



LSPA

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
CIÊNCIAS PSICOLÓGICAS, SOCIAIS E DA VIDA

**A SINALIZAÇÃO SEMELHANTE À
OXITOCINA MODULA A
TRANSMISSÃO SOCIAL DO
ESTRESSE NO PEIXE-ZEBRA**

GÉSSICA PERES

Orientador de Dissertação:

DOUTOR KYRIACOS KAREKLAS

Professora de Seminário de Estágio:

DOUTORA RAQUEL LEMOS GUERRA DE OLIVEIRA

Dissertação de Mestrado submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de:

MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS COGNITIVAS E COMPORTAMENTAIS

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação do Dr. Kyriacos Kareklas, apresentada ao ISPA – Instituto Universitário para obtenção de grau de Mestre em Neurociências Cognitivas e Comportamentais.

AGRADECIMENTOS

Essa missão a que me propus, me proporcionou muitos desafios, pessoais e emocionais nunca antes enfrentados. Ao lançar-me neste mar da ciência, ora revoltado, ora calmo, em inúmeros momentos precisei encontrar lugares para atracar o meu barco, ainda mais diante de um ano mundialmente turbulento, marcado por incertezas e silêncio. Neste meu percurso, tive a graça de ter pessoas que foram o meu porto seguro nas diferentes fases desta viagem e, que sem elas, certamente não teria chegado até aqui, as quais deixo o meu profundo agradecimento:

Ao Kyriacos Kareklas por ter me orientado sempre com muita humildade, paciência e profissionalismo, que acolheu as minhas limitações, sempre esteve disponível para esclarecer as minhas dúvidas e me ajudou a vencer incontáveis obstáculos.

Ao Rui Oliveira por ter me acolhido em seu grupo me oportunizando desenvolver minha pesquisa, e por ter aceitado coordenar este trabalho.

A todos do IBBG por todo o apoio oferecido, à Rita e à Magda que foram fundamentais na escolha desse projeto, à Victoria, Ibukun, Bianca, Joana e Carla. Um agradecimento especial à Susana Varela que sempre esteve disposta a me ajudar, entendendo as minhas dificuldades, doando o seu tempo e o seu conhecimento. E à Cláudia Gonçalves, que sempre me ofereceu palavras de alento e amizade, por me fazer acreditar nos bons encontros da vida e por compartilharmos de tantos objetivos e sonhos.

Agradeço imensamente à minha querida e grande amiga Kátia de Castro Almeida, uma irmã que a vida me presenteou, que confiou no meu potencial, que esteve presente nos piores momentos, a que me deu esperança e sempre me encorajou a seguir em frente mesmo diante de tantos desafios. Sem você nada disso teria sido possível.

À Conceição Valente, a amiga que conheci no comboio, a que me fez companhia em tantos dias e noites frios em que caminhávamos pelas ruas de Lisboa trocando experiências e histórias de vida. A que me ensinou que gelado e bolacha é uma ótima combinação.

Ao Duarte Cortez e ao Douglas Linhares, bons amigos que trouxeram mais cor para os meus dias, me oportunizando momentos de lazer e descontração.

À Maria Cepeda pela flexibilidade e compreensão, por todas as vezes que aceitou trocar os meus horários de trabalho. A que me ensinou quais são os melhores atributos de um líder.

Às meninas que dividiram casa comigo em diferentes momentos, Ana, Raquel, Sofia e especialmente à Catarina Toste, por todas as conversas edificantes, por ter sido amiga e companheira de quarentena e por todas as nossas aventuras culinárias, que não foram poucas!

Agradeço à Luciana Januário e ao Wolfgang Morais por terem realizado a minha matrícula junto ao ISPA quando eu ainda estava no Brasil, por terem aberto as portas do seu lar quando aqui cheguei em que tudo era estranho e desconhecido.

À Débora Eing, por ter me respondido com tamanha humildade e surpresa, quando lhe perguntei o que estava fazendo na época em que tinha a minha idade. Obrigada por sempre ter me incentivado ir em busca dos meus sonhos.

À Silvana Tomazoni, minha eterna professora que me apresentou a este mundo vasto da neurociência, o qual tanto me instiga e me fascina. A que hoje, tenho a honra de chamar de amiga e companheira de jornada. Um dia descobriremos.

Aos amigos queridos Angela e Elautério Mendes, os quais eu tanto amo. Minha gratidão pela amizade genuína, por serem o meu farol nos momentos de dúvidas, por emprestarem seus ouvidos para escutar as minhas mazelas e por vibrarem comigo cada conquista.

A você Ciuzete Buffon (Suzi), por me conhecer mais do que eu mesma. Por ter me ensinado que tal como os pássaros, eu também posso voar. Por ser luz na minha vida e uma fonte pura de inspiração.

À minha família: meus pais Edimilso e Ivonete e às minhas irmãs Magali e Caroline, a quem dedico a minha vida e entrego todo o meu amor. A vocês, que sempre estiveram do meu lado em todas as circunstâncias, me fortalecendo para que eu pudesse vencer as vicissitudes e suportar a saudade. A vocês que são o meu alicerce, o meu refúgio e os meus maiores exemplos.

À Deus, que me permite realizar todas as obras de minha vida.

RESUMO

Uma emoção é um estado mental transitório que impulsiona o comportamento adequado frente aos desafios do ambiente social, desencadeado por estímulos externos que causam mudanças corporais no sujeito e que podem ser reconhecidas e transmitidas a outros indivíduos, processo denominado contágio emocional. O contágio emocional tem sido estudado em diferentes espécies, com evidências de que não é uma habilidade exclusiva dos humanos, mas uma habilidade evolutivamente conservada entre os animais sociais. Para que um grupo funcione e sobreviva, os indivíduos precisam discriminar diferentes estímulos em seu ambiente social e tomar decisões rápidas, utilizando informações de seus coespecíficos. No entanto, ainda não está claro como a informação é transmitida entre os indivíduos de um grupo e quais são os mecanismos subjacentes. Devido ao vasto papel da oxitocina na regulação de vários aspectos do comportamento social entre os táxons, particularmente na atribuição de saliência e motivação da conformidade do grupo, hipotetizamos que no peixe-zebra, a oxitocina também pode estar envolvida nesses mecanismos. Aqui, usamos uma linha mutante do receptor de oxitocina (*oxtr*) para avaliar se o contágio emocional no peixe-zebra depende do tamanho do grupo e se as mudanças na estratégia cognitiva implicam na sinalização da oxitocina. Para isso, usamos reproduções de vídeo de peixe-zebra. Nossos resultados demonstraram que o contágio emocional do estresse é exibido pelo peixe-zebra, o que constitui uma capacidade de aprendizagem social. Além disso, demonstramos que o contágio emocional tem função adaptativa e exige estratégias de conformidade social, pois facilita a transferência e propagação de informações sociais, promovendo a sobrevivência do grupo. Nossos resultados também sugerem que esses mecanismos são modulados pelo sistema oxitocinérgico.

Palavras-chave: Contágio Emocional, Oxitocina, Conformidade Social, Peixe-zebra, Estresse.

ABSTRACT

An emotion is a transient mental state that drives adequate behavior in the face of the challenges of the social environment, triggered by external stimuli that cause bodily changes in the subject and that can be recognized and transmitted to other individuals, a process called emotional contagion. Emotional contagion has been studied in different species, with evidence that it is not an ability exclusive to humans, but an evolutionarily conserved ability among social animals. For a group to function and survive, individuals need to discriminate between different stimuli in their social environment and take quick decisions, by making use of information from their conspecifics. However, it is still not clear how information is transmitted between individuals in a group and what are the underlying mechanisms. Due to the vast role of oxytocin in regulating various aspects of social behavior across taxa, particularly in the attribution of salience and motivation of group conformity, we hypothesize that in zebrafish, oxytocin may also be involved in these mechanisms. Here, we use a mutant oxytocin receptor (oxtr) line to assess whether emotional contagion in zebrafish depends on the size of the group and if changes in cognitive strategy implicate oxytocin signaling. For this, we use video playbacks of zebrafish. Our results demonstrate that emotional contagion of stress is exhibited by zebrafish, which constitutes a social learning ability. In addition, we demonstrate that emotional contagion has an adaptive function and it demands social conformity strategies, as it facilitates the transfer and propagation of social information, promoting the survival of the group. Our results also suggest that these mechanisms are modulated by the oxytocinergic system.

Keywords: Emotional Contagion, Oxytocin, Social Conformity, Zebrafish, Stress.

ÍNDICE

Agradecimentos	II
Resumo	IV
Abstract.....	V
Lista de figuras	VIII
Lista de figuras suplementares	VIII
Introdução.....	1
Cognição social e tomada de decisão social	1
Reconhecimento das emoções	5
Contágio emocional e transmissão social do estresse.....	9
Comportamento de grupo: conformidade social e saliência	13
Oxitocina: neuropeptídeo modulador do comportamento social.....	16
Peixe-zebra como organismo modelo	19
Objetivos	23
Materiais e métodos.....	24
Peixes e condições de alojamento.....	24
Geração de mutante para o receptor <i>oxtr</i>	24
Configuração comportamental.....	24
Procedimentos experimentais	26
Teste de contágio e preferência social	26
Reproduções de vídeo e estímulos	27
Análise comportamental dos dados	29
Análise estatística.....	31
Resultados.....	32
Efeitos de conformidade	32
Efeitos de saliência	35
Comparações entre conformidade e a saliência absoluta.....	36
Discussão.....	40
Limitações do estudo	45
Conclusão e direção futura	46
Referências	47
Anexos.....	60

Figuras suplementares..... 60

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1:</i> Rede de tomada de decisão social SDMN	3
<i>Figura 2:</i> Estruturas homólogas da SDMN em mamíferos e peixes teleósteos.....	4
<i>Figura 3:</i> Evolução da empatia e diferentes terminologias utilizadas no estudo da empatia ..	10
<i>Figura 4:</i> Componentes da heterogeneidade individual, sua função no comportamento coletivo e seus efeitos associados.....	14
<i>Figura 5:</i> Regiões cerebrais de expressão dos receptores de oxitocina na SDMN em vertebrados.....	18
<i>Figura 6:</i> Vantagens do peixe-zebra em pesquisa translacional	21
<i>Figura 7:</i> Representação esquemática da configuração comportamental.....	25
<i>Figura 8:</i> Representação esquemática do procedimento experimental.....	27
<i>Figura 9:</i> Representação esquemática dos estímulos utilizados nas experiências.....	29
<i>Figura 10:</i> Representação esquemática da arena de teste	30
<i>Figura 11:</i> Gráfico da resposta de congelamento na condição conformidade	33
<i>Figura 12:</i> Gráfico da resposta de velocidade angular na condição conformidade	34
<i>Figura 13:</i> Gráfico das respostas de ansiedade na condição conformidade.....	34
<i>Figura 14:</i> Gráfico da resposta de atenção aos estímulos na condição saliência.....	35
<i>Figura 15:</i> Gráfico das respostas de ansiedade na condição saliência.....	36
<i>Figura 16:</i> Gráfico comparativo das respostas de contágio do estresse.....	37
<i>Figura 17:</i> Gráfico comparativo das respostas de ansiedade	33
<i>Figura 18:</i> Gráfico comparativo da resposta da atividade exploratória.....	39
<i>Figura 19:</i> Gráfico comparativo da resposta de preferência.....	39

LISTA DE FIGURAS SUPLEMENTARES

<i>Figura Suplementar 1:</i> Gráfico de efeitos de habituação orientação	60
<i>Figura Suplementar 2:</i> Gráfico de efeitos de habituação congelamento	60
<i>Figura Suplementar 3:</i> Gráfico de efeitos de habituação velocidade angular	61
<i>Figura Suplementar 4:</i> Gráfico de efeitos de habituação timotaxia.....	61
<i>Figura Suplementar 5:</i> Gráfico de efeitos de habituação velocidade	62
<i>Figura Suplementar 6:</i> Gráfico de efeitos de habituação distância percorrida	62
<i>Figura Suplementar 7:</i> Gráfico de efeitos de habituação preferência.....	63
<i>Figura Suplementar 8:</i> Gráfico comparativo das respostas de ansiedade.....	63
<i>Figura Suplementar 9:</i> Gráfico da resposta congelamento na condição saliência.....	64
<i>Figura Suplementar 10:</i> Gráfico da resposta velocidade angular na condição saliência.....	64
<i>Figura Suplementar 11:</i> Gráfico da resposta timotaxia na condição saliência	65

1. INTRODUÇÃO

1.1. Cognição social e tomada de decisão social

Sabe-se que muitas das espécies os animais vivem em grupos sociais, pois lhes é facultado sobreviver, se reproduzir e interagir uns com os outros, fatores que foram impulsionados pela seleção natural e que moldaram a evolução de seu comportamento social: ao passo que a vida em grupo pode fornecer melhores condições de forrageamento e redução dos riscos de predação pode também, ser um meio de posições de dominância e competitividade entre os indivíduos do grupo (Adolphs, 2001). Portanto, viver em grupo exige dos indivíduos uma capacidade de tomar decisões imediatas e adaptativas (Platt et al., 2016), pois precisam interagir com o ambiente em que estão e também com os diferentes contextos sociais, o que lhes exige uma adaptação de como manifestam seus comportamentos sociais, de modo que possam evitar interações que lhes ocasionem mais custos do que ganhos (Oliveira, 2009). Essa capacidade de adaptação dos comportamentos sociais é chamada de competência social (Taborsky e Oliveira, 2012; Teles et al., 2016) que permite que os animais possam responder de forma otimizada a ambientes sociais em constante mudança e devem estar sob forte pressão seletiva (Platt et al., 2016).

A socialidade é uma habilidade complexa que envolve funções cognitivas sociais e a motivação entre os indivíduos de um grupo (Ribeiro et al., 2020). As interações sociais a saber, têm um impacto direto que atingem todos os aspectos da vida, desde cortejar um parceiro, gerir situações de conflito e estresse, cuidar da prole, até determinar as atitudes pró-sociais e empáticas (Donaldson e Young, 2008). O conjunto de recursos cognitivos subjacentes ao comportamento social e que confere ao indivíduo a capacidade de reconhecer, manipular e se comportar diante de estímulos e informações que são socialmente relevantes é definido cognição social, que por meio de sistemas neurais processam e conectam a percepção dos estímulos sociais à motivação, emoção e comportamento adaptativo (Adolphs, 2001, 2009).

O desenvolvimento das habilidades cognitivas e comportamentos sociais estão intrinsecamente relacionados com a emoção, pois comunicar o estado emocional de outrem pode evocar respostas comportamentais adaptativas de outros integrantes do grupo. Essa capacidade de detectar, avaliar e responder aos estados emocionais dos outros com comportamentos maleáveis e apropriados ao contexto, ocorre por meio de um processo

designado tomada de decisão social, que permite aos animais exibirem uma série de comportamentos sociais que são fundamentais para a sobrevivência individual e da vida em grupo (Rogers-Carter e Christianson, 2019).

A emoção, foi ao longo do tempo se constituindo num emaranhado de teorias e conceitos que englobam diversos componentes da reação emocional, como expressões comportamentais e fisiologia (Cabanac, 2002; Kittilsen, 2013). Partindo de uma perspectiva evolutiva, desde a proeminente publicação de Charles Darwin “A expressão das emoções no homem e nos animais” que teve grande impacto sobre o papel fundamental das emoções para a sobrevivência e sua função social e comunicativa, nos facultou entender as emoções e outros estados mentais de animais e humanos como produtos adaptativos da seleção natural (Kittilsen, 2013). Atualmente, a emoção pode ser descrita por meio de alguns componentes fulcrais: um componente cognitivo, que incide na capacidade de perceber as próprias emoções; um componente autônomo, o qual inclui as respostas fisiológicas (viscerais e endócrinas); um componente comportamental, que implica uma resposta (postura corporal) e por fim, um componente subjetivo, que está relacionado à experiência emocional / sentimentos (Desire et al., 2002; Scherer, 2009).

As reações emocionais a saber, têm um aspecto funcional que permite aos animais evocar não apenas comportamentos inatos, mas emitir respostas flexíveis e adaptativas ao ambiente que estão e, dessa forma, melhorar sua aptidão (Scherer et al., 2001). Devemos considerar que cada emoção tem uma forma de expressão e funcionalidade, o medo por exemplo, incita um estado de vigilância que prepara o corpo para uma ação (lutar ou fugir), mas que reflete um estado afetivo negativo e seus efeitos repetidos e prolongados pode ter implicações no seu bem-estar (Panksepp, 1998). Por outro lado, é uma emoção “inteligente” que busca a resposta comportamental mais adequada para as circunstâncias (de Waal, 2011).

O termo “afeto central” (ou estado emocional interno) tem sido amplamente empregado como um elemento da emoção, pois reflete os níveis de excitação e estado hedônico do animal, e da combinação entre os estímulos externos com as variações do seu estado interno (Russell, 2003). Os animais transmitem o afeto central aos membros do grupo por meio de expressões faciais (Sotocinal et al., 2011) e comportamentais que, dependente do contexto, podem incluir vocalizações, sugestivas de angústia causada por separação (Marsh, 2018); pistas olfativas, que podem ser sugestivas de medo; sinais químicos que mediam as interações de vínculo mãe-bebê, comportamentos afiliativos e envolvimento nas brincadeiras (Panksepp, 2005).

A forma como os animais irão responder aos estímulos sociais afetivos, implica na capacidade de tomada de decisão social, processo que resulta de como o cérebro processa esses estímulos e integra com informações de experiências passadas e o estado fisiológico interno, decidindo assim, se irão se envolver numa determinada interação social (Rogers-Carter e Christianson, 2019). No entanto, há muitas discussões acerca de que ambientes sociais complexos exigem domínios cognitivos e mecanismos neurais especializados, o que tem levantado debates sobre a associação destes mecanismos ao tamanho do cérebro ou ao tamanho de estruturas específicas engajadas em processos cognitivos sofisticados, respectivamente (Chittka e Niven, 2009). Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que organismos como insetos e peixes, são capazes de se envolver em comportamentos sociais diversos e complexos (Bshary et al., 2014; Simons e Tibbetts, 2019), sugerindo claramente, que a expressão de comportamentos sociais complexos não depende única e exclusivamente de um neocórtex desenvolvido (Prounis e Ophir, 2020).

Nesse contexto, dada a importância dessas descobertas sobre a cognição social e os mecanismos neurais subjacentes ao comportamento social, que foi identificado um conjunto de estruturas cerebrais evolutivamente conservadas entre táxons, uma rede cerebral denominada “rede de tomada de decisão social (SDMN)” (O'Connell e Hofmann, 2011) (*Figura 1*). Essa rede compreende dois circuitos a saber: a rede de comportamento social (SDM) e o sistema de recompensa mesolímbico.

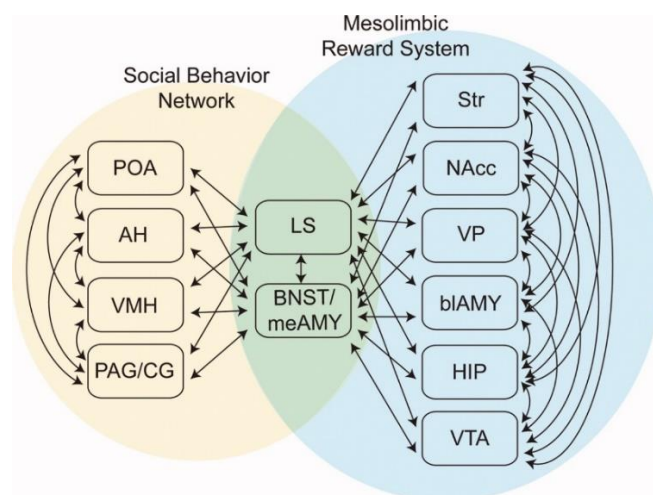


Figura 1: Rede de tomada de decisão social (SDMN). Estruturas da SDM (amarelo) e sistema de recompensa mesolímbico (azul). Estruturas do centro integram ambas as redes (verde). O'Connell e Hofmann (2011).

A SDM proposta por Sarah Newman, envolve um conjunto de estruturas que são responsáveis por regular uma série de comportamentos sociais adaptativos (cortejo, cópula, amamentação e cuidado com a prole, comportamentos agonísticos, marcação territorial, entre outros), sendo estes comportamentos influenciados pela ação de esteroides sexuais e neuromoduladores, responsáveis por modular o padrão de atividade entre os nós da rede (Newman, 1999). Essa rede inclui: a área pré-óptica (POA), hipotálamo anterior (AH), hipotálamo ventromedial (VMH), substância cinza periaquedutal (PAG) / cinza central (CC), septo lateral (LS), amígdala medial (mAMY) e núcleo do leito da estria terminal (BNST). Essa rede, inicialmente proposta para mamíferos, foi sendo expandida para répteis (Crews, 2003), pássaros e peixes teleósteos (Goodson, 2005) (*Figura 2*).

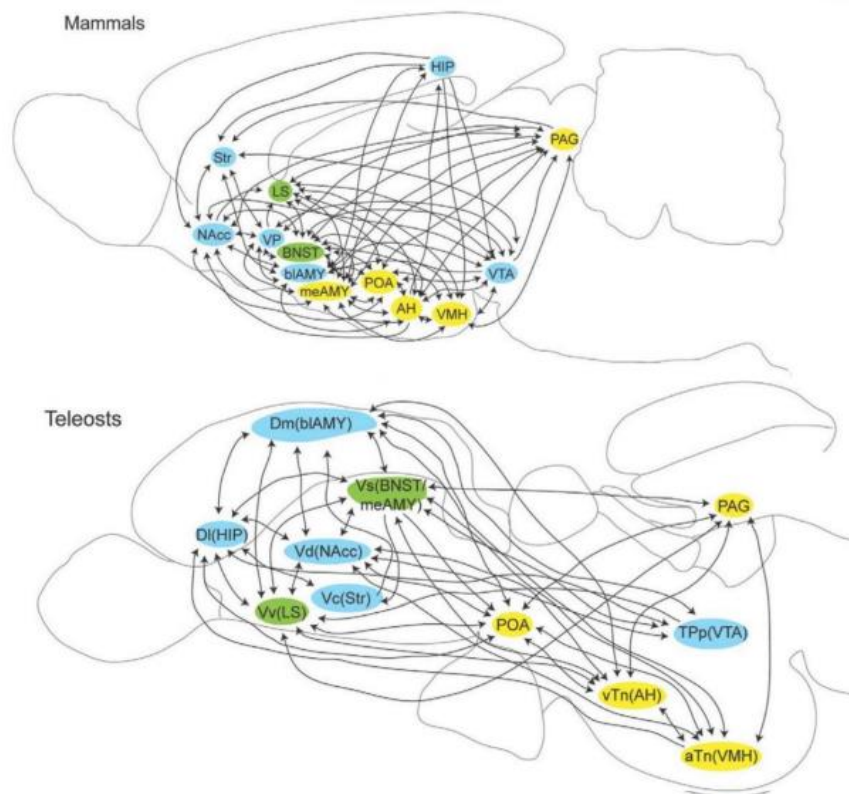


Figura 2: Rede de tomada de decisão social (SDMN) e suas estruturas homólogas em mamíferos e teleósteos. Em amarelo estão representadas as regiões da SBN, em azul as do sistema de recompensa mesolímbico e em verde as regiões que integram ambas as redes. Retirado e adaptado de O'Connell e Hofmann (2011).

A inclusão do sistema de recompensa mesolímbico, proposto por O'Connell e Hofmann (2011) estão incluídas seis estruturas: o estriado (Str), núcleo accumbens (NAcc), pálido ventral

(VP), amígdala basolateral (blAMY), hipocampo (HIP) e área tegmental ventral (VTA). Esse sistema atua com os nós da SDM de forma interconectada e recíproca, de forma a avaliar a saliência, a relevância da atenção aos estímulos externos, fornecendo a motivação e a valência, a valoração de uma emoção (positiva ou negativa) para que o animal possa avaliar e decidir se irá se envolver em determinada interação social (Shamay-Tsoory e Abu-Akel, 2016; Rogers-Carter e Christianson, 2019; Prounis e Ophir, 2020). Por meio de estudos comparativos, O'Connell e Hofmann (2012) destacaram a importância da SDMN e comprovaram que essa rede é evolutivamente conservada entre os mamíferos e outras espécies, inclusive o peixe-zebra.

A SDMN tem um padrão conservado de expressão gênica e perfis neuroquímicos associados, que inclui os neuropeptídeos do tipo oxitocina e vasopressina, dois neuromoduladores importantes que estão envolvidos na regulação de uma variedade de comportamentos sociais, devido à densidade de seus receptores entre os nós da rede (Goodson e Thompson, 2010; O'Connell e Hofmann, 2012). Recentemente, Geng e Peterson (2019) associaram outras estruturas cerebrais subcorticais que também estão envolvidas em diferentes aspectos do comportamento social, a qual denominaram “cérebro social subcortical” (SSB). Estão incluídas no SSB, a rafe dorsal (DR), cerebelo (CB) e habênula lateral (LHb) e suas estruturas homólogas estão presentes no peixe-zebra. Devido ao seu papel crítico no comportamento social, a oxitocina tem sido utilizada para investigar seu potencial terapêutico nos distúrbios do comportamento social, nomeadamente relacionados com o SSB, visto que essas são estruturas cerebrais responsáveis para a sobrevivência e reprodução em diferentes espécies de vertebrados (Geng e Peterson, 2019).

1.2. Reconhecimento de emoções

Historicamente, as emoções foram deliberadamente ignoradas em pesquisas de comportamento animal, pois eram enquadradas numa abordagem estritamente funcionalista, consideradas apenas para explicar o comportamento em si (de Waal, 2011). Nos últimos anos, que esse paradigma vem sendo ultrapassado pela neurociência cognitiva e afetiva (Anderson e Adolphs, 2014) e em estudos sobre a consciência (Damásio, 1999), devido ao grande interesse na inteligência emocional humana (Goleman, 1995) e na compreensão dos déficits causados em diferentes condições psiquiátricas e afetivas, que o estudo das emoções em animais começou a ser valorizado e paulatinamente explorado.

Embora, atualmente a emoção seja amplamente estudada em humanos, ainda não tem uma definição global (Paul et al., 2020). De acordo com de Waal, uma emoção pode ser definida como “um estado interno temporário causado por estímulos externos (aversivos ou atraentes), marcada por mudanças no corpo, mente e cérebro do organismo, as quais podem ser previsíveis de acordo com a situação que o indivíduo se encontra, de tal modo que se combinam com a experiência individual e com a avaliação cognitiva da atual situação, preparando-o para uma resposta comportamental ótima” (de Waal, 2011). Entretanto, reconhecer e mensurar como as emoções são vivenciadas pode ser um desafio. Os humanos claramente podem verbalizar conscientemente sobre suas emoções e sentimentos, porém, não acontece o mesmo quando se trata de animais, pois não podem falar o que sentem e como sentem (Paul et al., 2020).

À fim de ajudar a elucidar como as emoções são desencadeadas, experienciadas, evocadas e compreendidas pelos outros, muitos estudos têm sido realizados com foco no reconhecimento das emoções, nomeadamente, no reconhecimento de expressões faciais (Mehdizadehfar et al., 2020). O reconhecimento das emoções incide na capacidade de codificar estímulos socialmente relevantes e determinar o estado afetivo do outro e representa um componente fulcral da cognição social (Ferretti e Papaleo, 2018).

Em humanos, paradigmas utilizando tarefas de reconhecimento das emoções são amplamente empregados em condições normais e/ou patológicas, tais como tarefas de reconhecimento de faces, que avaliam a capacidade do indivíduo em identificar as emoções por meio de um conjunto de fotografias ou reproduções de vídeos que apresentam estímulos emocionalmente salientes (Dolcos et al., 2020). Um protocolo bem validado neste contexto é o “Teste Ekman 60-Faces” (EK-60F), um instrumento que avalia o reconhecimento das seis emoções básicas (raiva, medo, tristeza, felicidade, nojo, surpresa) (Ekman, 1992) e tem sido utilizado em uma variedade de condições psiquiátricas, neurológicas e neurodesenvolvimentais, tais como autismo, esquizofrenia e doenças neurodegenerativas (Dodich et al., 2014).

Dada a relevância do potencial terapêutico da oxitocina, muitos estudos têm sido realizados para avaliação dos seus efeitos, por exemplo, no transtorno do espectro do autismo a administração intranasal de oxitocina promoveu o reconhecimento da emoção facial e aumentou a reatividade da amígdala a traços emocionais faciais, mais precisamente na região dos olhos e boca (Domes et al., 2014), potencializou a saliência de estímulos para pistas sociais (Peled-Avron et al., 2020), melhorou a reciprocidade social e aumentou a atividade cerebral no córtex pré-frontal medial (mPFC) (Watanabe et al., 2015). A administração intranasal de oxitocina também melhorou o reconhecimento da emoção facial em adultos jovens com

transtorno de personalidade antissocial (Timmermann et al., 2017) e induziu o reconhecimento de emoções e empatia em jovens com déficits socioafetivos (Fragkaki e Cima, 2019).

Em animais, dada a ausência de linguagem falada, o reconhecimento de emoções pode ser avaliado por meio da observação da expressão comportamental, tais como mudanças na postura corporal, quimiosinais, vocalizações e expressões faciais, sendo estes indicadores do estado emocional que são utilizados por outros animais (Bellegarde et al., 2017). Estudos realizados com macacos de crista (*Macaca nigra*) em que foi apresentado uma sequência de vídeos de um indivíduo desconhecido se aproximando do outro numa tarefa de escolha livre, revelaram que eles são capazes de usar as expressões faciais dos outros para prever os resultados futuros da interação social (Waller et al., 2016). Um estudo recente demonstrou que cavalos (*Equus ferus caballus*) são capazes de reconhecer as emoções humanas por meio do odor corporal coletados em situações de medo e felicidade (Sabiniewicz et al., 2020) e que as expressões faciais e a oxitocina durante o aliciamento em cavalos, podem ser consideradas marcadores de emoções positivas (Lansade et al., 2018).

O reconhecimento de emoções também foi avaliado em cabras leiteiras, em que foram apresentadas imagens de faces de coespecíficos em situações negativas (valência negativa) e positivas (valência positiva), e foi demonstrado que esses animais apresentaram reações faciais espontâneas a diferentes tipos de imagens, indicando que são capazes de discriminar entre uma situação e outra (Bellegarde et al., 2017). Um estudo recente utilizando uma combinação de ferramentas genéticas, anatômicas e comportamentais revelou que a discriminação de estados emocionais negativos e positivos em camundongos é dependente da sinalização da oxitocina e de suas projeções do núcleo paraventricular do hipotálamo para a amígdala central, exercendo um papel fulcral na discriminação das emoções tanto em condições fisiológicas normais, como em condições patológicas (Ferreti et al., 2019).

Diferentes paradigmas comportamentais têm sido utilizados para o reconhecimento da expressão de emoções em roedores, demonstrando que esses animais exibem uma variedade de comportamentos sociais complexos, inclusive, reconhecer o estado emocional de coespecíficos e reagir igualmente, processo denominado contágio emocional (Carrillo et al., 2015) e emitir comportamentos relacionados à empatia (Bartal et al., 2011). À fim de avaliar de que maneira esses animais percebem e reagem ao estado emocional dos outros, diversos estudos têm sido realizados utilizando paradigmas de contágio emocional do medo (Gonzalez-Lienres et al., 2014) e de dor (Carrillo et al., 2015). Ratos são capazes de compartilhar estados de medo quando são expostos visualmente (denominado observador) à um companheiro de gaiola

(denominado demonstrador) em situação de dor, angústia ou sofrimento. Por exemplo, quando um rato observa um coespecífico recebendo choques elétricos nas patas, é suficiente para o desencadeamento do congelamento vicário, um comportamento bem documentado sugestivo de contágio emocional (Atsak et al., 2011).

Relevantemente, o estudo de Burkett et al. (2016) demonstrou pela primeira vez que arganazes da pradaria (*Microtus ochrogaster*) exibem comportamento de consolação em relação à coespecífico estressado e que este comportamento é dependente da sinalização de oxitocina, bem conhecida por modular comportamentos afiliativos. Um estudo recente com camundongos demonstradores e observadores, utilizando um protocolo de transmissão social do medo, revelou que o medo observacional assumiu uma correspondência de afeto, um comportamento similar ao de empatia em seres humanos, e que a oxitocina desempenha um papel importante na transmissão social do estresse, aumentando a conectividade entre o hipotálamo, córtex cingulado anterior e amígdala central (Pisansky et al., 2017).

Por outro lado, estudos que avaliem o reconhecimento de emoções em peixes ainda permanecem pouco explorados. Um estudo de Oliveira et al. (2017), demonstrou que no peixe-zebra, os comportamentos defensivos antipredatórios exibidos mediante à exposição visual a predadores, desencadeou as mesmas respostas de estresse em coespecíficos observadores, sugerindo fortes evidências de contágio do medo no peixe-zebra. Outro estudo recente corroborou com esses achados, indicando que o contágio do medo é bem estabelecido no peixe-zebra e é afetado pela familiaridade (Silva, Leaniz e Luchiari, 2019).

Tomados em conjunto, esses estudos sugerem que o contágio pode indicar uma forma de reconhecimento, pois é um mecanismo cognitivo considerado subjacente a processos de ordem superior, como empatia em humanos. Para separar a habilidade ancestral subjacente ao reconhecimento das emoções, estudos com peixes podem ser projetados com base na aprendizagem associativa, em que a correspondência de associações emocionais entre os indivíduos se correlacione uma pista sensorial emocionalmente valenciada (como o estresse, por exemplo) com uma pista neutra. Essas associações permitem que a experiência de uma emoção individual seja correlacionada com a observação da mesma emoção que está sendo expressa por um coespecífico (Heyes, 2018).

1.3. Contágio emocional e transmissão social do estresse

Nos últimos anos, houve um progresso rumo a uma compreensão intrínseca dos processos evolutivos que incitam e permeiam os comportamentos sociais entre as espécies e os mecanismos subjacentes que os sustentam (Decety et al., 2016). Devido à expansão da neurociência social, comportamental e afetiva e com o desenvolvimento e refinamento de técnicas de imagem, a empatia tornou-se um fenômeno de estudo valioso para os neurocientistas (Meyza et al., 2017; Panksepp et al., 2017).

Historicamente, acredita-se que a empatia evoluiu no contexto do cuidado parental e remonta a grandes distâncias evolutivas, constituindo uma capacidade funcionalmente importante para a sobrevivência e conservada entre as espécies (Decety et al., 2016). No entanto, devido à complexidade do termo, ainda não há na literatura uma definição universal da empatia, o que tem causado definições ambíguas acerca de seus mecanismos (Keum e Shin, 2016). Entretanto, para os autores de Waal e Preston (2017) a empatia pode ser definida como “a sensibilidade emocional e mental ao estado do outro, desde ser afetado e compartilhar esse estado até avaliar as razões para isso e adotar o ponto de vista do outro”. Portanto, essa capacidade de perceber o estado emocional do outro ativa automaticamente representações neurais compartilhadas, que causa no indivíduo observador um estado emocional semelhante (de Waal, 2008).

De uma perspectiva evolutiva, acredita-se que com o aumento da cognição, as formas mais simples de correspondência emocional evoluíram para formas mais complexas, tais como teoria da mente (ToM), altruísmo e compaixão, sendo a empatia o mecanismo que os fundamenta e os explica (de Waal, 2008; Happé et al., 2017). Desse modo, a empatia é fundamental para a interação social, um substrato motivacional dos comportamentos pró-sociais, de cuidado e cooperação entre os membros de um grupo e atua como uma “cola social” deliberadamente importante para construir e manter as relações sociais complexas (Adriaense et al., 2020).

Se a empatia é uma capacidade conservada entre as espécies de assumir a perspectiva ou colocar-se no lugar do outro possibilitando compartilhar emoções e sentimentos (de Waal, 2012), compreender como essa capacidade se desenvolveu ao longo da evolução e quais os mecanismos subjacentes é de grande valia para o entendimento das relações humanas. Seguindo uma abordagem comparativa, Preston e de Waal (2002) descreveram a empatia como um fenômeno de múltiplas camadas e propuseram um modelo da boneca russa que de forma

organizada, unifica os vários sistemas subjacentes à empatia, nos fornecendo um instrumento valioso para o estudo da empatia animal e humana.

O modelo da boneca russa de Preston e de Waal (2002) propõe que a empatia é constituída por várias camadas, as mais internas que formam o seu núcleo, são constituídas por um mecanismo de percepção-ação (PAM) que estabelece a correspondência de estados emocionais entre um indivíduo observador e seu alvo (Preston e de Waal, 2002; de Waal e Preston, 2017) (*Figura 3*). As camadas internas formam a base socioafetiva para as camadas mais externas, que incluem a preocupação empática e a tomada de perspectiva ou ajuda direcionada, que dependem de funções cognitivas mais complexas, nomeadamente do funcionamento das regiões cerebrais pré-frontais. Por essa razão, acredita-se que grande parte dos animais apresentam apenas as camadas internas (Preston e de Waal, 2002; de Waal, 2012; de Waal e Preston, 2017).

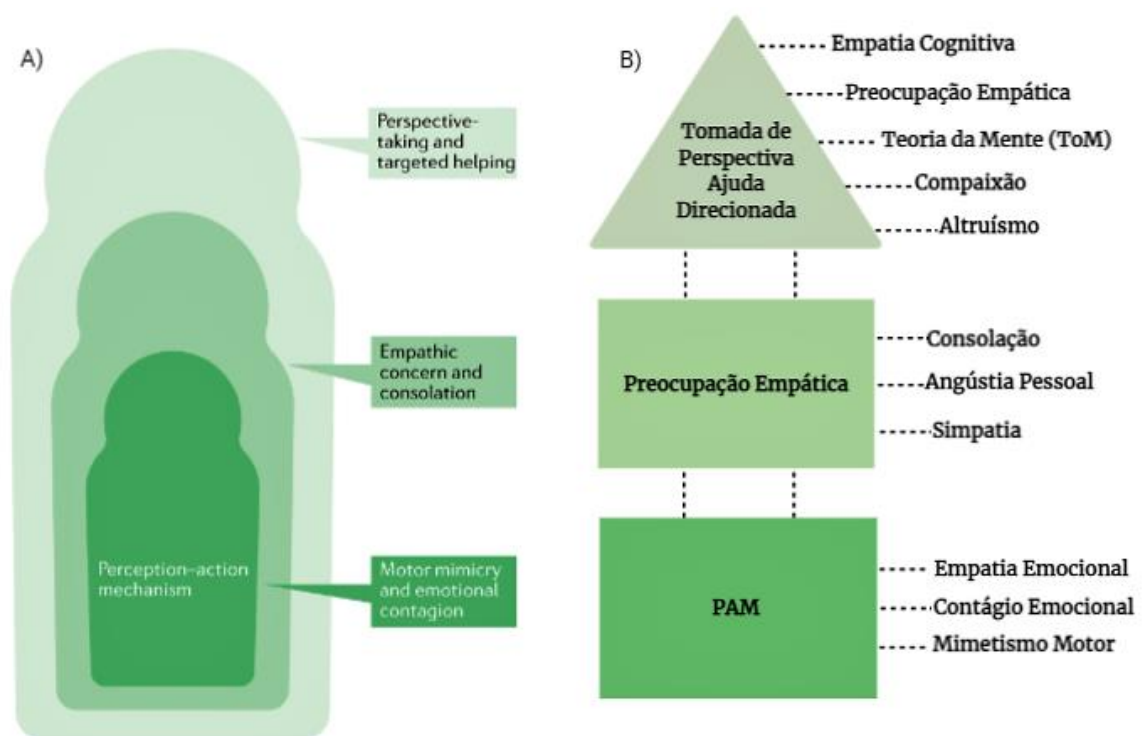


Figura 3: Representação esquemática da evolução da empatia. A) Modelo da boneca russa de empatia em múltiplas camadas. Adaptado de de Waal e Preston (2017). B) Terminologias diferentes utilizadas em estudos da empatia, ver detalhes em (de Waal e Preston, 2017; Pérez-Manrique e Gomila, 2018; Adriaense et al., 2020).

O mecanismo de percepção-ação propõe que o mimetismo motor e o contágio emocional são considerados as formas mais básicas de expressão da empatia (de Waal, 2008).

O mimetismo motor (também descrito como contágio comportamental) ocorre quando um observador copia precisamente o comportamento do demonstrador sem necessariamente copiar a sua emoção (Nakahashi e Ohtsuki, 2015). Um exemplo bem evidente de mimetismo motor é o bocejo contagioso, comportamento bem documentado em seres humanos e outros primatas (de Waal e Preston, 2016) e que está intimamente relacionado com o sistema de neurônios-espelho (Iacoboni, 2009). Outra forma de avaliar o mimetismo motor é por meio da observação da linguagem corporal automática, como também pelas expressões faciais, que podem ser percebidas tanto em animais quanto em seres humanos (Bekkali et al., 2020).

O contágio emocional pode ser definido como a correspondência imediata do estado emocional de um agente observador e um demonstrador (Nakahashi e Ohtsuki, 2018) e é considerado um bloco de construção precursor dos níveis posteriores de empatia, como por exemplo, o comportamento de consolação, uma resposta emocional direcionada ao outro que é impulsionada pelo contágio emocional (Clay e de Waal, 2013) e que foi recentemente descrito em estudos com roedores (Burkett et al., 2016). O contágio emocional já foi avaliado e descrito em estudos diversos com primatas não-humanos, roedores e outros mamíferos e também em pássaros (Palagi et al., 2020).

No entanto, para avaliar o contágio emocional os estudos geralmente têm focado em estados emocionais aversivos e negativos, tais como o medo, a dor e o estresse que são desencadeados por respostas comportamentais diversas (Keum e Shin, 2016). Em roedores, uma resposta comum de medo é o comportamento de congelamento, que pode ser desencadeado num sujeito observador enquanto assiste um parceiro de gaiola numa situação conflitante, como por exemplo, recebendo choques elétricos nas patas, este comportamento é fortemente influenciado pelo grau de familiaridade entre os indivíduos (Gonzalez-Liencre et al., 2014). Estudos recentes têm utilizado um paradigma de derrota social, também conhecido por “paradigma de estresse de derrota social vicária” em que um observador é exposto a testemunhar um coespecífico sofrendo uma derrota (Carnevali et al., 2020). Essa experiência estressante tem consequências fisiológicas e comportamentais no observador, como a superativação do eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenal) e conseqüentemente, aumento dos níveis de corticosterona circundante, juntamente com a ativação da amígdala e respostas comportamentais semelhantes ao do indivíduo demonstrador, sugerindo claramente o contágio emocional do estresse (Carnevali et al., 2020).

É válido ressaltar que o estresse é desencadeado por estímulos ambientais aversivos que ameaçam a homeostase do organismo, que inclui um conjunto de respostas adaptativas

fisiológicas e comportamentais que servem para o enfrentamento dos desafios e sobrevivência (Chrousos, 2009). A ansiedade, num sentido amplo, é caracterizada como uma forma exacerbada de medo e que se apresenta de forma mais difusa. No entanto, podemos considerar o medo como um estado interno do sujeito que o prepara para uma ação diante de estímulos dolorosos ou que preveem um perigo iminente (Gerlai, 2010; Luca e Gerlai, 2012). Esses são conceitos importantes que muitas vezes são utilizados como termos sobrepostos ou semelhantes em pesquisa com animais e essa diferenciação é essencial.

Em alternativa aos roedores outros organismos modelo, tal como o peixe-zebra tem sido utilizado em estudos de contágio do medo e estresse, e foi demonstrado que assim como em roedores, esse comportamento é afetado pela familiaridade (Oliveira et al., 2017; Silva, Leaniz e Luchiari, 2019). No peixe-zebra, as principais reações de medo são desencadeadas pela visualização direta do predador simpátrico, o peixe folha indiano (*Nandus nandus*) ou pela exposição à substância de alarme, uma pista olfativa, que é reconhecida por induzir respostas de medo numa ampla gama de espécies de peixes (Speedie e Gerlai, 2008). Os principais comportamentos observados são a natação errática e a velocidade angular, caracterizadas pelo aumento de velocidade de nado com movimentos rápidos e desregulares, seguidas de episódios de congelamento, caracterizado pela imobilidade total dos movimentos, exceto dos olhos e com ligeiro aumento nos movimentos operculares (Kalueff et al., 2013). Esses comportamentos têm sido avaliados em laboratório com o auxílio de imagens animadas ou reproduções de vídeos e com o auxílio de *softwares* de rastreamento de vídeo que pontuam com precisão as respostas comportamentais do peixe-zebra à estímulos socialmente estressantes (Gerlai, 2017). Por outro lado, estudos utilizando esses recursos computacionais que avaliem o comportamento emocional no peixe-zebra e os mecanismos subjacentes, ainda permanecem inexplorados.

Assim como outros animais, os seres humanos por exemplo, enfrentam situações estressantes frequentemente por estarem inseridos em um ambiente social complexo, e devido à sua capacidade empática estão sujeitos a reagir emocionalmente ao estresse dos outros, um fenômeno que tem sido descrito como “contágio emocional do estresse” ou “ressonância do estresse” (Enger et al., 2019). Essa capacidade de reagir ao estado do outro tem um valor adaptativo, que funciona como um “sensor” que tem a função de transmitir implicitamente as ameaças entre os indivíduos, e paralelamente, auxilia na manutenção das relações sociais, uma vez que age motivando o observador a criar estratégias para auxiliar o alvo (Enger et al., 2019; Yamagishi et al., 2020).

1.4. Comportamento de grupo: conformidade social e saliência

O agrupamento social pode trazer inúmeros benefícios e é ubíquo no reino animal, portanto, compreender como os grupos sociais emergem, se organizam, interagem e funcionam é fundamental para avaliar a natureza do comportamento individual e coletivo (Jolles et al., 2020). No peixe-zebra, uma espécie que é altamente social, a formação dos grupos ocorre pela expressão de dois tipos distintos de comportamento, um deles é o comportamento de agregação, caracterizado pela preferência em ficar próximo de coespecíficos, conhecido como comportamento de cardume (*shoaling*), e o outro, que está associado à integração dos movimentos coordenados entre os membros do cardume, conhecido como *schooling* (Gerlai, 2014). No entanto, os grupos podem ser melhor caracterizados pelo padrão de movimento, como a polarização, que é caracterizada pelo o nível de movimentos coordenados dentro do grupo, e pela coesão, que se refere o grau de proximidade entre os indivíduos do cardume (Gerlai, 2014).

Para o funcionamento do grupo, os indivíduos precisam tomar decisões que refletirão na manutenção e sobrevivência do grupo. Portanto, as decisões coletivas podem ser influenciadas pelas diferenças individuais, uma vez que os indivíduos diferem uns dos outros (variação fenotípica) e expressam traços comportamentais próprios de sua personalidade (Couzin et al., 2011), tais como variação nas respostas metabólicas que estão associadas com a capacidade de forrageamento, seleção de *habitat*, posições de liderança (Metcalf et al., 2015) e comportamentos associados à assunção de riscos (Kareklas et al., 2018), características que podem ter consequências ecológicas e evolutivas (Jolles et al., 2017).

A variação fenotípica que é mantida nas colônias resulta da heterogeneidade individual intra e intergrupar, desempenhando um papel substancial no comportamento coletivo e, conseqüentemente, na modulação do ambiente social (Jolles et al., 2017; Jolles et al., 2020). Relevantemente, Jolles et al. (2020) propuseram uma estrutura para quantificar a variação fenotípica por meio de componentes que caracterizam a heterogeneidade individual e que são essenciais para a compreensão dos mecanismos subjacentes do comportamento coletivo, a saber: componentes fisiológicos, componentes do funcionamento cognitivo e componentes comportamentais (*Figura 4*). Esses componentes compõem a personalidade dos indivíduos (Webster e Ward, 2011) e determinam a sua expressão comportamental e, por conseguinte, a coesão do grupo (Jolles et al., 2020).

Para além dos efeitos da heterogeneidade individual, há também os efeitos do ambiente social que podem moldar as respostas individuais no comportamento coletivo, sendo que as respostas coletivas do grupo podem emergir por intermédio de mecanismos de conformidade social, ou seja, quando os indivíduos decidem adotar o comportamento dos seus vizinhos próximos e conformar-se com o comportamento da maioria (Webster e Ward, 2011; Jolles et al., 2020). Por exemplo, os cardumes de peixes que conformam suas velocidades de nado contribuem para a coesão do grupo (Jolles et al., 2017). Um fator importante no comportamento coletivo, incide na capacidade de o animal ajustar seu comportamento de um contexto para o outro, pois indica alta plasticidade comportamental e favorece a adaptação a condições ambientais instáveis (Couzin et al., 2011; Jolles et al., 2020).

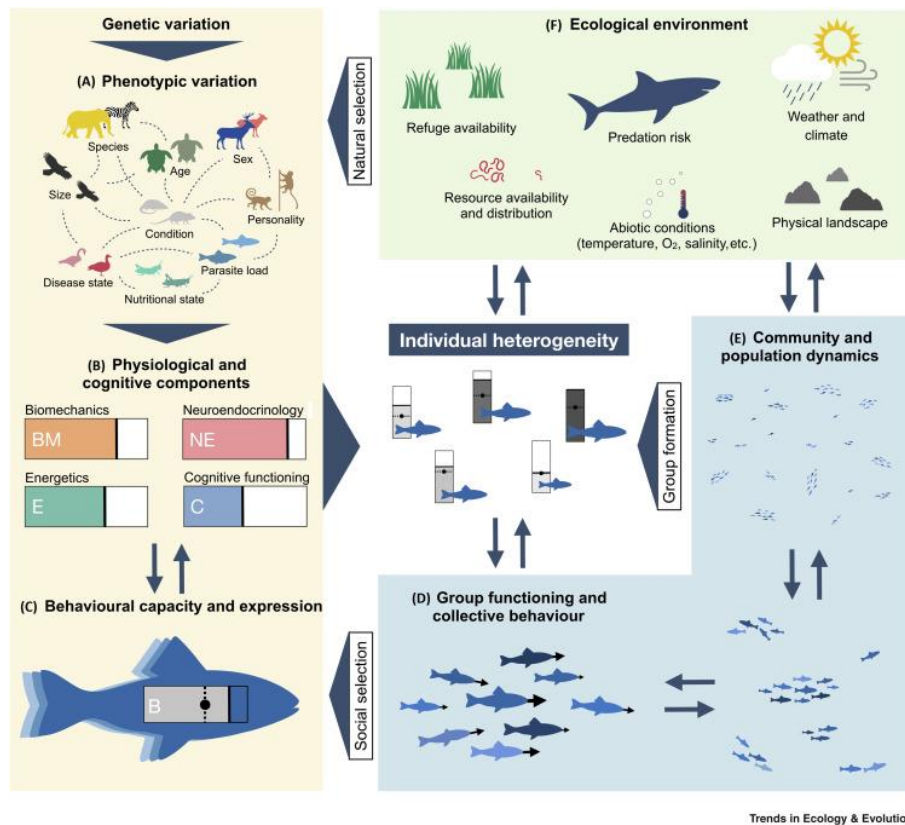


Figura 4: Componentes de quantificação da heterogeneidade individual, sua função no comportamento coletivo e efeitos associados. Retirado de Jolles et al. (2020).

Por outro lado, o comportamento coletivo coordenado exige a transferência rápida de informações entre os indivíduos do grupo que depende de uma rede de comunicação pela qual o comportamento se propaga (Rosenthal et al., 2015). Por exemplo, na presença de um

predador, um sinal de alerta deve ser emitido para que outros indivíduos do grupo percebam a ameaça. Portanto, a transmissão das informações no grupo social depende de um processo denominado contágio social, que facilita que a informação seja captada mais rapidamente (Rosenthal et al., 2015). No entanto, a propagação dos comportamentos na rede social demanda de estratégias de conformidade social entre os indivíduos do grupo, e esses comportamentos socialmente “transmissíveis” implica em contágios comportamentais complexos, pois envolve habilidades do processamento cognitivo (Somveille et al., 2018; Firth, 2020).

Assim como os animais agem em conformidade dentro do grupo, os humanos são fortemente influenciados pelo ambiente social em que os comportamentos, atitudes e opiniões dos outros podem interferir na conduta e decisões pessoais, inclusive pode afetar o processamento cognitivo (Trautmann-Lengsfeld e Herrmann, 2014). A influência dos outros nas decisões pessoais pode assumir diferentes formas do comportamento conformista, que sob a ótica da psicologia social pode ocorrer de duas maneiras distintas: quando as pessoas adaptam seus comportamentos para serem socialmente aceitos num determinado grupo (conformidade normativa) ou quando acatam as opiniões do grupo como uma fonte de informação e conhecimento (Stallen e Sanfey, 2015). Nesse contexto, que a neurociência com o auxílio da neuroimagem tem despendido grande esforço para a compreensão dos mecanismos subjacentes que impulsionam a conformidade social (Stallen e Sanfey, 2015).

Para que um grupo funcione harmonicamente é preciso que haja entre os seus integrantes uma vontade de cooperar uns com os outros como também, a capacidade de agir em conformidade com as regras e se adaptar as preferências e opiniões predominantes no grupo, ao fazer isso os integrantes se beneficiam, garantem a coesão do grupo e evitam conflitos (de Dreu e Kret, 2016). Nesse sentido, devido à relevância da oxitocina no comportamento social, estudos têm demonstrado que a oxitocina intranasal estimula a conformidade do grupo (Stallen et al., 2012) e tem potencial terapêutico para tratamento de uma variedade de psicopatologias e transtornos humanos em que os indivíduos apresentam dificuldades de se adaptar e se conformar com as regras sociais, apresentam confiança e capacidade empática reduzida e têm dificuldades de codificar expressões emocionais e manter laços afetivos, tais como autismo, esquizofrenia e transtornos borderline, por exemplo (de Dreu e Kret, 2016).

Por outro lado, no contexto das relações de grupo há evidências de que os efeitos da oxitocina podem depender do contexto social e também de características interindividuais, tais como traços de personalidade, gênero e condições psicopatológicas (Shamay-Tsoory e Abu-Akel, 2016). De acordo com essa visão, foi recentemente descrito a “hipótese da saliência

social”, que enfatiza a ação da oxitocina na tomada decisão social e seu efeito modulador na saliência a pistas sociais emocionalmente valenciadas (positivas ou negativas), essa hipótese foi elaborada para melhor compreender os efeitos da oxitocina na cognição social (Shamay-Tsoory e Abu-Akel, 2016; Ramsey et al., 2019).

Consoante com essa ideia, Pehlivanoglu et al. (2020) elaboraram um método conceitual denominado “*Modelo Trifásico de Oxitocina (TRIO)*” que relevantemente propõe que a ação modulatória da oxitocina ocorre em três fases de processamento: estágio de percepção (latência curta), a oxitocina age aumentando a percepção para estímulos salientes (sociais e não sociais) que requerem atenção imediata; estágio de seleção (latência média), neste estágio a oxitocina agirá direcionando a atenção para estímulos preferencialmente sociais, geralmente associados à valência e excitação emocional e, finalmente, o estágio de avaliação (latência longa) que os efeitos da oxitocina são focados em estímulos motivados e no processamento cognitivo de ordem superior (Pehlivanoglu et al., 2020).

A hipótese da saliência social da oxitocina tem sido uma estrutura valiosa para a compreensão das ações pró-sociais na cognição social em seres humanos e outros animais, incluindo peixes teleósteos (Ramsey et al., 2019). Por exemplo, no peixe ciclídeo *Neolamprologus Pulcher*, a isotocina aumentou a saliência dos estímulos sociais agindo para desviar a atenção de estímulos não sociais (Reddon et al., 2012) e aumentou a evitação de peixes fêmeas em relação aos machos em um sistema de acasalamento coercitivo, apoiando a conservação da hipótese da saliência social e seu papel importante no desenvolvimento da cognição social (Ramsey et al., 2019).

Resumidamente, a detecção e transferência de informações sociais dentro de um grupo pode envolver dois mecanismos, a saliência que é um processo atencional que está intimamente relacionado à capacidade de filtragem de estímulos salientes (Shamay-Tsoory e Abu-Akel, 2016), que essencialmente caracteriza a força de um estímulo implicando em aumentos absolutos na força do sinal, e o outro a conformidade, que está relacionada ao consenso de decisões sociais coletivas (Sumpter, 2006). A conformidade social é caracterizada por aumentos proporcionais na força do sinal e pode ser considerada um tipo de saliência.

1.5. Oxitocina: neuropeptídeo modulador do comportamento social

Os neuropeptídeos oxitocina e vasopressina estão intimamente relacionados e surgiram como importantes reguladores da cognição e de um espectro de comportamentos sociais e

reprodutivos, e que podem atuar juntamente com outros sistemas de neurotransmissores, agindo central ou periféricamente (Donaldson e Young, 2008; Song e Albers, 2018). Filogeneticamente, acredita-se que os neuropeptídeos evoluíram após a duplicação de genes a partir da molécula ancestral arginina-vasotocina, evento que gerou duas cópias, dando origem aos peptídeos do tipo vasopressina, estando mais envolvida na regulação de comportamentos agonísticos e regulação osmótica, e oxitocina, envolvida na regulação de comportamentos afiliativos e socialidade (Goodson, 2013; Wircer et al., 2016).

Esses neuropeptídeos, também conhecidos por nonapeptídeos, são formados por uma cadeia de nove aminoácidos, dos quais compartilham sete sequências, diferindo apenas em dois deles, nomeadamente na terceira e oitava posições (Stoop, 2012; Song e Albers, 2018) e seus homólogos são expressos em regiões cerebrais de organismos diversos. Desse modo, podemos encontrar isotocina e vasotocina em peixes ósseos e mesotocina e vasotocina em peixes pulmonados, anfíbios, répteis, aves e alguns marsupiais (Donaldson e Young, 2008; Goodson e Thompson, 2010).

A oxitocina é sintetizada nos núcleos hipotalâmicos paraventricular e supraóptico e liberada na corrente sanguínea pelo lobo posterior da glândula hipófise (Pohl et al., 2019). Os efeitos periféricos da oxitocina são muito bem documentados, durante o parto promovendo as contrações uterinas e durante a lactação no reflexo de ejeção de leite (Bell et al., 2014), também pode ser detectada na saliva e urina (Grinevich et al., 2016). No sistema nervoso central a oxitocina é transportada para várias regiões cerebrais, nomeadamente, as que integram a SDMN que expressam seus receptores (*oxtr*) (Figura 5) atuando como neuromodulador e desempenhando um papel fundamental nas interações sociais, modulando uma ampla gama de comportamentos sociais, emocionais, atenuação da ansiedade e respostas ao estresse (O'Connell e Hofmann, 2012; Grinevich e Stoop, 2018; Rogers-Carter et al., 2018).

A sinalização da oxitocina ocorre por meio dos *oxtr*, que pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G (GPCR) no cérebro (Song e Albers, 2018). Nos mamíferos há apenas um tipo de *oxtr*, enquanto que em peixes teleósteos há dois tipos, dado ao processo de duplicação gênica, sendo *oxtr* e *oxtrl*, respectivamente (Nunes et al., 2020). Em arganazes da pradaria (*Microtus ochrogaster*) uma espécie monogâmica altamente social, os *oxtr* são enriquecidos em regiões importantes da SMDN, destacando um papel fundamental na cognição social, na modulação de comportamentos e específicos da espécie, como apego e ligação de pares (Johnson e Young, 2015; King et al., 2016). Estudos recentes têm demonstrado que em arganazes da pradaria machos, os *oxtr* modulam uma rede neural de saliência social, associando

a saliência e a valência aos estímulos sociosensoriais e promovendo a aprendizagem social (Johnson et al., 2017).

OTR expression in mesolimbic social and reward area

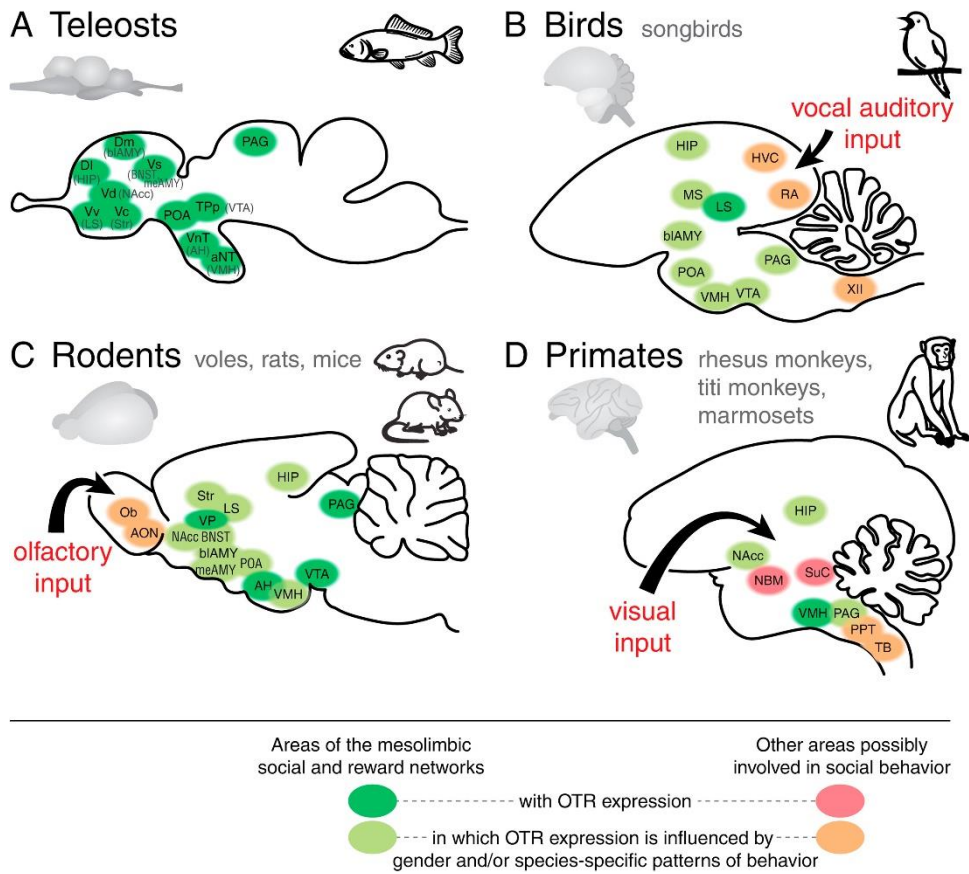


Figura 5: Regiões cerebrais de expressão dos receptores de oxitocina na SDMNs em vertebrados. Retirado de Grinevich et al. (2016).

Em peixes, a isotocina (homóloga à oxitocina) assim como em roedores, tem demonstrado desempenhar um papel modulador da discriminação social baseada na saliência social e valência dos estímulos (Ramsey et al., 2019) e aumentar a preferência para coespecíficos (Braidá et al., 2012). No peixe-zebra, os *oxtr* regulam a preferência social (Landin et al., 2020), o reconhecimento de novidades (memória social) (Ribeiro et al., 2020) e estão envolvidos na regulação de mecanismos perceptivos básicos de detecção de pistas socialmente relevantes (Nunes et al., 2020). Estudos utilizando animais diversos têm demonstrado que a oxitocina influencia os comportamentos maternos de cuidado com a prole e vínculo mãe-bebê (Numan e Young, 2016), reconhecimento social, comportamentos afiliativos (Goodson e Thompson, 2010) e tem sido responsável em induzir o comportamento de consolação (Burkett

et al., 2016). A oxitocina também está implicada na redução das respostas ao estresse e ansiedade durante as interações sociais (Li et al., 2019).

Em humanos, a oxitocina é um importante mediador de comportamentos sociais, desempenhando um papel fundamental na formação de vínculos entre pais e filhos, laços sociais afetivos, está implicada na regulação do estresse social e está eminentemente relacionada com a mentalização, empatia e altruísmo (Hurlemann et al., 2010; Pohl et al., 2019). Estudos realizados com a administração intranasal de oxitocina têm revelado seus efeitos positivos na percepção e reconhecimento emocional de expressões faciais, contato visual aprimorado, comportamentos de cooperação e defesa dentro e fora do grupo e aumento da conformidade social (Huang et al., 2015; de Dreu e Kret, 2016; Tillman et al., 2019). Por outro lado, estudos têm demonstrado que irregularidades no sistema de oxitocina têm implicação nos déficits cognitivos e socioemocionais em diversos transtornos, tais como o transtorno do espectro do autismo (Lozier et al., 2014), esquizofrenia (Couture et al., 2010), psicopatia (Ali et al., 2009) e síndrome de Prader-Willi (SPW) (Grinevich et al., 2015).

1.6. Peixe-zebra como organismo modelo

Ao longo do tempo muitos organismos modelo têm sido utilizados no campo das neurociências a fim de melhor compreender e caracterizar os aspectos da cognição social, do comportamento socioemocional, transtornos neuropsiquiátricos e seus mecanismos neurais subjacentes. Os organismos muitos utilizados têm sido primatas não-humanos e roedores (ratos e camundongos) (Serenó e Tootell, 2005; Mantini et al., 2012; Lu et al., 2012). Entre os primatas não-humanos, macacos e chimpanzés por exibirem capacidades e domínios cognitivos sofisticados, têm sido amplamente utilizados em estudos sobre a modularidade cognitiva, empatia, altruísmo e teoria da mente (ToM), (de Waal, 2007; Adolphs, 2009). Modelos de roedores, como camundongos e arganazes da pradaria, têm sido frequentemente utilizados em estudos de contágio emocional da dor, aprendizado do medo observacional, avaliação dos comportamentos pró-sociais e de consolação (Keum e Shin, 2016; Burkett et al., 2016). No entanto, esses organismos podem oferecer algumas desvantagens, por exemplo, pesquisas com primatas não-humanos envolve altos custos e exige um ambiente altamente controlável, os roedores possuem um ciclo noturno, que dependendo do tipo de estudo, pode ser uma limitação, em neurobiologia por exemplo, para modelar transtornos neuropsiquiátricos humanos pode ser desafiador pela incapacidade de tradução da doença completa nesses animais, visto que muitos

sintomas e comportamentos observados talvez possam não corresponder aos expressos pelos humanos (Żakowski, 2020).

No entanto, para além dos mamíferos outras espécies surgiram como alternativa na neurociência, como o nematódeo (*Caenorhabditis elegans*), a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) e o peixe-zebra (*Danio rerio*) (Kim et al., 2018; Żakowski, 2020). O peixe-zebra, um pequeno teleóstio de água doce que nas últimas décadas vem emergindo como um modelo potente em diversos campos de pesquisa, tais como biologia do desenvolvimento (Franks et al., 2018), neurociência comportamental e translacional (Qin et al., 2014), neurogenética e neurofarmacologia (Bao et al., 2019), etnorobótica (Butail et al., 2013), neurociência social cognitiva (Oliveira, 2013) e ecotoxicologia (Bambino e Chu, 2017).

O peixe-zebra vem ganhando cada vez mais popularidade devido às inúmeras vantagens que oferece (*Figura 6*). É um pequeno vertebrado (3-4 cm de comprimento) de fácil criação e manutenção de baixo custo, é uma espécie altamente prolífica (uma fêmea pode colocar centenas de ovos a cada ciclo de reprodução) com fertilização externa e não exibem cuidado parental, têm um ciclo de desenvolvimento rápido atingindo a idade adulta por volta dos 3 meses de vida (Gerlai, 2012, 2014). Embriões e cérebros transparentes durante a fase inicial do desenvolvimento, com genoma totalmente sequenciado, com alta homologia fisiológica, neuroanatômica e genética com os seres humanos (Panula et al., 2010) e com o avanço das tecnologias de edição de genoma, tais como CRISPR (Hruscha et al., 2013) e TALEN (Clark, et al., 2013), faz do peixe-zebra uma espécie valiosa em manipulações genéticas para modelar distúrbios cerebrais e doenças humanas para avaliar a relação entre o comportamento social com a atividade cerebral (Kalueff, et al., 2014; Tunbak et al., 2020).

O peixe-zebra é uma espécie altamente social (Gerlai, 2010) que expressa uma forte preferência em se agrupar com coespecíficos (Landin et al., 2020), tem a capacidade de discriminar indivíduos conhecidos e desconhecidos (Madeira e Oliveira, 2017) e vivem em grupos mistos (cardumes) com hierarquias de dominância estruturadas (Abril-de Abreu et al., 2015). A preferência de cardume (*shoaling*) nos peixes-zebra já é observada em 7 dias pós-fertilização (dpf) e à medida que vão se desenvolvendo é intensificada (Hinz e Polavieja, 2017). Similar aos seres humanos, a interação social nos peixes-zebra é mediada pelo sistema visual e é estabelecida com base em estímulos visuais de seus coespecíficos (Dreosti et al., 2015), sendo o padrão de coloração um fator determinante no comportamento social e preferência de cardume (Oliveira, 2013).

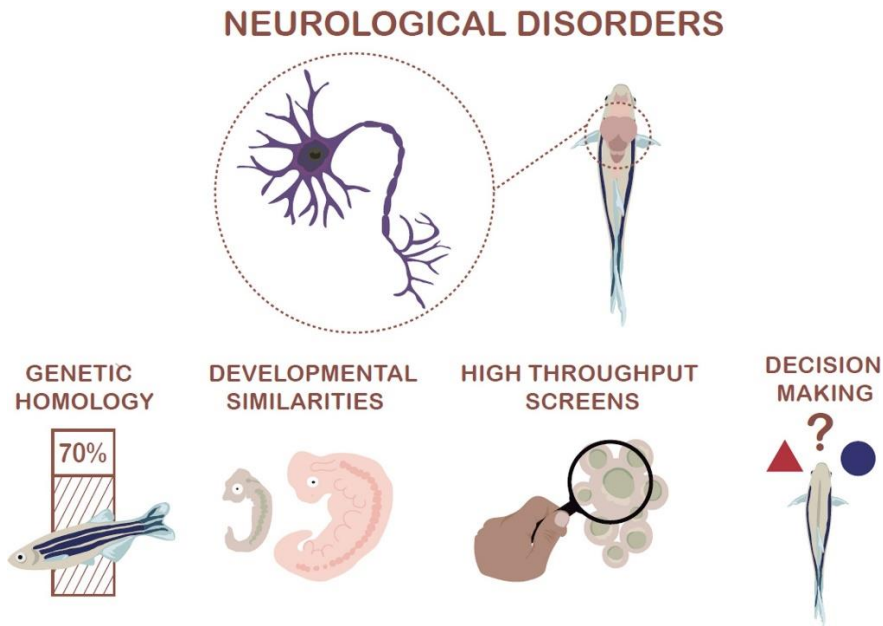


Figura 6: Representação esquemática das vantagens do peixe-zebra em pesquisa translacional. Retirado de Mezzomo et al. (2017).

O comportamento de cardume exerce uma função adaptativa, pois pode facilitar a detecção de predadores mais rapidamente, melhorar as estratégias de forrageamento e sucesso reprodutivo (Gerlai, 2014). Este comportamento pode ser induzido nos peixes-zebras em laboratório por um paradigma denominado teste de preferência social, que avalia a motivação do peixe-zebra focal em aproximar-se do coespecífico (Nunes et al., 2020). Estudos utilizando imagens reais de coespecíficos ou imagens animadas por computador de peixes-zebra em livre movimento e com o auxílio de *softwares* de rastreamento por vídeo, têm demonstrado que apenas a exposição a estes estímulos visuais é suficiente para induzir respostas comportamentais robustas nos peixes-zebra (Qin et al., 2014; Gerlai, 2017).

A utilização dessas ferramentas computacionais também tem sido eficiente para avaliar as respostas comportamentais de estresse e ansiedade no peixe-zebra. Os principais comportamentos relativos à ansiedade podem ser observados por um aumento na velocidade de nado, atividade exploratória reduzida, geotaxia e timotaxia, definidos como comportamentos de mergulho para o fundo do tanque e proximidade com as paredes do tanque, respectivamente. Os comportamentos de estresse são caracterizados por congelamento, que incide na cessação dos movimentos (exceto olhos e brânquias) e pela natação errática, com movimentos rápidos e desregulares (Kalueff et al., 2013). Esse conjunto de respostas comportamentais são exibidos diante de um contexto ameaçador com alto risco de predação.

Na neurociência social cognitiva (Oliveira, 2013) o peixe-zebra tem sido amplamente utilizado como modelo excepcional para avaliação do comportamento social, pois é uma espécie que possui fenótipos afetivos e cognitivos robustos (Gaikwad et al., 2011), apresentam comportamentos afiliativos (Meyza et al., 2017) e exibem flexibilidade comportamental de acordo com sua experiência social (por exemplo, o efeito vencedor e perdedor) (Oliveira et al., 2011).

Além de todas as características mencionadas, sistemas de neurotransmissores já foram identificados no peixe-zebra. Estudos têm demonstrado que o comportamento de cardume do peixe-zebra está relacionado aos níveis de dopamina no cérebro (Buske e Gerlai, 2012). Foi demonstrado que o isolamento social nas fases iniciais do desenvolvimento do peixe-zebra pode afetar a interação social na fase adulta tendo efeitos nos níveis metabólicos de dopamina (Shams et al., 2017). O isolamento social na fase adulta também tem efeitos nos níveis de serotonina no cérebro, em que os comportamentos relacionados à ansiedade são alterados no peixe-zebra (Collymore et al., 2015). Um estudo que utilizou o MK801 (antagonista NMDA-R não competitivo) mostrou que essa droga prejudicou a consolidação e retenção da memória do peixe-zebra (Sison e Gerlai, 2011).

Os neuropeptídeos isotocina e arginina-vasotocina participam na regulação da preferência social no peixe-zebra (Braida et al., 2012) e a oxitocina reverteu a diminuição da preferência social e agressão induzidas por MK-801 (Zimmermann et al., 2016). Um estudo de Landin et al. (2020) mostrou que os dois receptores de oxitocina (*oxtr* e *oxtrl*) estão envolvidos na regulação do comportamento social no peixe-zebra nas fases larval e adulta. Relevantemente, um estudo recente demonstrou que a oxitocina tem um papel organizacional primordial desde o início da vida, responsável por desenvolver a afiliação social no peixe-zebra na idade adulta e pelo desenvolvimento de neurônios de dopamina (Nunes et al., 2020).

Por outro lado, apesar do avanço de descobertas com espécies de mamíferos, estudos que abordem o comportamento emocional em peixes ainda são escassos na literatura, representando uma área promissora de investigação. Portanto, embora sejam assuntos desafiadores, são de extrema relevância para a pesquisa translacional, dada a prevalência de transtornos em seres humanos, tais como o autismo, caracterizado por déficits cognitivos, emocionais e sociais (Meshalkina et al., 2018).

2. OBJETIVOS

Como mencionado anteriormente, o reconhecimento do estado emocional do outro é uma capacidade fundamental que favorece a aprendizagem social, melhora as relações intergrupais e representa um componente fulcral da cognição social. Neste trabalho nos dispomos a investigar de que maneira ocorre a transferência de informações sociais num contexto estressante e se existem limiares entre as informações que são percebidas com as informações para repetir (contagiar) que servem para fins de condicionamento físico.

Pelo fato de haver evidências de que há um sistema evolutivamente conservado entre os táxons, nos faculta a possibilidade de explorar se a transferência de informações sociais neste contexto é regulada pelo neuropeptídeo oxitocina (isotocina em peixes), bem conhecida por estar envolvida na regulação dos comportamentos sociais entre as espécies e por modular muitos aspectos da cognição social. O peixe-zebra é um organismo modelo excelente para avaliar as questões mencionadas, pois apresenta respostas comportamentais robustas e possui uma natureza de alto rendimento. Além disso, já existem poderosas ferramentas genéticas aplicadas ao peixe-zebra, permitindo a geração de linhas mutantes que são amplamente utilizados em diversos campos de estudo.

Desse modo, o objetivo principal deste trabalho foi examinar a neuromodulação da transmissão e reconhecimento de informações de estresse social. Para cumprir com esse objetivo elaboramos as seguintes hipóteses de trabalho:

1. Esses processos dependem da relevância da informação (saliência) e / ou os processos de consenso de transferência de informação (conformidade);
2. Tais processos são modulados pelo mecanismo evolutivamente conservado de sinalização semelhante à oxitocina, implicado no processamento da informação social em peixes e no reconhecimento de valência em mamíferos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Peixes e condições de alojamento

Utilizou-se peixes-zebra (*Danio rerio*) adultos (n=50) das linhas WT (*oxtr*^{+/+}) (n=25) e mutantes do receptor de oxitocina KO (*oxtr*^{-/-}) (n=25). A mutação da linhagem foi realizada e fornecida pelo Instituto Weizmann de Ciência (Israel) e o cruzamento e manutenção dos animais foram realizados no Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC, Portugal). Os peixes-zebra foram alojados em grupos de sexo misto e mantidos em um sistema de suporte de vida (SSV) de recirculação de água (Tecniplast) com fotoperíodo de 14h claro/10h escuro. Os parâmetros de qualidade da água foram controlados: temperatura a 28° C, pH 7,0, condutividade 750 µS, nitritos (<0,2 ppm), nitratos (<50 ppm) e amônia (0,01-0,1 ppm). Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (exceto no dia dos experimentos) com alimentos vivos (*Paramecium caudatum* e *Artemia* salina recém-eclodida) e flocos de alimentos secos comerciais (Gemma). Todas as experiências foram realizadas de acordo com as diretrizes e regulamentos cabíveis, revisados e aprovados pelo Comitê de Ética do Instituto Gulbenkian de Ciência e não envolveu procedimentos considerados pela legislação portuguesa competente (Direção Geral de Alimentação e Veterinária – DGAV).

3.1.1. Geração de mutante para o receptor *oxtr*

A linha de peixe-zebra mutante *oxtr* (ZFIN ID: ZDB-ALT-190830–1) usada neste estudo foi gerada utilizando a ferramenta de edição de genoma TALEN (nucleases com efetores do tipo ativador transcricional) fornecida pelo laboratório do Dr. Gil Levkowitz (Instituto Weizmann de Ciência, Israel). Essa linha de peixes mutantes *oxtr* vem sendo estudada pelos pesquisadores do Grupo de Biologia Integrativa do Comportamento do IGC, liderado pelo Dr. Rui Oliveira, Investigador Principal. A especificação dessa linha está descrita em trabalhos recentes do grupo (Nunes et al., 2020; Ribeiro et al., 2020).

3.2. Configuração comportamental

A configuração experimental (*Figura 7*) utilizada neste estudo consistiu em um tanque de vidro retangular medindo 50 x 39 x 25 cm. O tanque continha três compartimentos: uma área

central maior onde o peixe-zebra focal foi inserido e duas áreas externas iguais que foram delimitadas por duas partições removíveis de acrílico transparente. Em cada lado do tanque foram acoplados dois monitores de LCD (ASUS LED 23.6" VS247HR) que foram utilizados para a apresentação dos estímulos durante os experimentos. Esses monitores estavam conectados a um computador (ASUS ESC300 G4, monitor LCD 24") que foi utilizado para controlar a reprodução e sincronização dos vídeos. As paredes externas do tanque de teste foram isoladas por uma cobertura branca opaca, exceto as adjacentes aos monitores. Na parte superior do aparato foi fixada uma mini câmera de vigilância em preto e branco com sensibilidade infravermelho (Henelec, 300B) posicionada acima do tanque de teste e conectada a um *laptop* (HP Pavilion g6) usando um *software* de gravação de vídeo. A configuração foi iluminada por luzes de LED infravermelho, não interferindo assim na visão dos peixes, e a fim de aumentar a qualidade da imagem e otimizar o rastreamento de vídeo que foi realizado subsequente. Toda a configuração foi coberta por uma lona preta para evitar a influência de estímulos visuais externos e durante os experimentos nenhuma pessoa foi autorizada a entrar na sala.

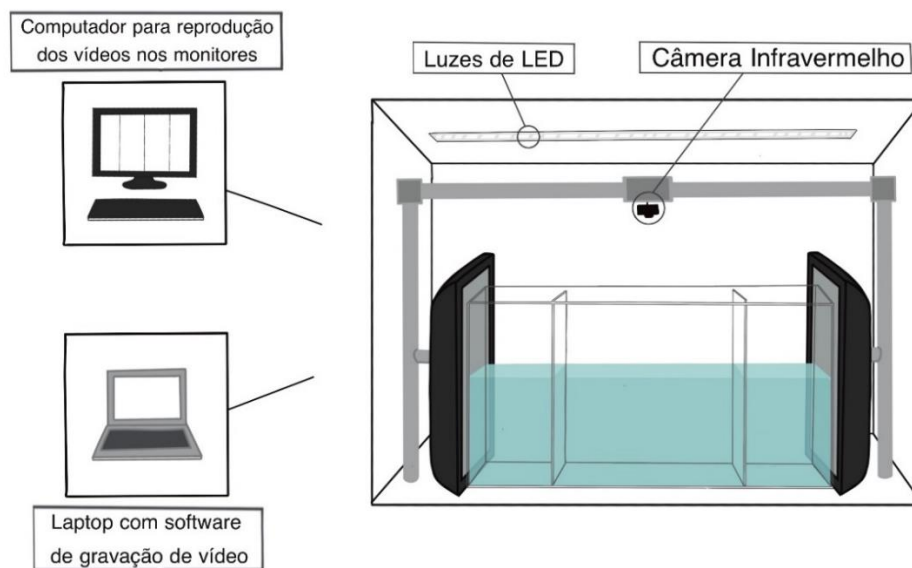


Figura 7: Representação esquemática da configuração experimental. O tanque foi dividido em três compartimentos, uma área central maior e outros dois idênticos, constituídos por partições removíveis de acrílico transparente, que foram removidas no período de teste de preferência. Os monitores de LCD estavam conectados a um computador que foi utilizado para a reprodução dos vídeos de estímulos. Um *laptop* conectado à câmera infravermelha e ao computador foi utilizado para a gravação dos vídeos. O aparato foi iluminado por luzes de LED.

3.3. Procedimentos experimentais

Os peixes-zebra foram retirados na instalação de peixes da instituição e transferidos para a sala de gravação de vídeos sempre um dia anterior aos experimentos. Os peixes foram alojados individualmente em tanques de vidro opacos (10,5 x 10,5 x 10,5 cm) e isolados durante a noite para aclimatação com o ambiente. Os tanques foram preenchidos com a água retirada do sistema de suporte de vida (SSV) garantindo os padrões de qualidade da água e bem-estar dos peixes, a temperatura da sala foi mantida a 28°C e fotoperíodo de 14h claro/ 10h escuro. O tanque de teste também foi mantido nas mesmas condições.

3.3.1. Teste de Contágio e Preferência Social

No dia seguinte ao isolamento, o peixe-zebra focal (observador), foi inserido no compartimento central do tanque de teste onde permaneceu por um período de 10 minutos para aclimatação (*Figura 8*). Nessa fase de aclimatação foi exibido em ambos os monitores um vídeo contendo um *background* vazio. Passado o período de aclimatação, durante 5 minutos (fase de observação), foi exibido em cada monitor um tipo de vídeo, um deles consistia em um vídeo de estímulo em que os peixes demonstradores apresentavam comportamentos de estresse (natação errática e congelamento) e comportamento neutro (natação regular). O congelamento e a natação errática são respostas comportamentais antipredatórias que o peixe-zebra exibe quando uma ameaça é detectada, seja pela visualização de um predador simpátrico ou pela substância de alarme (Speedie e Gerlai, 2008; Kalueff et al., 2013). O outro, consistia em um vídeo de controle em que os peixes demonstradores apresentavam apenas comportamento neutro, isto é, nadando na mesma direção e velocidade. Esses dois tipos de vídeos (estímulo e controle) foram exibidos em simultâneo para cada animal de teste durante a fase de observação. O vídeo de estímulo exibiu estresse periódico, ou seja, mudança entre comportamento neutro e estresse em um número absoluto de peixes (saliência: 1 < 2 < 4) ou uma proporção de peixes (conformidade: 1/4 < 2/4 < 3/4 < 4/4), enquanto na tela de controle o mesmo número de demonstradores foi exibido, mas todos mantiveram comportamento neutro (*Figura 9*). O vídeo de estímulo tinha duração total de 5 minutos, visto que os comportamentos de estresse e neutro foram intercalados a cada 45 segundos até o tempo total do vídeo.

Após a fase de estímulos, as partições do tanque de teste foram levantadas e o peixe-zebra observador foi autorizado a explorar a arena pelo período de 10 minutos (fase de teste).

Nessa fase foi exibido um vídeo de controle em ambos os monitores. A ordem de apresentação dos estímulos na fase de observação foi randomizada entre os dois monitores e todos os comportamentos foram gravados em vídeo para posterior rastreamento e análise comportamental *offline*. Nesse trabalho todos os peixes foram testados igualmente em todas as condições de teste, saliência e conformidade e a ordem em que cada peixe foi testado em cada condição foi aleatória.

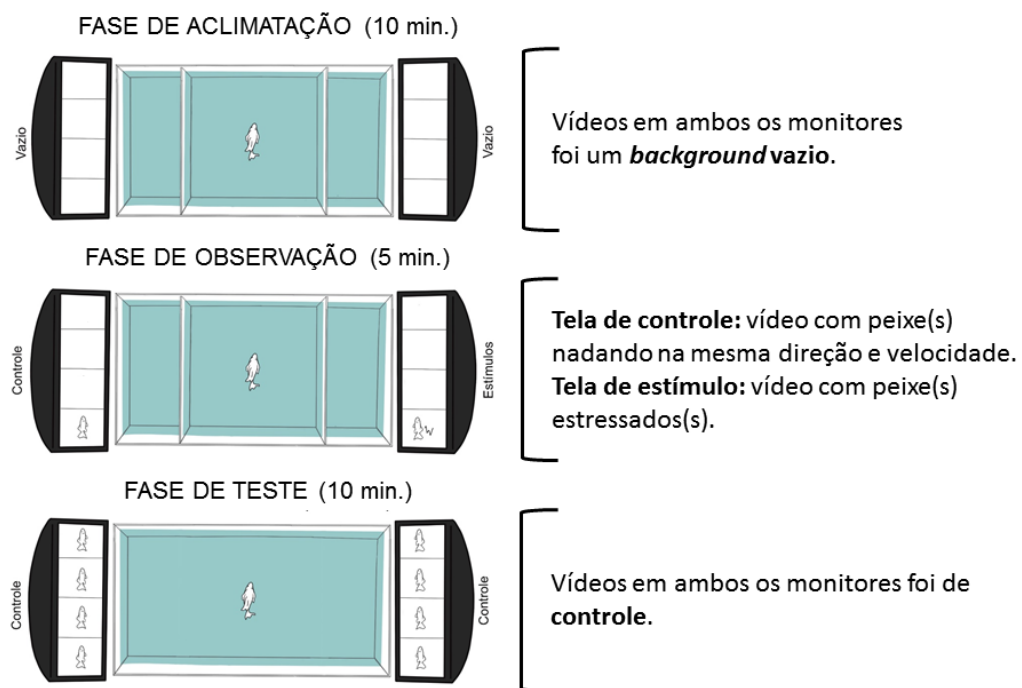


Figura 8: Representação esquemática do procedimento experimental. Fase de aclimação: o peixe focal foi introduzido no centro do tanque por um período de 10 minutos, sendo exibido nos monitores um *background* vazio. Fase de observação: no período de 5 minutos foi exibido em uma das telas vídeos contendo peixe estressado e na outra tela apenas vídeo de controle. Os estímulos variavam com a condição de teste (saliência ou conformidade) e o lado da tela de estímulo foi randomizado. Fase de teste: as partições foram removidas e o peixe foi autorizado a explorar a arena no período de 10 minutos. Em ambas as telas foi apresentado vídeos de controle.

3.4. Reproduções de vídeo e estímulos

Os vídeos que utilizamos em nossos experimentos foram elaborados para um outro experimento do mesmo laboratório. Para a gravação da atividade de linha de base e da resposta à substância de alarme, que consiste numa pista olfativa que é produzida pelas células

epidérmicas e liberada quando a pele do peixe é danificada (Speedie e Gerlai, 2008), peixes-zebra demonstradores foram aclimatados durante a noite em tanques individuais (10,5 x 10,5 x 10,5 cm) com paredes opacas para minimizar a interferência de estímulos externos, e seus comportamentos foram gravados. Após esse período, a substância de alarme foi fornecida e os comportamentos de estresse (congelamento e natação errática) foram gravados. As gravações foram realizadas com uma câmera *goPro* (hero 3, resolução de 1080 pixels). Posteriormente, todos os vídeos foram manipulados usando o *software VSDC Video Editor* (versão 6.4.7.155, Flash-Integro MultiLab LLC, 2011-2020), as criações das réplicas de peixe-zebra foram cuidadosamente manipuladas, mantendo o padrão de cores e de movimento típicos da espécie e todos os estímulos utilizados nas experiências foram exibidos nos monitores como imagens em tamanho real.

Para os experimentos, havia essencialmente 3 tipos de gravações: uma com o *background* vazio, uma com o peixe demonstrador na linha de base / estado neutro e uma com o demonstrador respondendo ao alarme (estressado). Duas reproduções de cada tipo de gravação foram obtidas de dois demonstradores diferentes, um peixe macho e um peixe fêmea, utilizados com o objetivo de refletir a variação interindividual e intersexual. Em nossos experimentos em cada teste realizado os vídeos exibiram sempre 4 reproduções paralelas do mesmo demonstrador.

Durante a fase de aclimação, todas as reproduções exibiram o *background* vazio em cada monitor. Na fase de observação as reproduções exibiram dois tipos de vídeo, um contendo peixes alarmados (estímulo) e o outro contendo peixes em estado neutro (controle). Na fase de teste em ambos os monitores foram exibidos vídeos de peixes em estado neutro (controle). Na condição de teste conformidade os vídeos de controle continham um cardume de 4 peixes em estado neutro e os vídeos de estímulos continham dois tipos de informações (peixes alarmados vs peixes em estado neutro) e a proporção de peixes alarmados variou em cada teste ($1/4 < 2/4 < 3/4 < 4/4$) (*Figura 9*). Na condição de teste saliência tanto os vídeos de controle quanto os vídeos de estímulos, continham um número absoluto de peixes ($1 < 2 < 4$) a diferença é que no controle continham peixes em estado neutro e no estímulo continham peixes alarmados, ou seja, os vídeos de estímulo da saliência continham apenas um tipo de informação (peixes alarmados).

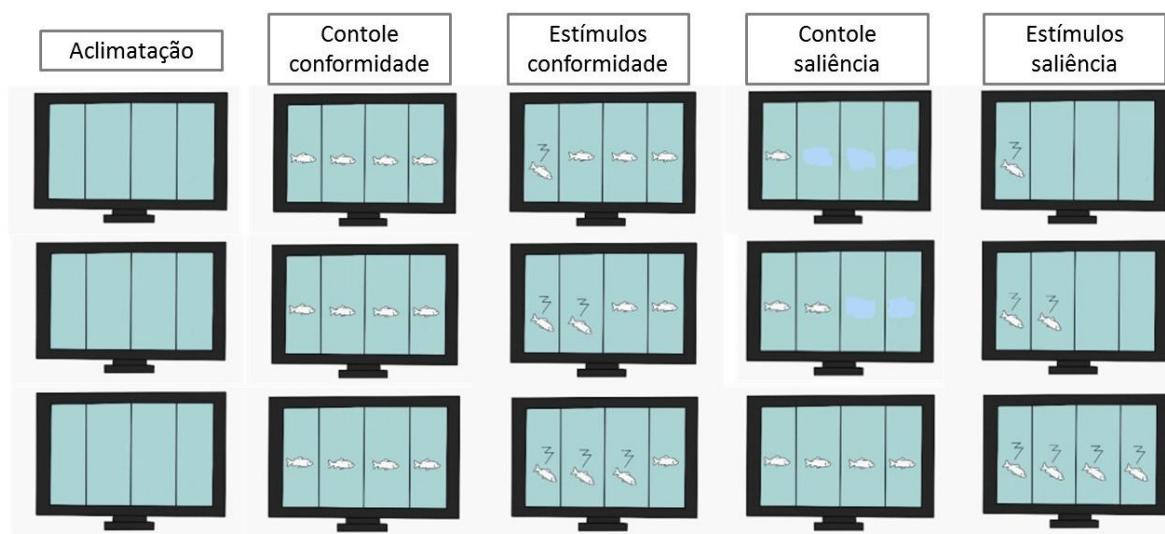


Figura 9: Representação esquemática dos estímulos que foram utilizados nas experiências. Aclimação: *background* vazio. Controle: peixes em estado neutro. Condição conformidade: a tela de estímulo continha peixe (s) alarmados (s) e peixe (s) em estado neutro (s). Em cada teste a proporção de peixe (s) foi aumentando ($1/4 < 2/4 < 3/4 < 4/4$). Condição saliência: a tela de estímulo só continha peixe (s) alarmados (s). Em cada teste o número absoluto de peixes aumentou ($1 < 2 < 4$).

3.5. Análise comportamental de dados

Para avaliar se as respostas dos peixe-zebras (observadores) em relação a outros indivíduos estressados (demonstradores, reproduções de vídeo) depende da conformidade, ou seja, do consenso de decisão entre os indivíduos de um grupo social, expusemos os peixe-zebras observadores a três condições de teste em que a proporção de coespecíficos estressados foi aumentando em relação aos não-estressados ($1/4 < 2/4 < 3/4 < 4/4$). Exploramos também, se as respostas dependem da saliência, ou seja, se a detecção dos estímulos sociais relevantes depende de aumentos absolutos do número de indivíduos que expressam o comportamento ($1 < 2 < 4$) e avaliamos o efeito do genótipo para cada tratamento. O tratamento 4 foi utilizado tanto na conformidade quanto na saliência e foi usado como referência máxima.

Em todos os experimentos comportamentais, os peixes foram filmados de uma perspectiva de cima para baixo com o auxílio de uma mini câmera de vigilância em preto e branco (Henelec 300 B) que estava conectada a um *laptop* (HP Pavilion g6) usando um *software* de gravação de vídeo *Pinnacle Studio 14* (Corel Corporation, Ottawa, Canadá). Todos os vídeos dos experimentos foram importados e analisados utilizando o sistema de rastreamento de vídeo *EthoVision XT 11.0* (Noldus Information Technologies, Wageningen, Holanda). Para o

rastreamento dos vídeos comportamentais foi definido uma região de interesse (ROI) na arena, correspondente ao tempo gasto pelo peixe focal em cada região delimitada na arena (esquerdo, centro e direito) (Figura 10).

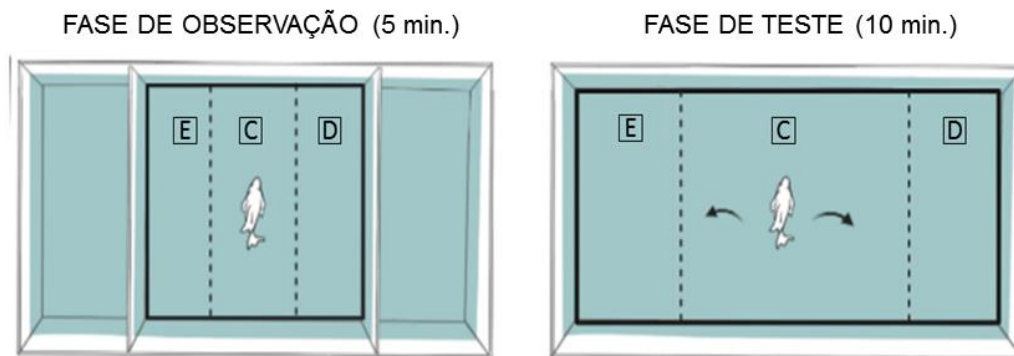


Figura 10: Representação esquemática da região de interesse (ROI) da arena. Fase de observação: a arena foi delimitada em esquerdo, centro e direito. Nessa fase foram extraídas medidas de atenção, estresse e ansiedade. Fase de teste: a arena foi delimitada em esquerdo, centro e direito. Nessa fase foram extraídas medidas de exploração e preferência.

Usamos este *software* para extrair das gravações de vídeo medidas comportamentais durante a fase de observação e também da fase de teste. Foram usadas para cada caracterização comportamental / cognitiva para posterior análise as seguintes medidas: a orientação ($^{\circ}$), que é uma medida que indica o grau de posição corporal do peixe focal em direção ao estímulo (0° a 180°); a velocidade angular ($^{\circ}/s$) que é o valor absoluto da mudança de grau na orientação por segundo; o congelamento (%) que indica a porcentagem de tempo que o peixe passou imóvel; a velocidade média (cm/s) que é a distância percorrida por segundo; a distância média (cm), que foi considerada uma medida de timotaxia, pois mede a distância média que o peixe passou próximo às paredes do tanque; a distância total percorrida (cm) que indica a atividade exploratória do peixe ao longo do ensaio e a preferência (%) uma medida que indica a porcentagem de tempo gasto em cada região de interesse da arena. Após a extração das medidas comportamentais, todos os dados foram exportados em planilhas Excel (Microsoft Corporation® 2016).

É importante salientar que a velocidade angular e o congelamento foram usados para quantificar o contágio, pois essas medidas refletiram respectivamente o movimento errático e o congelamento observados nos vídeos de estímulo. A velocidade angular consiste em

mudanças de direção rápidas e alternadas no movimento com uma taxa de giro, e o congelamento que é caracterizado pela cessação dos movimentos (exceto olhos e brânquias), são respostas comportamentais de estresse bem documentadas no peixe-zebra (Kalueff et al., 2013). A timotaxia em nosso estudo foi utilizada como uma medida para avaliar a ansiedade, isto é, uma preferência de proximidade com as paredes do tanque, um comportamento em que os peixes nadam rapidamente em movimentos de “vai-e-vem” contra à parede do tanque. A timotaxia pode ser considerada como um comportamento de fuga no peixe-zebra diante de um contexto ameaçador (Blaser, Chadwick e McGinnis, 2010).

3.6. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas no *software* estatístico Minitab® (versão 17.1). Em nossas análises modelamos os comportamentos dos peixes-zebra focais (observadores) como um modelo linear de efeito misto (LMM) (Schielzeth et al., 2020) que foi utilizado a fim de testar as diferenças entre os genótipos WT (*oxtr*^{+/+}) e mutante de oxitocina KO (*oxtr*^{-/-}) e os efeitos nos tipos de tratamento (1, 2, 3 e 4). Em nosso estudo utilizamos 3 LMMs, um para cada condição de teste, conformidade e saliência e outro para comparações entre ambas as condições.

Para cada medida comportamental no LMN, usamos o genótipo como efeito fixo, o tratamento como covariável, a identificação do peixe (Id) como fator aleatório e avaliamos a interação entre eles. Pelo fato que em nossas experiências todos os peixes foram expostos em todas as condições de testes, avaliamos para todas as medidas da fase de observação o primeiro teste que cada peixe foi exposto, conforme a randomização dos testes realizada antes do início dos experimentos. Essa análise foi realizada para averiguar efeitos de habituação, os quais não foram detectados (*Figuras Suplementares 1 a 10*). Os resultados são apresentados de acordo com os parâmetros de melhor ajuste do LMM, e o nível de significância utilizado para todos os testes foi de $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

Durante a observação examinamos a atenção (orientação ao estímulo) e as mudanças no comportamento do estresse, tanto em termos de comportamentos observados nos demonstradores para examinar o contágio, isto é, o congelamento e a velocidade angular, quanto a outros comportamentos atribuídos à ansiedade geral, como a timotaxia e a atividade locomotora. Durante o teste, medimos as mudanças na motivação, ou seja, os níveis de exploração e as preferências locais para examinar o reconhecimento do estresse durante a fase de observação.

4.1. Efeitos de conformidade

Para avaliar se a atenção do peixe-zebra às informações em um ambiente com risco de predação depende de aumentos proporcionais do número de coespecíficos que expressam determinados comportamentos, analisamos por 5 minutos a posição corporal (corpo total) dos peixes-zebra observadores em orientação aos estímulos dentro de uma região de interesse (ROI) delimitada na arena do tanque de teste. Nossos resultados demonstraram que na fase de observação da condição de teste conformidade nenhum efeito significativo para a orientação foi encontrado para nenhum dos tratamentos (1,2,3 e 4) ($P = 0.144$). Também não foram encontrados efeitos no genótipo, WT ($oxtr^{+/+}$) e KO ($oxtr^{-/-}$) ($P = 0.482$) e de interação entre tratamento e genótipo ($P = 0.683$).

Em seguida, examinamos se os peixes observadores, quando expostos às reproduções de vídeos contendo peixes alarmados (estímulo) e peixes em estado neutro (controle) exibiriam comportamentos antipredatórios, relativos ao contágio do estresse. Nossos resultados mostraram que os peixes-zebra observadores do genótipo WT ($oxtr^{+/+}$) passaram mais tempo congelando em relação aos peixes mutantes KO ($oxtr^{-/-}$) e um efeito significativo foi detectado ($R^2 = 0.082$, $F_{1, 199} = 5.77$, $P = 0.017$) (Figura 11). Um efeito semelhante foi obtido para a resposta de velocidade angular, também para o genótipo WT ($oxtr^{+/+}$) ($R^2 = 0.069$, $F_{1, 199} = 5.36$, $P = 0.022$) (Figura 12), por outro lado, nenhum efeito significativo para nenhum tratamento foi observado nem para o congelamento ($P = 0.744$) e nem para a velocidade angular ($P = 0.578$). Efeitos de interação também não foram encontrados para o congelamento ($P = 0.454$) e velocidade angular ($P = 0.410$). Finalmente, avaliamos se os peixes observadores diante das mesmas condições acima mencionadas, exibiriam comportamentos relativos à

ansiedade, ou seja, aumento da atividade locomotora e proximidade com as paredes do tanque de teste (velocidade e timotaxia, respectivamente). Nossos resultados mostraram que, quando expostos aos estímulos estressantes, os peixes observadores apresentaram um aumento na velocidade média de natação, e um efeito principal foi observado para o tratamento 4 ($R^2 = 0.017$, $F_{1, 199} = 7.39$, $P = 0.007$), além disso, um efeito de interação entre o genótipo WT (*oxtr*^{+/+}) e o tratamento 4 foi detectado ($R^2 = 0.018$, $F_{1, 199} = 3.88$, $P = 0,05$) (Figura 13). No entanto, para a timotaxia nenhum efeito significativo foi encontrado para o tratamento ($P = 0.458$), genótipo ($P = 0.404$) e interação ($P = 0.061$).

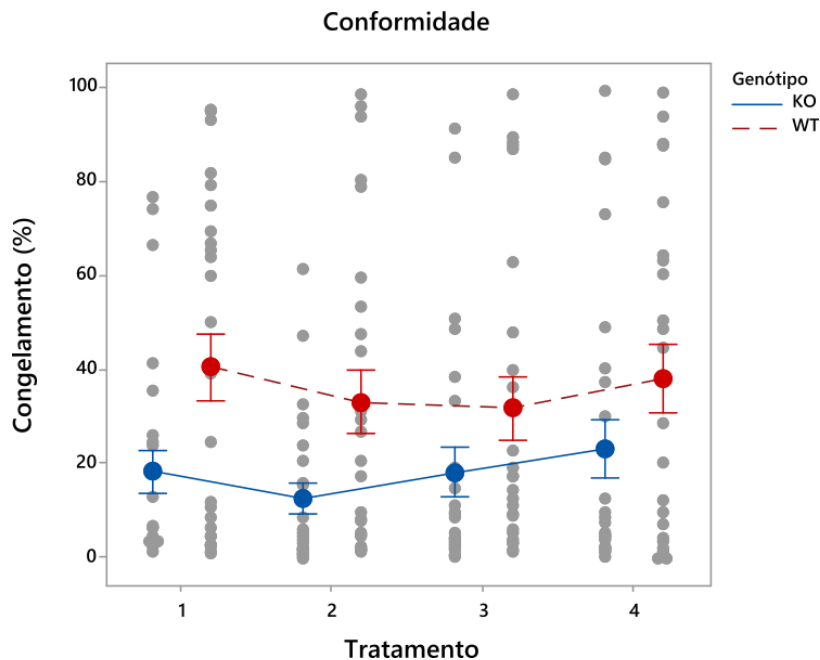


Figura 11: Gráfico exibindo um efeito significativo para a resposta de congelamento na condição de teste conformidade para o genótipo WT.

Na fase de teste realizada posteriormente à fase de observação, avaliamos por 10 minutos se os peixes observadores, quando expostos às reproduções de vídeos de controle (peixes em estado neutro), apresentariam níveis de exploração e preferências locais relativas aos estímulos que foram apresentados na fase antecedente. Nossos resultados demonstraram que para a atividade exploratória (distância percorrida), nenhum efeito principal foi detectado para o tratamento ($P = 0.800$), genótipo ($P = 0.072$) e interação ($P = 0.364$). Da mesma forma

aconteceu para a preferência, nenhum efeito foi encontrado para o tratamento ($P = 0.541$), genótipo ($P = 0.933$) e interação ($P = 0.814$) (Figura suplementar 8).

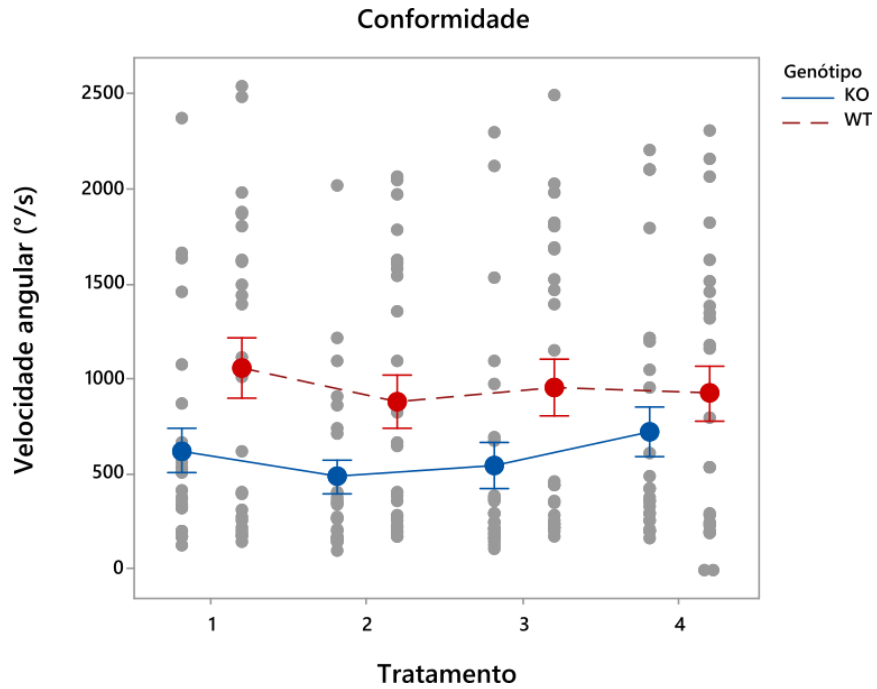


Figura 12: Gráfico exibindo um efeito significativo para a resposta de velocidade angular na condição de teste conformidade para o genótipo WT.

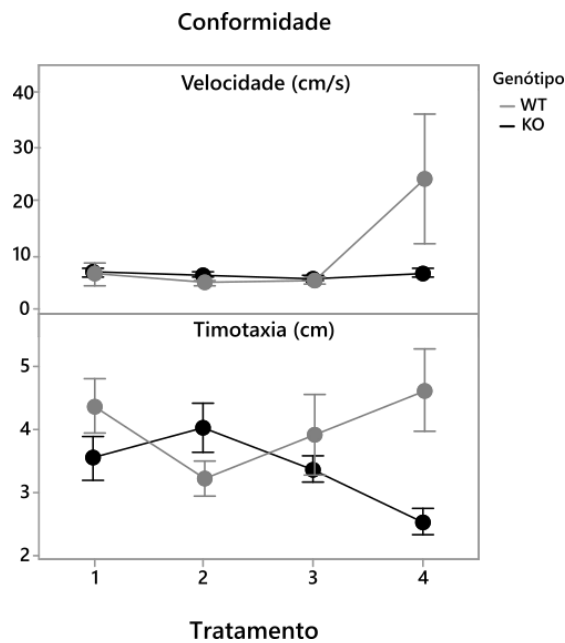


Figura 13: Gráfico exibindo os efeitos para velocidade média e timotaxia para o genótipo da condição de teste conformidade.

4.2. Efeitos de saliência

Na condição de teste saliência, avaliamos se a atenção do peixe-zebra às informações depende de aumento do número absoluto de coespecíficos que expressam determinados comportamentos. Quando avaliamos a orientação na fase de observação, um efeito significativo foi detectado apenas para o tratamento 2 ($R^2 = 0.011$, $F_{1, 149} = 4.34$, $P = 0.039$) (Figura 14). Por outro lado, nenhum efeito foi encontrado para o genótipo ($P = 0.654$) e interação ($P = 0.108$).

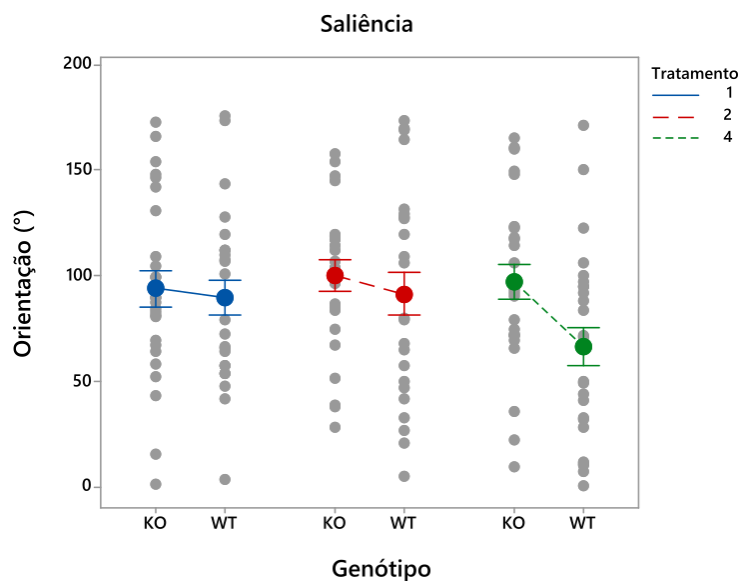


Figura 14: Gráfico exibindo um efeito significativo para o tratamento 2 da orientação na condição de teste saliência.

Em seguida, quando avaliamos a o contágio do estresse, nossos resultados demonstraram que a resposta de congelamento, embora tenha demonstrado visualmente uma diferença para o genótipo WT (*oxtr*^{+/+}), não foram detectados efeitos significativos ($P = 0.092$), também não teve efeitos para o tratamento ($P = 0.941$) e interação ($P = 0.965$) (Figura suplementar 9). O mesmo aconteceu para a resposta de velocidade angular, nenhum efeito estatisticamente significativo foi observado para o tratamento ($P = 0.245$), genótipo ($P = 0.073$) e interação ($P = 0.583$) (Figura suplementar 10). Ao avaliar as respostas de ansiedade, nossos resultados demonstraram que foi detectado um efeito significativo para a velocidade média de natação para o tratamento 4 ($R^2 = 0.022$, $F_{1, 149} = 6.68$, $P = 0.011$) (Figura 15), porém não foram encontrados efeitos no genótipo ($P = 0.383$) e interação ($P = 0.072$). Por outro lado, a

timotaxia apesar de demonstrar uma diferença visualmente maior para o genótipo WT (*oxtr*^{+/+}), não foi estatisticamente significativo ($P = 0.867$) (Figura Suplementar 11). Também não foram encontrados efeitos significativos para o tratamento ($P = 0.284$) e interação ($P = 0.079$).

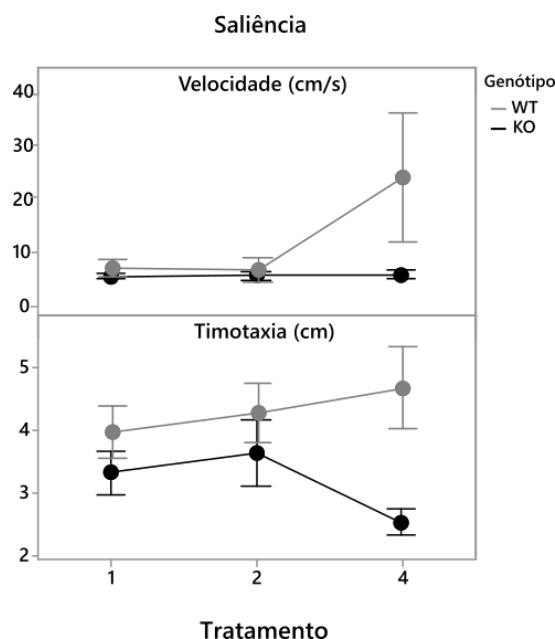


Figura 15: Gráfico exibindo os efeitos para velocidade média e timotaxia para o genótipo da condição de teste saliência.

Na fase de teste, assim como ocorreu na condição conformidade, quando avaliamos a atividade exploratória (distância percorrida), nenhum efeito principal foi detectado para o tratamento ($P = 0.271$), genótipo ($P = 0.781$) e interação ($P = 0.280$). Da mesma forma aconteceu para a preferência, nenhum efeito foi encontrado para o tratamento ($P = 0.887$), genótipo ($P = 0.965$) e interação ($P = 0.689$) (Figura suplementar 8).

4.3. Comparações entre a conformidade e a saliência absoluta

Para além de avaliar os efeitos do tratamento, do genótipo e da interação entre eles para a atenção, contágio do estresse, exploração e preferência, fizemos comparações entre as condições de teste (conformidade vs. saliência) para os tratamentos (1,2 e 4) e genótipo. Nossos resultados demonstraram que na fase de observação quando avaliamos a orientação entre as

duas condições de teste, não foi detectado nenhum efeito significativo para o tratamento ($P = 0.081$), genótipo ($P = 0.465$) e teste ($P = 0.555$). Também não foram verificados efeitos de interação entre tratamento, genótipo e teste ($P = 0.723$). Em seguida, quando avaliamos o contágio do estresse, nos resultados mostraram que foi detectado um efeito significativo para o genótipo WT (*oxtr*^{+/+}) na resposta de congelamento ($R^2 = 0.085$, $F_{1, 299} = 5.68$, $P = 0.018$), porém não encontramos efeitos significativos para o tratamento ($P = 0.899$) e interação ($P = 0.684$). Em relação à velocidade angular nossos resultados mostraram um efeito significativo para o genótipo WT (*oxtr*^{+/+}) ($R^2 = 0.056$, $F_{1, 299} = 5.18$, $P = 0.024$) (Figura 16), no entanto, não foram encontrados efeitos significativos para o tratamento ($P = 0.568$) e interação ($P = 0.799$).

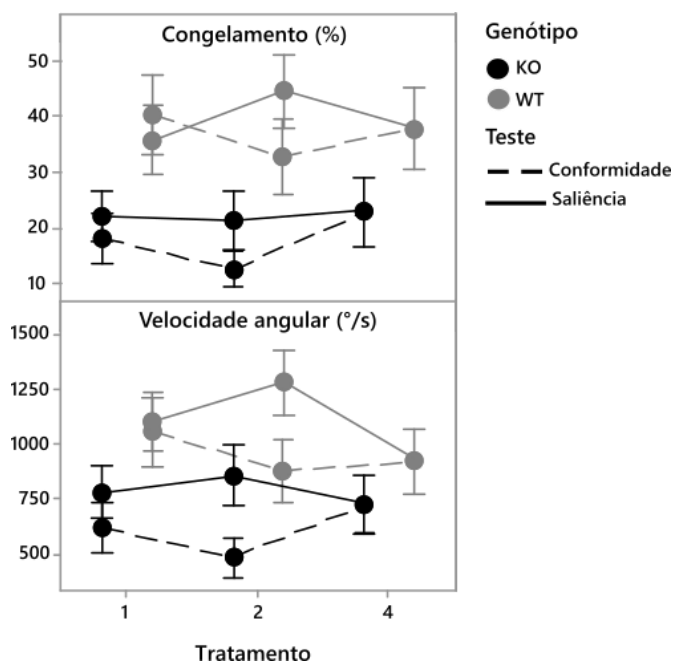


Figura 16: Gráfico da comparação entre as condições de teste (conformidade vs. saliência) para as respostas de contágio do estresse (congelamento e velocidade angular) para os tratamentos 1, 2 e 4 e genótipos WT e KO.

Em relação às respostas de ansiedade, nossos resultados demonstraram um efeito significativo para a velocidade média no tratamento 4 ($R^2 = 0.023$, $F_{1, 299} = 7.56$, $P = 0.006$). Por outro lado, nenhum efeito foi observado para o genótipo ($P = 0.260$) e interação entre tratamento, genótipo e teste ($P = 0.918$). Ao contrário dos resultados encontrados para os testes em cada condição isoladamente, quando comparamos a timotaxia nas duas condições para os tratamentos 1, 2 e 4, foi detectado um efeito de interação entre o tratamento 4 e o genótipo WT

(*oxtr*^{+/+}) ($R^2 = 0.023$, $F_{1, 299} = 3.93$, $P = 0.048$) (Figura 17). Porém, não foram encontrados efeitos de interação entre tratamento, genótipo e teste ($P = 0.920$).

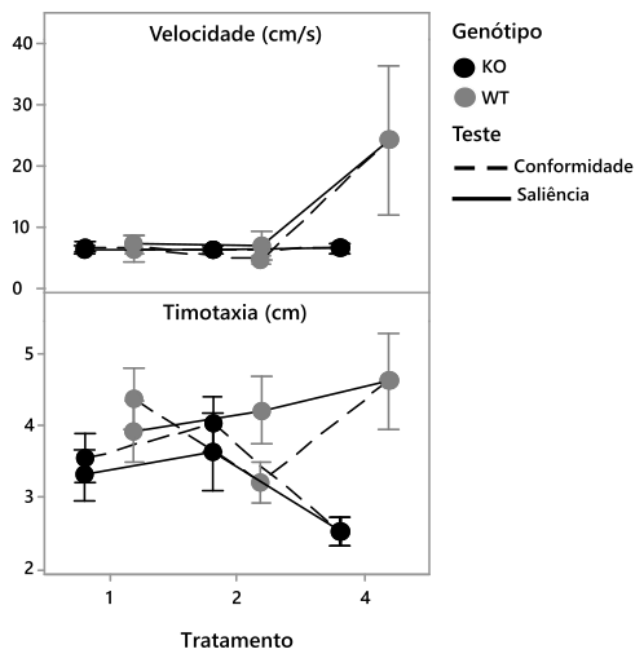


Figura 17: Gráfico da comparação entre as condições de teste (conformidade vs. saliência) para as respostas de ansiedade (velocidade média de natação e timotaxia) para os tratamentos 1,2 e 4 e genótipos WT e KO.

Na fase de teste realizada posteriormente, quando comparamos as duas condições de teste (conformidade vs. saliência) para o tratamento (1,2 e 4) um efeito principal na distância percorrida foi detectado para os peixes mutantes KO (*oxtr*^{-/-}) ($R^2 = 0.014$, $F_{1, 299} = 4.32$, $P = 0.038$) (Figura 18). Por outro lado, nossos resultados não demonstraram nenhum efeito significativo para o tratamento ($P = 0.082$) e interação ($P = 0.883$). Em relação à preferência, foi detectado um efeito principal no tratamento 4 ($R^2 = 0.013$, $F_{1, 299} = 4.57$, $P = 0.033$) (Figura 19), porém não foram detectados efeitos para o genótipo ($P = 0.302$) e interação ($P = 0.551$).

Tomados em conjunto, esses resultados indicam que essencialmente na condição de teste conformidade, os peixes-zebra apresentaram comportamentos antipredatórios (ansiedade e estresse), que o contágio do estresse é uma capacidade que está presente nessa espécie e que provavelmente a oxitocina está implicada nesses processos. Por outro lado, esses resultados mostram que os estímulos utilizados neste estudo, parece não terem atraído particularmente a atenção dos peixes-zebra observadores do tipo selvagem neste contexto e não tiveram implicação no reconhecimento do estresse.

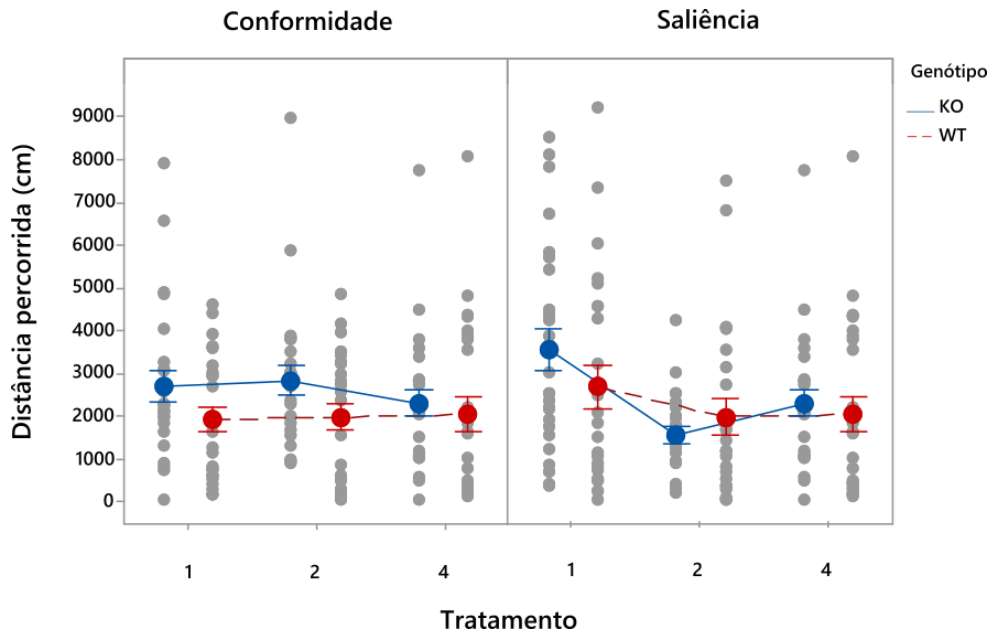


Figura 18: Gráfico exibindo um efeito significativo na distância percorrida para o genótipo KO na comparação entre as duas condições de teste (conformidade vs. saliência).

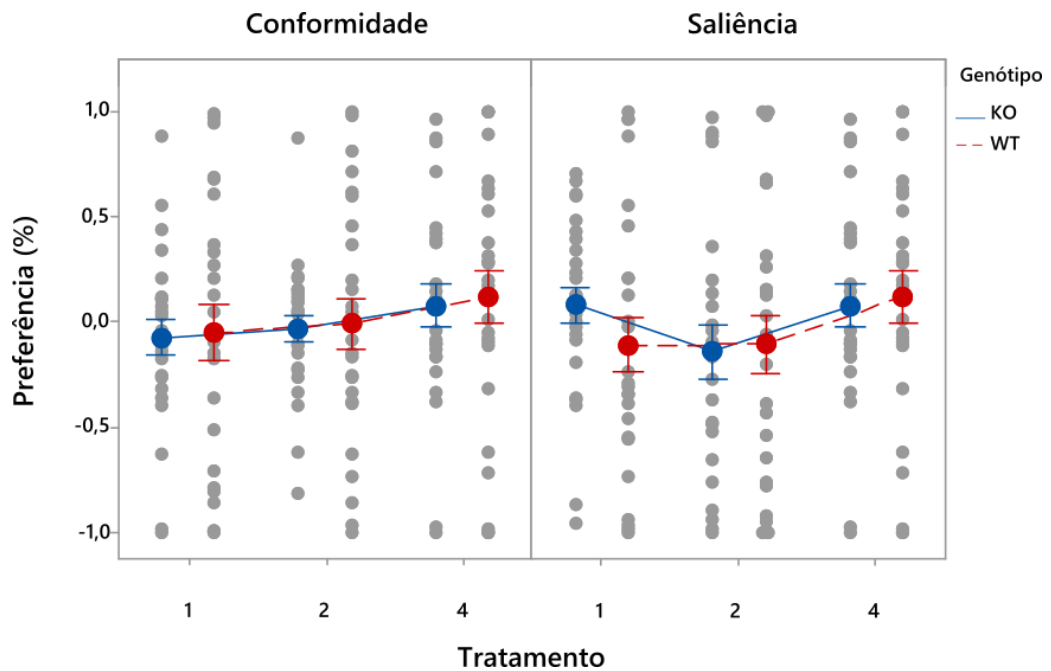


Figura 19: Gráfico exibindo um efeito significativo para a preferência no tratamento 4 na comparação entre as duas condições de teste (conformidade vs. saliência).

5. DISCUSSÃO

Os resultados aqui apresentados demonstram essencialmente, que a transmissão de informações de estresse social no peixe-zebra é um processo que depende do consenso de transferência das informações entre os indivíduos do grupo, compreendido por conformidade social. Demonstramos que diante de um contexto social sob um risco iminente de predação, o peixe-zebra não somente utiliza as informações de seus coespecíficos como é capaz de contagiar e replicar os mesmos comportamentos. Além disso, nossos resultados fornecem evidências de que estes processos são modulados por um mecanismo conservado de sinalização semelhante à oxitocina.

Excepcionalmente na condição de teste conformidade a exposição visual aos estímulos estressantes desencadeou nos peixes WT (*oxtr*^{+/+}) comportamentos de estresse e ansiedade, comportamentos que não foram observados nos peixes mutantes KO (*oxtr*^{-/-}). Essas respostas comportamentais são típicas da espécie e são consistentes com estudos que avaliam essas respostas induzidas por substância de alarme ou à exposição a um predador (Gerlai, 2010; Silva, Leaniz e Luchiari, 2019). Em nosso estudo, o peixe-zebra foi capaz de discriminar entre dois tipos de estímulos do ambiente social (peixes alarmados vs. peixes em estado neutro) e utilizou as informações mais relevantes para tomar decisões rápidas. Da mesma forma, em peixes esgana-gata de três espinhas (*Gasterosteus aculeatus*) a tomada de decisão do quorum facilita a transmissão de informações entre os indivíduos, pois na presença de um predador esses peixes utilizam as informações mais recentes fornecidas pelos seus coespecíficos (Ward et al., 2008).

Com base em nossos resultados, supomos que diante de um contexto ameaçador em que os peixes detectam a presença de um predador, uma decisão rápida deve ser tomada e os indivíduos devem agir em conformidade a fim de evitar o ataque e para garantir a sobrevivência do grupo. Para isso, os peixes devem utilizar as informações dos seus vizinhos mais próximos, tais como, movimento e comportamentos associados e, ao mesmo tempo, conseguir discriminar essas informações com os outros estímulos do ambiente social em que se encontram. Por exemplo, se apenas um indivíduo do grupo detecta o predador, automaticamente exibirá comportamentos antipredatórios que servirá de alerta para os outros indivíduos e, assim, os outros irão identificar que há uma fonte de perigo e contagiar esses comportamentos, de modo que as informações se propaguem para todo o grupo (Rosenthal et al., 2015; Somveille et al., 2018; Firth, 2020). Por exemplo, em cardumes de anchovas (*Engraulis ringens*) sob risco de predação, a transferência de informações ocorre por meio de uma “onda de agitação”, que

facilita que os indivíduos do cardume reajam de forma rápida e adaptada ao ambiente (Gerlotto et al., 2006).

Considerando que o peixe-zebra é uma espécie diurna que utiliza a visão como uma modalidade sensorial (Gerlai, 2017) e pelo fato de que em nosso estudo utilizamos apenas estímulos visuais, que foram suficientes para desencadear comportamentos de estresse e ansiedade no peixe-zebra, nossos resultados corroboram com outros achados que demonstraram que os comportamentos antipredatórios no peixe-zebra funcionam como pistas visuais para coespecíficos (Oliveira et al., 2017). Além disso, o peixe-zebra utiliza outras características visuais para interagir com coespecíficos, tais como a forma e o movimento biológico, visto que a percepção do movimento biológico, como demonstrado recentemente, é dependente da sinalização de oxitocina (Nunes et al., 2020).

O movimento e a conformidade são dois processos ecológicos determinantes na transmissão das informações sociais no grupo, que juntos, funcionam como uma estratégia de aprendizagem social (Somveille et al., 2018). Com base em nossos resultados, isso nos ajuda a explicar a razão pela qual o contágio foi evidente na condição de teste conformidade e então, podemos assumir que o contágio do estresse também pode ser considerado como uma estratégia de aprendizagem social, que do ponto de vista ecológico tem um valor adaptativo, isso porque os comportamentos antipredatórios emitidos pelos demonstradores têm uma intensidade alta que podem ser facilmente detectados e contagiados pelos observadores, pois esses comportamentos são impulsionados pela mesma emoção, o medo (Nakahashi e Ohtsuki, 2015).

Assumindo que o contágio é adaptativo, podemos dizer que também tem implicação no funcionamento do grupo e na aptidão dos animais, pois ao adotar um comportamento conformista, os indivíduos do grupo passam a ter uma sensibilidade mais fraca aos estímulos do ambiente que são irrelevantes, e à medida que o tamanho do grupo aumenta as decisões são mais assertivas e pode trazer maiores benefícios, e conseqüentemente, tem um custo energético reduzido (Nakahashi e Ohtsuki, 2018). Neste contexto, podemos concluir que o contágio no peixe-zebra tem conseqüências evolutivas que podem ser explicadas pela competência social, referida como a capacidade de um indivíduo otimizar e adaptar seus comportamentos sociais com base nas informações disponíveis (Taborsky e Oliveira, 2012). Por exemplo, em cardumes de peixe-mosquito (*Gambusia holbrooki*) sob risco de predação, o tamanho do grupo influencia na velocidade e precisão da tomada de decisão coletiva (Ward et al., 2011). Da mesma forma, os peixes (*Phoxinus phoxinus*) usam as informações sociais como uma estratégia de

aprendizado quando os custos associados às informações privadas são mais caros (Webster e Laland, 2008).

Em nosso estudo demonstramos que o contágio emocional é uma habilidade que está presente no peixe-zebra, assim, podemos considerar a evidência de uma forma ancestral de um mecanismo cognitivo subjacente ao reconhecimento da valência em expressões comportamentais, que em nosso trabalho pode ser explicado a partir dos efeitos da oxitocina no contágio do estresse. O mecanismo de percepção-ação (PAM), proposto por Preston e de Waal (2002) estabelece que a percepção do estado emocional de um sujeito demonstrador ativa automaticamente uma representação neural do mesmo estado no sujeito observador, permitindo uma expressão comportamental semelhante. Esse mecanismo já foi demonstrado em muitas espécies e é considerado uma camada evolutiva precursora da empatia em seres humanos. (Reimert et al., 2014; Martin et al., 2015; de Waal e Preston, 2017). Por exemplo, ratos que assistem um companheiro de gaiola recebendo choques elétricos nas patas, exibem comportamento de congelamento (Gonzalez-Liencren et al., 2014), da mesma forma, nos tentilhões-zebra (*Taeniopygia guttata*) pistas acústicas de chamada emitidas por um macho provocam reações comportamentais e o aumento dos níveis de corticosterona na fêmea que foi visualmente separada de seu coespecífico (Perez et al., 2015).

Os nossos resultados mostraram que a oxitocina participa destes mecanismos e age facilitando o contágio do estresse. Assim, podemos considerar que no peixe-zebra, uma espécie altamente social que não exibe cuidado parental (Gerlai, 2014), o sistema oxitocinérgico evoluiu para promover a sobrevivência e fornecer meios de adaptação às mudanças ambientais, como também, para facilitar a aprendizagem associativa e modular o comportamento coletivo. Um estudo recente demonstrou que pistas químicas de alarme promovem a aprendizagem associativa no peixe-zebra e que os bulbos olfatórios são núcleos que estão envolvidos neste processo (Pinho et al., 2020), essas são áreas olfativas enriquecidas com os receptores de oxitocina no cérebro do peixe ciclídeo africano (*Astatotilapia burtoni*) (Huffman et al., 2012). Essa nossa ideia é pode ser sustentada pela “teoria alostática da oxitocina” uma abordagem etológica que prevê a oxitocina como um neurohormônio que promove a alostase, teoria fundamentada nas “quatro questões” de Nikolaas Tinbergen descrita para explicar a ação modulatória da oxitocina ao longo da evolução devido aos seus efeitos periféricos e centrais, englobando os processos fisiológicos, cognitivos e comportamentais que têm implicação nas diferentes fases do desenvolvimento (Quintana e Guastella, 2020).

Em nosso trabalho, quando avaliamos as respostas comportamentais relativas à ansiedade na fase de observação e também as preferências locais na fase de teste, os resultados mostraram que em nossos testes (conformidade *vs.* saliência) mantivemos um aumento no número absoluto de indivíduos (tratamento 4) que podem não representar a dinâmica do grupo. Na verdade, pares e tríades exibem formas elevadas de agressividade e dinâmica de dominância que também podem influenciar o comportamento social (Wright e Krause, 2006; Faust, 2010; Oliveira, Silva e Simões, 2011). Uma explicação alternativa para isso ter acontecido, embora não tenhamos como saber, talvez seja que em nossos experimentos submetemos os peixes em todas as condições de teste (conformidade e saliência) no mesmo dia e, embora a ordem dos experimentos tenha sido aleatória e por não termos encontrado efeitos de habituação, pode ser que os peixes falharam em distinguir entre os demais tratamentos, visto que tiveram que lidar com muitas informações conflitantes num período curto de tempo. No entanto, essas são apenas observações especulativas que devem ser interpretadas com cautela e melhor investigadas em estudos futuros.

Além disso, nossos resultados não revelaram efeitos de contágio do estresse para a condição de teste saliência e supomos que pode ser que outros sistemas de neurotransmissores estejam envolvidos nesse processo, tal como a dopamina, que nesse contexto pode ter desempenhado uma função primária na atribuição da saliência, uma vez que variações no sistema dopaminérgico podem interferir nos processos motivacionais de resposta à estímulos estressantes (Love, 2014). Neste caso, a oxitocina pode ter assumido um efeito secundário não afetando diretamente essa resposta. Além disso, é válido considerar que em nosso trabalho, utilizamos uma linha de peixes mutantes de oxitocina em que foi interrompido a função de apenas um dos receptores (*oxtr*), e por isso, estudos adicionais devem ser realizados utilizando peixes mutantes dos dois receptores (*oxtr* e *oxtrl*, respectivamente) a fim de melhor explorar a funcionalidade de cada um e o envolvimento de outros sistemas de neurotransmissores / neuromoduladores no contágio do estresse no peixe-zebra.

Quando avaliamos a atenção dos peixes observadores aos estímulos, os nossos resultados demonstraram um efeito para o tratamento 2 da condição de teste saliência. Considerando que em nosso estudo para avaliar a atenção dos peixes observadores, utilizamos uma medida de orientação (corpo total) para pontuar o tempo que os peixes passaram próximos à tela de estímulo, talvez essa medida não tenha sido a ideal, e por isso, esses resultados possam não ser realmente indicativos de atenção. Isso porque, em nossos experimentos os estímulos das gravações que utilizamos foram combinados (peixes alarmados *vs.* peixes em estado neutro)

e a apresentação dos estímulos no vídeo foi intercalada (45 segundos peixes alarmados, 45 segundos peixes em estado neutro) e assim sucedeu até o tempo total do vídeo (5 minutos). Portanto, para avaliar a atenção, teríamos que ter utilizado uma metodologia de rastreamento que nos facultasse pontuar as coordenadas de pixel da cabeça, centro e cauda dos peixes observadores (conforme descrito em Abril-de Abreu, Cruz e Oliveira, 2015), isso nos permitiria pontuar e comparar a atenção ao longo do tempo para examinar as mudanças entre os períodos em que o estresse começou.

Também observamos que a falta de sinalização de oxitocina teve influência na exploração dos estímulos, pois os peixes mutantes KO (*oxtr*^{-/-}) exibiram níveis de exploração superiores aos peixes WT (*oxtr*^{+/+}). Supomos que os peixes mutantes talvez não tenham identificado os estímulos como ameaçadores e, conforme descrito anteriormente, seria relevante explorar o envolvimento de outros sistemas de neurotransmissores que possam estar associados ao sistema oxitocinérgico participando dos processos atencionais em contextos perniciosos. É importante enfatizar que no peixe-zebra o receptor de oxitocina (*oxtr*), conforme relatado em estudos anteriores, não está diretamente implicado no domínio motivacional da socialidade (Ribeiro et al., 2020).

De modo geral, o nosso trabalho demonstrou que os peixes-zebras são capazes de captar os estímulos ameaçadores do ambiente social observando o estado emocional de um coespecífico, copiando espontaneamente essa emoção e reagindo com um comportamento correspondente, mecanismo definido como contágio emocional (Nakahashi e Ohtsuki, 2018). Além disso, nossos resultados atribuem insights de que o contágio emocional tem uma função adaptativa e que demanda de estratégias de conformidade social, pois tem influência direta na transferência e propagação das informações sociais entre os indivíduos, implicando na sobrevivência e manutenção do grupo.

Considerando que o contágio emocional é um elemento precursor evolutivo da empatia em seres humanos (Preston e de Waal, 2002), aqui demonstramos que apesar da distância evolutiva, essa capacidade é preservada no peixe-zebra, e nossos resultados nos ajuda a melhor compreender como o contágio evoluiu e como influencia no comportamento social dessa espécie. Assim, como predizemos, nossos resultados sustentam que o contágio emocional no peixe-zebra é modulado por um mecanismo conservado de sinalização semelhante à oxitocina, sugerindo que os processos cognitivos basais que fundamentam o reconhecimento da valência são mantidos por este mecanismo.

6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Devido à epidemia do novo coronavírus SARS-COV-2 nossos experimentos foram interrompidos e tivemos que reestruturar o nosso plano de trabalho, assim, tivemos algumas limitações que inviabilizaram a plena execução dos nossos objetivos.

Inicialmente, tínhamos como proposta em nosso estudo, utilizar 3 linhas germinativas de peixes-zebra mutantes de oxitocina: *oxtr* (interrupção parcial receptor 1), *oxtrl* (interrupção parcial receptor 2) e *oxt* (interrupção total ocitocina). No entanto, quando regressamos às atividades, conseguimos utilizar neste estudo apenas os peixes mutantes *oxtr*, pois se optássemos em criar as outras linhas, teríamos que aguardar o período para que os peixes atingissem a idade adulta, e já não tínhamos tempo hábil para atender essa demanda. Outro fator importante, que devido às regras de segurança e do protocolo de distanciamento social, tivemos algumas restrições relativas à circulação entre as instalações, por isso, quando retomamos os experimentos tivemos que concluir todos os testes no mesmo dia para cada peixe que utilizamos. No entanto, reconhecemos que poderíamos ter revisto o plano para melhorar esse aspecto e ter submetido um grupo de peixes para cada condição de teste, ao invés de submeter todos os peixes em todos os testes. Diante dessas limitações, reconhecemos outros aspectos contextuais que poderíamos ter melhorado em nosso estudo e contribuído para as nossas descobertas atuais:

Protocolo experimental: pelo fato de ter sido possível utilizarmos somente os peixes mutantes *oxtr*, poderíamos ter criado outros grupos de peixes para avaliar outros fatores importantes que têm implicação no comportamento social do peixe-zebra, tais como o sexo (Way et al., 2018) e a familiaridade (Silva, Leaniz e Luchiari, 2019). Também poderíamos ter projetado um experimento adicional expondo os peixes-zebra à substância de alarme (Speedie e Gerlai, 2008; Pinho et al., 2020), isso nos permitiria avaliar os comportamentos antipredatórios utilizando uma pista olfativa, assim, poderíamos comparar essas respostas com as pistas visuais que já utilizamos em nosso estudo. Além disso, poderíamos ter utilizado um parâmetro fisiológico para avaliar as respostas ao estresse, como por exemplo, quantificar os níveis de cortisol de corpo inteiro (Oliveira et al., 2017). Em conjunto, esses componentes nos ajudariam a ter uma melhor caracterização dos efeitos periféricos e centrais da oxitocina, nos permitindo avaliar a fisiologia, cognição e comportamento.

7. CONCLUSÃO E DIREÇÃO FUTURA

Em nosso trabalho demonstramos que o contágio emocional é uma habilidade evolutivamente conservada no peixe-zebra que constitui um elemento chave para a sobrevivência do grupo e que demanda de estratégias de conformidade social. Além disso, descobrimos que a sinalização semelhante à oxitocina modula a transmissão social do estresse nessa espécie.

Como mencionado neste estudo, a oxitocina está implicada em diversos aspectos da cognição social. Pesquisas têm demonstrado que muitos transtornos humanos estão associados à déficits no sistema oxitocinérgico, como ocorre no transtorno do espectro do autismo. Pessoas com autismo geralmente têm dificuldades de se conformar às regras do ambiente social, apresentam déficits no processamento de pistas salientes, na teoria da mente e empatia (de Dreu e Kret, 2016; Vanya et al., 2017).

Dessa forma, nosso trabalho aponta possibilidades de melhor investigar esses mecanismos de conformidade social e saliência em estudos futuros, devido ao potencial terapêutico da oxitocina e sua importância para a pesquisa translacional. Pelo fato de que, neste estudo tivemos limitados a utilizar apenas a linha mutante de um dos receptores de oxitocina, sugerimos que essas questões sejam melhor investigadas utilizando as linhas mutantes germinativas (*oxtr*, *oxtrl* e *oxt*). Adicionalmente, seria interessante investigar quais áreas do cérebro são ativadas nesses mecanismos, como também, utilizar medidas hormonais para avaliar o componente fisiológico. Explorar essas diferenças funcionais talvez seja a chave para compreender sobre a etiologia de um sistema de oxitocina prejudicado e averiguar como a oxitocina modula mudanças nos componentes fenotípicos.

8. REFERÊNCIAS

- Abril-de-Abreu, R., Cruz, J., Oliveira, R.F. (2015). Social Eavesdropping in Zebrafish: Tuning of Attention to Social Interactions. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep12678
- Adolphs, R. (2001). The neurobiology of social cognition. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), 231-239. doi:10.1016/S0959-4388(00)00202-6
- Adolphs, R. (2009). The Social Brain: Neural Basis of Social Knowledge. *Annual Review of Psychology*, 60, 693–716. doi:10.1146/annurev.psych.60.110707.163514
- Adriaense, J.E.C., Koski, S.E., Huber, L., Lamm, C. (2020). Challenges in the comparative study of empathy and related phenomena in animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 112, 62-82. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.01.021
- Ali, F., Amorim, I.S., Chamorro-Premuzic, T. (2009). Empathy déficits and trait emotional intelligence in psychopathy and Machiavellianism. *Personality and Individual Differences*, 47(7), 758-762. doi:10.1016/j.paid.2009.06.016
- Anderson, D.J., Adolphs, R. (2014). A Framework for Studying Emotions across Species. *Cell*, 157, 187-200. doi:10.1016/j.cell.2014.03.003
- Atsak, P., Orre, M., Bakker, P., Cerliani, L., Roozendaal, B., Gazzola, V. et al. (2011). Experience Modulates Vicarious Freezing in Rats: A Model for Empathy. *PLoS ONE*, 6(7), e21855. doi:10.1371/journal.pone.0021855
- Bambino, K., Chu, J. (2017). Zebrafish in Toxicology and Environmental Health. *Curr Top Dev Biol*, 124, 331–367. doi:10.1016/bs.ctdb.2016.10.007
- Bao, W., Volgin, A.D., Alpyshov, E.T., Friend, A.J., Strelakova, T.V., de Abreu, M.S. et al. (2019). Opioid Neurobiology, Neurogenetics and Neuropharmacology in Zebrafish. *Neuroscience*, 404, 218-232. doi:10.1016/j.neuroscience.2019.01.045
- Bartal, I.B.A., Decety, J., Mason, P. (2011). Empathy and Pro-Social Behavior in Rats. *Science*, 334(6061), 1427-1430. doi:10.1126/science.1210789
- Bekkali, S., Youssef, G.J., Donaldson, P.H., Albein-Urios, N., Hyde, C., Enticott, P.G. (2020). Is the Putative Mirror Neuron System Associated with Empathy? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychol Rev*. doi:10.1007/s11065-020-09452-6
- Bell, A.F., Erickson, E.N., Carter, S. (2014). Beyond Labor: The Role of Natural and Synthetic Oxytocin in the Transition to Motherhood. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 59(1), 35-42. doi: 10.1111/jmwh.12101
- Bellegard, L.G.A., Haskell, M.J., Duvaux-Ponter, C., Weiss, A., Boissy, A., Erhard, H.W. (2017). Face-based perception of emotions in dairy goats. *Applied Animal Behaviour Science*, 193, 51-59. doi:10.1016/j.applanim.2017.03.014

- Blaser, R.E., Chadwick, L., McGinnis, G.C. (2010). Behavioral measures of anxiety in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural Brain Research*, 208(1), 56-62. doi:10.1016/j.bbr.2009.11.009
- Braida, A., Donzelli, R., Martucci, V., Capurro, M., Busnelli, H., Chini, B., Sala, M. (2012). Neurohypophyseal hormones manipulation modulate social and anxiety-related behaviour in zebrafish. *Psychopharmacology*, 220, 319–330. doi:10.1007/s00213-011-2482-2
- Buske, C., Gerlai, R. (2011). Shoaling develops with age in Zebrafish (*Danio rerio*). *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(6), 1409-1415. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.09.003
- Bshary, R., Gingins, S., Vail, A.L. (2014). Social cognition in fishes. *Trends in Cognitive Sciences*, 18(9), 465-471. doi:10.1016/j.tics.2014.04.005
- Burkett, J.P., Andari, E., Johnson, Z.V., Curry, D.C., de Waal, F.B., Young, L.J. (2016). Oxytocin-dependent consolation behavior in rodents. *Science*, 351(6271), 375–378. doi:10.1126/science.aac4785
- Butail, S., Bartolini, T., Porfiri, M. (2013). Collective Response of Zebrafish Shoals to a Free-Swimming Robotic Fish. *PLoS ONE*, 8(10): e76123. doi:10.1371/journal.pone.0076123
- Cabanac, M. (2002). What is emotion? *Behav. Processes*, 60(2), 69-83. doi:10.1016/s0376-6357(02)00078-5
- Carnevali, L., Montano, N., Tobaldini, E., Thayer, J., Sgoifo, A. (2020). The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 111, 12-18. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.01.011
- Carrillo, M., Migliorati, F., Bruls, R., Han, Y., Heinemans, M., Pruis, I. et al. (2015). Repeated Witnessing of Conspecifics in Pain: Effects on Emotional Contagion. *PLoS ONE*, 10(9), e0136979. doi:10.1371/journal.pone.0136979
- Chittka, L., Niven, J. (2009). Are Bigger Brains Better? *Current Biology*, 19(21), R995-R1008. doi:10.1016/j.cub.2009.08.023
- Chrousos, G.P. (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*, 5, 374-381. doi:10.1038/nrendo.2009.106
- Clark, K.J., Voytas, D.F., Ekker, S.C. (2013). A TALE of Two Nucleases: Gene Targeting for the Masses? *Zebrafish*, 8 (3). doi:10.1089/zeb.2011.9993
- Clay, Z., de Waal, F.B.M. (2013). Bonobos Respond to Distress in Others: Consolation across the Age Spectrum. *PLoS ONE*, 8(1), e55206. doi:10.1371/journal.pone.0055206
- Collymore, C., Tolwani, R.J., Rasmussen, S. (2015). The Behavioral Effects of Single Housing and Environmental Enrichment on Adult Zebrafish (*Danio rerio*). *J Am Assoc Lab Anim Sci.*, 54(3), 280–285
- Couture, S.M., Penn, D.L., Losh, M., Adolphs, R., Hurley, R., Piven, J. (2010). Comparison of social cognitive functioning in schizophrenia and high functioning autism: more

- convergence than divergence. *Psychol. Med.*, 40 (4), 569-579. doi:10.1017/S003329170999078X
- Couzin, I.D., Ioannou, C.C., Demirel, G., Gross, T., Torney, C.J., Hartnett, A. et al. (2011). Uninformed Individuals Promote Democratic Consensus in Animal Groups. *Science*, 334(6062), 1578-1580. doi:10.1126/science.1210280
- Crews, D. (2003). The development of phenotypic plasticity: where biology and psychology meet. *Dev. Psychobiol.*, 43(1), 1-10. doi:10.1002/dev.10115
- Damasio, A.R. (1999). *The Feeling of What Happens/: Body and Emotion in the Making of Consciousness*. Harcourt. New York
- de Dreu, C.K.W., Kret, M.E. (2016). Oxytocin Conditions Intergroup Relations Through Upregulated In-Group Empathy, Cooperation, Conformity, and Defense. *Biological Psychiatry*, 79(3), 165-173. doi:10.1016/j.biopsych.2015.03.020
- de Waal, F.B.M. (2008). Putting the Altruism Back into Altruism: The Evolution of Empathy. *Annu. Rev. Psychol.*, 59(1), 279–300. doi:10.1146/annurev.psych.59.103006.093625
- de Waal, F.B.M (2011). What is an animal emotion? *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1224(1), 191–206. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05912x
- de Waal, F.B.M (2012). The Antiquity of Empathy. *Science*, 336(6083), 874-876. doi:10.1126/science.1220999
- de Waal, F.B.M., Preston, S.D. (2017). Mammalian empathy: behavioural manifestations and neural basis. *Nat Rev Neurosci*, 18, 498–509. doi:10.1038/nrn.2017.72
- Decety, J., Barta, I. B-A., Uzefovsky, F., Knafo-Noam, A. (2016). Empathy as a driver of prosocial behaviour: highly conserved neurobehavioural mechanisms across species. *Phil. Trans. R. Soc.*, 371(1686), 20150077. doi:10.1098/rstb.2015.0077
- Désiré, L., Boissy, L., Veissier, I. (2002). Emotions in farm animals: a new approach to animal welfare in applied ethology. *Behavioural Processes*, 60 (2), 165-180. doi:10.1016/S0376-6357(02)00081-5
- Dodich, A., Cerami, C., Canessa, N., Crespi, C., Marcone, A., Arpone, M. et al. (2014). Emotion recognition from facial expressions: a normative study of the Ekman 60-Faces Test in the Italian population. *Neurological Sciences*, 35(7), 1015–1021. doi:10.1007/s10072-014-1631-x
- Dolcos, F., Katsumi, Y., Moore, M., Berggren, N., Gelder, B. de., Derakshan, N. et al. (2020). Neural correlates of emotion-attention interactions: From perception, learning, and memory to social cognition, individual differences, and training interventions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 108, 559-601. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.08.017
- Domes, G., Kumbier, E., Heinrichs, M., Herpertz, S.C. (2014). Oxytocin Promotes Facial Emotion Recognition and Amygdala Reactivity in Adults with Asperger Syndrome. *Neuropsychopharmacology*, 39(3), 698–706. doi:10.1038/npp.2013.254

- Donaldson, Z.R., Young, L.J. (2008). Oxytocin, Vasopressin, and the Neurogenetics of Sociality. *Science*, 322(5903), 900-904. doi:10.1126/science.1158668
- Ekman, P. (1992). Are there basic emotions? *Psychological Review*, 99(3), 550–553. doi:10.1037/0033-295X.99.3.550
- Engert, V., Linz, R., Grant, J.A. (2019). Embodied stress: The physiological resonance of psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology*, 105, 138-146. doi:10.1016/j.psyneuen.2018.12.221
- Faust, K. (2010). A puzzle concerning triads in social networks: Graph constraints and the triad census. *Soc Netw*, 32(3), 221-233. doi:10.1016/j.socnet.2010.03.004
- Ferretti, V., Papaleo, F. (2018). Understanding others: Emotion recognition in humans and other animals. *Genes, Brain and Behavior*, 18(1) e12544. doi:10.1111/gbb.12544
- Ferreti, V., Maltese, F., Contarini, G., Nigro, M., Bonavia, A., Huang, H. et al. (2019). Oxytocin Signaling in the Central Amygdala Modulates Emotion Discrimination in Mice. *Current Biology*, 29(12), 1938–1953. doi:10.1016/j.cub.2019.04.070
- Firth, J.A. (2020). Considering Complexity: Animal Social Networks and Behavioural Contagions. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(2), 100-104. doi:10.1016/j.tree.2019.10.009
- Fragkaki, I., Cima, M. (2019). The effect of oxytocin administration on empathy and emotion recognition in residential youth: A randomized, within-subjects trial. *Hormones and Behavior*, 114, 104561. doi:10.1016/j.yhbeh.2019.104561
- Franks, B., Graham, C., Von Keyserlingk, M.A.G. (2018). Is Heightened-Shoaling a Good Candidate for Positive Emotional Behavior in Zebrafish? *Animals*, 8(9), 152; doi:10.3390/ani8090152
- Dreosti, E., Lopes, G., Kampff, A.R., Wilson, S.W. (2015). Development of social behavior in young zebrafish. *Front. Neural Circuits*, 9(39). doi:10.3389/fncir.2015.00039
- Gaikwad, S., Stewart, A., Hart, P., Wong, K., Piet, V., Cachat, J., Kalueff, A.V. (2011). Acute stress disrupts performance of zebrafish in the cued and spatial memory tests: The utility of fish models to study stress–memory interplay. *Behavioural Processes*, 87(2), 224–230. doi:10.1016/j.beproc.2011.04.004
- Geng, Y., Peterson, R.T. (2019). The zebrafish subcortical social brain as a model for studying social behavior disorders. *Disease Models & Mechanisms*, 12, dmm039446. doi:10.1242/dmm.039446
- Gerlai, R. (2010). Zebrafish antipredatory responses: A future for translational research? *Behavioural Brain Research*, 207(2), 223-231. doi:10.1016/j.bbr.2009.10.008
- Gerlai, R. (2010). High-throughput behavioral screens: the first step towards finding genes involved in vertebrate brain function using zebrafish. *Molecules* 15(4), 2609–2622. doi:10.3390/molecules15042609

- Gerlai, R. (2012). Using zebrafish to unravel the genetics of complex brain disorders. *Curr Top Behav Neurosci.*, 12, 3-24. doi:10.1007/7854_2011_180
- Gerlai, R. (2014). Social behavior of zebrafish: From synthetic images to biological mechanisms of shoaling. *Journal of Neuroscience Methods*, 234, 59-65. doi:10.1016/j.jneumeth.2014.04.028
- Gerlai, R. (2017). Animated images in the analysis of zebrafish behavior. *Current Zoology*, 63(1), 35–44. doi:10.1093/cz/zow077
- Gerlotto, F., Bertrand, S., Bez, N., Gutierrez, M. (2006). Waves of agitation inside anchovy schools observed with multibeam sonar: a way to transmit information in response to predation. *ICES Journal of Marine Science*, 63(8), 1405–1417. doi:10.1016/j.icesjms.2006.04.023
- Goleman, D. (1995). *Emotional Intelligence*. New York: Bantam Books
- Gonzalez-Liencre, C., Juckel, G., Tas, C., Friebe, A, Brüne, M. (2014). Emotional contagion in mice: The role of familiarity. *Behavioural Brain Research*, 263, 16-2115. doi:10.1016/j.bbr.2014.01.020
- Goodson, J.L. (2005). The vertebrate social behavior network: evolutionary themes and variations. *Horm. Behav.*, 48(1), 11-22. doi:10.1016/j.yhbeh.2005.02.003
- Goodson, J.L., Thompson, R.R. (2010). Nonapeptide mechanisms of social cognition, behavior and species-specific social systems. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 20(6), 784-794. doi:10.1016/J.CONB.2010.08.020
- Goodson, J.L. (2013). Deconstructing sociality, social evolution and relevant nonapeptide functions. *Psychoneuroendocrinology*, 38(4), 465-478. doi:10.1016/j.psyneuen.2012.12.005
- Grinevich, V., Desarménien, M.G., Chini, B., Tauber, M., Muscatelli, F. (2015). Ontogenesis of oxytocin pathways in the mammalian brain: late maturation and psychosocial disorders. *Front. Neuroanat.*, 8(164). doi:10.3389/fnana.2014.00164
- Grinevich, V., Knobloch-Bollmann, H.S., Eliava, M., Busnelli, M., Chini, B. (2016). Assembling the Puzzle: Pathways of Oxytocin Signaling in the Brain. *Biological Psychiatry February*, 79(3), 155–164. doi:10.1016/j.biopsych.2015.04.013
- Grinevich, V., Stoop, R. (2018). Interplay between Oxytocin and Sensory Systems in the Orchestration of Socio-Emotional Behaviors. *Neuron*, 99(5), 887-904. doi:10.1016/j.neuron.2018.07.016
- Happé, F., Cook, J.L., Bird, G. (2017). The Structure of Social Cognition: In(ter)dependence of Sociocognitive Processes. *Annu. Rev. Psychol.*, 68, 243-267. doi:10.1146/annurev-psych-010416-044046
- Heyes, C. (2018). Empathy is not in our genes. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 95, 499-507. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.11.001

- Hinz, R.C., Polavieja, G.G. de. (2017). Ontogeny of collective behavior reveals a simple attraction rule. *PNAS*, 114(9), 2295–2300. doi:10.1073/pnas.161692611
- Hruscha, A., Krawitz, P., Rechenberg, A., Heinrich, V., Hecht, J., Haass, C. et al. (2013). Efficient CRISPR/Cas9 genome editing with low off-target effects in zebrafish. *Development*, 140(24), 4982–4987. doi:10.1242/dev.099085
- Huang, Y., Kendrick, K.M., Zheng, H., Yua, R. (2015). Oxytocin enhances implicit social conformity to both in-group and out-group opinions. *Psychoneuroendocrinology*, 60, 114–119. doi:10.1016/j.psyneuen.2015.06.003
- Huffman, L., O’Connell, L.A., Kenkel, C.D., Kline, R.J., Khan, I.A., Hofmann, H.A. (2012). Distribution of nonapeptide systems in the forebrain of an African cichlid fish, *Astatotilapia burtoni*. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 44(2), 86–97. doi:10.1016/j.jchemneu.2012.05.002
- Hurlemann, R., Patin, A., Onur, O.A., Cohen, M.X., Baumgartner, T., Metzler, S. et al. (2010). Oxytocin enhances amygdala-dependent, socially reinforced learning and emotional empathy in humans. *J. Neurosci.* 30(14), 4999–5007. doi:10.1523/JNEUROSCI.5538-09.2010pmid:20371820
- Iacoboni, M. (2009). Imitation, Empathy, and Mirror Neurons. *Annu. Rev. Psychol.*, 60, 653–70. doi:10.1146/annurev.psych.60.110707.163604
- Johnson, Z.V., Young, L.J. (2015). Neurobiological mechanisms of social attachment and pair bonding. *Curr Opin Behav Sci.*, 3, 38–44. doi:10.1016/j.cobeha.2015.01.009
- Johnson, Z.V., Walum, H., Xiao, Y., Riefkohl, P.C., Young, L.J. (2017). Oxytocin receptors modulate a social salience neural network in male prairie voles. *Hormones and Behavior*, 87, 16–24. doi:10.1016/j.yhbeh.2016.10.009
- Jolles, J.W., Boogert, N.J., Sridhar, V.H., Couzin, I.D., Manica, A. (2017). Consistent Individual Differences Drive Collective Behavior and Group Functioning of Schooling Fish. *Current Biology*, 27(18), 2862–2868. doi:10.1016/j.cub.2017.08.004
- Jolles, J.W., King, A.J., Killen, S.S. (2020). The Role of Individual Heterogeneity in Collective Animal Behaviour. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(3), 278–291. doi:10.1016/j.tree.2019.11.001
- Kalueff, A.V., Gebhardt, M., Stewart, A.M., Cachat, J.M., Brimmer, M., Chawla, J.S. et al. (2013). Towards a Comprehensive Catalog of Zebrafish Behavior 1.0 and Beyond. *Zebrafish*, 10(1), 70–86. doi:10.1089/zeb.2012.0861
- Kalueff, A.V., Stewart, A.M., Gerlai, R. (2014). Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends in Pharmacological Sciences*, 35(2), 63–75. doi:10.1016/j.tips.2013.12.002
- Kalueff, A.V., Echevarria, D.J., Stewart, A.M. (2014). Gaining translational momentum: More zebrafish models for neuroscience research. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 55, 1–6. doi:10.1016/j.pnpbp.2014.01.022

- Kareklas, K., Elwood, R.W., Holland, R.A. (2018). Grouping promotes risk-taking in unfamiliar settings. *Behavioural Processes*, 148, 41-45. doi:10.1016/j.beproc.2018.01.003
- Keum, S., Shin, H.S. (2016). Rodent models for studying empathy. *Neurobiology of Learning and Memory*, 135, 22-26. doi:10.1016/j.nlm.2016.07.022
- Kim, YK., Saver, M., Simon, J., Kent, C.F., Shao, L., Eddison, M. et al. (2018). Repetitive aggressive encounters generate a longlasting internal state in *Drosophila melanogaster* males. *PNAS*, 115(5), 1099–1104. doi:10.1073/pnas.1716612115
- King, L.B., Walum, H., Inoue, K., Eyrich, N.W., Young, L.J. (2016). Variation in the Oxytocin Receptor Gene Predicts Brain Region-Specific Expression and Social Attachment. *Biological Psychiatry*, 80(2), 60–169. doi:10.1016/j.biopsych.2015.12.008
- Kittilsen, S. (2013). Functional aspects of emotions in fish. *Behavioural Processes*, 100, 153-159. doi:10.1016/j.beproc.2013.09.002
- Lansade, L., Nowak, R., Lainé, AL., Leterrier, C., Bonneau, C., Parias, C. et al. (2018). Facial expression and oxytocin as possible markers of positive emotions in horses. *Scientific Reports*, 8, 4680. doi:10.1038/s41598-018-32993-z
- Landin, J., Hovey, D., Xu, B., Lagman, D., Zettergren, A., Larhammar, D. et al. (2020). Oxytocin Receptors Regulate Social Preference in Zebrafish. *Scientific Reports*, 10: 5435. doi:10.1038/s41598-020-61073-4
- Li, L.F.; Yuan, W., He, Z.X., Wang, L.M., Jing, X.Y., Zhang, J. et al. (2019). Involvement of oxytocin and GABA in consolation behavior elicited by socially defeated individuals in mandarin voles. *Psychoneuroendocrinology*, 103, 14-24. doi:10.1016/j.psyneuen.2018.12.238
- Love, T.M. (2014). Oxytocin, motivation and the role of dopamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 119, 49-60. doi:10.1016/j.pbb.2013.06.011
- Lozier, L.M., Vanmeter, J.W., Marsh, A.A. (2014). Impairments in facial affect recognition associated with autism spectrum disorders: a meta-analysis. *Dev Psychopathol*, 26(4 Pt1):933-45. doi:10.1017/S0954579414000479.
- Lu, H., Zou, Q., Gu, H., Raichle, M.E., Stein, E.A., Yang, Y. (2012). Rat brains also have a default mode network. *PNAS*, 109(10), 3979–3984. doi:10.1073/pnas.1200506109
- Luca, R.M.; Gerlai, R. (2012). In search of optimal fear inducing stimuli: Differential behavioral responses to computer animated images in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 226(1), 66-76. doi:10.1016/j.bbr.2011.09.001
- Madeira, N., Oliveira, R.F. (2017). Long-Term Social Recognition Memory in Zebrafish. *Zebrafish*, 14 (4). doi:10.1089/zeb.2017.1430
- Martin, L.J., Hathaway, G., Isbester, K., Mirali, S., Acland, E.L. et al. (2015). Reducing Social Stress Elicits Emotional Contagion of Pain in Mouse and Human Strangers. *Current Biology*, 25(3), 326-332. doi:10.1016/j.cub.2014.11.028

- Mantini, D., Hasson, U., Betti, V., Perrucci, M.G., Romani, G.L., Corbetta, M., et al. (2012). Interspecies activity correlations reveal functional correspondence between monkey and human brain areas. *Nat Methods*, 9, 277–282. doi:10.1038/nmeth.1868
- Marsh, A.A. (2018). The caring continuum: evolved hormonal and proximal mechanisms explain prosocial and antisocial extremes. *Annual Review of Psychology*, 70, 347-371. doi:10.1146/annurev-psych-010418-103010
- Maruska, K., Soares, M.C., Lima-Maximino, M., Siqueira-Silva, D.H. de, Maximino, C. (2019). Social plasticity in the fish brain: Neuroscientific and ethological aspects. *Brain Research*, 1711, 156-172. doi:10.1016/j.brainres.2019.01.026
- Mehdizadehfar, V., Ghassemi, F., Fallah, A., Pouretmad, H. (2020). EEG study of facial emotion recognition in the fathers of autistic children. *Biomedical Signal Processing and Control*, 56, 101721. doi:10.1016/j.bspc.2019.101721
- Meshalkina, D.A., Kizlyk, M.N., Kysil, E.V., Collier, A.D., Echevarria, D.J., Abreu, M.S. et al. (2018). Zebrafish models of autism spectrum disorder. *Experimental Neurology*, 299(Part A), 207-216. doi:10.1016/j.expneurol.2017.02.004
- Metcalf, N.B., Van Leeuwen, T.E., Killen, S.S. (2015). Does individual variation in metabolic phenotype predict fish behaviour and performance? *Journal of Fish Biology*, 88(1), 298–321. doi:10.1111/jfb.12699
- Mezzomo, N.J., Fontana, B.D., Kalueff, A.V., Barcellos, L.J.G., Rosemberg, D.B. (2017). Understanding taurine CNS activity using alternative zebrafish models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 90, 525-539. doi:10.1016/j.neubiorev.2017.09.008
- Meyza, K.Z., Bartal, Ben-Ami. I., Monfils, M.H., Panksepp, J.B., Knapska, E. (2017). The roots of empathy: Through the lens of rodent models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 76(Part B), 216–234. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.10.028
- Nakahashi, W., Ohtsuki, H. (2015). When is emotional contagion adaptive? *Journal of Theoretical Biology*, 380, 480-488. doi:10.1016/j.jtbi.2015.06.014
- Nakahashi, W., Ohtsuki, H. (2018). Evolution of emotional contagion in group-living animals. *Journal of Theoretical Biology*, 440, 12-20. doi:10.1016/j.jtbi.2017.12.015
- Newman, S.W. (1999). The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann. NY Acad. Sci.*, 877(1), 242-257. doi:10.1111/j.1749-6632.1999.tb09271.x
- Numan, M., Young, L.J. (2016). Neural mechanisms of mother–infant bonding and pair bonding: Similarities, differences, and broader implications. *Horm Behav.*, 77, 98-112. doi:10.1016/j.yhbeh.2015.05.015
- Nunes, A.R., Carreira, L., Anbalagan, S., Blechman, J., Levkowitz, G., Oliveira, R.F. (2020). Perceptual mechanisms of social affiliation in zebrafish. *Sci. Rep.*, 10: 3642. doi:10.1038/s41598-020-60154-8

- Nunes, A.R., Gliksberg M., Varela, S.A.M., Teles, M., Wircer, E., Blechman, J. et al. (2020). Developmental effects of oxytocin neurons on social affiliation and processing of social information. *bioRxiv*, 10.08.330993. doi:10.1101/2020.10.08.330993
- O'Connell, L.A., Hofmann, H.A. (2011). The Vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: A comparative synthesis. *J. Comp. Neurol.*, 519(18), 3599-3639. doi:10.1002/cne.22735
- O'Connell, L.A., Hofmann, H.A. (2012). Evolution of a Vertebrate Social Decision-Making Network. *Science*, 336(6085), 1154-1157. doi:10.1126/science.1218889
- Oliveira, R.F. (2009). Social behavior in context: hormonal modulation of behavioral plasticity and social competence. *Integr. Comp. Biol.* 49(4), 423-440. doi:10.1093/icb/icp055
- Oliveira, R.F., Silva, J. F., Simoes, J. M. (2011). Fighting zebrafish: characterization of aggressive behavior and winner-loser effects. *Zebrafish* 8(2), 73–81. doi:10.1089/zeb.2011.0690
- Oliveira, R.F. (2013). Mind the fish: zebrafish as a model in cognitive social neuroscience. *Front Neural Circuits*, 7, 131. doi:10.3389/fncir.2013.00131
- Palagi, E., Celeghin, A., Tamietto, M., Winkielman, P., Norscia, I. (2020). The neuroethology of spontaneous mimicry and emotional contagion in human and non-human animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 111, 149-165. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.01.020
- Panksepp, J. *Affective Neuroscience: The Foundations of Human and Animal Emotion*. OUP, New York (1998)
- Panksepp, J. (2005). Affective consciousness: Core emotional feelings in animals and humans. *Consciousness and Cognition*, 14(1), 30-80. doi: 10.1016/j.concog.2004.10.004
- Panksepp, J., Lane, R.D., Solms, M., Smith, R. (2017). Reconciling cognitive and affective neuroscience perspectives on the brain basis of emotional experience. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 76(part B), 187-215. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.09.010
- Panula, P., Chen, Y.C., Priyadarshini, M., Kudo, H., Semenova, S., Sundvik, M. et al. (2010). The comparative neuroanatomy and neurochemistry of zebrafish CNS systems of relevance to human neuropsychiatric diseases. *Neurobiology of Disease*, 40(1), 46-57. doi:10.1016/j.nbd.2010.05.010
- Paul, E.S., Sher, S., Tamietto, M., Winkielman, P., Mendl, M.T. (2020). Towards a comparative science of emotion: Affect and consciousness in humans and animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 108, 749-770. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.11.014
- Pehlivanoglu, D., Myers, E., Ebner, N.C. (2020). Tri-Phasic Model of Oxytocin (TRIO): A systematic conceptual review of oxytocin-related ERP research. *Biological Psychology*, 154, 107917. doi:10.1016/j.biopsycho.2020.107917
- Peled-Avron, L., Abu-Akel, A., Shamay-Tsoory, S. (2020). Exogenous effects of oxytocin in five psychiatric disorders: a systematic review, meta-analyses and a personalized approach

- through the lens of the social salience hypothesis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 114, 70-95. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.04.023
- Perez, E.C., Elie, J.E., Boucaud, I.C.A., Crouchet, T., Soulage, C.O., Soula, H.A. et al. (2015). Physiological resonance between mates through calls as possible evidence of empathic processes in songbirds. *Hormones and Behavior*, 75, 130-141. doi: 10.1016/j.yhbeh.2015.09.002
- Pérez-Manrique, A., Gomila, A. (2018). The comparative study of empathy: sympathetic concern and empathic perspective-taking in non-human animals. *Biol. Rev.*, 93(1), 248–269. doi:10.1111/brv.12342
- Julia S. Pinho, J.S., Castilho, M., Sollari, J.S., Oliveira, R.F. (2020). Innate chemical, but not visual, threat cues have been co-opted as unconditioned stimulus for social fear learning in zebrafish. *Genes, Brain and Behavior*, 19(8) e12688. doi:10.1111/gbb.12688
- Pisansky, M.T., Hanson, L.R., Gottesman, I.I., Gewirtz, J.C. (2017). Oxytocin enhances observational fear in mice. *Nat Commun*, 8, 2102. doi:10.1038/s41467-017-02279-5
- Platt, M. L., Seyfarth, R. M., & Cheney, D. L. (2016). Adaptations for social cognition in the primate brain. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1687) 20150096. doi:10.1098 / rstb.2015.0096
- Pohl, T.T., Young, L.J., Bosch, O.J. (2019). Lost connections: Oxytocin and the neural, physiological, and behavioral consequences of disrupted relationships. *International Journal of Psychophysiology*, 136, 54-63. doi:10.1016/j.ijpsycho.2017.12.011
- Preston, S.D., de Waal, F.B.M. (2002). Empathy: its ultimate and proximate bases. *Behav. Brain Sci.*, 25(1), 1–20. doi:10.1017/S0140525X02000018
- Prounis, G.S., Ophir, A.G. (2020). One cranium, two brains not yet introduced: Distinct but complementary views of the social brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 108, 231-245. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.11.011
- Qin, M., Wong, A., Seguin, D., Gerlai, R. (2014). Induction of Social Behavior in Zebrafish: Live Versus Computer Animated Fish as Stimuli. *Zebrafish*, 11(3), 185–197. doi:10.1089/zeb.2013.0969
- Quintana, D.S., Guastella, A.J. (2020). An Allostatic Theory of Oxytocin. *Trends in Cognitive Sciences*, 24(7), 515-528. doi:10.1016/j.tics.2020.03.008
- Ramsey, M.E., Fry, D., Cummings, M.E. (2019). Isotocin increases female avoidance of males in a coercive mating system: Assessing the social salience hypothesis of oxytocin in a fish species. *Hormones and Behavior*, 112, 1-9. doi:10.1016/j.yhbeh.2019.03.001
- Reddon, A.R., O'Connor, C.M., Marsh-Rollo, S.E., Balshine, S. (2012). Effects of isotocin on social responses in a cooperatively breeding fish. *Animal Behaviour*, 84(4), 753-760. doi:10.1016/j.anbehav.2012.07.021

- Reimert, I., Bolhuis, J.E., Kemp, B., Rodenburg, T.B. (2015). Emotions on the loose: emotional contagion and the role of oxytocin in pigs. *Anim Cogn*, 18, 517–532. doi:10.1007/s10071-014-0820-6
- Ribeiro, D., Nunes, A.R., Gliksberg, M., Anbalagan, S., Levkowitz, G., Oliveira, R.F. (2020). Oxytocin receptor signalling modulates novelty recognition but not social preference in zebrafish. *Journal of Neuroendocrinology*, 32(4) e12834. doi:10.1111/jne.12834
- Rogers-Carter, M.M., Varela, J.A., Gribbons, K.B., Pierce, A.F., McGoey, M.T., Ritchey, M. et al. (2018). Insular cortex mediates approach and avoidance responses to social affective stimuli. *Nature Neuroscience*, 21, 404–414. doi:10.1038/s41593-018-0071-y
- Rogers-Carter, M.M., Christianson, J.P. (2019). An insular view of the social decision-making network. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 103, 119-132. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.06.005
- Rosenthal, S.B., Twomey, C.R., Hartnett, A.T., Wu, H.S., Couzin, I.D. (2015). Revealing the hidden networks of interaction in mobile animal groups allows prediction of complex behavioral contagion. *PNAS*, 112(15), 4690-4695. doi:10.1073/pnas.1420068112
- Russell, J.A. (2003). Core affect and the psychological construction of emotion. *Psychol. Rev.*, 110(1), 145-72. doi:10.1037/0033-295x.110.1.145
- Sabiniewicz, A., Tarnowska, K., Świątek, R., Sorokowski, P., Laska, M. (2020). Olfactory-based interspecific recognition of human emotions: Horses (*Equus ferus caballus*) can recognize fear and happiness body odour from humans (*Homo sapiens*). *Applied Animal Behaviour Science*, 230, 105072. doi:10.1016/j.applanim.2020.105072
- Scherer, K.R. (2009). Emotions are emergent processes: they require a dynamic computational architecture. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2009, 364(1535), 3459–3474. doi:10.1098/rstb.2009.0141
- Scherer, K. R., Schorr, A., & Johnstone, T. (Eds.). (2001). *Series in affective science. Appraisal processes in emotion: Theory, methods, research*. Oxford University Press
- Schieltz, H., Dingemanse, N.J., Nakagawa, S., Westneat, D.F., Allogue, H. Teplitsky, C. et al. (2020). Robustness of linear mixed-effects models to violations of distributional assumptions. *Methods Ecol Evol.*, 11(9), 1141–1152. doi:10.1111/2041-210X.13434
- Sereno, M.I., Tootell, R.B.H. (2005). From monkeys to humans: what do we now know about brain homologies? *Current Opinion in Neurobiology*, 15(2), 135-144. doi:10.1016/j.conb.2005.03.014
- Shamay-Tsoory, S.G. and Abu-Akel, A. (2016). The Social Salience Hypothesis of Oxytocin. *Biological Psychiatry*, 79(3), 194-202. doi:10.1016/j.biopsych.2015.07.020
- Shams, S., Amlani, S., Buske, C., Chatterjee, D., Gerlai, R. (2017). Developmental social isolation affects adult behavior, social interaction, and dopamine metabolite levels in zebrafish. *Developmental Psychobiology*, 60(1), 43–56. doi:10.1002/dev.21581

- Silva, P.F., Leaniz, C.G. de., Luchiari, A.C. (2019). Fear contagion in zebrafish: a behaviour affected by familiarity. *bioRxiv*, 521187. doi:10.1101/521187
- Simons, M., Tibbetts, E. (2019). Insects as models for studying the evolution of animal cognition. *Current Opinion in Insect Science*, 34, 117-122. doi:10.1016/j.cois.2019.05.009
- Sison, M. and Gerlai, R. (2011). Shoaling develops with age in Zebrafish (*Danio rerio*). *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(6), 1409-1415. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.09.003
- Somveille, M., Firth, J.A., Aplin, L.M., Farine, D.R., Sheldon, B.C., Thompson, R.N. (2018). Movement and conformity interact to establish local behavioural traditions in animal populations. *PLoS Comput Biol.*, 14(2):e1006647. doi:10.1371/journal.pcbi.1006647
- Song, Z., Albers, H.E. (2018). Cross-talk among oxytocin and arginine-vasopressin receptors: Relevance for basic and clinical studies of the brain and periphery. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 51, 14-24. doi:10.1016/j.yfrne.2017.10.004
- Sotocinal, S.G.; Sorge, R.E.; Zaloum, A.; Tuttle, A.H.; Martin, L.J.; Wieskopf, J.S. et al. (2011). The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol. Pain*, 7, 55. doi:10.1186/1744-8069-7-55
- Speedie, N., Gerlai, R. (2008). Alarm substance induced behavioral responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural Brain Research*, 188(1), 168-177. doi:10.1016/j.bbr.2007.10.031
- Stallen, M., de Dreu, C.K.W., Shalvi, S., Smidts, A., Sanfey, A.G. (2012). The Herding Hormone: Oxytocin Stimulates In-Group Conformity. *Psychological Science*, 23(11), 1288-1292. doi:10.1177/0956797612446026
- Stallen, M. and Sanfey, A.G. (2015). The neuroscience of social conformity: implications for fundamental and applied research. *Front. Neurosci.*, 9, 337. doi:10.3389/fnins.2015.00337
- Stoop, R. (2012). Neuromodulation by Oxytocin and Vasopressin. *Neuron*, 76(1), 142-159. doi:10.1016/j.neuron.2012.09.025
- Sumpter, D.J.T. (2006). The principles of collective animal behavior. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 361, 5–22. doi:10.1098/rstb.2005.1733
- Taborsky, B. and Oliveira, R. F. (2012). Social competence: an evolutionary approach. *Trends Ecol. Evol.* 27(12), 679–688. doi:10.3389/fnbeh.2016.00016
- Teles, M.C., Cardoso, S.D., Oliveira, R.F. (2016). Social plasticity relies on different neuroplasticity mechanisms across the brain social decision-making network in zebrafish. *Front. Behav. Neurosci.*, 10:16. doi:10.3389/fnbeh.2016.00016
- Tillman, R., Gordon, I., Naples, A., Rolison, M., Leckman, J.F., Feldman, R. et al. (2019). Oxytocin Enhances the Neural Efficiency of Social Perception. *Front. Hum. Neurosci.*, 13, 71. doi:10.3389/fnhum.2019.00071

- Timmermann, M., Jeung, H., Schmitt, R., Boll, S., Freitag, C.M., Bertsch, K. et al. (2017). Oxytocin improves facial emotion recognition in young adults with antisocial personality disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 85, 158-164. doi:10.1016/j.psyneuen.2017.07.483
- Trautmann-Lengsfeld, S. A. and Herrmann, C. S. (2014). Virtually simulated social pressure influences early visual processing more in low compared to high autonomous participants. *Psychophysiology*, 51(2), 124–135. doi:10.1111/psyp.12161
- Tunbak, H., Vaquez-Prada, M., Ryan, T.M., Kampf, A.D., Dreosti, E. (2020). Whole-brain mapping of socially isolated zebrafish reveals that lonely fish are not loners. *eLife*, 9, e55863. doi:10.7554/eLife.5586
- Vanya, M., Szucs, S., Vetro, A., Bartfai, G. (2017). The potential role of oxytocin and perinatal factors in the pathogenesis of autism spectrum disorders – review of the literature. *Psychiatry Research*, 247, 288-290. doi:10.1016/j.psychres.2016.12.007
- Yamagishi, A., Lee, J., Sato, N. (2020). Oxytocin in the anterior cingulate cortex is involved in helping behavior. *Behavioural Brain Research*, 393(1), 112790. doi:10.1016/j.bbr.2020.112790
- Ward, A.J.W., Sumpter, D.J.T., Couzin, I.D., Hart, P.J.B., Krause, J. (2008). Quorum decision-making facilitates information transfer in fish shoals. *PNAS*, 105(19), 6948-6953. doi:10.1073/pnas.0710344105
- Ward, A.J.W., Herbert-Read, J.E., Sumpter, D.J.T., Krause, J. (2011). Fast and accurate decisions through collective vigilance in fish shoals. *PNAS*, 108(6), 2312-2315. doi:10.1073/pnas.1007102108
- Waller, B.M., Whitehouse, J., Micheletta, J. (2016). Macaques can predict social outcomes from facial expressions. *Animal Cognition*, 19(5), 1031–1036. doi:10.1007/s10071-016-0992-3
- Watanabe, T., Kuroda, M., Kuwabara, H., Aoki, Y., Iwashiro, N., Tatsunobu, N. et al. (2015). Clinical and neural effects of six-week administration of oxytocin on core symptoms of autism. *Brain*, 138(11), 3400–3412. doi:10.1093/brain/awv249
- Way, G.P., Kiesel, A.L., Ruhl, N., Sneksner, J.L., McRobert, S.P. (2018). Sex differences in a shoaling-boldness behavioral syndrome, but no link with aggression. *Behavioural Processes*, 113, 7-12. doi:10.1016/j.beproc.2014.12.014
- Webster, M.N., Laland, K.N. (2008). Social learning strategies and predation risk: minnows copy only when using private information would be costly. *Proc. R. Soc. B.*, 275, 2869–2876. doi:10.1098/rspb.2008.0817
- Webster, M.M., Ward, A.J.W. (2011). Personality and social context. *Biol. Rev.*, 86(4), 759–773. doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00169.x
- Wright, D., Krause, J. (2006). Repeated measures of shoaling tendency in zebrafish (*Danio rerio*) and other small teleost fishes. *Nat Protoc*, 1(4), 1828–1831. doi:10.1038/nprot.2006.287

- Wircer, E., Ben-Dor, S. and Levkowitz, G. (2016) *Non-Mammalian Models for Neurohypophysial Peptides, in Molecular Neuroendocrinology: From Genome to Physiology* (eds D. Murphy and H. Gainer), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK
- Żakowski, W. (2020). Animal Use in Neurobiological Research. *Neuroscience*, 433, 1-10. doi:10.1016/j.neuroscience.2020.02.049
- Zimmermann, F.F., Gaspary, K.V., Siebel, A.M., Bonan, C.D. (2016). Oxytocin reversed MK-801-induced social interaction and aggression deficits in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 311, 368-374. doi:10.1016/j.bbr.2016.05.059

9. ANEXOS

9.1. Figuras suplementares

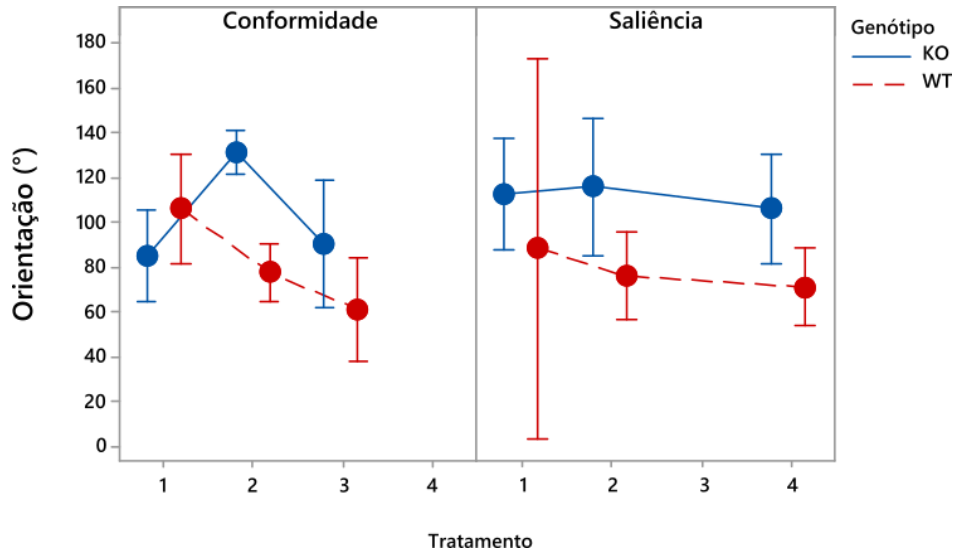


Figura suplementar 1: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a orientação nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

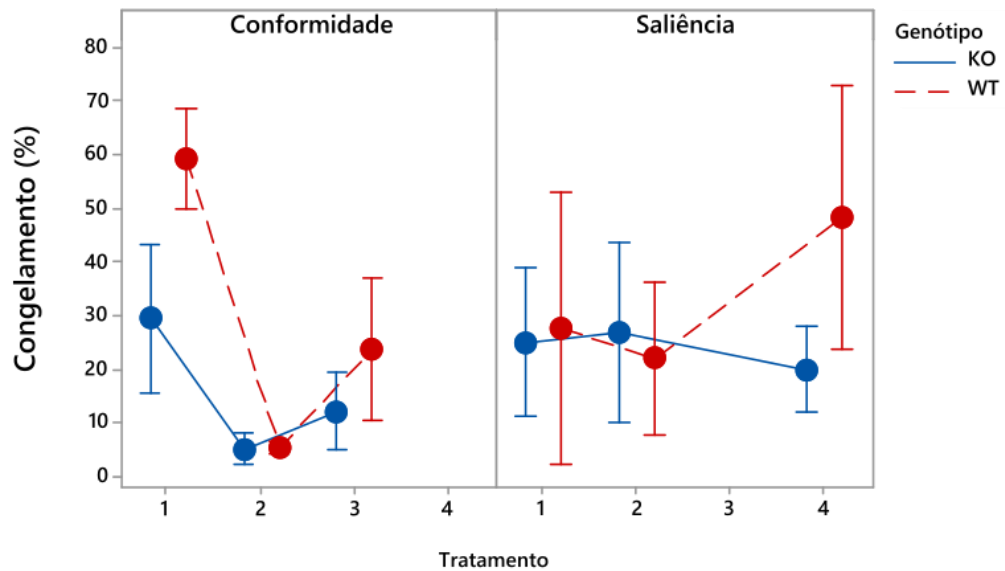


Figura suplementar 2: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para o congelamento nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

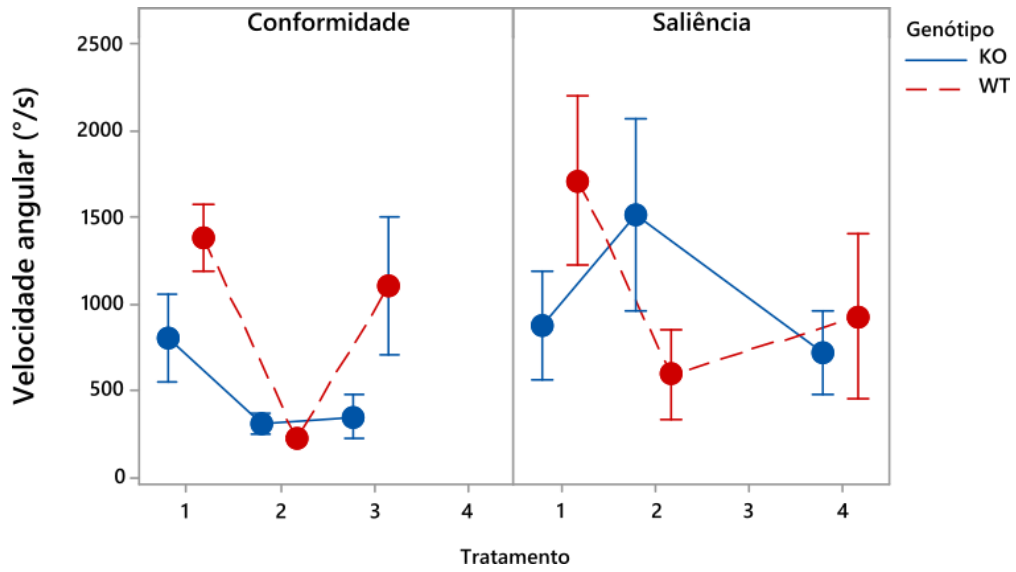


Figura suplementar 3: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a velocidade angular nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

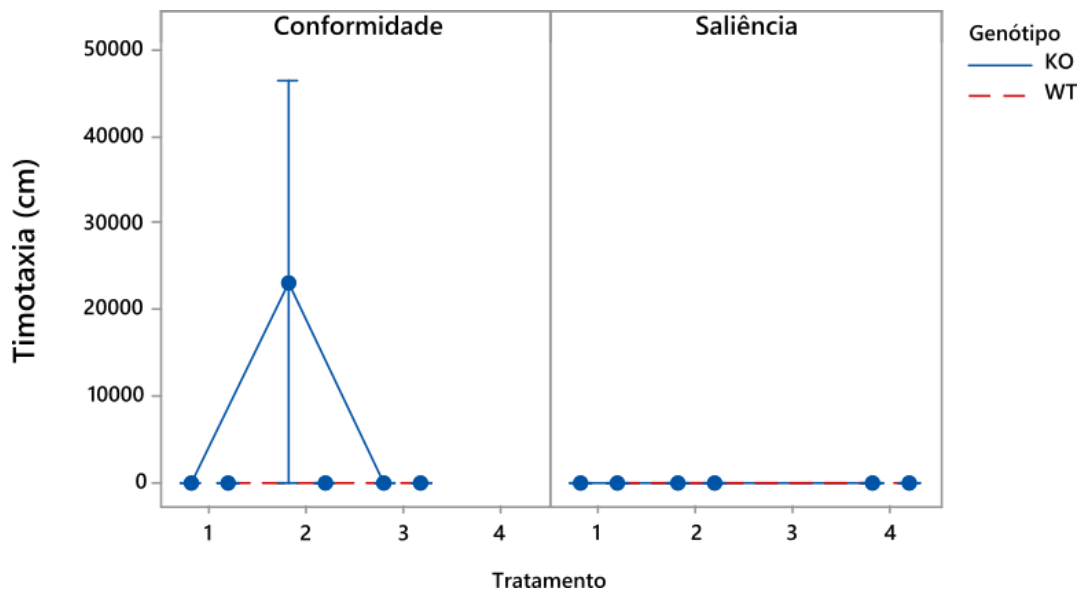


Figura suplementar 4: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a timotaxia nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

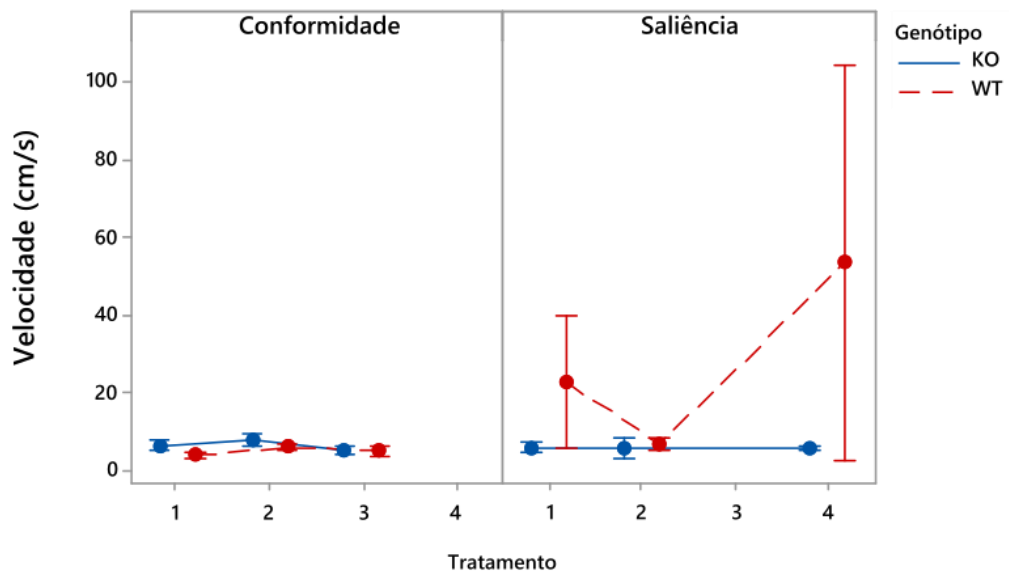


Figura suplementar 5: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a velocidade nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

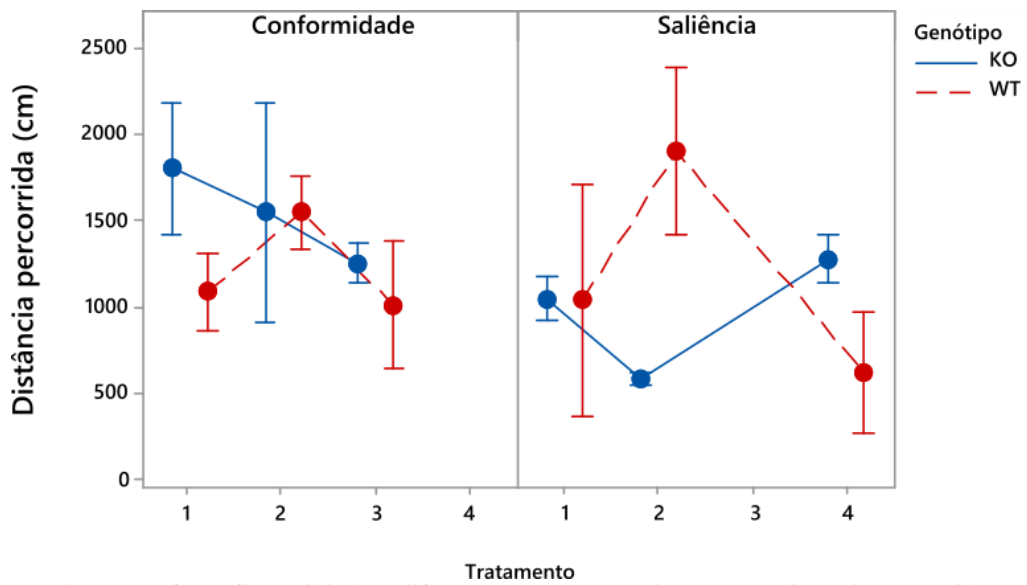


Figura suplementar 6: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a distância percorrida nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

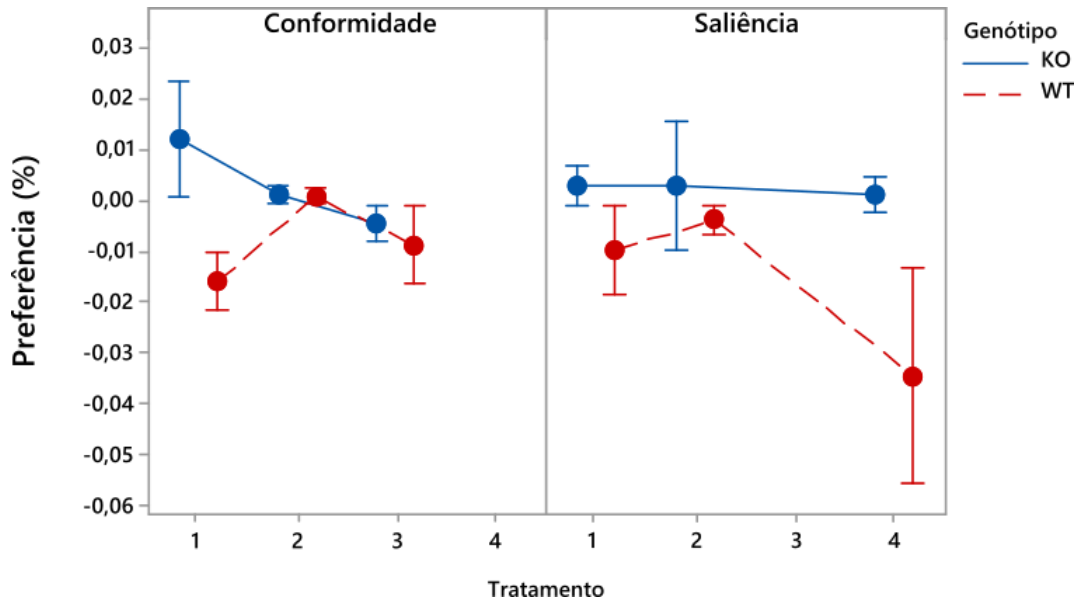


Figura suplementar 7: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a preferência nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito de habituação.

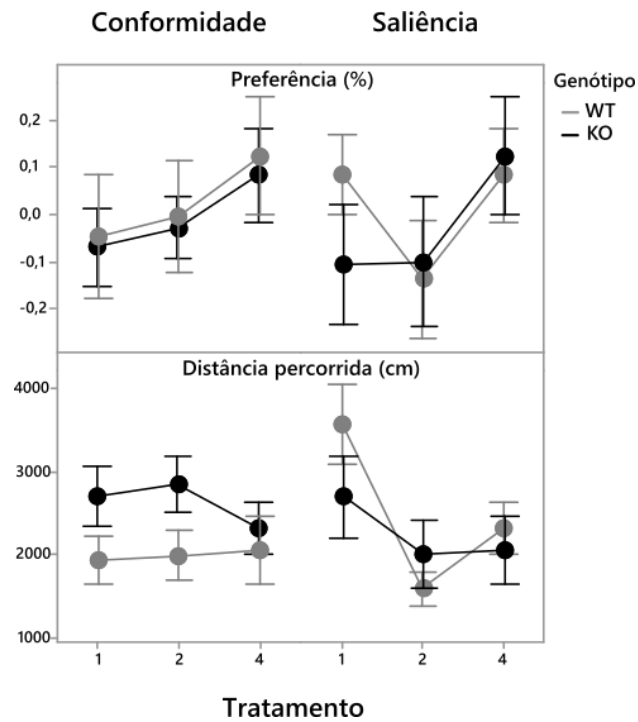


Figura suplementar 8: Gráfico exibindo os resultados para a preferência e distância percorrida nas condições de teste conformidade e saliência. Não foi detectado efeito significativo.

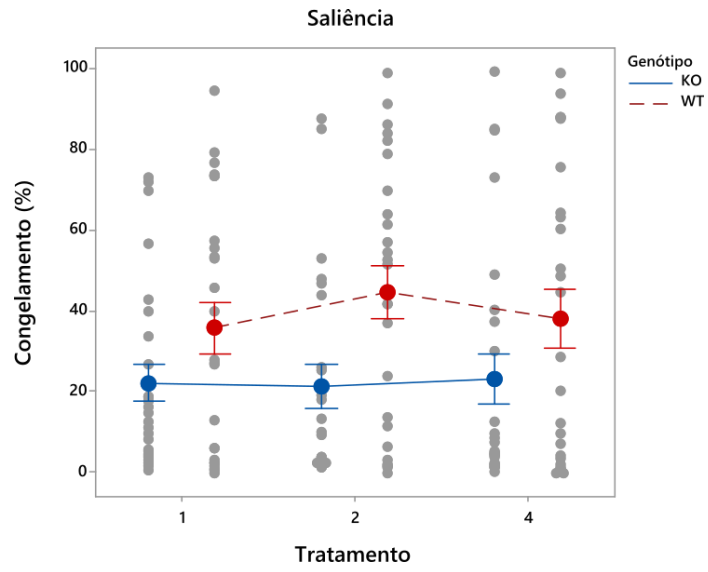


Figura suplementar 9: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a resposta de congelamento na condição de teste saliência. Não foi detectado efeito significativo.

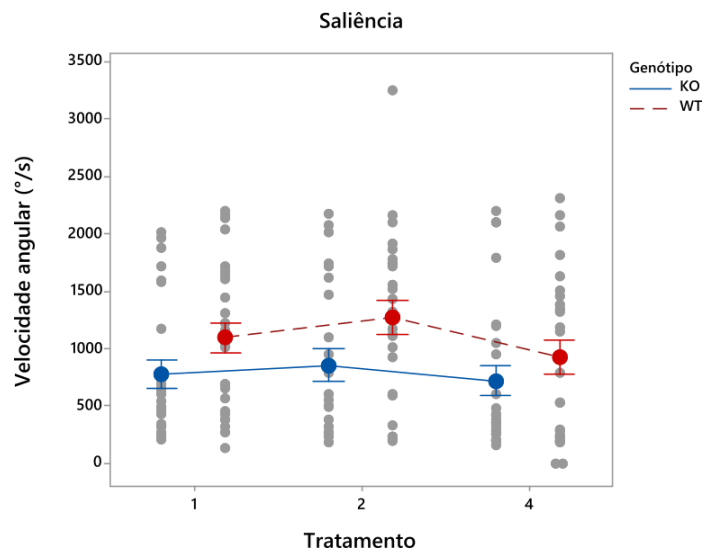


Figura suplementar 10: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a resposta de velocidade angular na condição de teste saliência. Não foi detectado efeito significativo.

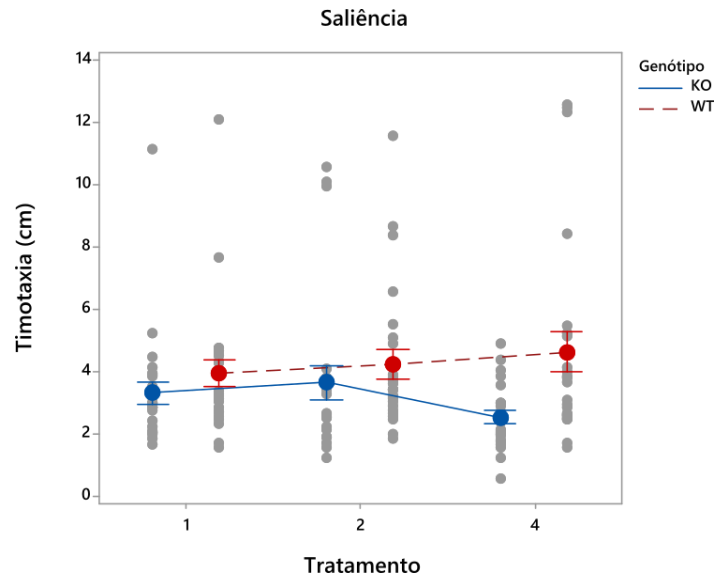


Figura suplementar 11: Gráfico exibindo a diferença entre os genótipos para a timotaxia na condição de teste saliência. Não foi detectado efeito significativo.