coorientador*

Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto

*Coorientadora*

Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane de Fátima dos Santos Cardoso

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano –  
Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa  
de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais  
do Cerrado para obtenção do título de Mestre.

Urutaí (GO)  
2021

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

AAL473  
t

Alvarez, Tenilce Gabriela da Silva  
TADBIO: UM SOFTWARE ASSISTENTE PARA ANÁLISE  
COMPORTAMENTAL DE GIRINOS EM AMBIENTE LABORATORIAL /  
Tenilce Gabriela da Silva Alvarez; orientadora Dr. <sup>a</sup>  
Aline Sueli de Lima Rodrigues; co-orientador Dr.  
Guilherme Malafaia Pinto; co-orientadora Dr. <sup>a</sup> Cristiane  
de Fátima dos Santos Cardoso. -- Urutaí, 2021.  
39 p.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação em  
Conservação de Recursos Naturais do Cerrado) -Instituto  
Federal Goiano, Campus Urutaí, 2021.

1. Etograma *Physalaemus cuvieri*. 2. Comportamento  
de girinos. 3. JavaFX. 4. Código aberto. 5. Análise  
semiautomática. I. Rodrigues, Dr. <sup>a</sup> Aline Sueli de  
Lima, orient. II. Pinto, Dr. Guilherme Malafaia,  
coorient. III. Cardoso, Dr<sup>a</sup> Cristiane de Fátima dos  
Santos, coorient. IV. Título.

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

**Identificação da Produção Técnico-Científica**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese  | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação                      | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação                             | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |   |

Nome Completo do Autor: **Tenilce Gabriela da Silva Alvarez**

Matrícula: **2019101330940140**

Título do Trabalho: **Tadbio: um software assistente para análise comportamental de girinos em ambiente laboratorial.**

**Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique: \_\_\_\_\_

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: \_\_/\_\_/\_\_

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

**DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA**

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Urutaí, 21/06/2021.



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

## FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

**Título da dissertação:** Tadbio: um software assistente para análise comportamental de girinos em ambiente laboratorial.

**Orientadora:** Profa. Dra. Aline Rodrigues de Lima

**Coorientador:** Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto

**Autora:** Tenilce Gabriela da Silva Alvarez

Dissertação de Mestrado **APROVADA** em **25 de maio de 2021**, como parte das exigências para obtenção do Título **MESTRE EM CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS DO CERRADO**, pela Banca Examinadora especificada a seguir:

Prof. Dr. Ives Charlie-Silva

Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Fernando Postalli Rodrigues  
e IF Goiano

Universidade Estadual de Londrina

Documento assinado eletronicamente por:

- Ives Charlie da Silva, Ives Charlie da Silva - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí (10651417000259), em 14/06/2021 12:51:46.
- Fernando Postalli Rodrigues, Fernando Postalli Rodrigues - 2342 - PROFESSORES DE CIÊNCIAS FÍSICAS; QUÍMICAS E AFINS DO ENSINO SUPERIOR - Instituto Federal Goiano - Campus Iporá (10651417000682), em 01/06/2021 09:14:03.
- Guilherme Malafaia Pinto, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 01/06/2021 03:39:25.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 23/05/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 271350  
Código de Autenticação: afa332dc77



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Urutaí

Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, None, URUTAI / GO, CEP 75790-000

(64) 3465-1900

*“ A tecnologia vai reinventar o  
negócio, mas as relações humanas  
continuarão a ser a chave para o sucesso”.*  
*(Stephen Covey)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** por ter me dado forças nos meus projetos e me conceder sucesso na realização de diversos desafios acadêmicos.

À minha **família**. Minha irmã Tailane e sobrinha Alessandra, que alegravam os meus dias com as vídeos chamadas. Ao meu irmão Taylon, que sempre alegrava meus domingos com meu sobrinho Miguel. Ao meu Pai Gabriel pelos conselhos e incentivo. À minha querida Mãe que sempre foi, é e sempre será meu porto seguro. Vocês são a base das minhas maiores conquistas!

Agradeço aos meus queridos **orientadores** Aline Rodrigues, Guilherme Malafaia e Cristiane dos Santos, por todo incentivo e ajuda durante o desenvolvimento desse estudo. Vocês são grandes referências profissionais.

Ao **Instituto Federal Goiano campus** Urutaí, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao **Laboratório de Pesquisas Biológicas** (IF Goiano) que me deu suporte do início ao fim no desenvolvimento do meu estudo.

Ao **Núcleo de Informática** (IF Goiano), que me ensinou a dar os primeiros passos na minha vida acadêmica, foram tantas oportunidades!!!

E ao meu companheiro Thales Quintão, que me ajudou muito na hora de desenvolver esse estudo, sem você muitas coisas seriam sem sentido. Devo muito a você. Obrigada por segurar minha mão e acreditar em mim.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	7
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	8
<b>RESUMO</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	10
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
2.1. Levantamento de requisitos e planejamento inicial.....	13
2.2. Elaboração do etograma .....	14
2.3. Desenvolvimento do <i>Software</i> .....	15
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	17
3.1. Elaboração do etograma .....	17
3.1.1. Descrição dos comportamentos identificados em girinos de <i>P. cuvieri</i> .....	18
3.1.1.1. Comportamentos individuais.....	18
3.1.1.2. Comportamentos sociais.....	22
3.2. O <i>software</i> .....	26
3.3. Validação do <i>software</i> e demonstração de uso.....	34
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	34
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	34
<b>ANEXO</b> .....	38

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ilustrações dos comportamentos de repouso. (01) Ausência de movimento. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção. 5(s) Tempo mínimo para início da contagem do comportamento “Ausência de movimento”; (02) Congelamento. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar repentino da locomoção. 2(s) Tempo mínimo para início da contagem do comportamento de “Congelamento”.....	18
<b>Figura 2.</b> Ilustrações dos comportamentos locomotores ordenados. (03) Deslocamento ordenado curto. “Até 5 cm” – (Distância máxima para a contagem do deslocamento curto); (04) Deslocamento ordenado médio. “Entre 6 e 20 cm” – (Distância para a contagem do deslocamento médio) e (05) Deslocamento ordenado longo. “Superior a 20 cm” – (Distância mínima para a contagem do deslocamento longo). A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção. ....	20
<b>Figura 3.</b> Ilustrações dos comportamentos de locomotores erráticos. (04) Deslocamento erráticos curto. “Até 5 cm” – (Distância máxima para a contagem do deslocamento curto); (06) Deslocamento erráticos médio. “Entre 6 e 20 cm” – (Distância para a contagem do deslocamento médio) e (08) Deslocamento erráticos longo. “Superior a 20 cm” – (Distância mínima para a contagem do deslocamento longo). A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção. ....	20
<b>Figura 4.</b> Ilustração do comportamento locomotor de nado até a superfície do aquário. (09) Deslocamento até a lâmina d’água. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto atingido com a locomoção empregada. ....	21
<b>Figura 5.</b> Ilustração do comportamento locomotor em espiral ou circular. (10) Deslocamento em espiral/circulatório. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção. ....	21
<b>Figura 6.</b> Ilustração do comportamento de aquaplanagem diagonal. (11) Planar. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção. ....	22
<b>Figura 7.</b> Ilustrações dos comportamentos agonísticos. (12) Ataque. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto de destino da locomoção - ataque ao outro indivíduo; (13) Múltiplos ataques. A) Animal que promove os ataques. B) Ataque ao “I <sub>2</sub> ” indivíduo dois. C) Ataque ao “I <sub>3</sub> ” indivíduo três. D) Ataque ao “I <sub>4</sub> ” indivíduo quatro e (14) Empurrar. A) Ponto de início do deslocamento do animal que promove o comportamento de “Empurrar”. B) Posicionamento final do animal que sofreu o comportamento de “Empurrar”. ....	23
<b>Figura 8.</b> Ilustrações dos comportamentos não agonísticos. (15) Agrupamento e (16) Desagregação.....	24
<b>Figura 9.</b> Ilustrações dos comportamentos defensivos. (17) Desvio para evitar ataque. A) Animal que promove a aproximação direcionada ao seu coespecífico. I <sub>1</sub> ) Primeiro indivíduo que desvia para evitar o contato físico. I <sub>2</sub> ) Segundo indivíduo que desvia para evitar o contato físico e (18) Perseguição após sofrer ataque. A) Animal que se direciona até o coespecífico e o ataca. I <sub>1</sub> ) Indivíduo que sofreu o ataque em perseguição de quem o promoveu. ....	25
<b>Figura 10.</b> Interface inicial do software TADBIO. (1) Menu “Ajuda” com as opções “Tutorial” e “Sobre” e (2) Botão “Configurar”. ....	27
<b>Figura 11.</b> Interface de configuração dos parâmetros do software TADBIO. (3) Campo “Duração do teste”; (4) Comportamentos locomotores e suas respectivas teclas de atalho; (5) Comportamentos sociais e suas respectivas teclas de atalho; (6) Quantificação de “Latências” e suas respectivas teclas de atalho; (7) Botão “Confirmar” e (8) Botão “Cancelar”.....	28
<b>Figura 12.</b> Interface de avaliação do software TADBIO. (9) Botão “Começar”; (10) Botão “Resetar”; (11) Botão “Configurar”; (12) Botão “Fechar”; (13) Indicação do “Tempo transcorrido (s)”; (14) Painel Zonas; (15) Painel “Latências” e (16) Painel de comportamentos	

– Comportamentos de “Locomoção” e de “Interação Social”, além de suas respectivas teclas de atalho. .... 31

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Comportamentos identificados em girinos de *Physalaemus cuvieri* em ambiente laboratorial..... 17

## RESUMO

O comportamento animal representa um biomarcador importante em avaliações de impactos ambientais, uma vez que apresenta elevada sensibilidade. Porém, sua análise requer o uso de ferramentas eficientes e confiáveis para a mensuração de mudanças comportamentais nos animais expostos a diferentes condições ambientais. Nesse sentido, os *softwares* se destacam por reunirem precisão e confiabilidade nas análises, reduzindo as chances de erros humanos nas avaliações. Embora estes sejam excelentes aliados das pesquisas científicas, atualmente os que se encontram disponíveis no mercado são a maioria possuem restrições, poucos permitem adaptações para inclusão de variáveis específicas relacionadas a outros grupos de animais, além disso a maioria desses *softwares* são direcionados a uma quantidade pequena de bioindicadores, deixando alguns em segundo plano, a exemplo dos anfíbios. Com isso, o objetivo do presente estudo foi desenvolver a primeira versão do *software* TADBIO, um aplicativo de código aberto e de distribuição gratuita direcionado à análise semiautomática do comportamento de girinos. Buscas por etogramas do sistema modelo *Physalaemus cuvieri* foram realizadas sem se obter sucesso. Portanto, um etograma para a espécie foi elaborado em ambiente laboratorial, para reunião dos comportamentos e planejamento do desenvolvimento *software*. As ferramentas de desenvolvimento utilizadas foram NetBeans IDE e Scene Builder. A codificação foi realizada através das linguagens de programação JavaFx e FXML. A partir do esforço amostral de 45 h (2.700 min), 18 comportamentos foram observados, identificados e descritos. Realizou-se uma seleção minuciosa nos comportamentos identificados para a seleção daqueles que se apresentaram aptos para o registro semiautomático e de interesse nos estudos laboratoriais. Em relação ao *software*, foram desenvolvidas três interfaces. A tela inicial que possibilita a entrada no painel de configurações, a segunda que permite configurar a análise dos comportamentos e a terceira, que é a tela de registro e quantificação das análises. A partir dos testes de validação, a primeira versão do *software* TADBIO mostrou-se eficiente no registro dos comportamentos de interesse. Acredita-se que ele pode colaborar de forma significativa para avaliações comportamentais de representantes do grupo dos anfíbios, uma vez que foi desenvolvido de forma direcionada aos principais comportamentos detectados em laboratório para o sistema modelo *P. cuvieri*.

**Palavras-chaves:** Etograma *Physalaemus cuvieri*, Comportamento de girinos, JavaFX, Código aberto, Análise semiautomática.

## ABSTRACT

Animal behavior represents an important biomarker in environmental impact assessments, as it has high sensitivity. However, its analysis requires the use of efficient and reliable tools to measure behavioral changes in animals exposed to different environmental conditions. In this sense, the software stands out for bringing together precision and reliability in the analyses, reducing the chances of human errors in the evaluations. Although these are excellent allies of scientific research, currently those available on the market are mostly restricted, few allow adaptations to include specific variables related to other groups of animals, in addition most of these software is targeted to a small amount bioindicators, leaving some in the background, such as amphibians. Thus, the aim of this study was to develop the first version of the TADBIO software, an open-source and free-distribution application aimed at semi-automatic analysis of the behavior of tadpoles. Searches for ethograms of the model system *Physalaemus cuvieri* were performed without success. Therefore, an ethogram for the species was elaborated in a laboratory environment, to gather the behaviors and plan the software development. The development tools used were NetBeans IDE and Scene Builder. Coding was performed using JavaFx and FXML programming languages. From a sampling effort of 45 h (2,700 min), 18 behaviors were observed, identified and described. A careful selection was carried out in the behaviors identified for the selection of those who presented themselves as suitable for semi-automatic recording and of interest in laboratory studies. Regarding the software, three interfaces were developed. The initial screen allows entry to the settings panel, the second allows you to configure the analysis of behaviors and the third, which is the screen for recording and quantifying the analyses. From the validation tests, the first version of the TADBIO software proved to be efficient in recording the behaviors of interest. It is believed that it can contribute significantly to behavioral assessments of representatives of the amphibian group, since it was developed in a way that addresses the main behaviors detected in the laboratory for the *P. cuvieri* model system.

**Keywords:** *Physalaemus cuvieri* Etogram, Tadpole behavior, JavaFX, Open source, Semiautomatic analysis.

## 1. INTRODUÇÃO

Uma das formas de avaliar os prejuízos causados pelos poluentes ou contaminantes na biota, com vistas a inferir sobre seus possíveis impactos na estruturação e organização de suas populações é avaliar os comportamentos naturais (De Souza et al. 2018). Tais comportamentos – de base genética inata e também influenciado pelo contexto ambiental em que os animais se encontram – evoluíram através da sobrevivência diferencial/sucesso reprodutivo e propiciaram benefícios aos indivíduos que apresentaram um conjunto de adaptações mais vantajosas (De Carvalho Neto & Tourinho, 2001). Assim, o repertório comportamental característico de cada espécie é muito importante, pois alterações comportamentais (causadas por influências diversas) podem colocar em risco sua sobrevivência, reprodução e sua perpetuação no ambiente, o que representa um risco elevado de desequilíbrio populacional. Na literatura, vários estudos demonstram o quanto a análise comportamental pode ser importante na detecção precoce de impactos causados nos animais (e.g.: anfíbios: Do Amaral et al., 2018; aves: De Faria et al., 2018; Mesak et al., 2018; mamíferos: Mendes et al., 2018; Da Costa Araújo., 2021; répteis: Olya & Akhshik, 2019 e peixes: Guimarães et al., 2021; Chagas et al., 2021).

É imprescindível ressaltar que o registro inadequado das categorias comportamentais dos animais em avaliação pode levar a interpretações errôneas, e conseqüentemente, a conclusões equivocadas. Logo, as necessidades de precisão em registros imediatos do comportamento animal em testes laboratoriais têm estimulado o desenvolvimento de *softwares* para auxiliar nestas tarefas (Ottoni, 2000; Pederiva, 2005). Existem vários programas no mercado que atendem esse tipo de demanda, a exemplo do Ethon Vision® XT, ActualTrack™, ANY-maze® e LoliTrack®. Esses *softwares* constituem ferramentas importantes não apenas para avaliar com precisão o efeito de determinados poluentes/contaminantes sobre o comportamento dos animais, mas também para permitir a obtenção de resultados padrões entre diferentes laboratórios, sendo este um aspecto importante na reprodutibilidade científica (Levitis, Lidicker Jr & Freund, 2009; Junior et al., 2012).

No entanto, a maioria dos *softwares* para análise comportamental, por serem automatizados têm um alto custo de aquisição, requerem uma estrutura avançada para a coleta de dados através do processamento de vídeos, além de terem sido desenvolvidos principalmente para estudos envolvendo roedores e peixes (Mirat et al, 2013). Embora tais *softwares* de análise automática possuam inúmeras vantagens, eles também possuem algumas restrições e adaptações para inclusão de variáveis específicas relacionadas a outros grupos de animais. Uma delas é a captura apenas de comportamentos baseados em categorias típicas da espécie, deixando de

registrar aquelas condutas comportamentais menos comuns e inesperadas, mas que podem apresentar relevância para a análise. Dessa forma, um *software* que possibilite a análise semiautomática pode culminar no registro de informações que não tenham sido programadas para serem analisadas nos *softwares* automáticos. Essa realidade é comum principalmente para a análise daquelas espécies que possuem um repertório comportamental menos conhecido/estudado. São exemplos de *software* semiautomáticos o PluzMz e OpenFLP, porém eles trabalham de forma limitada, não sendo possível realizar análises em grupo (característica importante para mensuração de impactos em nível de população). Com isso, poucos *softwares* permitem adaptações para inclusão de variáveis específicas relacionadas a outros grupos de animais (Crozzara, 2017), o que dificulta a análise comportamental de outros seres tidos como bioindicadores da qualidade do ambiente, tais como os anfíbios e as aves. Além disso, conforme discutido por Hänninen & Pastell (2009), muitos desses *softwares* não são de código aberto, isto é, não fornecem o direito de estudá-los e adaptá-los para gerar diferentes módulos de observação e distribuí-los gratuitamente. Ademais, geralmente eles operam apenas no sistema operacional Windows – e.g., Etholog (Ottoni, 2000).

Um *software* que seja de baixo custo e que permita coletar com precisão diferentes dados almejados pelos pesquisadores, isto é, de forma simples e com aplicabilidade confiável, pode ser extremamente útil nas análises comportamentais. A quantificação do tempo e frequência de determinados comportamentos, o tempo de permanência em zonas que compõem uma arena teste, bem como a determinação da latência de determinados comportamentos, além daqueles incomuns desencadeados por determinadas situações, são parâmetros importantes em vários estudos ecotoxicológicos. Portanto, esse cenário demonstra a necessidade de desenvolver uma ferramenta semiautomática para auxiliar nas análises de parâmetros comportamentais tanto individuais, quanto em grupos.

Embora os girinos sejam excelentes bioindicadores (pois sua condição efêmera possibilita um monitoramento da qualidade das águas doces), muitos estudos sobre os efeitos de contaminantes ou poluentes em seus comportamentos não utilizam *softwares* especializados para análises de toxicidade comportamental. Os estudos de Araújo et al. (2019) e Montalvão et al. (2018), por exemplo, relatam o impacto de drogas anticâncer e efluente de curtume sobre o comportamento de larvas de anuros, respectivamente. Porém, em ambos foram utilizados programas simples que possibilitaram o registro de alguns comportamentos, mas que não foram desenvolvidos especificamente para a avaliação comportamental de anfíbios, não reunindo os principais comportamentos do grupo. Não se questiona aqui a validade e a reprodutibilidade

dos estudos relatados; mas, a partir deles reforça-se o interesse no desenvolvimento de um *software* que possibilite a análise comportamental direcionada a representantes do grupo dos anfíbios.

Alterações comportamentais induzidas pela exposição dos girinos a diversos xenobióticos podem explicar possíveis flutuações da comunidade de anuros de uma determinada região (Lent et al., 2020). Além disso, considerando que o ciclo de vida dos anfíbios conecta as comunidades aquáticas e terrestres, eventuais prejuízos sofridos na fase inicial do desenvolvimento desses animais geram consequências diretas na fase terrestre deles. Assim, diante desse cenário, objetivamos o desenvolvimento da primeira versão do *software* TADBIO, isto é, um aplicativo de código aberto e de distribuição gratuita direcionado à análise semiautomática do comportamento de girinos. Parte-se do pressuposto de que quanto mais objetivas as ferramentas utilizadas nas investigações forem, mais sensível será a detecção de potenciais causas de impacto. Logo, medidas/ações de mitigação poderão ser sugeridas de forma mais robusta para a efetiva conservação dos ecossistemas envolvidos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Levantamento de requisitos e planejamento inicial**

O desenvolvimento de um *software* pode seguir diversos protocolos e procedimentos de acordo com finalidades e ferramentas específicas (Crozara, 2017). O delineamento adotado no presente estudo será descrito no item 2.3; no entanto, por hora, é importante destacar a importância de conhecer as reais necessidades dos laboratórios que realizem estudos com anfíbios para então desenvolver uma ferramenta de suporte para as análises que funcione de forma abrangente, direcionada e eficiente de acordo com as demandas existentes. Com isso, para desenvolver uma ferramenta com essas características, é preciso clareza na resposta da seguinte pergunta: quais comportamentos o *software* precisará estar apto a registrar? Logo, para respondê-la, inicialmente, buscamos elencar um rol de possíveis comportamentos observáveis nos girinos.

Para isso, realizou-se pesquisas na literatura sobre a descrição de comportamentos exibidos por girinos da espécie *Physalaemus cuvieri*, a fim de identificar algum etograma específico [i.e.: ferramenta que agrega comportamentos típicos de uma espécie em determinadas condições em forma de catálogo (Alcock, 2001)]. As buscas por etogramas para a espécie foi realizada a partir de diferentes bases de dados (Google acadêmico, SciELO (Scientific Electronic Library Online), Web of Science e Portal de Periódicos CAPES/MEC),

utilizando as palavras-chave “etograma de *Physalaemus cuvieri*”; “*Physalaemus cuvieri* ambiente laboratorial; *Physalaemus cuvieri* laboratório e “comportamento de girinos *Physalaemus cuvieri*”, redigidas em português e inglês. Não foram aplicados filtros temporais em relação ao ano de publicação dos etogramas. Estudos que abrangeram outras abordagens em relação a espécie foram desconsiderados.

Apesar do esforço empregado na busca por etogramas para a espécie *P. cuvieri* (em laboratório), não identificamos qualquer estudo, o que motivou a elaboração de um etograma em ambiente laboratorial para a partir daí, desenvolver um *software* que suprisse as principais necessidades para análises comportamentais nesse tipo de ambiente.

## 2.2. Elaboração do etograma

Para a elaboração do etograma, inicialmente, três massas de ovos de *Physalaemus cuvieri* foram coletadas em um ecossistema lântico de uma área de reserva legal localizada na área rural do município de Urutaí (GO, Brasil), tendo sido conduzidas até o laboratório e mantidas em aquários (30 cm x 20 cm x 15 cm) contendo água do local de origem com o acréscimo de aeração móvel. A coleta e os procedimentos necessários para tal foram previamente analisados e aprovados pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) e os procedimentos posteriores à coleta foram avaliados e autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/IF Goiano).

Após a eclosão dos ovos os girinos foram mantidos em aquários contendo água desclorada naturalmente, com aeração constante, temperatura  $27\pm 1$  °C controlada por termostato, com fotoperíodo natural de 12h claro/12h escuro, tendo sido alimentados duas vezes ao dia *ad libitum* com ração (macerada) comercial para peixe. A troca da água dos aquários foi realizada duas vezes por semana. Para a elaboração do etograma, 60 girinos saudáveis recém-eclodidos (i.e.: sem alterações natatórias, lesões ou imobilidade constante) foram distribuídos em três aquários (réplicas) 20 animais/cada; fase 20 (Gosner, 1960) – dimensões: 50 cm x 40 cm x 6 cm, contendo 12 L de água desclorada e acomodados em uma sala de filmagem. Posteriormente, os animais foram filmados durante 60 min por dia (nos 30 primeiros dias de desenvolvimento), divididos em 20 min no período matutino (08h:00min), início do período vespertino (12h:00min) e ao seu final (17h:00min). Vale salientar que a análise dos animais abrangeu o período das fases de 20 (inicial) a 25 (30º dia de avaliação) de desenvolvimento larval, conforme classificação proposta por Gosner (1960).

As análises comportamentais feitas a partir dos vídeos se deram através do método de varredura focal “*Scan Sample*” (Altmann, 1974). Tal método consiste na observação individual dos animais para detecção de condutas comportamentais exibidas pelos mesmos, isto é, o foco é concentrado em apenas um animal por *play* de vídeo. Dos 20 min filmados em cada período do dia, os 10 min iniciais foram descartados da análise para desconsiderar as possíveis influências causadas pela presença do pesquisador na sala de testes. Logo, os 10 min posteriores foram utilizados para as análises e identificação dos comportamentos dos girinos de *P. cuvieri*. As três réplicas foram filmadas e analisadas de forma independente e as observações foram conduzidas por pesquisadores previamente treinados.

### **2.3. Desenvolvimento do *Software***

O desenvolvimento de qualquer aplicativo deve ser direcionado para atender demandas e solucionar problemas enfrentados por clientes das diversas áreas que fazem o uso da tecnologia (Weill & Ross, 2020). Nesse sentido, um estudo de caso foi realizado junto ao Laboratório de Pesquisas Biológicas (IF Goiano – Campus Urutaí, GO, Brasil), onde os pesquisadores puderam expor as dificuldades enfrentadas pela falta de um *software* capaz de auxiliar no registro dos comportamentos de interesse. O estudo de caso contou com a realização de reuniões e análises etnográficas nas quais foram gerados relatórios contendo as prioridades que o aplicativo deveria conter, conforme métodos sugeridos por Sommerville (2011) e Guedes (2018).

A partir do estudo de caso e da elaboração do etograma para os girinos, aplicou-se um filtro nos comportamentos identificados para elencar os de maior prioridade e exequibilidade para as condições solicitadas pelos pesquisadores. Além disso, foram selecionados apenas os comportamentos compatíveis com análises semiautomáticas, isto é, que registrarão determinado comportamento através do pressionamento de teclas de atalho pelo pesquisador no momento das análises de vídeos. Para produzir o protótipo da tela de configurações do *software* os comportamentos selecionados através do filtro aplicado foram agrupados e organizados em categorias afins.

O ambiente utilizado para o desenvolvimento do TADBIO foi o NetBeans IDE, por se tratar de uma ferramenta gratuita e de código aberto. Ademais, a ferramenta possibilita a codificação através de várias linguagens de programação, facilitando incrementos futuros (Mendonça, 2019). A codificação do *software* foi feita integralmente pela linguagem JavaFx que é baseada em Java, que além de ser de uso livre, opera por meio do conceito RIA (*Rich*

*Internet Application*), isto é, possui características e funcionalidade de *softwares* para desktop (Clarke, Connors & Bruno, 2010). A linguagem escolhida também está integrada à JRE (*Java Runtime Environment*) e ao JKD (*Java Development Kit*), possibilitado que o produto final seja executado em diferentes sistemas operacionais (Clarke, Connors & Bruno, 2010). O JavaFX conta ainda com uma linguagem FXML para a construção e customização de interfaces (Oliveira, 2014), tendo sido utilizada para essa etapa a ferramenta Scene Builder, que além de auxiliar na construção das interfaces do *software*, auxiliou ainda na manutenção do código fonte.

Através das ferramentas foram desenvolvidas as janelas de navegação (Interface GUI) do aplicativo, ou seja, a projeção do *layout* e *design* das mesmas. Uma dessas janelas foi destinada para que o pesquisador fornecesse o tempo em segundos de duração das avaliações de interesse. O tempo informado no *label* foi projetado para funcionar como um cronômetro, fazendo uma contagem crescente até atingir o tempo informado pelo usuário. Além disso, uma janela com a lista dos comportamentos eleitos para integrar o *software* foi desenvolvida e compôs a tela de configurações. Para que o usuário pudesse selecionar apenas os comportamentos de interesse, foram criados *checkboxes*. Ainda no desenvolvimento, teclas de atalho foram programadas para quantificar os comportamentos expressos pelos animais e registrados pelo usuário.

De acordo com os comportamentos elencados para integrar o *software*, duas funcionalidades/modo de operação dos botões foram programados. O primeiro foi desenvolvido para registrar o tempo de permanência dos animais em zonas específicas de aparatos utilizados em estudos laboratoriais, de acordo com o pressionamento das teclas de atalho pelo usuário. Essa funcionalidade foi incrementada em um painel nomeado de “Zonas”. Também por meio do pressionamento de teclas de atalho, o *software* foi desenvolvido para registrar o tempo (duração em segundos) e a frequência (quantidade de vezes) dos comportamentos exibidos pelos animais. Por fim, foi criado um painel capaz de registrar latências em relação à comportamentos de interesse do usuário, permitindo a quantificação do tempo (em segundos). Ao término do tempo informado pelo usuário, o *software* foi programado para disponibilizar na tela os dados obtidos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Elaboração do etograma

A partir do esforço amostral de 45 h (2.700 min) de análises, foram observados, identificados e descritos 18 comportamentos para girinos de *P. cuvieri* (Tabela 1). Esses foram agrupados em comportamentos individuais (cuja exibição é independente da participação e/ou proximidade de outro indivíduo do grupo) e comportamentos sociais, quando a exibição/manifestação é dependente diretamente da participação e/ou proximidade de outro girino do grupo. Além disso, os comportamentos identificados foram agrupados dentro de categorias mais específicas, sendo elas: comportamentos de repouso, locomoção, agonístico, não agonístico e defensivo.

**Tabela 1.** Comportamentos identificados em girinos de *Physalaemus cuvieri* em ambiente laboratorial.

<i>Comportamentos Individuais</i>
<b>Repouso</b>
01 - Ausência de movimento
02 - Congelamento
<b>Locomoção</b>
03 - Deslocamento ordenado curto
04 - Deslocamento errático curto
05 - Deslocamento ordenado médio
06 - Deslocamento errático médio
07 - Deslocamento ordenado longo
08 - Deslocamento errático longo
09 - Deslocamento até a lâmina d'água
10 - Deslocamento em espiral/circulatórios
11 - Planar
<i>Comportamentos Sociais</i>
<b>Agonístico</b>
12 - Ataque
13 - Múltiplos ataques
14 - Empurrar
<b>Não agonístico</b>
15 - Agrupamento

16 - Desagregação

### Defesa

17 - Desvio para evitar ataque

18 - Perseguição após sofrer ataque

## 3.1.1. Descrição dos comportamentos identificados em girinos de *P. cuvieri*

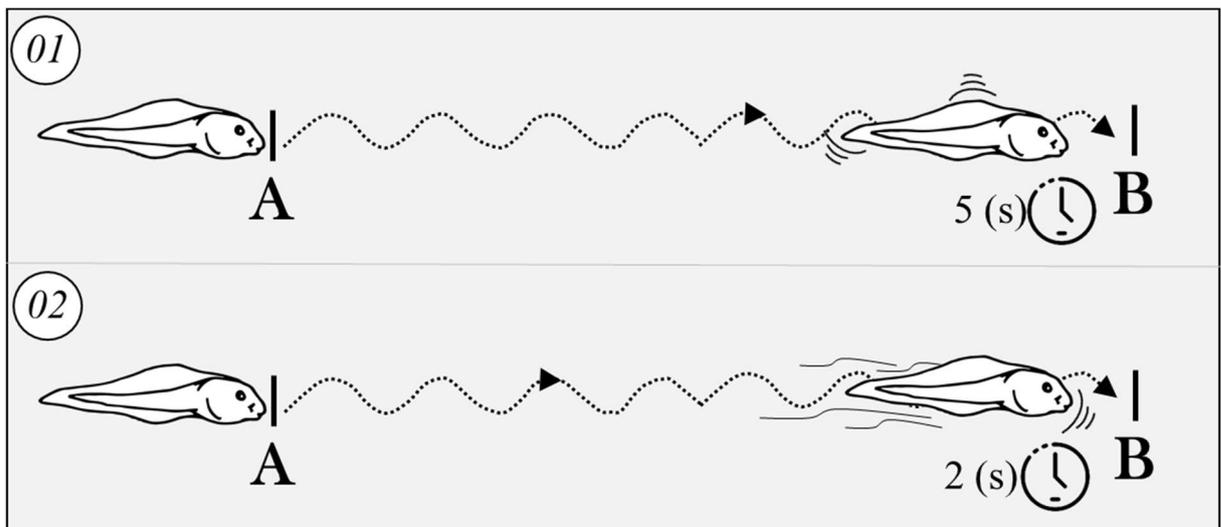
### 3.1.1.1. Comportamentos individuais

#### Repouso

Duas condutas comportamentais foram identificadas nesta categoria (Figura 1), as quais correspondem a 11,1% dos comportamentos identificados. Nos comportamentos com características de repouso, os animais encontravam-se em estado de inércia, iniciando-o após cessarem a locomoção de forma suave ou repentina.

*01 - Ausência de movimento* - Os animais encontram-se em repouso e sem movimentos corporais aparentes. Considerou-se tal comportamento após locomoção, seguida de parada suave superior a 5 segundos de duração.

*02 - Congelamento* - Refere-se ao cessar repentino e total da locomoção com duração superior a 2 segundos e permanência sem movimentos corporais aparentes.



**Figura 1.** Ilustrações dos comportamentos de repouso. (01) Ausência de movimento. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção. 5(s) Tempo mínimo para início da contagem do comportamento “Ausência de movimento”; (02) Congelamento. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar repentino da locomoção. 2(s) Tempo mínimo para início da contagem do comportamento de “Congelamento”.

## **Locomoção**

Nessa categoria foram registrados nove comportamentos que correspondem a 50% dos comportamentos registrados. Todos eles representam a ação dos animais ativarem seu sistema motor para saírem de uma posição inicial e deslocarem-se até uma posição diferente.

*03 - Deslocamento ordenado curto* – Movimentação linear, elíptica ou ondulada de um ponto “A” para um ponto “B” do aquário. Nesse tipo de deslocamento, os animais aparentavam ter a intenção de chegar a determinado ponto do aquário. Foram considerados como deslocamentos curtos aqueles que não ultrapassaram 5 cm de distância (Figura 2).

*04 - Deslocamento errático curto* – Movimentação “confusa” de um ponto “A” para um ponto “B” do aquário, sugestivo de pouco controle (intencional) locomotor. Em adição, os animais não aparentaram ter a intenção de chegar a um ponto específico do aquário, pois os movimentos eram aleatórios e multidirecionais até que fossem cessados. Foram considerados como deslocamentos curtos aqueles que não ultrapassaram 5 cm de distância (Figura 3).

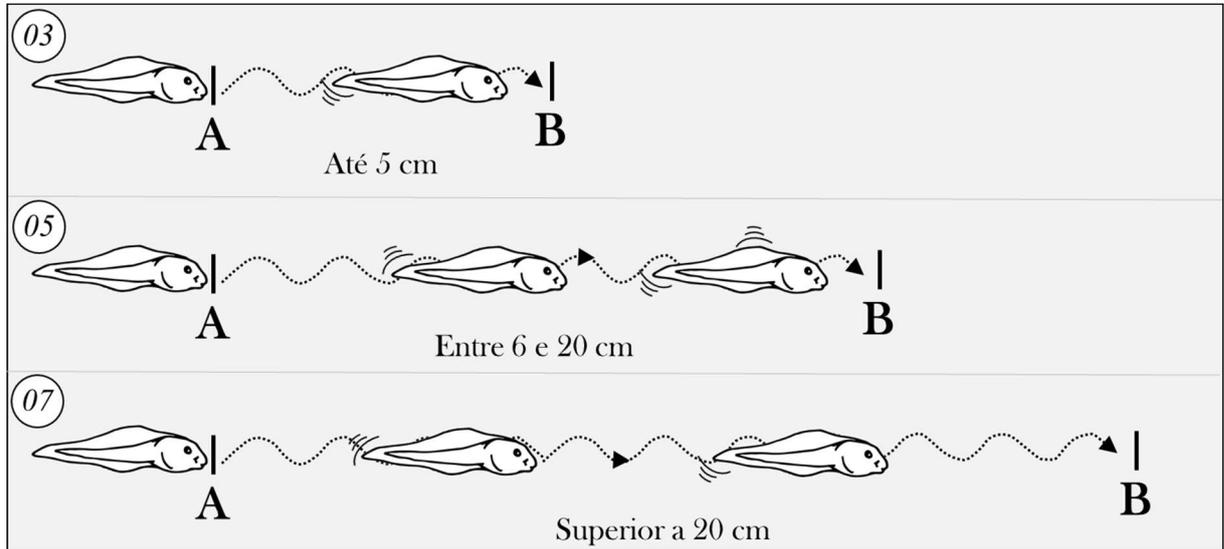
*05 - Deslocamento ordenado médio* – Movimentação linear, elíptica ou ondulada de um ponto “A” para um ponto “B” do aquário. Nesse tipo de deslocamento, os animais aparentavam ter a intenção de chegar a determinado ponto do aquário. Tal comportamento é sugestivo de melhor domínio locomotor por parte dos animais. Foram considerados como deslocamentos médios aqueles que variaram de 6 cm a 20 cm de distância (Figura 2).

*06 - Deslocamento errático médio* – Movimentação “confusa” de um ponto “A” para um ponto “B” do aquário. Tal comportamento também é sugestivo de baixo controle locomotor, sendo que os animais não aparentaram ter a intenção de chegar a um ponto específico do aquário, pois os movimentos eram aleatórios e multidirecionais até que fossem cessados. Foram considerados como deslocamentos médios aqueles que variaram de 6 cm a 20 cm de distância (Figura 3).

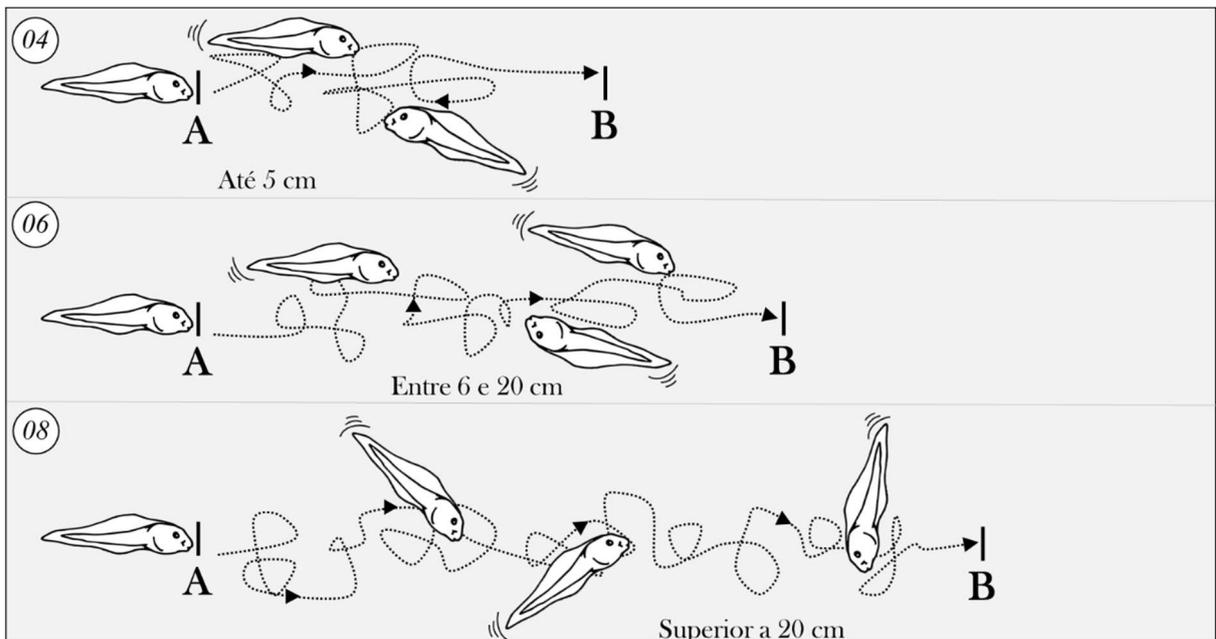
*07 - Deslocamento ordenado longo* – Movimentação linear, elíptica ou ondulada de um ponto “A” para um ponto “B” do aquário. Nesse tipo de deslocamento, os animais aparentavam ter a intenção de chegar a determinado ponto do aquário. Sugerimos que tal locomoção apresenta melhor domínio locomotor por parte dos animais. Foram considerados como deslocamentos longos aqueles superiores a 20 cm de distância (Figura 2).

*08 - Deslocamento errático longo* – Movimentação “confusa” de um ponto “A” para um ponto “B” do aquário em que estavam inseridos. Para esse tipo de deslocamento, sugerimos que os animais também apresentaram baixo controle locomotor, aparentando não ter a intenção

de chegar até um ponto específico do aquário, pois os movimentos eram aleatórios e multidirecionais até que fossem cessados. Foram considerados como deslocamentos longos aqueles superiores a 20 cm de distância (Figura 3).



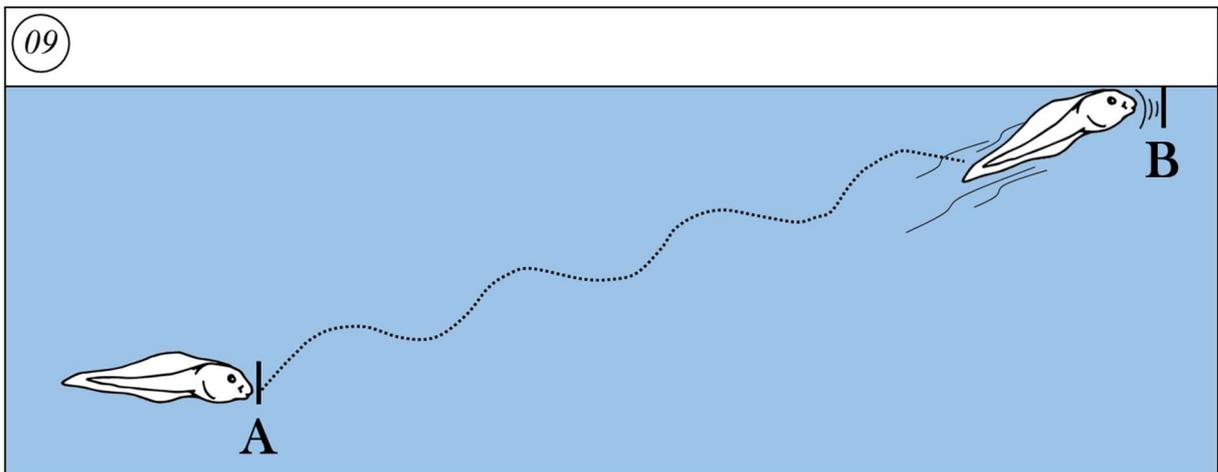
**Figura 2.** Ilustrações dos comportamentos locomotores ordenados. (03) Deslocamento ordenado curto. “Até 5 cm” – (Distância máxima para a contagem do deslocamento curto); (04) Deslocamento ordenado médio. “Entre 6 e 20 cm” – (Distância para a contagem do deslocamento médio) e (05) Deslocamento ordenado longo. “Superior a 20 cm” – (Distância mínima para a contagem do deslocamento longo). A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção.



**Figura 3.** Ilustrações dos comportamentos de locomotores erráticos. (04) Deslocamento erráticos curto. “Até 5 cm” – (Distância máxima para a contagem do deslocamento curto); (06)

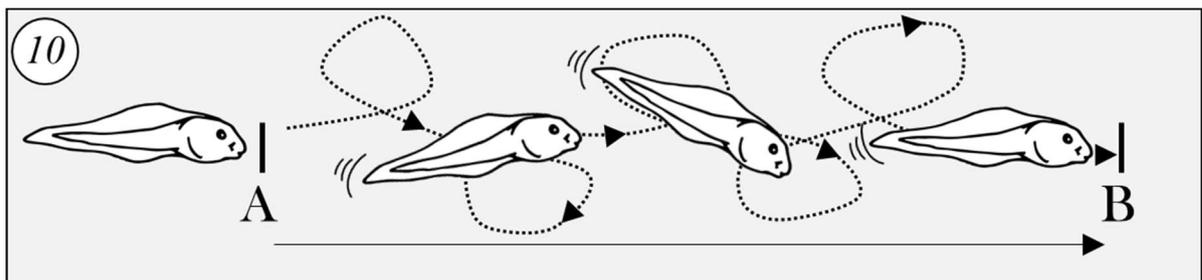
Deslocamento erráticos médio. “Entre 6 e 20 cm” – (Distância para a contagem do deslocamento médio) e (08) Deslocamento erráticos longo. “Superior a 20 cm” – (Distância mínima para a contagem do deslocamento longo). A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção.

09 - *Deslocamento até a lâmina d’água* – Movimentação partindo do assoalho do aquário e se prolongando até a superfície d’água. Geralmente, após atingir a superfície os animais retornavam ao assoalho ocupando um ponto diferente do anterior. Embora não tenhamos realizado avaliações de parâmetros referentes ao comportamento alimentar, observamos que esse tipo de comportamento era exibido para a captura de alimentos (Figura 4).



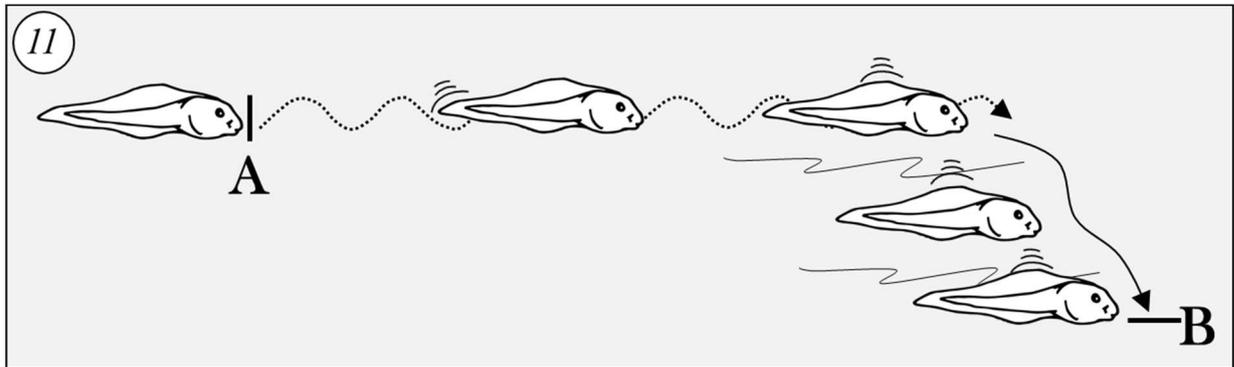
**Figura 4.** Ilustração do comportamento locomotor de nado até a superfície do aquário. (09) Deslocamento até a lâmina d’água. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto atingido com a locomoção empregada.

10 - *Deslocamento em espiral/circulatório* – Movimentação de um ponto para outro com trajetos feitos em variados círculos até o cessar dos movimentos (Figura 5).



**Figura 5.** Ilustração do comportamento locomotor em espiral ou circular. (10) Deslocamento em espiral/circulatório. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção.

11 - *Planar* – Comportamento exibido após alguns deslocamentos ordenados (curtos, médios ou longos). Geralmente, os animais planam diagonalmente aproveitando o “embalo” consequente do nado (Figura 6).



**Figura 6.** Ilustração do comportamento de aquaplanagem diagonal. (11) Planar. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto do cessar da locomoção.

### 3.1.1.2. Comportamentos sociais

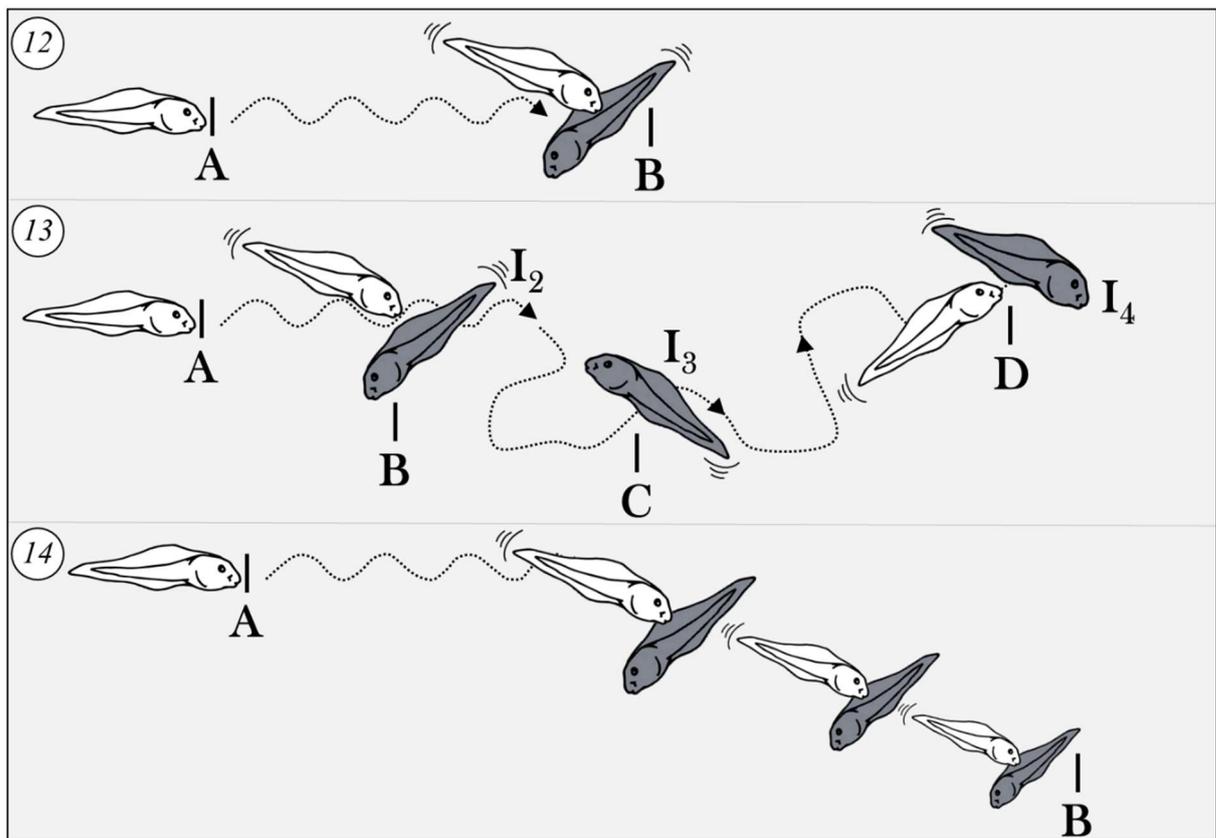
#### Agonístico

Três condutas comportamentais foram identificadas nesta categoria (Figura 7) e correspondem a 16,6 % das exibições observadas. Em todas elas o contato físico se faz presente na interação entre os animais.

12 - *Ataque* – Um animal se desloca em direção a outro e aparentemente força um contato físico, provocando uma colisão. Em resposta a esse ataque, o animal que foi atingido se desloca para outro ponto do aquário ou permanece no mesmo lugar.

13 - *Múltiplos ataques* – Tal comportamento refere-se ao ato de um indivíduo se deslocar e colidir com vários outros animais de forma sequencial. Em resposta a esse ataque, o(s) animal(is) que foi(aram) atingido(s) se desloca(m) para outro ponto do aquário ou fica(m) no mesmo lugar.

14 - *Empurrar* – Um animal se desloca em direção a outro e aparentemente tem a intenção de entrar em contato físico, “empurrando” o animal atingido por alguns centímetros. Em resposta a esse ataque, o animal que foi atingido se desloca para outro ponto do aquário ou permanece no mesmo lugar.



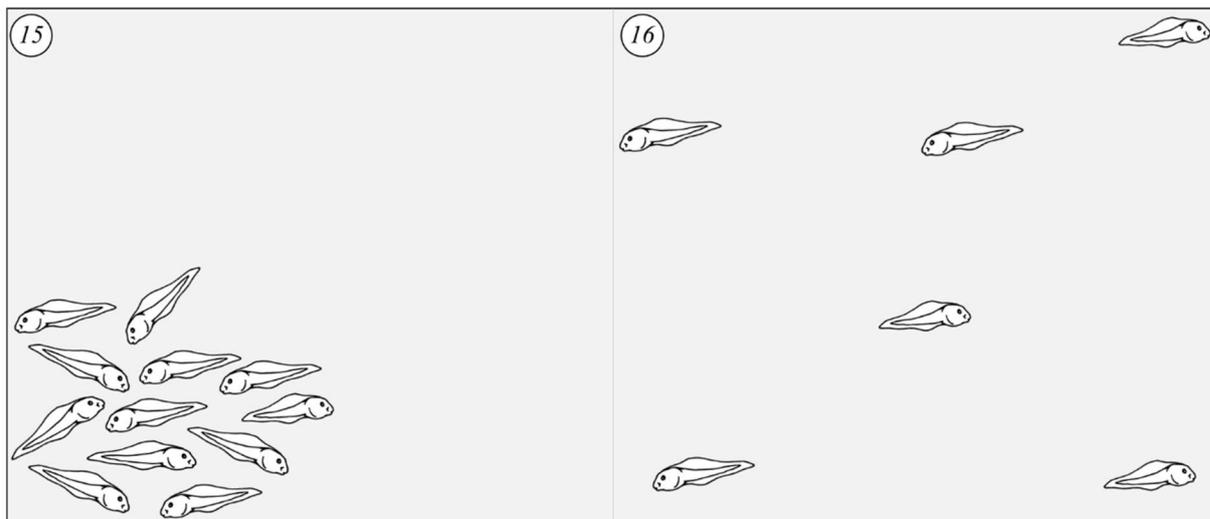
**Figura 7.** Ilustrações dos comportamentos agonísticos. (12) Ataque. A) Ponto de início da locomoção. B) Ponto de destino da locomoção - ataque ao outro indivíduo; (13) Múltiplos ataques. A) Animal que promove os ataques. B) Ataque ao “I<sub>2</sub>” indivíduo dois. C) Ataque ao “I<sub>3</sub>” indivíduo três. D) Ataque ao “I<sub>4</sub>” indivíduo quatro e (14) Empurrar. A) Ponto de início do deslocamento do animal que promove o comportamento de “Empurrar”. B) Posicionamento final do animal que sofreu o comportamento de “Empurrar”.

### Não agonístico

Nessa categoria foram registrados dois diferentes comportamentos (Figura 8) que correspondem a 11,1% das exibições observadas. Ambos envolvem a movimentação dos animais para formarem ou desfazerem agrupamentos.

*15 - Agrupamento* – Refere-se ao ato de se aproximar uns dos outros, formando pequenos subgrupos coesos. Para a formação dos grupos, os animais se aproximam empregando variados tipos de locomoção.

*16 - Desagregação* – Contrariamente ao agrupamento, refere-se ao afastamento dos animais uns dos outros, tornando os subgrupos menos coesos. Para o aumento do distanciamento entre os animais, variadas formas de locomoção são empregadas.



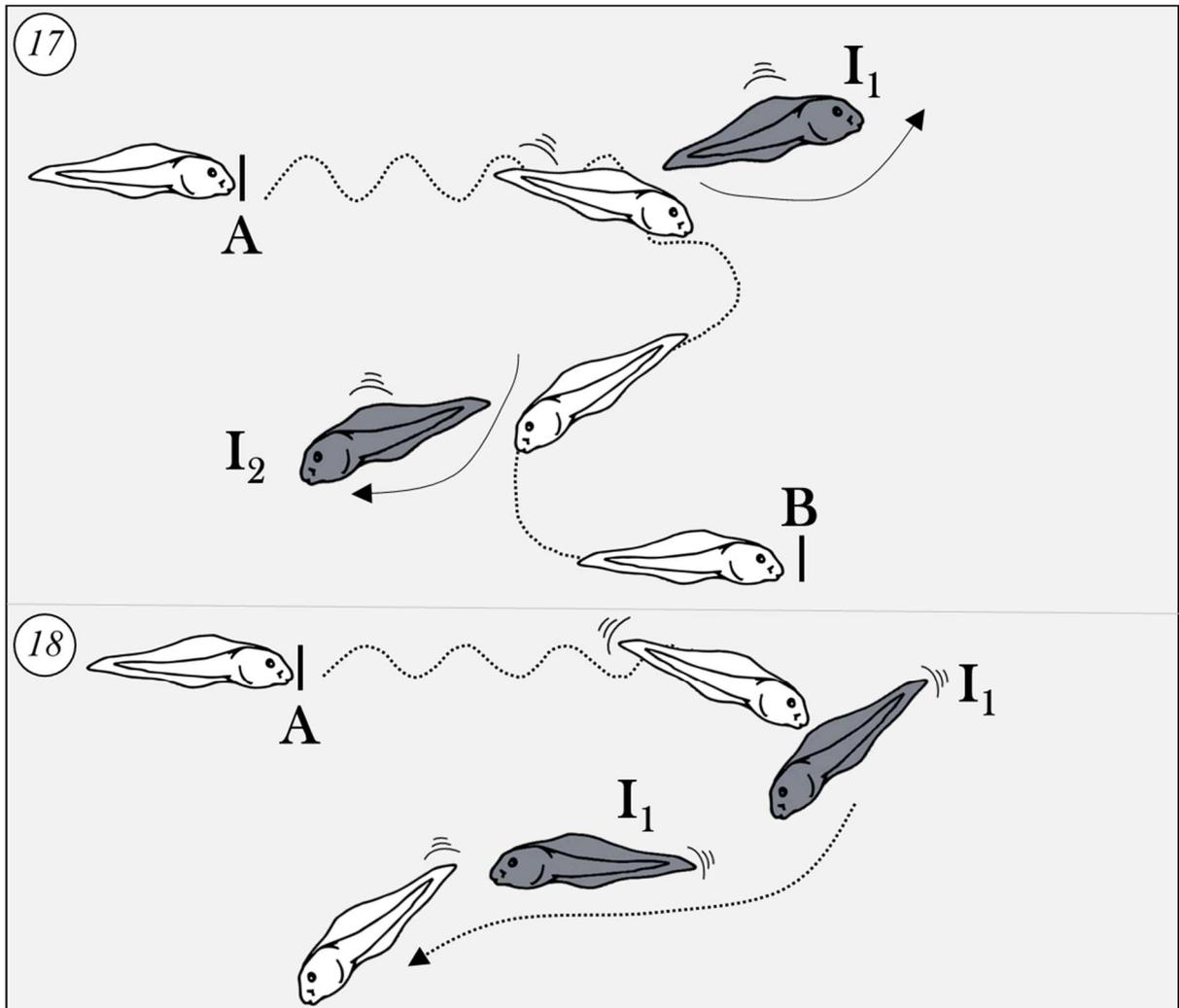
**Figura 8.** Ilustrações dos comportamentos não agonísticos. (15) Agrupamento e (16) Desagregação.

### **Defesa**

Duas condutas comportamentais foram identificadas como defensivas (Figura 9) e correspondem a 11,1% das exibições observadas. Ambas representam reações dos animais ao preverem ou após sofrerem algum tipo contato físico “ataque” de outros indivíduos do grupo.

*17 - Desvio para evitar ataque* – Ao perceber que outro animal se aproximava para estabelecer contato físico “colisão”, alguns girinos nadavam para outros pontos do aquário, desviando e, assim, evitando tal contato.

*18 - Perseguição após sofrer ataque* – Após terem sofrido uma colisão, alguns animais se deslocavam em perseguição ao animal que provocou o contato inicial. Tal perseguição durava até o animal que sofreu a colisão inicialmente atingir quem a promoveu ou cessava sem que houvesse a “devolução” do contato físico.



**Figura 9.** Ilustrações dos comportamentos defensivos. (17) Desvio para evitar ataque. A) Animal que promove a aproximação direcionada ao seu coespecífico. I1) Primeiro indivíduo que desvia para evitar o contato físico. I2) Segundo indivíduo que desvia para evitar o contato físico e (18) Perseguição após sofrer ataque. A) Animal que se direciona até o coespecífico e o ataca. I1) Indivíduo que sofreu o ataque em perseguição de quem o promoveu.

O presente estudo identificou a maior quantidade de comportamentos relacionados a locomoção 50%, seguido de comportamentos agonístico 16,6%, não agonístico 11,1%, repouso 11,1% e defesa 11,1%. Pode-se afirmar que foi possível identificar uma quantidade relevante de comportamentos individuais e sociais coespecíficos. Diante disso, acredita-se que diversos comportamentos dentre os apresentados pelos animais em laboratório podem ser extrapolados para o meio natural. É possível que em campo, os girinos apresentem um repertório comportamental ainda mais amplo, uma vez que estão sujeitos a interações com diversos outros estímulos ambientais e outros organismos que compõem o ecossistema em que estão inseridos.

Um repertório comportamental amplo mesmo na fase inicial do desenvolvimento colabora de forma significativa para o sucesso dos animais em diversos aspectos biológicos (De Oliveira et al., 2021). Além de ditarem sua interação com o meio, uma gama extensa de comportamento seleciona inclusive aqueles animais que chegarão à maturidade sexual e passarão seus genes para gerações posteriores.

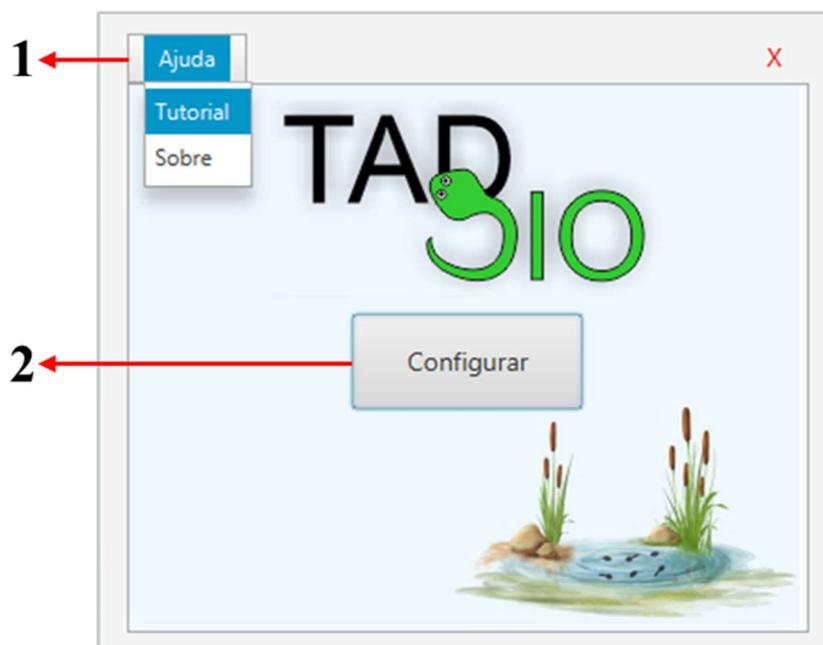
Extrapolando os comportamentos identificados na elaboração do etograma para o meio natural, pode-se destacar a importância de diversas formas de locomoção para o sucesso no forrageamento; para deslocamentos até lugares com temperatura mais agradável/ ideal; fuga de predadores; uso de ambientes com menor competição por recursos dentre diversas outras condições (Toledo, Sazima & Haddad, 2011). Em relação aos comportamentos agonísticos, pode-se destacar a importância dos mesmos para disputa de recursos; por parceiros e ainda pela defesa de territórios (Toledo, Sazima & Haddad, 2011; Santos et al., 2016). Da mesma forma, os comportamentos relacionados a agregação identificados na categoria não agonístico pode promover diversas vantagens para os indivíduos como defesa antipredatória; promover maior segurança para indivíduos mais jovens; eficiência de forrageio dentre outras (Toledo, Sazima & Haddad, 2011; Buske & Gerlai, 2011). Por fim, pode-se extrapolar os comportamentos de defesa principalmente relacionando-os contra predadores e na defesa de território em relação a outros homoespecíficos (Chagas et al., 2021).

### **3.2. O *software***

Reuniões e a análise etnográfica compuseram o estudo de caso para o levantamento das principais demandas do Laboratório de Pesquisas Biológicas do IF Goiano – Campus Urutaí (GO, Brasil). O acompanhamento das atividades do laboratório reforçou a necessidade de se desenvolver um *software* que fosse capaz de potencializar as análises já realizadas, conferindo a elas maior confiabilidade e replicabilidade na forma da coleta de dados. Após o emprego dos métodos descritos, foi desenvolvida a primeira versão do *software* TADBIO.

Um filtro foi aplicado aos dezoito comportamentos identificados a partir da elaboração do etograma e reuniu alguns destes comportamentos para comporem o *software* TADBIO. Considerando a natureza de estudo de caso do nosso trabalho, a seleção destes comportamentos baseou-se nas principais necessidades de análise do laboratório, levantadas anteriormente. As categorias de caráter amplo escolhidas foram: locomoção e interação social, as quais integraram o painel de comportamentos. Além disso, outros dois painéis foram criados, o painel “Zonas” e o “Latências”.

Foram desenvolvidas três interfaces gráficas de navegação que promovem a interação com o usuário. Ao executar o TADBIO é aberta a tela inicial (Figura 10). Essa interface, fornece ao usuário a opção de avançar para a tela de configuração dos parâmetros que serão analisados.

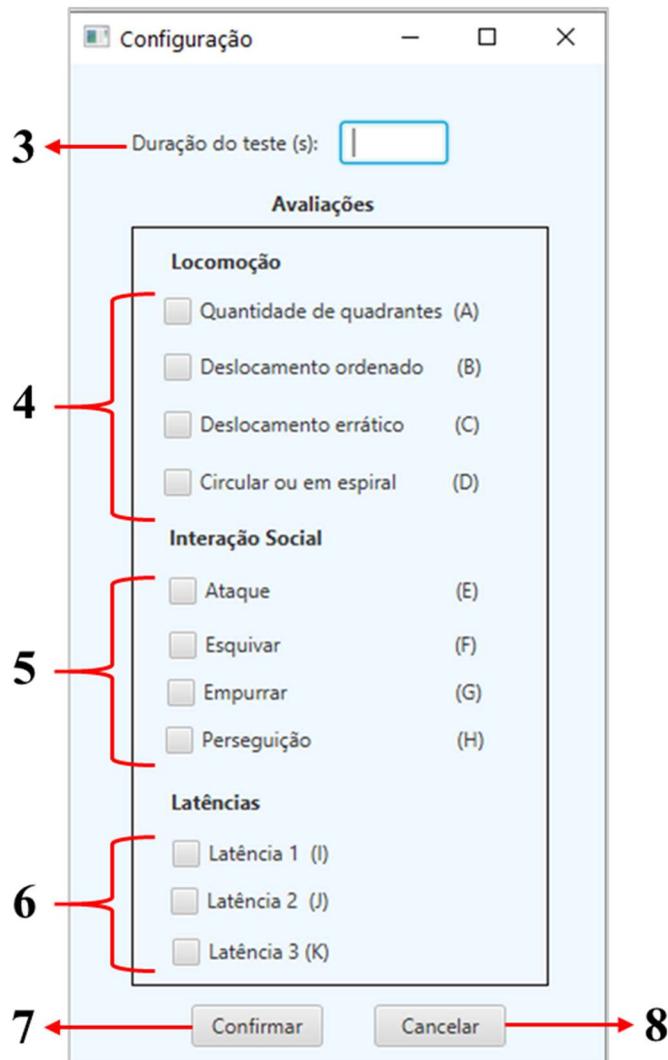


**Figura 10.** Interface inicial do software TADBIO. (1) Menu “Ajuda” com as opções “Tutorial” e “Sobre” e (2) Botão “Configurar”.

A interface inicial apresenta as seguintes opções (a numeração corresponde à mesma apresentada na Figura 10):

1. Menu “**Ajuda**” – O menu ajuda fornece ao usuário duas opções. A primeira (Tutorial) conta com um manual de instruções e dicas de como operar o *software*. Ao clicar nessa opção o usuário é direcionado à uma nova aba contendo o *link* de um vídeo com informações sobre a configuração do aplicativo (vide “Anexo”). A segunda, oferece ao usuário informações referentes ao desenvolvimento do *software* e dos desenvolvedores.

2. Botão “**Configurar**” – Após pressionar o botão “Configurar”, a segunda interface é aberta (Figura 11). Esta fornece ao usuário a opção de configurar o tempo de duração do teste e selecionar parâmetros de interesse.



**Figura 11.** Interface de configuração dos parâmetros do software TADBIO. (3) Campo “Duração do teste”; (4) Comportamentos locomotores e suas respectivas teclas de atalho; (5) Comportamentos sociais e suas respectivas teclas de atalho; (6) Quantificação de “Latências” e suas respectivas teclas de atalho; (7) Botão “Confirmar” e (8) Botão “Cancelar”.

Essa interface apresenta as seguintes configurações (a numeração corresponde à mesma apresentada na Figura 11):

3. Campo “**Duração do teste**” - O usuário deve inserir no campo de texto o tempo de duração do teste que será analisado. O valor numérico deve ser informado sempre em segundos.

4. Categoria “**Locomoção**” – A categoria locomoção reúne opções referentes aquelas análises ligadas à movimentação (deslocamento) dos animais. Para selecioná-las, o usuário deve clicar sobre o *checkbox* correspondente. A tecla de atalho correspondente ao registro dos

comportamentos é pré-definida e encontra-se logo à frente de cada um. O *checkbox* “Quantidade de quadrantes” não corresponde a nenhum dos comportamentos que compõem o etograma. O mesmo foi solicitado pelos pesquisadores, pois corresponde a uma das formas viáveis de mensuração da distância percorrida pelos animais em avaliações específicas de locomoção, conforme utilizado nos estudos de De Faria et al (2018); Chagas et al (2019) e De Campos et al (2019). Os quadrantes geralmente são traçados virtualmente para as análises e suas dimensões são estabelecidas pelo analista dos vídeos. Logo, a quantidade de quadrantes percorrida multiplicada pela distância de cada quadrante oferece a mensuração desejada ao pesquisador. Os demais *checkboxes*, “Deslocamento ordenado”, “Deslocamento errático” e “Circular ou em espiral”, correspondem a comportamentos identificados no etograma construído previamente. É importante destacar que para os deslocamentos citados, os animais podem variar em relação à distância percorrida podendo essa ser curta, média ou longa, conforme detalhado no item 3.1.1.1.

5. Categoria “**Interação Social**” – Essa categoria reúne opções referentes às análises que avaliem a interação entre os animais. Para selecioná-las, o usuário deve clicar sobre o *checkbox* correspondente. A tecla de atalho correspondente ao registro dos comportamentos é pré-definida e encontra-se logo à frente de cada um. Todos os *checkboxes* dessa categoria representam comportamentos identificados no etograma. Os parâmetros “Ataque” e “Empurrar” fazem parte dos comportamentos agonísticos detalhados no item 3.1.1.2. Lá também se encontra o detalhamento dos comportamentos “Esquivar” e “Perseguição”, que foram agrupados nos comportamentos de defesa do etograma.

6. Categoria “**Latências**” – Essa categoria não representa nenhum dos comportamentos identificados na elaboração do etograma. Assim como o parâmetro “Quantidade de quadrantes”, as latências correspondem a uma das demandas apontadas pelos pesquisadores, a qual constitui a contagem de um momento zero até a execução de determinado acontecimento. Para esse tipo de avaliação, registra-se apenas o tempo em segundos. Para contabilizar o tempo das latências, o pesquisador deve manter o botão pressionado até que o evento que estiver sendo registrado cesse. Por exemplo, para registrar quanto tempo um girino leva para se deslocar da zona “A” para a zona “B”, o pesquisador deve manter o botão pressionado desde o início da movimentação (saindo da zona “A”) até que o girino atinja a zona “B” (chegando no ponto em

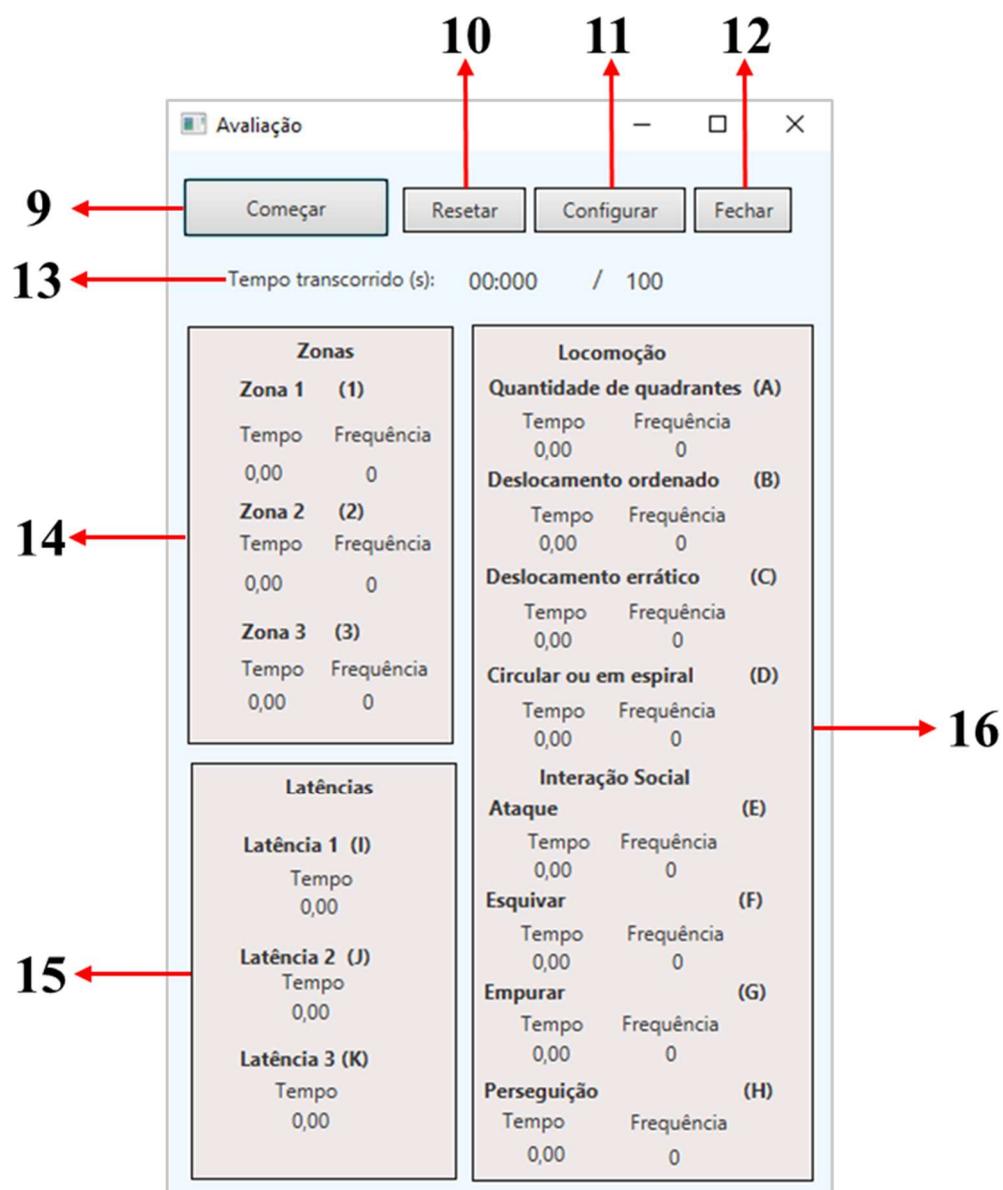
questão). Para registrar uma das latências, o usuário deve clicar sobre o *checkbox* correspondente e fazer o registro através da tecla de atalho indicada.

A seleção dos *checkboxes* disponíveis na segunda tela aponta quais opções devem estar disponíveis no momento da análise na terceira tela. Logo, os comportamentos referentes aos *checkboxes* que não forem marcados, não aparecerão na tela seguinte. Isso permite que o usuário tenha em vista apenas seus comportamentos de interesse, evitando confusões e tornando a avaliação mais dinâmica.

7. Botão “**Confirmar**” – Promove a verificação das configurações realizadas e gera a terceira tela, contendo apenas os comportamentos que foram selecionados anteriormente. Na verificação, o TADBIO avalia se o usuário inseriu a duração do teste. Em caso de negativa, o mesmo retorna ao usuário uma mensagem solicitando a inserção do tempo. Caso o tempo tenha sido informado, a terceira tela encontrara-se pronta para uso.

8. Botão “**Cancelar**” - Ao clicar nesse botão, o usuário será direcionado a tela inicial do programa. Logo, será possível reiniciar o processo de configuração para a análise dos comportamentos. Além disso, o cancelamento torna possível que o usuário tire eventuais dúvidas que tenham surgido ao longo do processo, no menu “Ajuda > Tutorial”.

A terceira interface é apresentada após a verificação das configurações feitas na segunda tela. Nela o usuário realizará a análise dos comportamentos de interesse e, assim, poderá verificar os dados quantitativos ao término do tempo estipulado.



**Figura 12.** Interface de avaliação do software TADBIO. (9) Botão “Começar”; (10) Botão “Resetar”; (11) Botão “Configurar”; (12) Botão “Fechar”; (13) Indicação do “Tempo transcorrido (s)”; (14) Painel Zonas; (15) Painel “Latências” e (16) Painel de comportamentos – Comportamentos de “Locomoção” e de “Interação Social”, além de suas respectivas teclas de atalho.

Essa interface apresenta as seguintes informações (a numeração corresponde à mesma apresentada na Figura 12):

9. Botão “**Começar**” – Esse botão aciona a contagem do cronômetro, que funciona de forma crescente até atingir o tempo informado pelo usuário. Durante a contagem, o acionamento das teclas de atalho dos parâmetros selecionados registrará os valores de forma

semiautomática. Ao início da contagem o botão será renomeado para “Pausar”, fornecendo ao usuário a opção de pausar a contagem/registo de comportamento pelo tempo desejado. Essa funcionalidade foi desenvolvida principalmente para as avaliações de longa duração, que podem durar até horas.

10. Botão “**Resetar**” – Ao clicar nesse botão, o usuário reiniciará o tempo do cronômetro, podendo assim, iniciar uma nova contagem.

11. Botão “**Configurar**” - Ao clicar nesse botão, o usuário retornará à tela de configuração dos parâmetros. Assim, poderá personalizar a avaliação de outra forma para uma nova análise.

12. Botão “**Fechar**” – Ao clicar nesse botão, o usuário encerra o TADBIO.

13. Campo “**Tempo transcorrido**” – Foram inseridos dois *labels*. Um refere-se ao cronômetro (contagem crescente) que apresenta o tempo de andamento da avaliação e o outro mostra o tempo de duração do teste, previamente informado pelo usuário.

14. *AnchorPane* “**Zonas**” – O painel zonas é composto por três opções de registro. Estas, são importantes para as avaliações nas quais os pesquisadores desejem aferir a presença dos animais em áreas específicas de um aparato teste. Por meio do pressionamento das teclas de atalho é possível registrar o tempo de permanência e a quantidade (frequência) de vezes que o animal visita cada zona.

15. *ArchoPane* “**Latências**” – Esse painel é composto por três opções de registro. Todas são compostas por apenas um *label*. Logo, as latências possibilitam que o usuário faça o registro apenas do tempo referente à determinados eventos comportamentais.

16. *ArchoPane* Comportamentos – O painel comportamentos apresentará apenas aqueles que foram selecionados através dos *checkboxes* na segunda tela. Cada parâmetro comportamental selecionado apresentará dois *labels*. Um possibilitará o registro do tempo de exibição do comportamento e o outro a quantidade (frequência) de vezes que o mesmo for exibido.

Tomados em conjunto, nossos dados demonstram que o objetivo principal do estudo foi atingido. A elaboração do etograma e as manifestações de necessidade por parte dos pesquisadores geraram discussões que culminaram na seleção dos comportamentos prioritários e viáveis para análises semiautomáticas. Explorar os comportamentos identificados no etograma gerou ainda a classificação dos mesmos em categorias específicas, o que sugere inclusive quais parâmetros analisar em âmbito laboratorial. O TADBIO permite que seus usuários registrem parâmetros simples, porém indispensáveis em análises comportamentais. Dessa forma, o auxílio do *software* para a coleta de dados quantitativos aumenta o potencial de análise dos laboratórios de pesquisa e colabora para a produção de informações relevantes, precisas e capazes de aprofundar o conhecimento sobre os comportamentos da espécie. Destaca-se ainda, que embora o TADBIO tenha sido desenvolvido com base em comportamentos identificados em *P. cuvieri*, possivelmente o mesmo pode ser utilizado para avaliação do comportamento de outras espécies de anfíbios anuros, o que amplia ainda mais suas possibilidades de uso e o torna aliado na investigação comportamental de um dos principais grupos bioindicadores de água doce.

O produto final apresenta uma interface simples e intuitiva, possibilitando aos usuários objetividade e dinamismo no momento das análises. Isso pode representar otimismo tanto aos pesquisadores iniciantes, quanto aos mais leigos no uso de computadores, uma vez que o registro através das teclas de atalho não exige conhecimentos aprofundados de computação. Ainda que o registro das condutas comportamentais seja realizado de forma simplista, o mesmo minimiza potenciais erros humanos causados por análises manuais, que geralmente são feitas através da anotação em papéis (Crozara, 2017). Isto é, a cada vez que o pesquisador desvia o olhar do vídeo para registrar determinado comportamento, o mesmo fica sujeito a não observar comportamentos expressos nesse intervalo de tempo. Tal falha pode ser evitada com o uso de *softwares* como o TADBIO, pois o pesquisador pode realizar o registro de determinado comportamento ao pressionar o dedo em teclas de atalho específicas, sem a necessidade de desviar o olhar dos animais. Conseqüentemente, os dados coletados devem possuir maior confiabilidade, quando comparados àqueles coletados de forma menos precisa.

Assim, as ferramentas e linguagens escolhidas para o desenvolvimento do *software* resultaram em um produto de código aberto e de distribuição sem fins lucrativos. Logo, o livre acesso ao código fonte do produto possibilita alterações e aprimoramentos do mesmo por outros desenvolvedores, tanto para incremento nas interfaces, quanto para a construção de novas.

Além disso, novas funções podem ser inseridas não só para avaliações comportamentais de girinos, mas também de outros modelos animais.

### 3.3. Validação do *software* e demonstração de uso

Os requisitos solicitados durante o desenvolvimento do projeto foram todas realizadas, tornando possível a entrega do produto. A demonstração de uso do *software* é apresentada no Tutorial presente no menu Ajuda do mesmo (TADBIO: Ajuda>Tutorial). O acesso ao vídeo com o tutorial encontra-se disponível também no link em anexo do presente documento.

## 4. CONCLUSÃO

As pesquisas realizadas antes do efetivo desenvolvimento do *software*, apontaram a não existência de uma ferramenta direcionada à análise comportamental de girinos. Do mesmo modo, constatou-se a carência de etogramas detalhando as particularidades das condutas comportamentais dos girinos em laboratório. Assim, além do desenvolvimento do TADBIO, o presente estudo contribui com a elaboração de um etograma para a espécie *P. cuvieri*. Portanto, em conclusão, o TADBIO representa uma ferramenta simples e eficiente em avaliações comportamentais de girinos, auxiliando no registro de comportamentos por usuários interessados. Em se tratando de uma ferramenta de código aberto e distribuição gratuita, o mesmo oferece aos pesquisadores praticidade e eficácia, uma vez que está apto a atender as principais demandas apontadas pelos pesquisadores.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALCOCK, John. *Animal behavior: An evolutionary approach*. Sunderland: Sinauer Associates, 2001.
- ALTMANN, J. (1974). Observational study of behavior: Sampling methods. **Behaviour** 48: 227-265.
- BUSKE, Christine; GERLAI, Robert. Shoaling develops with age in Zebrafish (*Danio rerio*). **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 6, p. 1409-1415, 2011.
- CHAGAS, Thales Quintão et al. Behavioral toxicity of tannery effluent in zebrafish (*Danio rerio*) used as model system. **Science of the Total Environment**, v. 685, p. 923-933, 2019.

- CHAGAS, Thales Quintão et al. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, v. 277, p. 130279, 2021.
- CLARKE, Jim; CONNORS, Jim; BRUNO, Eric. Java FX: Desenvolvendo Aplicações de Internet Ricas. 2010.
- CROZARA, Marcela Guitarrara Nirschl et al. Um sistema de código aberto para registro e análise de dados comportamentais categóricos, morfológicos e cinemáticos em animais de laboratório. 2017.
- DA COSTA ARAÚJO, Amanda Pereira et al. Anti-cancer drugs in aquatic environment can cause cancer: insight about mutagenicity in tadpoles. **Science of The Total Environment**, v. 650, p. 2284-2293, 2019.
- DA COSTA ARAÚJO, Amanda Pereira; MALAFAIA, Guilherme. Microplastic ingestion induces behavioral disorders in mice: A preliminary study on the trophic transfer effects via tadpoles and fish. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 123263, 2021.
- DE CAMPOS, Raphael Pires et al. Analysis of ZnO nanoparticle-induced changes in *Oreochromis niloticus* behavior as toxicity endpoint. **Science of The Total Environment**, v. 682, p. 561-571, 2019.
- DE CARVALHO NETO, Marcus Bentes; TOURINHO, Emmanuel Zagury. Notas sobre a dicotomia “inato” versus “aprendido”. **Interação em Psicologia**, v. 5, n. 1, 2001.
- DE FARIA, Denise Braga Gomes et al. Behavioral changes in *Japanese quails* exposed to predicted environmentally relevant abamectin concentrations. **Science of The Total Environment**, v. 636, p. 1553-1564, 2018.
- DE OLIVEIRA, João Pedro Justiniano et al. Behavioral and biochemical consequences of *Danio rerio* larvae exposure to polylactic acid bioplastic. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, p. 124152, 2021.
- DE SOUZA, Joyce Moreira et al. Zinc oxide nanoparticles in predicted environmentally relevant concentrations leading to behavioral impairments in male swiss mice. **Science of the Total Environment**, v. 613, p. 653-662, 2018.
- DO AMARAL, Diogo Ferreira et al. Insights about the toxic effects of tannery effluent on *Lithobates catesbeianus* tadpoles. **Science of the total environment**, v. 621, p. 791-801, 2018.
- GOSNER, Kenneth L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. 16, n. 3, p. 183-190, 1960.
- GUEDES, Gilleanes TA. **UML 2-Uma abordagem prática**. Novatec Editora, 2018.

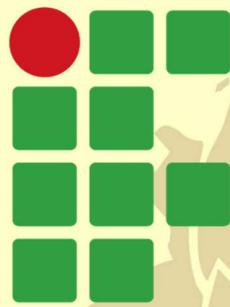
- GUIMARÃES, Abraão Tiago Batista et al. Nanopolystyrene particles at environmentally relevant concentrations causes behavioral and biochemical changes in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123864, 2021.
- HÄNNINEN, Laura; PASTELL, Matti. CowLog: Open-source software for coding behaviors from digital video. **Behavior research methods**, v. 41, n. 2, p. 472-476, 2009.
- JUNIOR, Carlos Fernando Crispim et al. ETHOWATCHER: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals. **Computers in biology and medicine**, v. 42, n. 2, p. 257-264, 2012.
- LENT, Emily May; BABBITT, Kimberly J.; PINKNEY, Alfred E. Effects of Environmental Contaminants at Great Bay National Wildlife Refuge on Anuran Development, Gonadal Histology, and Reproductive Steroidogenesis: A Comparison of In Situ and Laboratory Exposures. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, p. 1-17, 2020.
- LEVITIS, Daniel A.; LIDICKER JR, William Z.; FREUND, Glenn. Behavioural biologists do not agree on what constitutes behaviour. **Animal behaviour**, v. 78, n. 1, p. 103-110, 2009.
- MENDES, Bruna de Oliveira et al. Short-term dermal exposure to tannery effluent does not cause behavioral changes in male Swiss mice. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, n. 1, 2018.
- MENDONÇA, Dener et al. Sistema: Palavras Indígenas. In: **Anais dos Workshops do Congresso Brasileiro de Informática na Educação**. 2019. p. 1287.
- MESAK, Carlos et al. The effects of predicted environmentally relevant concentrations of ZnO nanoparticles on the behavior of *Gallus gallus* domesticus (Phasianidae) chicks. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 1274-1282, 2018.
- MIRAT, Olivier et al. ZebraZoom: an automated program for high-throughput behavioral analysis and categorization. **Frontiers in neural circuits**, v. 7, p. 107, 2013.
- MONTALVÃO, Mateus Flores et al. Impacts of tannery effluent on development and morphological characters in a neotropical tadpole. **Science of the Total Environment**, v. 610, p. 1595-1606, 2018.
- OLIVEIRA, Bruno. JavaFX: Interfaces com qualidade para aplicações desktop. Editora Casa do Código, 2014.
- OLYA, Hossein GT; AKHSHIK, Arash. Tackling the complexity of the pro-environmental behavior intentions of visitors to turtle sites. **Journal of Travel Research**, v. 58, n. 2, p. 313-332, 2019.

- OTTONI, Eduardo B. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 32, n. 3, p. 446-449, 2000.
- PEDERIVA, César. Nonato. Etógrafo: um sistema de auxílio ao registro e à análise de dados comportamentais. Florianópolis, 2005.
- SANTOS, B. D. et al. Efeitos de hormônios esteroides de contraceptivos orais combinados sobre os parâmetros comportamentais de *Betta splendens* (Regan, 1909). **Arq. bras. med. vet. zootec**, p. 387-396, 2016.
- SOMMERVILLE, Ian. Engenharia de Software. 9ª Edição, 2011. ed.
- TOLEDO, Luís Felipe; SAZIMA, Ivan; HADDAD, Célio FB. Behavioural defences of anurans: an overview. **Ethology Ecology & Evolution**, v. 23, n. 1, p. 1-25, 2011.
- WEILL, Peter; ROSS, Jeanne W. **Governança de TI-tecnologia da informação**. M. Books, 2020.

## ANEXO

Link de acesso ao tutorial do *software* TADBIO:

[https://drive.google.com/file/d/1XD-rM\\_YHz07VoF3DWFD0CTj3wg2\\_CW\\_k/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1XD-rM_YHz07VoF3DWFD0CTj3wg2_CW_k/view?usp=sharing)



**INSTITUTO  
FEDERAL**

Goiano

---

Campus  
Urutaí

