

Universidade Federal do Pará Instituto de Filosofia e Ciências Humanas Programa de Pós-Graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento

# UM TESTE COMPUTADORIZADO PARA A AVALIAÇÃO DE VISÃO DE CORES EM CRIANÇAS E SUJEITOS NÃO-VERBAIS BASEADO NO TESTE DE DISCRIMINAÇÃO DE CORES DE MOLLON-REFFIN

Paulo Roney Kilpp Goulart

Belém – PA 2008



Universidade Federal do Pará Instituto de Filosofia e Ciências Humanas Programa de Pós-Graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento

# UM TESTE COMPUTADORIZADO PARA A AVALIAÇÃO DE VISÃO DE CORES EM CRIANÇAS E SUJEITOS NÃO-VERBAIS BASEADO NO TESTE DE DISCRIMINAÇÃO DE CORES DE MOLLON-REFFIN

Paulo Roney Kilpp Goulart<sup>1</sup>

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Teoria e Pesquisa do Comportamento, sob orientação do Prof. Dr. Olavo de Faria Galvão e co-orientação do Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira.

<sup>1</sup> Bolsista CNPq.

Belém - PA 2008

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)** (Biblioteca de Pós-Graduação do IFCH/UFPA, Belém-PA)

Goulart, Paulo Roney Kilpp

Um teste computadorizado para a avaliação de visão de cores em crianças e sujeitos não-verbais baseado no teste de discriminação de cores de Mollon-Reffin / Paulo Roney Kilpp Goulart; orientador, Olavo de Faria Galvão; co-orientador, Luiz Carlos de Lima Silveira. - 2008

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Filosofia e Ciências Humanas, Programa de Pós-Graduação em Teoria de Pesquisa do Comportamento, Belém, 2008.

1. Psicologia infantil. 2. Visão de cores em crianças. 3. Percepção visual em crianças. I. Título.

CDD - 22. ed. 155.4



de Pós - Graduad em Teoria e Peso do Comor

Serviço Público Federal Universidade Federal do Pará Instituto de Filosofia e Ciências Humanas Programa de Pós-Graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento

## Tese de Doutorado

## "Um teste computadorizado para a avaliação de visão de cores em crianças baseado no teste de discriminação de cores de Mollon-Reffin"

## **Candidato: PAULO RONEY KILPP GOULART**

### Data da Defesa: 16 de dezembro de 2008

**Resultado: Aprovado.** 

**Banca Examinadora:** Prof. Dr. Olavo de Faria Galvão (UFPA), Orientador Profa Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira, (UFPA), Co-orientador Profa. Dra. Dora Selma Fix Ventura (USP-SP), Membro 20 Prof. Dr. Marcelo Fernandes da Costa (USP-SP), Membro Prof. Dr. Romariz da Silva Barros (UFPA), Membro.

Prof. Dr. Amauri Gouveia Junior (UFPA), Membro.

### SUMÁRIO

Agradecimentos iii
Lista de Figuras
Lista de Tabelas vi
Resumo
Abstract
Apresentação 1
Uma visão geral da visão de cores
A biologia da visão de cores
Determinantes da visão de cores humana
Implicações comportamentais das formas variantes da visão de cores humana 18
O delineamento de testes de discriminação de cores
O Cambridge Colour Test
O arranjo de estímulo alternativo
O protocolo de treino
Objetivo e Justificativa
Experimento I - Validação do Arranjo de Estímulos Alternativo
Método
Sujeitos
Equipamento
Estímulos
Procedimento
Resultados e Discussão
Experimento II – Aplicação das Condições Adaptadas em Crianças e Adultos 40
Método

Sujeitos
Equipamento e Estímulos
Reforçadores
Procedimento
Resultados e Discussão
Discussão Geral
Referências
Apêndice: O Diagrama de Cromaticidade CIE 59
Anexo A: Artigo A computer-controlled color vision test for children based on the
Cambridge Colour Test
Anexo B: Termos de consentimento

#### AGRADECIMENTOS

Gostaria de abrir esta lista de agradecimentos com um que já vem anos atrasado: à Solange Calcagno, que me ensinou de fato o que é ser um analista do comportamento. Sua dedicação e coerência foram grande influência para mim.

Ao Olavo de Faria Galvão, pelos anos de orientação e camaradagem. Por ter incentivado minha inserção nessa linha de pesquisa. E por "ensinar sem ensinar".

À Dora, por ter aceitado conduzir minhas atividades acadêmicas durante todo o período de visita à USP, pela recepção amistosa e por todo o incentivo ao desenvolvimento deste estudo e de minhas atividades acadêmicas.

A todos os integrantes do Laboratório de Visão de Cores, pelo agradável convívio e pelo quanto me ensinaram. À linha de frente do "CCT Kids" - Nestor, Márcio e Tsubota –, pelo apoio e a amizade sempre presentes. E em especial ao Márcio Bandeira pela dedicação demonstrada na adaptação do software utilizado na coleta de dados deste estudo (e nos que estão por vir).

Gostaria também de registrar a imprescindível contribuição das crianças que participaram deste estudo, alunas da creche Oeste da USP. Meus sinceros agradecimentos a elas e a seus pais - por consentirem sua participação - e ao corpo diretivo da creche que permitiu nossa entrada lá e viabilizou as condições para a realização da coleta de dados.

Aos meus pais, Carmen e Goulart, e ao meu irmão, Bruno, pelo constante incentivo ao desenvolvimento das minhas atividades acadêmicas e profissionais, apesar da distância que elas acarretam.

E à Michele, por todos os motivos óbvios, por puxar minha orelha e por me emprestar a sua todas as vezes em que o contato com algo novo sobre visão de cores me punha a falar sem parar.

### LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Curva de sensibilidade espectral de uma classe de fotorreceptor genérico	7
Figura 2:	Exemplo do efeito da presença de uma ou duas classes de cones sobre a	
	discriminação de matiz	9
Figura 3:	Representação esquemática dos campos receptivos com oponência centro-	
	periferia das células ganglionares.	12
Figura 4:	Curvas de sensibilidade espectral dos fotopigmentos de cone S, M e L	
	humanos	14
Figura 5:	Curvas de sensibilidade espectral das formas variantes de pigmentos M e L	
	presentes na população humana	15
Figura 6:	Curvas de sensibilidade espectral das formas variantes de visão de cores no	
	homem	17
Figura 7:	Estimativas de eficácia luminosa para o sistema visual humano a partir de	
	funções de sensibilidade espectrais fotópicas obtidas por uma variedade de	
	métodos	20
Figura 8:	Derivação de um ponto co-punctual a partir das linhas que contêm dois	
	pares de confusão, em um diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v'	22
Figura 9:	Linhas de confusão estimadas para as formas protan-, deutan- e tritan- de	
	dicromacia humana, plotadas em um diagrama de cromaticidade CIE 1976	
	u'v'	23
Figura 10:	Exemplo do arranjo de estímulos utilizado originalmente no teste	
	Cambridge Colour Test.	24
Figura 11:	Exemplos de elipses de discriminação de cores obtidas com indivíduos	
	protanômalos e deuteranômalos.	25

Figura 12:	Exemplo do arranjo de estímulos alternativo utilizado no presente estudo .	28
Figura 13:	Resultados das comparações entre medidas feitas com o CCT e a versão	
	Protótipo contra os resultados da mesma análise para duas medidas	
	individuais com o CCT	38
Figura 14:	Médias e desvios-padrão dos limiares obtidos com o teste adaptado para	
	três grupos etários comparados com dados produzidos independentemente	
	com o CCT para outras duas populações.	44
Figura 15:	Os mesmos dados apresentados na porção esquerda da Figura 8 para	
	agrupamentos etários alternativos	45
Figura 16:	Funções de igualação de cor CIE RGB, associadas com as primárias	
	700,0nm (R), 546,1nm (G) e 435,8nm (B), e CIE XYZ, derivadas	
	matematicamente das primeiras, a fim de se evitar valores negativos	61
Figura 17:	Diagrama de cromaticidade CIE 1931 xy	63
Figura 18:	Diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v', no qual as distâncias	
	euclidianas correspondem com menor distorção a distâncias perceptuais	64
Figura 19:	Gamut de cores do diagrama CIE 1976 u'v'. O triângulo delimita as cores	
	que podem ser reproduzidas por um monitor CRT	65

### LISTA DE TABELAS

Tabela I:	Comprimentos de onda e os matizes correspondentes, tendo como base um	
	observador padrão.	3
Tabela II:	Cálculos efetuados para os limites de concordância e para os intervalos de	
	95% confiança (em torno da média das diferenças $\mu D$ e dos limites de	
	confiança).	36
Tabela III	Resultados do teste t pareado para todas as comparações possíveis entre as	
	duas últimas medidas com cada versão do teste, para os eixos protan, deutan	
	e tritan	39

Goulart, P. R. K (2008). Um teste computadorizado para a avaliação de visão de cores em crianças e sujeitos não-verbais baseado no teste de discriminação de cores de Mollon-Reffin. Tese de Doutorado. Belém: UFPA. 75 págs.

#### RESUMO

O presente estudo visou garantir condições favoráveis para a avaliação de discriminação de cores em criancas, por meio de uma adaptação no modo Trivector do teste de discriminação de cores de Mollon-Reffin. Como a tarefa original, de indicar a abertura do C de Landolt, se mostrou pouco intuitiva para crianças pequenas, o alvo foi mudado para uma área colorida aproximadamente quadrada e a resposta requerida passou a ser tocar no alvo. O modo de teste Trivector mede os limiares de discriminação de cor ao longo de três linhas de confusão características das três formas variantes de visão de cor humana: protan-, deutan- e tritan-. O Experimento I avaliou a concordância entre o teste original e a versão adaptada, com 29 sujeitos adultos com visão de cor normal. A comparação dos limiares obtidos com as duas versões, por meio do método de avaliação de concordância de Bland-Altman, mostrou boa concordância entre as versões. No Experimento II, o teste adaptado foi aplicado em 25 crianças de 2 a 7 anos, usando técnicas de treino operante para estabelecer e manter o desempenho dos sujeitos. Os limiares diminuíram progressivamente acompanhando o aumento na idade. Os limiares protan- e deutan- foram consistentemente menores que os limiares tritan-, um padrão que já havia sido observado com adultos no teste original. Os resultados demonstram que, feitas as adaptações necessárias, o teste é adequado para a avaliação da discriminação de cor em crianças pequenas e pode ser uma ferramenta útil para a identificação das variações da visão de cor durante o desenvolvimento, bem como para a aplicação em outras populações humanas e, inclusive, outros primatas. (CNPq, FINEP). Palavras-chave: discriminação de cores, Cambridge Colour Test, desenvolvimento visual, Goulart, P. R. K. (2008). A computer-controlled color vision test for children and non-verbal subjects based on the Mollon-Reffin color discrimination test. Doctoral Dissertation. Belém: UFPA. 75 pp.

#### ABSTRACT

The present study aimed at providing conditions for the assessment of color discrimination in children using a modified version of the Trivector mode of the Mollon-Reffin color discrimination test. Since the task of indicating the gap of the Landolt C used in that test proved counterintuitive and/or difficult for young children to understand the target stimulus was changed to a square patch of color the subjects were asked to touch. The Trivector test measures color discrimination for the protan, deutan and tritan confusion lines. Experiment I sought to evaluate the correspondence between the CCT and the child-friendly adaptation with adult subjects (n=29) with normal color vision. Comparison of the thresholds obtained with both tests using Bland-Altman statistical methods showed good agreement between the two test versions. Experiment II tested the child-friendly software with children 2 to 7 years old (n=25) using operant training techniques for establishing and maintaining the subjects' performance. Color discrimination thresholds were progressively lower as age increased. The protan and deutan thresholds were consistently lower than tritan thresholds, a pattern repeatedly observed in adults tested with the CCT. The results demonstrate that the test is fit for assessment of color discrimination in young children and may be a useful tool for the establishment of color vision thresholds during development, as well as for use with other human populations, as well as with other primate species. (CNPq, FINEP).

*Key-words*: hue discrimination, Cambridge Colour Test, visual development, operant conditioning.

#### Apresentação

Os esforços que culminaram no presente trabalho tiveram origem no interesse conjunto da Escola Experimental de Primatas (encabeçada pelo Prof. Dr. Olavo de Faria Galvão) e do antigo Departamento de Fisiologia (na pessoa do Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Silveira), ambos da Universidade Federal do Pará, em desenvolver um teste computadorizado de discriminação de cores para ser empregado na avaliação da visão de cores de macacos do Novo Mundo. Tal contexto deu origem, em 2005, ao Projeto de Doutorado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Teoria e Pesquisa do Comportamento, à época intitulado "Procedimentos computadorizados para a avaliação de visão de cores de macacos-prego (*Cebus apella*)", que propunha a adaptação do teste de Mollon-Reffin, um teste já consagrado para a testagem de seres humanos, para o uso com macacos-prego (*Cebus apella*).

Com o intuito de familiarizar-se com o teste, o equipamento e travar contato com a prática de pesquisa no campo da visão de cores, o autor realizou um estágio sanduíche informal supervisionado pela Profa. Dra. Dora Fix Ventura, no Laboratório da Visão: Psicofísica e Eletrofísiologia Visual Clínica (LabVis), do Instituto de Psicologia da USP, onde também havia se instalado o interesse em uma adaptação do teste de Mollon-Reffin, nesse caso para aplicação em bebês e crianças. Foi durante esse estágio que as adaptações inicialmente previstas para macacos-prego foram implementadas no software desenvolvido por Marcio Leitão Bandeira – aluno vinculado ao LabVis – para ser utilizado com crianças e bebês. O presente trabalho apresenta os dois experimentos realizados a fim de se validar um procedimento computadorizado para a avaliação de visão de cores em crianças de 2 a 7 anos de idade. Os dados que serão relatados nos Experimentos I e II foram publicados recentemente (Goulart, Bandeira, Tsubota, Oiwa, Costa & Ventura, 2008). Alguns trechos do texto, especialmente no tratamento dos Experimentos I e II, foram inclusive traduzidos literalmente do manuscrito supracitado (Anexo A). A seguir, serão discutidos alguns aspectos essenciais do fenômeno "cor" e da visão de cores, com ênfase nas maneiras como esta se apresenta nos seres humanos. Em seguida, serão consideradas as características que devem necessariamente estar presentes em testes que visem a avaliar a capacidade dos indivíduos de efetuar discriminações com base na composição espectral da luz. Por fim, o teste de discriminação de Mollon-Reffin será caracterizado, tendo como base o emprego daquelas características, sua relevância e as extensões e limites de sua aplicabilidade.

#### Uma visão geral da visão de cores

A visão de cores resulta de um conjunto de adaptações dos sistemas visuais que possibilita aos organismos responderem discriminativamente a variações na composição espectral da luz (i.e., a combinação de comprimentos de onda que a compõe), independentemente de variações em intensidade. Pensando em termos de um observador humano padrão, essa capacidade está implicada, por exemplo, na segregação do espectro de luz visível (a faixa do espectro eletromagnético com comprimentos de onda entre aproximadamente 400 nm e 700 nm) em "violetas", "azuis", "verdes", "amarelos", "laranjas" e "vermelhos" (Tabela I). No uso quotidiano, o termo "cor" normalmente denomina algo que se supõe ser uma propriedade inerente aos objetos que seria percebida, capturada, pelo aparato sensorial dos indivíduos. Há, entretanto, indivíduos que não são capazes, sob certas condições, de efetuar algumas discriminações em termos de composição espectral, as mais famosas sendo entre certos "verdes" e "vermelhos". São os chamados "daltônicos". Nesses casos, a noção de cor do senso comum fica bem menos intuitiva: faz sentido chamar de "verde" uma estimulação luminosa de 540 nm que um determinado indivíduo confunde com

uma outra de 600 nm, usualmente chamada "laranja"? A cor é uma propriedade dos objetos ou "está nos olhos de quem vê"<sup>1</sup>, por assim dizer?

Tabela I. Comprimentos de onda e os matizes correspondentes, tendo como base um observador padrão. Os comprimentos de onda correspondem ao centro da faixa usualmente associada ao nome de cor em questão. Estão incluídos os "púrpuras", que não estão associados a luzes monocromáticas, mas a misturas de "azuis" e "vermelhos" Adaptado de Coren, Porac e Ward (1978).

Nome da cor	Comprimento de onda (nm)
Violeta	450
Azul	470
Verde	510
Amarelo	575
Laranja	600
Vermelho	660
Púrpura	Mistura de "azuis"
	e "vermelhos"

Em termos técnicos, a luz não é "colorida". Embora obviamente haja uma relação estreita entre aspectos físicos da estimulação luminosa e capacidade discriminativa de um dado organismo, a cor percebida de uma fonte de luz ou superfície será resultante da interação entre as propriedades radiométricas da luz emitida (comprimento de onda,

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> É importante ressaltar que a percepção de cor depende não apenas de aspectos da fisiologia do olho e da retina, mas de toda uma complexa circuitaria neural dedicada ao tratamento do sinal que se inicia com a estimulação dos fotorreceptores na retina. O presente trabalho, porém, enfatiza as variações na fisiologia da retina que se correlacionam com as variações de visão de cores mensuráveis por meio do teste de discriminação de cores de Mollon-Reffin.

intensidade radiante, pureza colorimétirica) e as peculiaridades do sistema visual daquele organismo<sup>2</sup>. De acordo com Levine (2000), o "atributo chamado 'cor' é inteiramente uma fabricação do (...) sistema visual" (p. 297). Assim, variações na conformação do sistema visual implicarão em capacidades discriminativas variadas. Dito de outro modo, a cor não é uma propriedade física capturada pelo sistema visual; é uma reação idiossincrática dos organismos à composição espectral da luz que incide nas células fotossensíveis de suas retinas. Essa reação idiossincrática, a "sensação de cor", é comumente descrita em termos de matiz, saturação e brilho, dimensões perceptuais que estão vinculadas, respectivamente, à composição espectral, à pureza colorimétrica e à intensidade da estimulação visual.

De acordo com Wyszecki e Stiles (1982), matiz é "o atributo da percepção de cor denotado por azul, verde, amarelo, vermelho, púrpura e assim por diante" (p. 487). Em outras palavras, é a mudança de aspecto percebida com a alteração da composição espectral da luz (seu comprimento de onda, caso se trate de luz monocromática<sup>3</sup>, ou comprimento de onda dominante, no caso de misturas). Como se percebe a partir da definição de Wyszecki e Stiles (1982), "matiz" é o conceito mais intimamente ligado à noção do senso comum de cor, mas o termo técnico "cor" é um conceito mais amplo, que inclui matiz, saturação e brilho (Schwartz, 2004; 103). A saturação diz respeito à "tonalidade" da cor, ou seja, o quanto ela parece mais viva ou mais pálida. O atributo físico com o qual a saturação se relaciona, a pureza colorimétrica, descreve a proporção de luz branca misturada com o comprimento de onda dominante (Schwartz, 2004; p. 104). Quanto mais pura (i.e., quanto menos branco tiver), mais saturada será uma cor. As cores colorimetricamente puras, também denominadas cores espectrais, têm pureza colorimétrica igual a 1. Finalmente, o brilho diz respeito à

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Cabe ressaltar que há outros aspectos da cena visual que influenciam na aparência da cor, como as condições de iluminação, a composição espectral da luz emitida por superfícies adjacentes etc. O presente texto, entretanto, refere-se apenas à relação de aspectos da fisiologia do sistema visual com estímulos cromáticos relativamente simples em um ambiente controlado e sem distratores.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Estritamente falando, uma luz monocromática seria composta de um único comprimento de onda. Todavia, uma vez que não existem fontes de radiação eletromagnética com essa característica, o termo se refere a luzes compostas de uma faixa controlada restrita de comprimentos de onda, que podem ser obtidas por meio de um monocromador.

intensidade percebida de um estímulo visual. O brilho está vinculado ao conceito fotométrico de luminância, isto é, a intensidade luminosa (a quantidade de luz) que atravessa ou é emitida por uma determinada área e incide em um determinado ângulo visual. A unidade padrão de luminância é candelas por metro quadrado (cd/m<sup>2</sup>). Tomados em conjunto, o matiz e a saturação compõem a "cromaticidade", termo que será recorrente no presente trabalho.

Embora apresentem uma correspondência estreita entre si, não há uma relação de um-para-um entre os atributos físicos e perceptuais, conforme sugere o fato de que dois organismos diferentes podem responder de maneira distinta a um mesmo estímulo, como no caso dos "daltônicos", comentado anteriormente. Contudo, a diferenciação entre aspectos físicos e perceptuais na caracterização dos estímulos no estudo da visão de cores é importante não apenas devido às diferenças perceptuais observadas entre indivíduos, mas também porque há peculiaridades na maneira como um mesmo indivíduo se relaciona com as propriedades físicas dos estímulos luminosos. Por exemplo, o matiz da maioria das luzes monocromáticas varia conforme sua intensidade é aumentada (um fenômeno denominado efeito Bezold-Brücke). Além disso, a magnitude da variação de comprimento de onda necessária para que uma pessoa relate uma mudança de matiz não é a mesma ao longo do espectro: por exemplo, na faixa dos comprimentos de onda curtos, estímulos com cinco nanômetros de diferenca podem ser percebidos como um mesmo matiz, ao passo que incrementos de um nanômetro podem ser suficientes para produzir uma mudança matiz na região de ondas médias do espectro (Schwartz, 2004; pp. 105-106). No âmbito da relação energia/brilho, sabe-se que estímulos de mesma energia são percebidos como mais ou menos brilhantes dependendo do seu comprimento de onda. Já no que diz respeito à pureza, nem todos os estímulos de mesma pureza colorimétrica parecem igualmente saturados (Scwhartz, 2004; Levine, 2000). Em vista dessa não-linearidade da relação entre os aspectos físicos e os

aspectos perceptuais dos estímulos coloridos, os dois conjuntos de termos não podem ser utilizados de forma intercambiável (Levine, 2000; p. 299).

#### A biologia da visão de cores

O processo biológico que resulta na visão de cores se baseia, em uma primeira aproximação, na presença, na retina, de pelo menos duas classes de fotorreceptores cones – células especializadas para a captação de luz em condições fotópicas – cujos fotopigmentos sejam maximamente sensíveis a comprimentos de onda em porções distintas do espectro de cores visível (Jacobs, 1996; Ventura, 2007). A Figura 1 ilustra a curva de sensibilidade espectral de uma classe de fotorreceptor genérico. A abscissa apresenta os comprimentos de onda, em nanômetros (nm) e a ordenada indica a porcentagem de absorção de fótons por parte daquele tipo de fotorreceptor (sensibilidade relativa). Cada ponto da curva de sensibilidade espectral descreve, portanto, a probabilidade de que um fóton de um determinado comprimento de onda seja absorvido pelo fotorreceptor. Então, o fotorreceptor em questão é maximamente sensível a luzes entre 500 nm e 550 nm (ou seja, maioria dos fótons dessa faixa é absorvida), mas também apresenta alguma sensibilidade a outros comprimentos de onda, cujos fótons têm menor probabilidade de serem absorvidos quanto mais afastados forem da região de máxima sensibilidade.



Figura 1. Curva de sensibilidade espectral de uma classe de fotorreceptor genérico. Uma vez que o padrão de ativação do fotorreceptor indica o número de absorções de fótons, duas luzes de composição espectral distinta podem ter suas intensidades (i.e., quantidade de fótons) ajustadas de modo a provocar o mesmo número de absorções. Figura adaptada de Neitz e Neitz (2000).

É possível perceber a partir da Figura 1 que, embora a sensibilidade do cone varie ao longo do espectro, ele pode ser estimulado por virtualmente qualquer comprimento de onda. Fótons de alguns comprimentos de onda têm alta probabilidade de serem absorvidos, enquanto outros têm baixa probabilidade de serem absorvidos. De acordo com Rushton (1972), o efeito do comprimento de onda é simplesmente alterar a proporção de fótons incidentes que é absorvida, mas cada fóton absorvido "(qualquer que seja seu comprimento de onda) produz o mesmo efeito" (p. 4). Então, embora o estímulo visual tenha duas dimensões, comprimento de onda e energia, o padrão de resposta do cone varia apenas em uma dimensão, intensidade (i.e., a quantidade de fótons absorvidos). A essa propriedade dos fotorreceptores Rushton (1972) denominou "Princípio da Univariância". Se, por exemplo, uma pessoa tiver acesso apenas ao padrão de resposta de um cone, ela poderá identificar a quantidade de fótons absorvidos, mas será incapaz de dizer o comprimento de onda daqueles fótons. O mesmo vale para os elementos pós-receptorais do sistema visual. Em função dessa característica, duas luzes de composição espectral distintas podem ter suas intensidades ajustadas de forma a provocarem a mesma proporção de absorções em um mesmo sistema de cones. Assim, um organismo que apresenta um único sistema de cones não será capaz de efetuar discriminações estritamente em termos de matiz, pois quaisquer dois comprimentos de onda podem ter suas intensidades ajustadas de forma a sensibilizarem do mesmo modo aquela classe de cones e, portanto, serão indistingüíveis entre si. Havendo duas ou mais classes de cones, duas luzes com composição espectral diferente estimulam todas as classes de cones de forma menos ambígua, permitindo o responder diferenciado com base no comprimento de onda (ver, por exemplo, Cornsweet, 1970; Nathans, Merbs, Sung, Weitz & Wang, 1992; Schwartz, 2004; Sumner & Mollon, 2003; Tovée, 1996).



Figura 2. Exemplo do efeito da presença de uma ou duas classes de cones sobre a discriminação de matiz. A porção esquerda da figura ilustra a curva de sensibilidade espectral da única classe de cones de um organismo monocromata e a porção direita ilustra as curvas de sensibilidade espectral das duas classes de cones de um dicromata. A porção superior mostra a proporção de absorções provocadas por um estímulo de cerca de 490 nm e a porção inferior, as de um estímulo de cerca de 575 nm. Figura adaptada a partir das curvas de sensibilidade espectral ilustradas em Neitz e Neitz (2000).

Então, a cor percebida de um objeto será diretamente influenciada pela maneira como as várias classes de cone respondem conjuntamente à composição espectral daquele objeto. Assim, mesmo na ausência de dicas de intensidade, a discriminação entre objetos com composição espectral diferente será possível se eles sensibilizarem o sistema visual de forma distinta. Daí decorre que variações na população de cones e/ou na sua sensibilidade espectral necessariamente implicarão em variações nas discriminações que os organismos serão capazes de fazer em termos de comprimentos de onda. A Figura 2 ilustra como dois estímulos de composição espectral distinta podem afetar de maneiras diferentes organismos que contam com apenas uma classe de cones (monocromatas) ou com duas classes de cones (dicromatas). A porção esquerda da figura apresenta a sensibilidade espectral da única classe de cones de um monocromata, enquanto a porção direita ilustra as curvas de sensibilidade espectral das duas classes de cones de um dicromata. Nas porções superior e inferior são mostradas as proporções de absorções provocadas, respectivamente, por um estímulo monocromático de cerca de 490 nm outro de cerca de 575 nm.

Assumindo-se que os dois estímulos têm a mesma energia (i.e., emitem o mesmo número de fótons), é possível perceber prontamente que ambos sensibilizam aquela classe de cones da mesma maneira, o que os torna indistinguíveis para o monocromata. Em contrapartida, se apenas um deles tiver sua intensidade modificada, a discriminação entre os dois será possível (mas não será uma discriminação em termos de matiz e sim de brilho). Já no caso de organismos dicromatas, a combinação das absorções provocadas em ambas as classes de cones será sempre diferente para os dois estímulos, não importa que intensidade ambos assumam.

O exemplo da Figura 2 considera apenas a discriminação entre luzes monocromáticas. Entretanto, se um dicromata for exposto a uma tarefa de discriminação entre um estímulo monocromático e outro composto de uma mistura de dois comprimentos de onda, será possível encontrar uma combinação de intensidades que provoque as mesmas proporções de absorções nas duas classes de cones, de modo que os dois estímulos, "diferentes fisicamente, parecerão exatamente iguais" (Cornsweet, 1970; p. 164). Quanto maior o número de classes de cone distintas e desde que haja alguma sobreposição (mas não sobreposição completa) entre suas sensibilidades espectrais, menor será a chance de que duas luzes de composição diferente estimulem as várias classes de cone do mesmo modo. Entre animais não mamíferos é comum a presença de um quarto fotopigmento de cone, com sensibilidade na região ultravioleta do espectro. A tetracromacia (i.e., a presença de quatro classes de cones) permite que tais animais - certas aves, reptéis, peixes, anfíbios, aracnídeos, incsetos – sejam capazes de discriminações bem mais refinadas do que animais dicromatas e tricromatas (ver, por exemplo, Jacobs, 1992).

A visão de cores não depende apenas das populações de fotorreceptores cone presentes na retina. É necessário também que a circuitaria pós-receptoral apresente uma arquitetura favorável para a combinação e comparação dos sinais provenientes das duas ou mais classes de cones. A complexidade desse tratamento pós-receptoral da estimulação visual vai muito além do escopo do presente trabalho, uma vez que o seu foco está primariamente na influência de variações na população de cones da retina sobre as capacidades discriminativas dos organismos. A descrição a seguir é necessariamente incompleta e serve apenas ao intuito de dar ao leitor uma idéia dos mecanismos de construção da cor além da retina. (Para uma exposição mais detalhada, ver Dacey, 1999; Gegenfurtner & Kiper, 2003; Levine, 2000; McIlwain, 1996).



Figura 3. Representação esquemática dos campos receptivos com oponência centro-periferia das células ganglionares. O Painel A ilustra a arquitetura neural que instancia o campo receptivo. O Painel B ilustra o arranjo oponente do campo receptivo. Fonte: www.brainconnection.com.

Em linhas gerais, esse processamento adicional tem início com a organização peculiar de alguns elementos pós-receptorais da retina (em especial, as células bipolares e ganglionares), que constituem campos receptivos cujos centro e periferia respondem em arranjos espectralmente oponentes (Figura 3). Como esquematizado no Painel A da Figura 3, as células ganglionares recebem, por intermédio das células bipolares, estimulação proveniente de uma população de cones adjacentes, população essa composta das duas (ou mais) classes presentes na retina. Esse grupo de cones cujos sinais convergem para uma mesma célula ganglionar constitui o chamado "campo receptivo". O Painel B ilustra a ativação diferencial (oponente) da célula ganglionar em função da estimulação no centro ou na periferia: se a estimulação proveniente de alguns cones no centro do campo receptivo excita a célula ganglionar, a estimulação proveniente da periferia (por intermédio das bipolares) a inibe, e vice-versa.

A partir das células ganglionares, a estimulação segue, por meio do nervo ótico, para o núcleo geniculado lateral (NGL), no tálamo, e dali para o córtex (McIlwain, 1996). A circuitaria neural que constitui esse caminho também se dá em arranjos antagônicos centroperiferia: aparentemente, há uma correspondência um-para-um entre as células ganglionares e as células do NGL, de modo que os campos receptivos dessas últimas são idênticos aos das células ganglionares (Levine, 2000; McIlwain, 1996). Pode-se dizer, de forma simplificada, que a visão de cores depende da comparação, ao longo de todo o sistema visual, da estimulação desencadeada pelas absorções nas diferentes classes de cones.

#### Determinantes da visão de cores humana

A grande maioria dos mamíferos é composta de dicromatas, isto é, animais que apresentam dois tipos distintos de pigmentos de cone, um com pico de sensibilidade espectral na porção de comprimentos de onda curta do espectro, outro com sensibilidade espectral máxima na porção de comprimentos de onda médio-longos (Rowe, 2002; Surridge, Osorio & Mundy, 2003). Os seres humanos – bem como os demais primatas antropóides – estão entre as poucas exceções conhecidas à regra da dicromacia entre mamíferos, apresentando três classes distintas de cones, o que caracteriza uma visão de cores tricromática (Vorobyev, 2004). As propriedades de absorção espectral de cada classe de cone estão ajustadas para os comprimentos de onda curtos (S, do inglês *short*), médios (M, de *medium*) e longos (L, de *long*). Os cones Tipo S, M e L presentes nos seres humanos apresentam picos de sensibilidade, respectivamente, a cerca de 440nm, 530nm e 560nm (Bowmaker, Astell, Hunt & Mollon, 1991; Neitz & Neitz, 2000) (Figura 4).



Figura 4. Curvas de sensibilidade espectral dos fotopigmentos de cone S, M e L humanos. Figura adaptada de Neitz e Neitz (2000).

Nos seres humanos, o gene responsável pela produção de fotopigmentos tipo S é autossômico (localizado no cromossomo 7), enquanto os genes responsáveis pelos fotopigmentos tipo M e tipo L estão localizados em loci adjacentes no cromossomo X. Embora se fale aqui, por brevidade, em cones M e L com sensibilidades espectrais "normais" ou "padrão", é importante ressaltar que há polimorfismo na sensibilidade espectral dos fotopigmentos classificados como M ou L: cada um dos genes responsáveis pelos pigmentos M e L apresenta uma variedade de versões alélicas, que determinam pequenas variações na seqüência de aminoácidos que compõem a porção protéica (opsina) do fotopigmento (Neitz & Jacobs, 1990; Neitz & Neitz, 2000). Essas variações, por sua vez, são responsáveis por variações discretas na sensibilidade espectral dos fotopigmentos (Figura 5). Há, na verdade, uma família de cones M e uma família de cones L, cujos picos de sensibilidade espectral variam, respectivamente, em torno de 530 nm e 560 nm, os valores tomados como "padrão".

Em todas as formas variantes, os genes responsáveis pelos cones M e pelos cones L são altamente homólogos e isso, aliado a sua proximidade física e ao polimorfismo, compõem a receita para que haja variações fenotípicas na visão de cor humana (Jacobs, 1996). A expressão dos genes que determinam pigmentos M/L é mutuamente exclusiva: usualmente, uma parte de fotorreceptores cone expressa apenas fotopigmentos tipo M, enquanto outra parte expressa apenas fotopigmentos tipo L (Sharpe, Stockman, Jägle & Nathans, 1999). Juntamente com os cones que expressaram o gene autossômico para o fotopigmento tipo S, aqueles dois conjuntos de cones diferenciados compõem as três classes de cones da tricromacia humana dita normal.



Figura 5. Curvas de sensibilidade espectral das formas variantes de pigmentos M e L presentes na população humana. Adaptado de Neitz e Neitz (2000).

Formas variantes de visão de cores podem ser congênitas ou adquiridas. As formas congênitas resultam principalmente de alterações na sensibilidade expectral dos fotopigmentos M/L em decorrência de alterações nos genes responsáveis pela sua produção.

Essas variações são atribuídas à recombinação desigual entre os genes durante o *crossover*, quando o par de cromossomos X se alinha e troca informação genética durante a meiose (Schwartz, 2004; p. 141; ver também Jacobs & Harwerth, 1989; Nathans, 1999; Nathans et al., 1992; Neitz & Neitz, 2000; Sharpe et al., 1999). Por exemplo, se o gene responsável pelo pigmento tipo M se alinha com o gene responsável pelo pigmento L (*crossover* intergenético), dois resultados são possíveis. Em um cenário, um dos cromossomos recebe duas cópias do gene para o pigmento M e uma do gene para o pigmento L, enquanto o outro cromossomo fica sem o gene para o pigmento M. Os descendentes que herdarem o primeiro cromossomo serão tricromatas padrão, mas os que receberem o segundo serão dicromatas. No segundo cenário, o *crossover* intergenético produz genes híbridos, o que pode acarretar, dependendo da hibridização específica, a perda de um pigmento, a produção de um pigmento normal, ou um pigmento com sensibilidade espectral deslocada em relação às curvas de sensibilidade espectral padrão (Nathans et al., 1992; Neitz & Neitz, 2000; Schwartz, 2004).

A Figura 6 ilustra as variações mais comuns da visão de cores humana. Os painéis A2 e A3 representam a tricromacias anômalas, caracterizadas e pelo deslocamento da sensibilidade espectral dos cones do tipo L em direção à do cone M (protanomalia) ou da sensibilidade espectral do cone M em direção à do cone L (deuteranomalia). De acordo com Neitz e Neitz (2000), o "grau de deficiência da visão de cor em pessoas com tricromacia anômala depende da magnitude da diferença espectral entre os dois subtipos de pigmento" (p. 693). Os painéis B2 e B3 da Figura 6 ilustram as dicromacias, caracterizadas pela ausência total de cones do tipo L ou do tipo M (protanopia e deuteranopia, respectivamente). Outras formas anômalas de visão de cores não mostradas na figura, bastante raras, estão relacionadas com alterações nos cones tipo S (tritanopia e tritanomalia) (Lennie, 2000).



Figura 6. Curvas de sensibilidade espectral das formas variantes de visão de cores no homem. Os painéis A1 e B1 apresentam as curvas de sensibilidade espectral para um tricromata médio. Os painéis A2 e A3 ilustram as duas formas de tricromacia anômala (protanomalia e deuteranomalia, respectivamente) e os painéis B2 e B3, as duas formas de dicromacia (protanopia e deuteranopia, respectivamente). Adaptado de Neitz e Neitz (2000).

As anomalias adquiridas de visão de cores podem resultar de uma variedade de fatores que afetam o meio óptico e a retina (Bruni & Cruz. 2006), como, por exemplo, no caso de pessoas com glaucoma (e.g., Castelo-Branco, Faria, Forjaz, Kozak & Azevedo, 2004) ou com neuropatia óptica hereditária de Leber (Ventura, Gualtieri, Oliveira, Costa, Quiros, Sadun, de Negri, Salomão, Berezovsky, Sherman, Sadun, & Carelli, 2007). Além disso, podem ser ocasionadas por alterações nas vias visuais ou áreas do cérebro implicadas no processamento de cores como efeito colateral de alguns tipos de medicamento (e.g.,

cloroquina: Ventura, Silveira, Nishi, Costa, Gualtieri, Santos, Pinto, Moura, Rodriguez, Sakurada, Sauma & Souza, 2002b) ou pela ação de agentes tóxicos (e.g., contaminação por mercúrio: Ventura, Costa, Costa, Berezovsky, Salomão, Simões, Lago, Pereira, Souza & Silveira, 2004; Ventura, Simões, Tomaz, Costa, Lago, Costa, Pereira, Souza, Faria & Silveira, 2005). Diferentemente das formas herdadas de visão de cores, que são estáveis durante toda a vida do indivíduo, as deficiências adquiridas podem sofrer alterações com o passar do tempo (Schwartz, 2004).

#### Implicações comportamentais das formas variantes da visão de cores humana

Como dito anteriormente, a capacidade de um organismo efetuar discriminações em termos de comprimentos de onda varia em função de variações nas populações de cone presentes em sua retina. Sendo assim, quais são as implicações das alterações fenotípicas discutidas acima? No caso da tricromacia anômala, uma primeira consequência da aproximação entre as sensibilidades espectrais dos fotopigmentos M/L é que a maneira como dois estímulos de composição espectral diferente sensibilizarão aquelas duas classes de cone será mais ambígua (i.e., haverá aproximadamente o mesmo número de absorções nas duas classes). No caso da dicromacia, esse efeito é levado ao extremo: dois estímulos que sensibilizariam de forma distinta os cones M e L, podem produzir exatamente a mesma proporção de absorções na única classe de cones sensíveis a comprimentos de onda médiolongos do dicromata. Isso tem implicações também no processamento pós-receptoral oponente. Em organismos com visão de cores tricromática, há dois mecanismos de oponência (baseados nos campos receptivos com oposição centro-periferia comentados anteriormente), um que permite a discriminação na dimensão "azul-amarelo", pela comparação dos sinais provenientes dos cones S com os sinais combinados dos cones M e L, outro que possibilita a discriminação na dimensão "verde-vermelho" pela comparação dos sinais individuais de uma das classes (M ou L) com os sinais combinados de ambas as classes (M+L). Nesse arranjo, a ausência de uma das duas classes de cone sensível ao extremo médio-longo do espectro torna impossível a oponência "verde-vermelho", inviabilizando discriminações que dependam exclusivamente da sensibilidade aos componentes de comprimentos de onda médios a longos dos estímulos (Rowe, 2002; Mollon, 1999; Surridge, Osorio & Mundy, 2003).

Como exemplo, suponha-se um dicromata cuja classe de cones, na ausência de dicas de intensidade, seja sensibilizada exatamente da mesma forma por uma luz de 550 nm e por outra de 600 nm (que seriam identificadas como "verde" e "laranja", respectivamente, por um tricromata). Se exposto a uma discriminação entre dois estímulos com composições espectrais diferentes, um sendo uma mistura de 460 nm e 550 nm ("ciano", para um tricromata) e o outro, uma mistura dos mesmos 460 nm e 600 nm ("púrpura"), aquele dicromata responderá às duas misturas como sendo o mesmo matiz, se ambas tiverem suas intensidades ajustadas de forma a parecerem igualmente brilhantes para aquele indivíduo.

#### O delineamento de testes de discriminação de cores

Até aqui foi apontado diversas vezes que "dicas de intensidade" têm influência na habilidade de um organismo fazer discriminações entre estímulos luminosos de composição espectral diferente. A seguir será detalhada natureza dessa influência, que terá implicações importantes para o delineamento de testes para avaliação de visão de cores. Como comentado anteriormente, o sinal repassado pelos fotorreceptores diz respeito apenas à quantidade relativa de fótons capturados. Além disso, a sensibilidade do sistema visual varia ao longo do espectro (a Figura 7 apresenta a função de eficácia luminosa fotópica humana, que ilustra a sensibilidade relativa do sistema visual à mesma quantidade de energia em cada comprimento de onda), o que significa que alguns comprimentos de onda são naturalmente percebidos como sendo diferentemente brilhantes mesmo quando têm a mesma intensidade radiante. Desse modo, se duas luzes com composição espectral diferente forem definidas com a mesma intensidade radiante, mesmo um indivíduo monocromata seria capaz de distingui-las apenas com base nas diferenças de brilho resultantes de sua eficácia luminosa diferenciada. Em vista disso, uma característica crítica no delineamento de testes de visão de cores é que sejam eliminadas as dicas de brilho, de forma que o desempenho dos sujeitos fique sob controle restrito das variações de comprimento de onda (Dain, 2004).



Figura 7. Estimativas de eficácia luminosa para o sistema visual humano a partir de funções de sensibilidade espectrais fotópicas obtidas por uma variedade de métodos (cada curva representa um conjunto de dados). Adaptado de: www.handprint.com/HP/WCL/color1.html.

Uma maneira de evitar que a discriminação se baseie em variações na intensidade relativa dos estímulos quando se mede discriminação de cor é garantir que todos tenham suas intensidades radiantes ajustadas de modo que sejam perceptualmente equiluminantes para o sujeito. Um prejuízo de tal expediente é que novas equações devem ser feitas independentemente para cada sujeito e para novas regiões do espectro, o que demanda bastante tempo e, no caso de crianças e sujeitos não-verbais, perícia por parte do experimentador. Outro aspecto a ser considerado é que quando se apresenta um alvo cromático sobre um fundo acromático ou de cromaticidade diferente, mesmo o ajuste de equiluminância para ambos não garante o controle restrito pelas diferenças espectrais (Regan, Reffin & Mollon, 1994). Isso porque, devido a limitações intrínsecas aos métodos de reprodução, há a formação de uma fronteira virtual (artefato de borda) entre o alvo e o fundo que demarca o alvo independentemente de sua composição espectral.

Ambas as limitações foram solucionadas por Stilling (cf. Reffin, Astell & Mollon, 1991; Regan et al, 1994), por meio de duas operações principais: 1) o arranjo de estímulos (alvo e fundo) foi segregado em várias partes com contorno e forma individuais e 2) o cálculo da equação de luminância foi substituído pela variação aleatória da luminância das partes do arranjo. Desse modo, o matiz torna-se a única propriedade que consistentemente diferencia alvo e fundo e a discriminação não pode ser facilitada nem por artefatos de borda, nem por variações consistentes na luminância de qualquer parcela do arranjo.

Além do controle das variáveis descritas acima, um aspecto de extrema importância é a escolha dos matizes de teste propriamente ditos. Dain (2004) enfatiza que o delineamento de testes de visão de cores deve ser projetado em função das deficiências específicas previstas para pessoas com visão de cores variante. Com o auxílio de um diagrama de cromaticidade como o CIE 1976 u'v' (ver Apêndice para mais informações), é possível encontrar os matizes que são consistentemente indistingüíveis para cada tipo de dicromacia. Em linhas gerais, as linhas de confusão dicromatas são derivadas a partir de um procedimento simples, vislumbrado por Maxwell (cf. Judd, 1966): 1) Após identificar um par de estímulos cromáticos que parecem idênticos para um dicromata e plotá-los no diagrama de cromaticidade, um segmento de reta ligando ambos os pontos conterá estímulos que serão confundidos com os dois primeiros, para aquele fenótipo. 2) Repetindo-se o procedimento para novos pares de confusão, é possível identificar o ponto em que todas as linhas de confusão de um dado fenótipo se cruzam, chamado aqui, por brevidade, de "ponto co-punctual"<sup>4</sup>. 3) Dado tal ponto co-punctual, é possível prever novas linhas de confusão simplesmente ligando qualquer ponto do diagrama ao ponto co-punctual. A Figura 8 ilustra os passos (1) e (2) descritos acima.



Figura 8. Derivação de um ponto co-punctual a partir das linhas que contêm pares de confusão, em um diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v'. Adaptado de Regan et al. (1994).

Em outras palavras, linhas de confusão são definidas em termos de variações de matiz no diagrama de cor que, em condições de equiluminância, não são percebidas por indivíduos dicromatas a não ser que sejam seguidas também de variações de luminância. Variações do procedimento acima têm sido utilizadas para a determinação de linhas de confusão protanópicas, deuteranópicas e tritanópicas. A Figura 9 ilustra aproximações de linhas de confusão previstas para indivíduos com visão de cores dicromática nas formas protan-, deutan- e tritan-, plotadas no diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v'.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Adaptação livre de "co-punctual point".



Figura 9. Linhas de confusão estimadas para as formas protan-, deutan- e tritan- de dicromacia humana, plotadas em um diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v'. Adaptado de Dain (2004).

#### O Cambridge Colour Test

As duas estratégias de Stilling citadas acima para o controle de luminância e de artefatos de borda foram empregadas no teste computadorizado de discriminação de cores de Mollon-Reffin (Mollon & Reffin, 1989; Mollon & Regan, 2000; Regan et al., 1994), disponibilizado comercialmente pela Cambridge Research Systems (Rochester, UK) sob o nome de Cambridge Colour Test (CCT). Trata-se de um teste projetado para a determinação rápida de limiares de discriminação de cor, a partir do modo como o sujeito responde à variação de cromaticidade de um alvo em relação ao um fundo. O teste consiste da apresentação, na tela de um monitor, de um mosaico de pequenos discos que variam tanto em tamanho como em luminância. Uma parcela dos discos é definida com cromaticidade diferente da do fundo, formando um alvo em forma de C de Landolt (Figura 10). Os sujeitos são instruídos a indicar a orientação da abertura do C (esquerda, direita, baixo, cima), que varia de uma apresentação do arranjo para outra, pressionando o botão correspondente em uma caixa de resposta ou informando verbalmente ao experimentador. A diferença cromática entre o alvo e o fundo é aumentada ou diminuída adaptativamente durante o teste, de acordo com o desempenho do sujeito, segundo o método psicofísico de escada. O ponto, no diagrama de cromaticidade, em que o matiz do alvo não pode mais ser consistentemente

discriminado do fundo é definido como o limiar de discriminação de cores do sujeito para o eixo de variação cromática em questão.



Figura 10. Exemplo do arranjo de estímulos utilizado originalmente no teste Cambridge Colour Test.

A utilização de arranjos pseudoisocromáticos, além de garantir um controle confiável das variáveis relevantes, constitui uma condição de teste que se assemelha bastante às situações naturais em que um observador dicromata seria de fato desafiado. De acordo com Mollon (1989), na natureza são raras situações em que duas superfícies diferentes estejam sobrepostas e sejam equiluminantes, de forma que seus limites somente possam ser identificados em função das diferenças cromáticas. Segundo o autor, o dicromata teria dificuldade em identificar um objeto que estivesse sobreposto a um fundo segmentado em que a luminância variasse randomicamente, como no caso, por exemplo, de cerejas entre as folhas da árvore.

Na versão curta do teste (Trivector), as cromaticidades do alvo são calculadas no diagrama CIE 1976 u'v', seguindo os eixos de confusão protan-, deutan-, e tritan- que
passam por um ponto acromático (fundo: u'=0,1977; v'=0,4689). Variando-se a diferença cromática entre o alvo e o fundo até que o sujeito não seja mais capaz de efetuar a discriminação baseado somente nas propriedades espectrais do arranjo, é possível obter os limiares de discriminação cromática para cada eixo de teste, isto é, o ponto aproximado do eixo de variação cromática no qual o sujeito deixa de ser capaz de diferenciar o alvo do fundo. O limiar é a distância entre as coordenadas de cromaticidade daquele ponto e as do fundo, em unidades do diagrama de cromaticidade (unidades u'v', no caso do diagrama CIE 1976). Segundo os autores (Reffin et al, 1991), os limiares obtidos a partir de tal arranjo de teste garante a separação entre os tipos protan-, deutan- e tritan- de variações de visão de cor.



Figura 11. Exemplos de elipses de discriminação de cores obtidas com indivíduos protanômalos e deuteranômalos. As elipses de discriminação de indivíduos tricromatas normais (não mostradas) não apresentam o alongamento característico das elipses de indivíduos dicromatas, assemelhando-se a círculos. Adaptado de Regan et al. (1994).

Todavia, o teste permite também a geração de elipses de discriminação de cor<sup>5</sup> (Figura 11), uma ferramenta adotada pelos autores (Regan et al., 1994) para garantir

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> As elipses de discriminação de cor, derivadas a partir dos limitares de discriminação de vários matizes em torno de um matiz fixo, são comumente conhecidas como elipses de MacAdam, em homenagem ao cientista americano David MacAdam, que reconheceu que, no diagrama CIE, os matizes que são confundidos com um

refinamento adicional na separação entre as três classes de variações de visão de cor. O contorno das elipses é definido com base nas coordenadas dos limiares de discriminação de cores de 8 a 20 eixos de variação cromática ao redor do ponto definido como cromaticidade do fundo. A forma e a inclinação das elipses, acompanhando as linhas de confusão, servem como índices dos fenótipos dicromatas ou tricromatas anômalos. Além disso, análise quantitativas como o cálculo da área da elipse e a razão entre o comprimento dos eixos maior e menor, por exemplo, servem de subsídio para uma caracterização precisa das formas variantes de visão de cor.

Os dados normativos preliminares para o CCT foram descritos por Ventura, Silveira, Rodrigues, Gualtieri, Souza, Bonci e Costa (2003b) para adultos entre 18 e 30 anos de idade que haviam sido avaliados independentemente por meio do teste de arranjo Farnsworth-Munsell de 100 matizes. A faixa de normalidade para os limiares obtidos nos eixos protan-, deutan- e tritan- foram estabelecidos como 70 x 10<sup>-4</sup>, 85 x 10<sup>-4</sup> e 115 x 10<sup>-4</sup> unidades u'v' do diagrama CIE 1976, respectivamente. Desde então, o teste se estabeleceu como uma ferramenta útil para a avaliação de discriminação em diferentes populações clínicas e em uma variedade de contextos. Alguns exemplos são: pacientes com atrofia óptica dominante (Simunovic, Vortruba, Regan & Mollon, 1998); pacientes parksonianos (Regan, Freudenthaler, Kole, Mollon & Paulus, 1998; Silva, Faria, Regateiro, Forjaz, Januário, Freire & Castelo-Branco, 2005); pacientes tratados com cloroquina (Ventura et al., 2002b); pacientes diabéticos (Ventura, Costa, Gualtieri, Nishi, Bernicki, Bonci & Souza, 2003a); indivíduos com intoxicação por mercúrio (Ventura et al., 2004; Ventura et al., 2005); pacientes com glaucoma (Castelo-Branco et al 2004); portadores de neuropatia óptica hereditária de Leber (Ventura et al., 2007); pacientes com distrofia muscular de Duchenne

matiz de referência estão contidos em elipses que têm como centro o matiz de referência, com o contorno da elipse coincidindo aproximadamente com as coordenadas dos matizes minimamente perceptíveis em em relação àquele matiz (MacAdam, 1942). Pode-se afirmar que uma elipse de MacAdam contém todos os matizes que são vistos como idênticos para um determinado indivíduo.

(Costa, Oliveira, Feitosa-Santana, Zatz & Ventura, 2007); além de indivíduos sem patologias (Costa, Ventura, Perazzolo, Murakoshi & Silveira, 2006).

Seguindo a determinação das normas preliminares, o CCT foi aplicado com criancas como parte de um estudo que buscava ampliar as normas para outras idades (Ventura, Rodrigues, Moura, Vargas, Costa, Souza & Silveira, 2002a). Entretanto, crianças com menos de cinco anos de idade tiveram dificuldades em realizar a tarefa de identificar a abertura do C de Landolt sob as mesmas condições utilizadas com sujeitos adultos (e.g., distância do monitor, modalidade de resposta). A dificuldade parece ter decorrido principalmente da complexidade do arranjo de estímulos e da tarefa requerida no teste original e ao protocolo de aplicação altamente dependente do uso de instruções. Nas condições originais de aplicação do teste, a área que deve ser indicada pelo observador, a abertura do C de Landolt, somente se torna significativa (i.e., se configura em uma propriedade controladora) para indivíduos verbalmente experientes, familiarizados com as noções de "C", "abertura" etc. Na ausência de pré-requisitos verbais, a "abertura do C" não é especialmente diferente do restante do fundo, visto que possui a mesma cromaticidade. É de se esperar que a parcela mais imediatamente saliente do estímulo seja a área colorida circunscrita que compõe o próprio C, sobretudo no modo Trivector, no qual o fundo é acromático, pois há indícios de que, nessas condições, a área cromática é prontamente saliente (Derrington, Parker, Barraclough, Easton, Goodson, Parker, Tinsley & Webb, 2002)<sup>6</sup>

Em vista disso, considerou-se que a aplicação do teste de discriminação de cores de Mollon-Reffin em crianças pequenas poderia ser facilitada pela implementação de duas estratégias complementares: 1) adoção de toque na tela do monitor como resposta requerida do participante, aliada à utilização de um arranjo de estímulo mais simples, que favorecesse

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> De acordo com Derrington et al. (2002), a diferença de composição espectral seria aproveitada pelo organismo na segmentação, ou identificação de limites, da imagem, independentemente de qualquer experiência prévia e sem que, nesse processo, tenha relevância qual a composição espectral em particular. Assim, um objeto colorido em um fundo acromático é prontamente percebido como algo destacado do fundo, independentemente da cor específica do objeto.

um responder mais intuitivo; e 2) utilização de um protocolo de treino com o mínimo de instruções verbais, alicerçado preferencialmente no estabelecimento de controle de estímulos adequado por meio de procedimentos derivados da pesquisa em Análise Experimental do Comportamento.

### O arranjo de estímulo alternativo

Assim como na versão original, o arranjo de estímulos alternativo consistia de um mosaico de círculos de tamanho e luminância variáveis, apresentados sobre um fundo preto. A área colorida foi definida com a forma aproximada de um quadrado (Figura 12)<sup>7</sup>. O alvo podia ser apresentado em qualquer uma das 4 posições em que, no teste original, aparecia a abertura do C de Landolt (cima, baixo, esquerda, direita) e sua posição era variada randomicamente de uma tentativa para a outra.



Figura 12. Exemplo do arranjo de estímulos alternativo utilizado no presente estudo.

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> O arranjo de teste alternativo se assemelha ao adotado por Mancuso, Neitz e Neitz (2006) para a aplicação com macacos-de-cheiro (*Saimiri sp.*). É interessante notar que, apesar da semelhança entre as duas estratégias adotadas para a adaptação do teste de Mollon-Reffin para populações não contempladas pelo formato original, ambas foram planejadas e implementadas paralelamente de maneira independente. A coincidência torna-se ainda mais notável ao se considerar que o arranjo adotado no presente trabalho também foi concebido, originalmente, para a aplicação em macacos.

O arranjo de estímulo alternativo deveria permitir um "responder mais intuitivo", no sentido de favorecer o pronto estabelecimento de controle pelas propriedades relevantes da tarefa. Se de fato a cor é uma propriedade altamente saliente, como sugerem Derrington e colaboradores (2002), uma pequena área colorida delimitada por um entorno acromático deveria prontamente atrair o olhar do participante (desde que definida com um matiz que ele fosse capaz de distinguir do fundo, claro). A tarefa de tocar o alvo colorido garantiria coerência entre as propriedades guiando o olhar e aquelas que deveriam, em última instância, guiar o toque, o que provavelmente facilitaria o desenvolvimento de controle de estímulos adequado da resposta de toque.

#### O protocolo de treino

Além das modificações realizadas no arranjo de estímulos, fez-se necessário garantir condições para que o responder dos participantes de fato ficasse sob controle das propriedades relevantes, sem depender prioritariamente do uso de instruções verbais. Para esse fim, foram tomadas providências para o estabelecimento de controle de estímulos adequado, baseadas em procedimentos derivados da pesquisa em Análise Experimental do Comportamento.

O foco principal da investigação analítico-comportamental tem sido sobre o que Skinner (1938) denominou de "comportamento operante", ações do organismos que, diferentemente dos reflexos, não estão vinculadas inexoravelmente a um evento antecedente; sua determinação ambiental é flexível e se estabelece na ontogênese dos organismos. Sob certas condições, algumas gotas de limão sobre a língua de um animal inevitavelmente provocarão salivação, um reflexo. Tocar na tela de um monitor, por outro lado, não é uma resposta à qual um organismo é compelido pela simples visão do monitor. Comportamentos desse tipo têm sua ocorrência modulada em função das conseqüências que produzem. Certos eventos conseqüentes, chamados de "reforçadores" têm a característica de aumentar a probabilidade de que comportamentos ao qual são contingentes ocorram novamente em situações semelhantes àquelas em que ocorreu o contato com o reforço. Um evento ambiental passa a evocar uma resposta, ou seja, uma relação comportamental se estabelece, quando a resposta é consistentemente seguida de um evento reforçador em situações semelhantes<sup>8</sup>.

Em situações de treino, é possível colocar uma resposta sob o controle de estímulos desejado por meio do procedimento de Reforço Diferencial (Skinner, 1953; Catania, 1998/1999; Keller & Shoenfeld, 1950). Esse procedimento consiste em garantir que o evento reforçador seja apresentado imediatamente após a resposta, sempre que esta ocorrer contiguamente ao evento antecedente. Um pré-requisito para o sucesso desse procedimento é garantir que a resposta ocorra. No presente trabalho, era de se esperar que as crianças efetuassem respostas de toque ao monitor quando solicitadas, algo que faziam em outros contextos, de modo que a tarefa do experimentador seria relativamente simples: apresentar um evento reforçador sempre que uma resposta de toque ocorresse na região correta. Entretanto, devido ao segregamento espacial da imagem, poderia acontecer de algumas crianças, sobretudo as mais novas, não responderem ao agrupamento de círculos do mesmo matiz como uma unidade funcional. Caso isso ocorresse, o experimentador poderia fazer uso de dicas verbais (e.g., "Ali em cima, está vendo?") ou fisicas (tocar o alvo à vista da criança ou guiar sua mão), apresentando os eventos reforçadores sempre que a criança tocasse na área indicada, a fim de favorecer a correlação entre os eventos relevantes.

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> Donahoe e Palmer (1994) sugerem que estímulos reforçadores atuam sobre o sistema nervoso central de tal forma que todas as sinapses envolvidas na produção do comportamento e no contato com os estímulos que estavam ativas no momento do contato com o evento reforçador são fortalecidas. Se a correlação entre estimulação antecedente, comportamento e estímulo reforçador for recorrente, o efeito cumulativo do fortalecimento das sinapses ativas no momento do reforço será a produção de uma circuitaria de ativação neural mais provável no contato com aquela estimulação antecedente. (Para uma revisão de estudos acerca das bases biológicas do reforçamento, ver Guerra, 2006). Pode se dizer que esse "caminho neural" instancia a relação estímulo-resposta estabelecida pelo reforçamento: uma vez que tenha havido correlação entre as atividades neurais relacionadas à estimulação antecedente e à resposta com a atividade neural relacionada com o estímulo reforçador, a maneira como o organismo responderá sob as mesmas condições será modificada, porque o próprio organismo foi modificado.

Um outro cuidado essencial é identificar eventos reforçadores para o indivíduo em questão. Alguns estímulos, como água, alimento, contato sexual, são naturalmente reforçadores. Outros eventos podem vir a adquirir função reforçadora se forem associados com reforçadores primários, como, por exemplo, o dinheiro, aprovação social, notas escolares etc. A utilização de reforçadores primários cuja eficácia dependesse da manipulação do estado de privação do organismo não era uma opção em um estudo com crianças e o uso de guloseimas, como balas e confeitos de chocolates, competiria com o esquema de alimentação mantido pela creche onde as crianças foram recrutadas. Desse modo, optou pelo uso de fichas (*tokens*), que seriam trocadas, ao final do teste, por um brinde, além da disponibilização de elogios.

No teste propriamente dito, o alvo assume três matizes diferentes e tem seu contraste variado em relação ao fundo. A fim de garantir que o desempenho de tocar no alvo se mantivesse a despeito da mudança de matiz, a condição de treino também contaria com três eixos de variação cromática, definidos com matizes que deveriam ser diferenciáveis do fundo mesmo por indivíduos dicromatas. A fim de garantir um responder perseverante mesmo quando a diferença entre o alvo e o fundo se tornasse mais sutil, mas sem expor excessivamente os participantes a situações de erro, a variação do contraste alvo-fundo teria como limite um ponto em que a discriminação ainda fosse possível, ainda que com um grau de dificuldade maior. Para que o desempenho do participante fosse considerado adequado para o teste, este deveria apresentar três acertos consecutivos na condição de menor contraste em cada eixo de treino.

### Objetivo e Justificativa

O objetivo do trabalho foi criar condições favoráveis para a avaliação psicofísica precisa da visão de cores em crianças pequenas, para as quais a tarefa de indicar a abertura de

um C de Landolt pode ser contra-intuitiva e/ou de difícil compreensão. O estudo também tem o potencial de criar condições para a avaliação da visão de cores em populações adicionais de sujeitos não-verbais ou com compreensão limitada de instruções, como pessoas portadoras de necessidades especiais e mesmo primatas não-humanos. Para a aplicação do teste em crianças, foi desenvolvida uma versão protótipo do teste, adotando um arranjo de estímulos alternativo, que será descrito em detalhes a seguir.

O Experimento I buscou avaliar a concordância entre medidas independentes realizadas com ambas as versões original e protótipo, com sujeitos humanos adultos, e o Experimento II consistiu em uma aplicação em crianças de 2 a 7 anos de um teste que, além de incorporar o arranjo de estímulos alternativo, fez uso de um protocolo de treino operante, a fim de garantir condições para que o responder dos sujeitos ficasse sob controle das propriedades relevantes da tarefa.

### EXPERIMENTO I – VALIDAÇÃO DO ARRANJO DE ESTÍMULOS ALTERNATIVO

## MÉTODO

<u>SUJEITOS</u>. Participaram do experimento 29 adultos com idades entre 18 e 30 anos (média=20,8; dp=6,2), dos quais 13 eram do sexo feminino. Os participantes foram recrutados entre alunos de graduação da Universidade de São Paulo (USP). Todos tinham acuidade visual corrigida melhor ou igual a 20/20 e não relataram doenças ou uso de medicamentos. Todos receberam uma descrição detalhada do experimento e assinaram um termo de consentimento (Anexo B). A única informação acerca da visão de cores dos participantes foi aquela obtida na aplicação do *Cambridge Colour Test* (CCT) durante o experimento e foram incluídos na análise somente os dados de participantes com visão de cor

considerada normal pelos limites estabelecidos por Ventura et al. (2003b). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos do Instituto de Psicologia da USP (protocolo 1207/CEPH-IP).

<u>EQUIPAMENTO</u>. Foram utilizados uma versão adaptada (protótipo) e a versão original do *Cambridge Colour Test* (CCT v2.0 – *Cambridge Research Systems, Rochester, UK*), instaladas em um computador DELL Dimension XTC-600 e com interface com o sistema de geração de estímulos VSG 2/5 (*Cambridge Research Systems, Rochester, UK*). Os estímulos eram apresentados em um monitor de alto desempenho (Philips 202P4), calibrado regularmente com o fotômetro OptiCAL 200-E (*Cambridge Research Systems*), usando a rotina de calibração padrão da biblioteca *VSG Desktop* (versão 8.0). A versão protótipo foi desenvolvida por meio da modificação da rotina de geração de estímulos do código original do CCT (fornecido pela *Cambridge Research Systems*). As modificações foram realizadas em linguagem Object Pascal (Borland's Delphi 7.0). As respostas dos sujeitos eram registradas por meio de uma caixa de respostas de quatro botões CT6 (*Cambridge Research Systems*).

Estímulos. Em ambas as versões, o arranjo de estímulos consistia de um mosaico de círculos de tamanho e luminância variáveis, apresentados sobre um fundo preto. A luminância de cada círculo era variada de forma randômica de tentativa para tentativa, podendo assumir qualquer um de seis valores entre 7 cd/m<sup>2</sup> e 15 cd/m<sup>2</sup>. Um subconjunto de círculos definido com um matiz diferente dos demais círculos constituía um alvo, na forma de um C de Landolt, no teste original, e de um quadrado, na versão protótipo do teste alternativo. A luminância média do alvo e do fundo era sempre constante, de maneira que a única variável relevante para a resolução da tarefa era a diferença cromática entre ambos. A cromaticidade do alvo era sistematicamente alterada de uma tentativa para outra.

Os matizes do alvo e do fundo foram definidos em termos de coordenadas do diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v'. Os limites do gamut do monitor (ver Apêndice para maiores detalhes) eram u'=0,416; v'=0,522 (fósforo vermelho); u'=0,117; v'=0,559 (fósforo verde); u'=0,159; v'=0,177 (fósforo azul). Na forma curta do teste (Trivector), o matiz do fundo é definido em um ponto acromático (u'=0,1977; v'=0,4689) e o matiz do alvo varia ao longo de três eixos de teste, correspondendo a linhas de confusão protan, deutan e tritan que passam pelo ponto acromático e convergem para os pontos u'=0,6579; v'=0,5013 (protan), u'=-1,2174; v'=0,7826 (deutan) e u'=0,2573; v'=0,0 (tritan). A excursão ao longo de cada eixo podia variar entre 0,110 e 0,002 unidades u'v'.

PROCEDIMENTO. Cada sujeito foi exposto a três blocos do modo Trivector com cada versão do teste (CCT e protótipo) e a ordem dos seis blocos foi aleatorizada entre os sujeitos. Em cada bloco, as tentativas continuavam sendo geradas de acordo com os parâmetros programados até que o desempenho dos sujeitos alcançasse os critérios de encerramento (mais detalhes abaixo). Cada tentativa era iniciada pela apresentação do mosaico e encerrada com o desaparecimento do mesmo, imediatamente após uma resposta em qualquer botão da caixa de resposta, ou após o término do tempo de apresentação da tentativa. Em ambas as versões, o tempo de apresentação foi de 3 segundos. O encerramento do tempo de apresentação sem resposta era computado como erro.

Os testes foram realizados em uma sala escura, com os sujeitos posicionados a cerca de 3 m de distância do monitor. Uma vez que Costa et al. (2006) demonstraram que não há diferença entre medidas mono- e binoculares, os testes foram realizados binocularmente. Os sujeitos eram instruídos a pressionar, na caixa de respostas, o botão correspondente à posição na tela em que aparecia a abertura do C de Landolt (no CCT) ou do quadrado colorido (no teste adaptado). No início do teste, o alvo era definido com contraste máximo em relação ao fundo e a variação da diferença entre alvo e fundo era feita dinâmica e

adaptativamente pelo próprio software, seguindo um método psicofísico de escada: respostas corretas faziam com que o matiz do alvo fosse re-definido com menor contraste em relação ao do fundo, na tentativa seguinte, ao passo que respostas incorretas faziam com que o alvo fosse re-definido com maior contraste. Os três eixos de teste eram alternados aleatoriamente. Para cada eixo, limiares de discriminação eram definidos após a ocorrência de onze reversões (acerto-seguido-de-erro ou erro-seguido-de-acerto), a partir da média das distâncias (em unidades do diagrama) entre as cromaticidades de alvo e fundo nas últimas sete tentativas em que houve reversão. Os blocos de teste eram encerrados quando as onze reversões eram alcançadas para os três eixos. Os limiares eram expressos em coordenadas do diagrama CIE 1976 u'v'.

A fim de se verificar a concordância entre as duas versões de teste foi utilizado o método proposto por Bland e Altman (1987, 1999) para a avaliação de correspondência entre medidas. Na análise de Bland-Altman, a concordância entre os dois testes pode ser verificada com a ajuda de análises gráficas, levando em conta as diferenças médias entre os limiares obtidos com cada teste para os mesmos sujeitos e os chamados "limites de concordância" (LC), estimados por dois desvios-padrão ( $\sigma$ ) em torno da média das diferenças entre as duas medidas ( $\mu_D$ ). A fim de dar suporte para os limites de concordância, intervalos de 95% de confiança, isto é, os intervalos que englobam 95% dos valores que contribuem para uma determinada estatística, foram estimados tanto para as diferenças médias como para os limites superior e inferior de concordância. Os intervalos de confiança foram calculados como  $t_{n-1}$  erros-padrão em torno da estatística em questão, onde n é o número de pontos de dado e  $t_{n-1}$  a distribuição t para n-1 graus de liberdade (obtida a partir de uma tabela de distirbuição T de Student). Os erros-padrão foram calculados como  $\sqrt{\sigma^2/n}$  para as diferenças médias e  $\sqrt{3\sigma^2/n}$  para os limites de concordância. A Tabela II lista os cálculos efetuados para os limites de concordância e para os intervalos de 95% confiança.

Tabela II.	Cálculos	efetuados	para os	limites	de	concordân	cia	e para	os	intervalos	de	95%
confiança	(em torno	da média (	das dife	renças µ	D e	dos limite	s de	e confia	nça	.).		

Limites De Concordância (LC)						
Superior	$\mu_D + 2\sigma$					
Inferior	μ <sub>D</sub> - 2σ					
Intervalos de 95% de Confiança						
para a média das diferenças						
Superior	$\mu_D + (t_{n-1} \ge \sqrt{\sigma^2/n})$					
Inferior	$\mu_D$ - $(t_{n-1} \ge \sqrt{\sigma^2/n})$					
para os limites de concordância						
Superior	$\mathrm{LC} + (t_{n-1} \ge \sqrt{3\sigma^2/n})$					
Inferior	LC - $(t_{n-1} \ge \sqrt{3\sigma^2/n})$					

Os limites de concordância e seus intervalos de confiança são utilizados como uma medida do quanto dois instrumentos diferem entre si. Como seria de se esperar, quanto menor a diferença, mais forte será a concordância entre os dois instrumentos. Entretanto, no caso de medidas psicofísicas, espera-se uma considerável flutuação intra-sujeito, mesmo para múltiplas medidas feitas com o mesmo instrumento. Em vista disso, uma análise paralela foi realizada para duas medidas obtidas com o teste original (comparação "CCT vs. CCT), a fim de produzir um modelo para a comparação "CCT vs. Protótipo". Além disso, as duas últimas medidas realizadas com o CCT (C2 e C3) e as duas últimas medidas realizadas com o Protótipo (P2 e P3) foram pareadas em todas as combinações possíveis (C2-C3, P2-P3, C2P2, C3-P3, C2-P3 e C2-P2) e submetidas a um teste t pareado, que avalia a diferença entre médias de medidas da mesma amostra, para o nível de significância  $\alpha$ =0,05.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados das duas comparações são apresentados na Figura 13. Cada painel consiste em um gráfico das diferenças entre as duas medidas contra a média das duas medidas, mostrando a diferença média (linha pontilhada  $\mu_D$ ) e os limites de concordância (linhas pontilhadas  $\mu_D \pm 2\sigma$ ) para cada comparação. Os dados são apresentados em unidades u'v' x 10<sup>-4</sup>. Na comparação "CCT vs. Protótipo" para os limiares protan, a diferença média ( $\mu_D$ ) foi 3,10 (com intervalo de 95% de confiança de -0,96 a 7,16) e os limites de concordância foram de -18,25 (com intervalo de 95% de confiança de -25,29 a -11,22 ) a 24,46 (com intervalo de 95% de confiança de 17,43 a 31,49); para os limiares deutan,  $\mu_D$  foi -0,34 (com intervalo de 95% de confiança de -4,97 a 4,28) e os limites de concordância foram de -24,65 (com intervalo de 95% de confiança de -32,66 a -16,.65) a 23,96 (com intervalo de 95% de confiança de -32,66 a -16,.65) a 23,96 (com intervalo de 95% de confiança de -37,80 a -14,64) a 44,08 (com intervalo de 95% de confiança de 32,51 a 55,66).



Figura 13. Resultados das comparações entre medidas feitas com o CCT e a versão Protótipo (Painéis A, C e E) contra os resultados da mesma análise para duas medidas individuais com o CCT (Painéis B, D e F). Os dados são apresentados em unidades u'v' x 10-4.

Tabela IIII. Resultados do teste t pareado para todas as comparações possíveis entre as duas últimas medidas com cada versão do teste, para os eixos protan, deutan e tritan. C2 e C3 representam as duas últimas medidas feitas com o CCT, enquanto P2 e P3 representam as duas últimas medidas feitas com o Protótipo. O valor *t* crítico para para  $\alpha$ =0,05 e 28 graus de liberdade é 2,048. As comparações que apresentaram diferenças estatisticamente significativas estão destacadas em negrito.

Eixo	Comparação	Valor t	Valor p
	C2 – C3	1,498	> 0,05
	P2 – P3	-1,233	> 0,05
Droton	C2 – P2	1,565	> 0,05
FIOtali	C3 – P3	-0,879	> 0,05
	C2 – P3	0,576	> 0,05
	C3 – P2	0,169	> 0,05
	C2 – C3	0,698	> 0,05
	P2 – P3	2,042	> 0,05
Douton	C2 – P2	-0,153	> 0,05
Deutan	C3 – P3	1,023	> 0,05
	C2 – P3	1,681	> 0,05
	C3 – P2	0,666	> 0,05
	C2 – C3	0,219	> 0,05
	P2 – P3	-0,135	> 0,05
Tritan	C2 – P2	2,736	< 0,05
Tituil	C3 – P3	3,161	< 0,05
	C2 – P3	2,351	< 0,05
	C3 – P2	2,967	< 0,05

Como pode ser percebido a partir da comparação entre os Painéis E e F da Figura 13, a diferença média entre os limiares tritan obtidos com o CCT e limiares obtidos com o protótipo foi consideravelmente mais alta do que a diferença entre aqueles obtidos com duas exposições ao CCT. De fato, o teste t pareado mostrou que as os limiares tritan obtidos com as duas versões diferiram significativamente (Tabela III). Em contrapartida, as diferenças entre os limiares protan e deutan obtidos com as duas versões do teste não não foram consideradas estatisticamente significativa. Para todos os eixos, as comparações entre duas medidas com o mesmo teste não apresentaram diferenças estatisticamente diferentes.

Embora tenha produzido limiares tritan sistematicamente mais baixos que aqueles obtidos com o CCT, é possível observar, com base nos limites de concordância obtidos na análise de Bland-Altman, que a flutuação estimada da variação intra-sujeito é basicamente a mesma vista em medidas individuais com o CCT (comparação "CCT vs. CCT"), de aproximadamente de 35 unidades em torno da diferença média. Em vista disso, e considerando-se a alta concordância dos limiares protan e deutan produzidos com as duas versões, concluiu-se que as duas configurações de estímulos podem ser utilizadas de forma intercambiável, com a ressalva de que eventuais comparações entre limiares obtidos com o arranjo alternativo e os dados normativos produzidos com o CCT deverão levar em consideração o viés identificado no eixo tritan.

# **EXPERIMENTO II** – Aplicação das Condições Adaptadas de Teste em Crianças e Adultos

### MÉTODO

<u>SUJEITOS</u>. Participaram do experimento 25 crianças com idades entre 2 e 7 anos (média=4,24; dp=1,3) – das quais 12 eram do sexo feminino –, recrutadas em uma escola em

São Paulo. Também participaram 35 adultos (15 do sexo feminino) com idades entre 18 e 30 anos (média=21,8; dp=3,79). Todos os adultos tinham acuidade visual corrigida melhor ou igual a 20/20 e não relataram doenças ou uso de medicamentos. Todos os participantes adultos e os responsáveis pelas crianças receberam uma descrição detalhada do experimento e assinaram um termo de consentimento (Anexo B). A única informação acerca da visão de cores dos participantes foi aquela obtida na aplicação do *Cambridge Colour Test* durante o experimento e foram incluídos na análise somente os dados de participantes com visão de cor considerada normal pelos limites estabelecidos por Ventura et al. (2003b). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos do Instituto de Psicologia da USP (protocolo 1207/CEPH-IP).

<u>EQUIPAMENTO E ESTÍMULOS</u>. Para esse experimento foi utilizado um software inspirado no *Cambridge Colour Test*, desenvolvido (por Marcio L. Bandeira, Paulo R. K. Goulart,Nestor N. Oiwa, Marcelo F. Costa e Dora F. Ventura) em linguagem Object Pascal (Borland's Delphi 7.0). Um tratamento mais detalhado acerca do desenvolvimento do software pode ser encontrado em Bandeira, Goulart, Oiwa, Costa e Ventura (2007). O restante do equipamento e as configurações de estímulos foram os mesmos descritos para o protótipo no Experimento I.

<u>REFORÇADORES</u>. Além de elogios, os acertos eram seguidos por fichas de madeira com ilustrações de personagens de desenho animado ou cédulas de brinquedo (imitando dinheiro), que eram trocadas por um brinde – adesivos com personagens de desenho animado – ao fim do experimento.

<u>PROCEDIMENTO</u>. Os testes foram realizados binocularmente em uma sala escura. Cada sujeito foi exposto a um único bloco do modo Trivector de teste. Para os adultos, os testes foram exatamente como descritos no Experimento I, para a versão protótipo. As crianças eram posicionadas a 0,5 m do monitor (distância na qual a área colorida subentendia 7 graus de ângulo visual) e deveriam tocar a região na qual o alvo era mostrado na tela do monitor. O tempo de apresentação de cada tentativa era de 9 segundos. Não havia tela sensível ao toque: quando uma resposta era efetuada pela criança, o experimentador pressionava o botão correspondente na caixa de respostas, o que produzia as mesmas alterações no contraste entre alvo e fundo descritas no Experimento I. A tela do monitor era limpa com um pano umedecido antes do início de cada sessão.

Antes da realização do teste propriamente dito, as crianças foram expostas a pelo menos um bloco de treino. Nessa condição inicial de treino, o matiz do alvo era definido ao longo de três eixos arbitrariamente selecionados para não coincidir com linhas de confusão para qualquer fenótipo dicromata. Os novos eixos de variação da cromaticidade do alvo escolhidos foram: Eixo 1: u'=0,6; v'=0,0; Eixo 2: u'=0,2; v' = 0,0; e Eixo 3: u'=0,1370; v'=0.0. Além disso, a distância mínima de excursão para cada eixo foi definida a uma distância (*d*) de 0,01 unidades u'v' em relação à coordenada do matiz de fundo, um ponto em que o alvo ainda era identificável para a maioria das crianças. Para que a criança tocasse a região colorida, o experimentador perguntava se a criança estava vendo que havia um grupo de "bolinhas diferentes" na tela e se a criança poderia mostrá-las. O experimentador eventualmente fornecia dicas verbais (e.g., "Ali em cima, está vendo?") ou físicas (tocar o alvo à vista da criança ou guiar sua mão). Respostas corretas eram seguidas de reforçamento, que consistia em um elogio (e.g., "Muito bem!") e uma fícha. O critério para encerramento do bloco de treino era de três acertos consecutivos na distância mínima de excursão para cada eixo.

Encerrado o treino, o sujeito era exposto ao bloco de teste, no qual os matizes do alvo eram definidos ao longo das linhas de confusão dicromatas protan, deutan e tritan características. Os blocos de teste tinham as mesmas características descritas no Experimento I, com a diferença que, no caso das crianças, os acertos continuavam sendo conseqüenciados com elogios e fichas. As fichas obtidas eram trocadas por uma recompensa ao fim do experimento.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Para uma análise mais robusta, as crianças foram inicialmente divididas em dois grupos principais (2-4 anos; 5-7 anos), cada um composto por aproximadamente o mesmo número de sujeitos. As crianças do grupo 2-4 anos levaram em média 62 (dp=26,33) tentativas para atingir o critério de treino, de três acertos consecutivos nas tentativas de menor contraste alvo-fundo em cada eixo, ao passo que as crianças do grupo 5-7 anos levaram em média 37 tentativas (dp=9,85). A Figura 14 apresenta os limiares protan, deutan e tritan em unidades u'v' x 10<sup>-4</sup> para os dois grupos de crianças na exposição ao teste propriamente dito. Para fins de comparação, são também apresentados os limiares de 37 crianças (20 do sexo feminino) com idades entre 7 e 11 anos (média=7,99; dp=1,26) testados independentemente (Ventura et al., 2002a) e de 75 adultos (37 do sexo feminino) de 18 a 30 anos (média=22,16; dp=2,81) do trabalho de Ventura et al. (2003b). Os limiares das crianças e dos adultos testados sob as condições adaptadas são reapresentados na Figura 15 com maior resolução de idade, porém com um número variável de sujeitos por grupo etário.



Figura 14. Médias e desvios-padrão dos limiares obtidos com o teste adaptado para três grupos etários comparados com dados produzidos independentemente com o CCT para outras duas populações (+Ventura et al., 2003b # Ventura et al., 2002a).



Figura 15. Os mesmos dados apresentados na porção esquerda da Figura 14 para agrupamentos etários alternativos.

Como esperado, os resultados mostram os limiares de discriminação de cor tornando-se progressivamente mais baixos conforme a idade aumenta, uma tendência que também se apresenta na análise baseada em grupos etários alternativos, apesar do pequeno número de sujeitos contribuindo para a estatística. A sugestão de uma melhora gradual e contínua na discriminação de cores entre 2 e 7 anos é consistente com os resultados de Knoblauch, Vital-Durand e Barbur (2001), em um estudo meticulosamente executado de avaliação da discriminação de cores ao longo do desenvolvimento que também fez uso de um teste computadorizado. Usando ruído de luminância modulado espacial e temporalmente e um alvo composto de um conjunto de três barras subentendendo uma freqüência espacial de 0,43 c/grau (uma variação do estímulo desenvolvido por Barbur, Birch & Harlow, 1993), Knoblauch et al. (2001) avaliaram a discriminação de cores ao longo dos eixos protan, deutan e tritan com 172 sujeitos com idades variando de 3 meses a 86 anos, mostrando uma clara redução nos limiares até a adolescência, seguida por um aumento modesto começando por volta dos 16 anos.

A discriminação foi melhor em crianças mais jovens do que seria esperado a partir dos resultados previamente obtidos com as crianças de 7 a 11 anos testadas com o CCT (Figura 14). Uma vez que os limiares protan e deutan obtidos no presente experimento com adultos se assemelham aos obtidos previamente com o CCT e o Experimento I demonstrou a validade do arranjo de estímulos alternativo, mostrando que adultos apresentam resultados semelhantes com os dois arranjos de teste, parece que os limiares de discriminação de cor das crianças de 7 a 11 anos de idade foram subestimados devido à maior dificuldade com a tarefa no CCT: além de a tarefa de identificar a abertura de um C de Landolt ser de dificil compreensão, as crianças não receberam o tipo de treino ostensivo fornecido no presente experimento.

### DISCUSSÃO GERAL

Uma diferença conspícua entre os dois testes foi que a versão adaptada gerou limiares tritan substancialmente mais baixos se comparados com os dados normativos do CCT (Ventura et al., 2003b). Esse viés pode estar relacionado com as variações espaciais na filtragem pré-receptoral de comprimentos de onda curtos promovida pela pigmentação macular na retina central. A maior densidade de pigmentação macular ocorre entre 1 e 2 graus da fóvea e a densidade diminui com a excentricidade retinal, o que implica em uma maior sensibilidade a comprimentos de onda curtos conforme a luz se aproxima da periferia da retina. De acordo com Davies e Morland (2004), variações espaciais na densidade da pigmentação macular "podem causar problemas se respostas espectrais precisarem ser comparadas em diferentes posições na retina *no mesmo* sujeito" pois "a função de eficácia luminosa,  $V_{\lambda}$ , será diferente em posições diferentes da retina" (p. 539). Este é precisamente o caso nas comparações entre os limiares tritan nos experimentos aqui relatados, obtidos por meio de estímulos com propriedades espaciais diferentes e que demandam dos observadores diferentes respostas de busca.

Outro fator que sabidamente influencia a percepção de estímulos com componentes de ondas curtas é a absorção espectralmente seletiva do cristalino, cuja densidade aumenta linearmente em função da idade (Pokorny, Smith & Lutze, 1987). No entanto, uma vez que os limiares tritan obtidos com o arranjo de estímulos alternativo foram mais baixos também nos adultos, parece que as diferenças na filtragem espectral pelo cristalino podem ser eliminadas como fonte de variação no presente estudo. Independentemente de sua origem, o viés nos limiares tritan obtidos sob as condições adaptadas de teste deverá ser levado em conta se estudos futuros buscarem comparar dados obtidos tanto com o C de Landolt como com o estímulo alternativo.

Apesar dessas diferenças, os resultados dos Experimentos I e II deixam claro que, desde que sejam fornecidas condições especiais, como a adoção de um arranjo de estímulos mais simples (no qual a parcela mais saliente do estímulo coincide com a região que o sujeito deve indicar) e a introdução de uma condição de treino programada para fornecer ao sujeito o repertório necessário para o desempenho consistente no teste, o *Cambridge Colour Test* torna-se um instrumento apropriado para a avaliação da discriminação de cores em uma população não prontamente contemplada pelas configurações originais do teste. Já vêm sendo realizadas investigações do desenvolvimento da visão de cor de bebês que fazem uso de uma o experimentador registra para que lado o olhar do bebê foi atraído (técnica do olhar preferencial) (Tsubota, Goulart, Bandeira, Oiwa, Costa & Ventura, 2007). Considerando-se a reconhecida aplicabilidade do CCT como um método rápido, confiável e não invasivo para a detecção de alterações na visão de cores em estágios iniciais de várias doenças (Simunovic et al., 1998; Regan et al., 1998; Ventura et al., 2002b, 2003a, 2004, 2005, 2007; Castelo Branco, et al., 2004; Silva et al., 2005; Costa et al., 2007), o estabelecimento dos limites normais de discriminação de matizes para bebês e crianças possibilitará a expansão do estudo da visão de cores para diversas patologias oftalmológicas e neurológicas cedo no desenvolvimento. Além disso, uma vez que sua aplicação pode ser feita sem a necessidade de instruções verbais, o teste adaptado se apresenta como uma alternativa para a avaliação de visão de cores em uma variedade de populações humanas, sem a influência de diferenças culturais. Pelo mesmo motivo, não deve tardar até que o mesmo seja adotado para testagem com populações humanas não-verbais, como portadores de necessidades educacionais especiais, por exemplo.

Além disso, como não poderia deixar de ser, em vista da motivação original para a adaptação do teste de Mollon-Reffin, medidas estão sendo tomadas para a aplicação do teste em macacos-prego (*Cebus apella*). Recentemente, Mancuso et al. (2006) utilizaram uma adaptação semelhante à descrita aqui para a avaliação da visão de cores de macacos-decheiro (*Saimiri sp.*). De acordo com aqueles autores, o diagrama de cromaticidade CIE pode ser utilizado com macacos-de-cheiro, pois a sensibilidade espectral dos pigmentos M/L presentes nesses animais se assemelham aos dos humanos, o mesmo valendo para seus elementos pré-receptorais. Embora não haja medidas publicadas acerca de filtros pré-receptorais para macacos-prego, a adoção do diagrama CIE também com esses animais é justificada pela grande semelhança entre as sensibilidades espectrais de seus fotopigmentos M/L e os de macacos-de-cheiro (ver Jacobs & Deegan II, 2004).

Já do ponto de vista comportamental, será necessário garantir condições para que o responder dos animais fique sob controle das propriedades relevantes da tarefa. Atualmente, um estudo piloto com macacos-prego (Cebus apella) está em andamento, com o intuito de identificar e realizar eventuais ajustes no equipamento e no software, bem como na metodologia de treino. Embora, as características principais (arranjo de estímulos e requisito de resposta mais intuitivos) tenham sido mantidas, a versão do software que vem sendo utilizada na Escola Experimental de Primatas já apresenta uma série de modificações em relação à versão adotada no presente trabalho, entre elas: captura de resposta por meio de uma interface sensível ao toque; maior número de posições para o alvo (nove), com a possibilidade de restringir a apresentação dos alvos a uma faixa restrita da tela, caso seja necessário refinamento da topografia da resposta de toque em alguma região do arranjo de estímulos; disponibilização automática da consequência para acertos por meio de um dispensador de pelotas de ração; possibilidade de treino explícito de uma resposta do tipo "no-go" nas situações em que o alvo não está visível; possibilidade de produção de elipses de discriminação a partir de até 20 eixos de variação cromática, como na versão original do teste de Mollon-Reffin.

Se bem sucedida, a criação de condições para a mensuração comportamental da visão de cores em primatas do Novo Mundo (platirrinos) possibilitará a identificação das linhas de confusão características da visão de cores desses animais. O conhecimento dessas linhas de confusão servirá diretamente para favorecer a seleção confiável de cores fora das faixas de confusão para cada sujeito, ao se planejar condições experimentais de treino que visem o desenvolvimento de controle por propriedades cromáticas. Uma aplicação potencial dessa tecnologia será contribuir para o desenvolvimento de um modelo animal primata dos comprometimentos do sistema visual decorrentes da contaminação por mercúrio. Além disso, a disponibilidade de procedimentos adequados para a avaliação da visão de cores de macacos

permitirá a investigação das capacidades discriminativas do macaco-guariba ou bugio (*Alouatta sp.*), macaco platirrino que, aparentemente, apresenta visão de cores mais parecida com a dos primatas do Velho Mundo (catarrinos) do que com a dos demais platirrinos.

Medidas de sensibilidade espectral dos fotopigmentos de cone e estudos de genética molecular têm demonstrado que macacos-guariba apresentam três fotopigmentos de cone independentemente de gênero (e.g., Jacobs, Neitz, Deegan & Neitz, 2006; Kainz, Neitz & Neitz, 1998; Saito, Silva Filho, Lee, Bowmaker, Kremers & Silveira, 2004), diferentemente dos outros platirrinos<sup>9</sup>. Além disso, há indícios eletrofisiológicos de que as células ganglionares responsáveis pela oponência "verde-vermelho" desses animais têm funcionamento semelhante às de algumas espécies de macacos do Velho Mundo e das fêmeas tricromatas de espécies do Novo Mundo (Saito et al., 2004; Saito, Silveira, Silva Filho, Lee & Kremmers, 2005), o que fornece suporte adicional de que macacos-guariba machos apresentam os pré-requisitos biológicos para uma visão de cores tricromata. No entanto, a despeito desses indícios, relatos de estudos comportamentais de avaliação da discriminação de comprimentos de onda com esses animais ainda são escassos (ver, Araújo Jr, Didonet, Araújo, Saletti, Borges & Pessoa, 2008, para um exemplo de avaliação de discriminação de cores em Alouatta, por meio de fichas cromáticas de Munsell). A adaptação do teste de Mollon-Reffin poderia, então, contribuir para confirmar a capacidade de tais animais em efetuar discriminações que dependam exclusivamente de sensibilidade ao extremo de comprimentos de onda médios e longos do espectro visível.

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Diferentemente dos humanos e demais primatas antropóides, a maioria dos macacos platirrinos possui um único gene responsável pela expressão de fotopigmentos de cone M/L em seus cromossomos X, com diferentes versões alélicas possíveis em uma mesma espécie, que respondem pela expressão de fotopigmentos com valores de sensibilidade espectral ligeiramente diferentes (Jacobs, 1996, 1998; Jacobs & Deegan II, 2003; Jacobs, Neitz & Neitz, 1993). Isso faz com que as fêmeas heterozigotas para esse gene apresentem uma entre três formas de tricromacia, dependendo da variante expressada do fotopigmento, e as demais fêmeas e os machos sejam dicromatas, também em uma de três formas.

- Araújo Jr, A. C., Didonet, J. J., Araújo, C. S., Saletti, P. G., Borges, T. R. J. & Pessoa, V. F. (2008). Color vision in the black howler monkey (*Alouatta caraya*). *Visual Neuroscience*, 25, 243-248.
- Bandeira, M. L., Goulart, P. R. K., Oiwa, N. N., Costa, M. F.& Ventura, D. S. F. (2007). Software development for psychophysical measurement of color vision in infants and children based on the commercial version of the Cambridge Colour Test. *Abstracts Book* of the 19th Symposium of the International Colour Vision Society, 155-156.
- Barbur, J. L., Birch, J., & Harlow, A. J. (1993). Colour vision testing using spatiotemporal luminance masking. In: B. Drum, *Colour Vision Deficiencies XI* (pp. 417–426).
  Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Bland, J. M. & Altman, D. G. (1987). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Biochimica Clinica*, *11*, 399-404.
- Bland, J. M. & Altman, D. G. (1999). Measuring agreement in method comparison studies. Statistical Methods in Medical Research, 8, 135-160.
- Bowmaker, J. K., Astell, S., Hunt, D. & Mollon, J. D. (1991). Photosensitive and photostable pigments in the retinae of Old World monkeys. *Journal of Experimental Biology*, *156*, 1-19.
- Bruni, L. F. & Cruz, A. A. V. E. (2006). Sentido cromático: tipos de defeitos e testes de avaliação clínica. Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, 69, 766-775.
- Catania, C. A (1999). *Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição*. Porto Alegre: ArtMed. Publicado originalmente em 1998.
- Castelo-Branco, M., Faria, P., Forjaz, V., Kozak, L. R. & Azevedo, H. (2004). Simultaneous comparison of relative damage to chromatic pathways in ocular hypertension and glaucoma: Correlation with clinical measures. *Ophthalomology and Visual Science*,45,

499-505.

- Costa, M. F., Ventura. D. F., Perazzolo, F., Murakoshi, M. & Silveira, L. C. L.(2006). Absence of binocular summation, eye dominance, and learning effects in color discrimination. *Visual Neuroscience*, 23, 461-469.
- Costa, M. F., Oliveira, A. G. F., Feitosa-Santana, C. Zatz. M. & Ventura. D. F. (2007). Redgreen color vision impairment in Duchenne muscular dystrophy. *American Journal of Human Genetics*, 80, 1064-1075.
- Coren, S., Porac, C. & Ward, L. M. (1978). Sensation and Perception (International Edition.). New York: Academic Press.
- Cornsweet, T. N. (1970). Visual Perception. New York: Academic Press.
- Dacey, D. M. (1999). Primate Retina: Cell Types, Circuits and Color Opponency. *Progress in Retinal and Eye Research*, *18*, 737-763.
- Dain, S. J. (2004). Clinical colour vision tests. *Clinical and Experimental Optometry*, 87, 276-293.
- Davies, N. P & Morland, A. B. (2004). Macular pigments: their characteristics and putative role. *Progress in Retinal and Eye Research*, *23*, 533-559.
- Derrington, A. M., Parker, A., Barraclough, N. E., Easton, A., Goodson, G. R., Parker, K. S., Tinsley, C. J. & Webb, B. S. (2002). The uses of colour vision: behavioural and physiological distinctveness of colour stimuli. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London B*, 357, 975-985.
- Donahoe, J. W. & Palmer, D. C. (1994). *Learning and Complex Behavior*. Boston: Allyn & Bacon.
- Gegenfurtner, K. R. & Kiper, D. C. (2003). Color Vision. Annual Review of Neuroscience, 26, 281-286.

- Goulart, P. R. K., Bandeira, M. L., Tsubota, D., Oiwa, N. N., Costa. M. F. & Ventura, D. F. (2008). A computer-controlled color vision test for children based on the Cambridge Colour Test. *Visual Neuroscience*, 25, 445-450.
- Guerra, L. G. G. C. (2006). Princípios de condicionamento à luz da análise neural do estímulo antecedente. Tede de Doutorado. São Paulo: USP. 120 páginas.
- Jacobs, G. H. (1992). Ultraviolet Vision in Vertebrate. *Integrative and Comparative Biology*, 32, 544-554.
- Jacobs, G. H. (1996). Primate photopigments and primate color vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences: USA, 93*, 577-581.
- Jacobs, G. H. (1998). A perspective on color vision in platyrrhine monkeys. *Vision Research,* 38, 3307-3313.
- Jacobs, G. H. & Deegan II, J. F. (2003). Cone pigment variations in four genera of new world monkeys. *Vision Research*, 43, 227-236.
- Jacobs, G. H. & Harwerth, R. S. (1989). Color vision variations in Old and New World primates. *American Journal of Primatology*, *18*, 35-44.
- Jacobs, G. H., Neitz, M., Deegan, J. F. & Neitz, J. (1998). Trichromatic colour vision in New World monkeys. *Nature*, 382, 156-158.
- Jacobs, G. H., Neitz, J. & Neitz, M. (1993). Genetic basis of polymorphism in the color vision of platyrrhine monkeys. *Vision Research*, *33*, 269-274.
- Judd, D. B. (1966). Fundamental studies of color vision from 1860 to 1960. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 55*, 1313-1330.
- Kainz, P. M., Neitz, J. & Neitz, N. (1998). Recent evolution of uniform trichromacy in a New World monkey. *Vision Research*, 38, 3315-3320.

Keller, F. S., & Schoenfeld, W. N. (1950). Principles of psychology. New

York: Appleton-Century-Crofts.

- Knoblauch, K., Vital-Durand, F. & Barbur, J. L. (2001). Variation of chromatic sensitivity across the life span. *Vision Research*, *41*, 23–36.
- Lennie, P. (2000). Color Vision. In: E. R. Kandel, J. H. Schwartz & T. M. Jessell (Eds.). *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill
- Levine, M. E. (2000). *Fundamentals of Sensation and Perception*. Oxford: Oxford University Press.
- MacAdam, D. L. (1942). Visual Sensitivities to Color Differences in Daylight. *Journal of the Optical Society of America*, 32, 247-274.
- Mancuso, K., Neitz, M. & Neitz, J. (2006). An adaptation of the Cambridge Colour Test for use with primates. *Visual Neuroscience*, *34*, 695-701.
- McIlwain, J. T. (1996). An Introduction to the biology of Vision. London: Cambridge University Press.
- Mollon, J. D. (1989). "Tho' she kneel'd in that Place where they grew...". Journal of Experimental Biology, 146, 21-38.
- Mollon, J. D. (1999). Color vision: Opsins and options. *Proceedings of the National Academy* of Sciences, 96, 4743-4745.
- Mollon, J. D. & Reffin, J. P. (1989). A computer-controlled colour vision test that combines the principles of Chibret and Stilling. *Journal of Physiology*, *414*, 5P.
- Mollon, J. D. & Regan, J. P. (2000). *Handbook of the Cambridge Colour Test*. Ed: Cambridge Research Systems, London, UK. <www.crsltd.com>
- Nathans, J. (1999). The evolution and physiology of human color vision: Insights from molecular genetic studies of visual pigments. *Neuron*, 24, 299-312.
- Nathans, J., Merbs, S. L., Sung, C., Weitz, C. J. & Wang, Y. (1992). Molecular genetics of human visual pigments. *Annual Reviews of Genetics*, 26, 403-424.

- Neitz, M. & Neitz, J. (2000). Molecular genetics of color vision and color vision defects. Archives of Ophtalmology, 118, 691-700.
- Neitz, J. & Jacobs, G. H. (1990). Polymorphism in normal human color vision and its mechanism. *Vision Research*, *30*, 620-636.
- Pokorny, J., Smith, V. C., & Lutze, M. (1987). Aging of the human lens. *Applied Optics*, 26, 1437–1440.
- Reffin, J. P., Astell, S. & Mollon, J. D. (1991). Trials of a computer-controlled colour vision test that preserves the advantages of pseudoisochromatic plates. In: B. Drum, J. D. Moreland & A. Serra (Eds.). *Vision Deficiencies X*. Dordretcht: Kluwer Academic Publishers.
- Regan, B. C., Freudenthaler, N., Kolle, R., Mollon, J. D. & Paulus, W. (1998). Colour discrimination thresholds in Parkinson's disease: results obtained with a rapid computercontrolled colour vision test. *Vision Research*, *38*, 3427-3431.
- Regan, B. C., Reffin, J. P. & Mollon, J. D. (1994). Luminance noise and the rapid determination of discrimination ellipses in colour deficiency. *Vision Research*, 34, 1279-1299.
- Rowe, M. H. (2002). Trichromatic color vision in primates. *News in Physiological Sciences*, *17*, 93-98.
- Rushton, W. A. H. (1972). Pigments and signals in colour vision. *Journal of Physiology*, 220, 1-31.
- Saito, C. A., Silva Filho, M., Lee, B. B., Bowmaker, J. K., Kremers, J. & Silveira, L. C. L. (2004). *Alouatta* trichromatic color vision – single–unit recording from retinal ganglion cells and microspectrophotometry. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45: E-Abstract 4276.

- Saito, C. A., Silveira, L. C. L., Silva Filho, M., Lee, B. B. & Kremers, J. (2005). Physiology of Howler Monkey Retinal Ganglion Cells: Temporal Achromatic Contrast Sensitivity. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46: E-Abstract 2240.
- Schwartz, S. H. (2004). Visual Perception a clinical orientation. (3rd ed.). Hightstown: McGraw Hill.
- Sharpe, L. T., Stockman, A., Jägle, H. & Nathans, J. (1999). Opsin genes, cone photopigments, color vision, and color blindness. In K. R. Gegenfurtner & L. T. Sharpe (Eds.), *Color vision: From genes to perception* (pp. 3–51). Cambridge: Cambridge University Press.
- Silva, M. F., Faria, P., Regateiro, F. S., Forjaz, V., Januário, C., Freire, A. & Castelo-Branco, M. (2005). Independent patterns of damage within magno-, parvo- and koniocellular pathways in Parkinson's disease. *Brain*, *128*, 2260–2271.
- Simunovic, M. P., Votruba, M., Regan, B. C. & Mollon, J. D. (1998). Colour discrimination ellipses in patients with dominant optic atrophy. *Vision Research*, *38*, 3413-3419.
- Skinner, B. F. (1938). *The behavior of organisms: An experimental analysis*. New York: Appleton-Century.
- Skinner, B. F. (1953). Science and Human Behavior. New York: Mcmillian.
- Sumner, P. & Mollon, J. D. (2003). Colors of Primate Pelage and Skin: Objective Assessment of Conspicuousness. *American Journal of Primatology*, *59*, 67–91.
- Surridge, A. K., Osorio, D. & Mundy, N. I. (2003). Evolution and selection of trichromatic vision in primates. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 198-205.
- Tovée, M.J. (1996). An Introduction to the visual system. London: Cambridge University Press.
- Tsubota, D., Goulart, P. R. K., Bandeira, M. L., Oiwa, N. N., Costa, M. F. & Ventura D. S. F. (2007). Avaliação de uma versão adaptada do Cambridge Color Teste e um estudo

preliminar da visão de cores em bebês. *Pôster apresentado no 15º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, São Paulo.* 

Ventura, D. F. (2007). Visão de cores no primeiro ano de vida. Psicologia USP, 18, 83-97.

- Ventura, D. F., Costa, M. T. V., Costa, M. F., Berezovsky, A., Salomão, S. R., Simões, A. L., Lago, M., Pereira, L. H. M. C., Souza, J. M. & Silveira, L. C. L. (2004). Multifocal and Full-Field Electroretinogram Changes Associated with Color Vision Loss in Mercury Vapor Exposure. *Visual Neuroscience*, 21, 421-429.
- Ventura, D. F., Costa, M. F., Gualtieri, M., Nishi, M., Bernicki, M., Bonci, D. & Souza, J. M. (2003a). Early vision loss in diabetic patients assessed by the Cambridge Colour Test. In:
  J. D. Mollon; J. Pokorny & K. Knoblauch. (Org.). *Normal and Defective Colour Vision* (pp. 391-399). Oxford, England: Oxford University Press.
- Ventura, D. F., Gualtieri, M., Oliveira, A. G. F., Costa, M. F., Quiros, P., Sadun, F., de Negri, A. M., Salomão, S. R., Berezovsky, A., Sherman, J., Sadun, A. A. & Carelli, V. (2007).
  Male prevalence of acquired color vision defects in asymptomatic carriers of Leber's hereditary optic neuropathy. *Investigative Ophthalomology and Visual Science*, 48, 2362-2370.
- Ventura, D. F., Rodrigues, A. R., Moura, A. A., Vargas, A. C., Costa, M. F., de Souza, J. M. & Silveira, L. L. (2002a) Color Discrimination Measured by the Cambridge Colour Vision Test (CCVT) in Children and Adults. *Investigative Ophthalmology & Vision Science*, 43, E-Abstract 3796.
- Ventura, D. F., Silveira, L. C. L., Nishi, M., Costa M. F., Gualtieri, M., Santos, R. M. A., Pinto, C. T., Moura, A. L. A., Rodrigues, A. R., Sakurada, C., Sauma, M. F. L. C. & Souza, J.M. (2002b). Color vision loss in patients treated with chloroquine. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 66, 09-15.

- Ventura, D. F., Silveira L. C. L, Rodrigues, A. R., Gualtieri, M., Souza, J. M., Bonci, D. & Costa, M. F. (2003b). Preliminary norms for the Cambridge Colour Test. In: J. D. Mollon, J. Pokorny & K. Knoblauch. (Org.). Normal and Defective Colour Vision. Oxford: Oxford University Press.
- Ventura, D. F., Simões, A. L., Tomaz, S., Costa, M. F., Lago, M., Costa, M. T. V., Pereira, L. H. M. C., Souza, J. M., Faria, M. A. M. & Silveira, L. C. L. (2005). Color vision and contrast sensitivity losses of mercury intoxicated industry workers in Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *19*, 523-529.
- Vorobyev, M. (2004). Ecology and evolution of primate colour vision. *Clinical and Experimental Optometry*, 87, 230-238.
- Wyszecki, G. & Stiles, W. S. (1982). Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae. (2nd ed.). New York: Wiley.

# APÊNDICE

### DIAGRAMA DE CROMATICIDADE CIE

A *Comission Internationale de l'Eclarairage* (CIE) desenvolveu, em 1931, e vem refinando desde então um sistema de diferença de cores construído a partir de conjuntos padronizados de funções de igualação de cor (*color matching functions*). No procedimento psicofísico de igualação de cor, o observador é exposto a um campo bipartido que contém, de um lado, uma luz monocromática e, do outro uma mistura de três primárias. Ao longo do experimento, o observador deve manipular a intensidade radiante das três primárias até produzir um matiz que lhe pareça idêntico ao da luz monocromática no campo de teste. A luz de teste é então programada com outro comprimento de onda e um novo ajuste da mistura deve ser feito. ). Os valores de intensidade radiante relativa que as três primárias assumem para especificar quaisquer outras cores do espectro visível constituem as funções de igualação de cor. As primeiras funções de igualação de cor são conhecidas em conjunto como CIE RGB por terem sido obtidas a partir de luzes de 700,0nm ("vermelho"), 546,1nm ("verde") e 435,8nm ("azul").

Uma característica do uso dessas primárias é que há comprimentos de onda (na faixa dos 444nm aos 526nm em que nenhuma mistura das três primárias é capaz de produzir metamerismo. Ao invés disso, a primária "vermelha" precisa ser transferida para o campo de teste e as misturas nos dois campos devem ser ajustadas até que um metâmero seja obtido, uma operação que, matemática e graficamente, gera valores negativos (Figura 16). Para permitir uma aplicação mais conveniente em colorimetria, foram feitas transformações lineares nos valores tri-estímulos, eliminando-se valores negativos, o que deu origem ao conjunto de funções CIE XYZ.

Como havia mais de um conjunto de transformações que produziriam curvas positivas, a escolha das curvas de igualação finais seguiram os seguintes critérios: 1) por
convenção, a função  $y(\lambda)$ , correspondente aos valores tri-estímulo Y, deveria ter a mesma distribuição da função de eficácia luminosa  $V(\lambda)$ ; e 2) as três funções normalizadas deveriam fornecer valores tri-estímulo iguais para o espectro equienergético. É interessante notar que não há primárias fisicamente viáveis cuja manipulação experimental prescindiria da transferência de uma primária para o campo de teste, gerando funções de igualação de cor sem regiões negativas. As primárias que correspondem às funções totalmente positivas CIE XYZ são, portanto, construtos de validade apenas teórica.



Figura 16. Funções de igualação de cor CIE RGB, associadas com as primárias 700,0nm (R), 546,1nm (G) e 435,8nm (B), e CIE XYZ, derivadas matematicamente das primeiras, a fim de se evitar valores negativos. Adaptado de http://www.handprint.com/HP/WCL/color6.html.

A especificação de cores por valores tri-estímulos permite a visualização de cores enquanto vetores em um espaço 3-D, mas este é difícil de ser reproduzido em meios bidimensionais. Uma representação 2-D, no entanto, pode ser obtida se os valores triestímulos forem normalizados para o plano de unidade, isto é, o plano no qual a soma de todos os tri-estímulos é igual a 1. As coordenadas resultantes são denominadas coordenadas de cromaticidade e o gráfico de tais coordenadas é denominado diagrama de cromaticidade. O diagrama derivado das funções CIE XYZ é o diagrama de cromaticidade CIE 1931 xy (Figura 17). O plano de unidade ignora a informação de intensidade, de modo que o diagrama representa uma espécie de "fatia" do espaço de cores na qual a luminância é constante e as cores variam apenas em termos de matiz e de saturação.

A curva externa do diagrama representa as cores espectrais puras. A linha reta unindo os dois extremos da curva compreende as várias misturas de violeta e vermelho. Há uma região de convergência no diagrama que contém o ponto branco ou acromático. Uma linha reta ligando qualquer ponto do lócus espectral ao ponto branco contém cores que possuem o mesmo comprimento de onda daquele ponto, mas diferem em saturação ao longo daquela linha (i.e., possuem o mesmo comprimento de onda dominante), indo do mais saturado (ou mais puro, com menor proporção de branco), quanto mais próximo do lócus espectral, até menos saturado, quanto mais próximo do ponto branco. Todas as cores contidas nos limites do lócus espectral são misturas: qualquer linha reta ligando dois pontos do diagrama contém misturas em diferentes combinações dos comprimentos de onda dominantes especificados por ambos os pontos.



Figura 17. Diagrama de cromaticidade CIE 1931 xy.

A intenção por trás dos diagramas de cromaticidade é representar as menores diferenças perceptuais entre matizes. Assim, é interessante que distâncias euclidianas equivalentes no diagrama correspondam a diferenças minimamente perceptíveis entre cores (derivadas de estudos psicofísicos que medem os limiares de detecção de pequenos incrementos em relação a um de matiz base). O diagrama CIE 1931 xy, contudo, não é perceptualmente uniforme, no sentido em que, algumas regiões do diagrama não apresentam equivalência entre distâncias euclidianas e perceptuais. No intuito de produzir uma representação mais homogênea, algumas transformações matemáticas dos tri-estímulos X, Y e Z foram feitas ao longo do tempo. A última dessas transformações deu origem ao conjunto de funções de igualação de cor CIE L\*u\*v\*, que se encontra na base do diagrama CIE 1976 u'v' (Figura 18), adotado no presente estudo.



Figura 18. Diagrama de cromaticidade CIE 1976 u'v', no qual as distâncias euclidianas correspondem com menor distorção a distâncias perceptuais.

É importante observar que as diferenças perceptuais são adicionalmente prejudicadas nas figuras aqui disponibilizadas, uma vez que a representação gráfica de cores possibilitada pelo modelo da CIE é restringida pela maneira como dispositivos de reprodução como impressoras e monitores geram cores. Em tais equipamentos, toda a gama de cores passíveis de ser reproduzida depende da somação temporal de três primárias, por parte do sistema visual humano. Todavia, uma vez que as primárias utilizadas estão, elas próprias, fora do lócus espectral (i.e., não são puras), todas as misturas possíveis estarão contidas em um triângulo cujos vértices, no diagrama de cromaticidade, são as coordenadas de cromaticidade das próprias primárias. Em função disso, nem a totalidade das cores obtidas pela sua mistura é capaz de representar as nuanças do diagrama, sobretudo nas regiões mais saturadas. Em outras palavras, há sempre uma certa proporção de luz branca presente mesmo nas cores mais saturadas que podem ser produzidas. O triângulo formado pelas coordenadas

65

das rês primárias é denominado gamut. A Figura 19 apresenta o gamut de um monitor CRT genérico em um diagrama CIE 1976 u'v'.



Figura 19. Gamut de cores do diagrama CIE 1976 u'v'. O triângulo delimita as cores que podem ser reproduzidas por um monitor CRT. Os vértices do triângulo são definidos pelas coordenadas de cromaticidade dos fósforos R, G, B do monitor em questão.

# Fontes:

- Sharma, G. & Trussel, J. (1997). Digital Color Imaging. *IEEE Transactions on Image Processing*, 6, 901-932.
- Schwartz, S. H. (2004). Visual Perception a clinical orientation. (3rd ed.). Hightstown: McGraw Hill.
- Wyszecki, G. & Stiles, W. S. (1982). Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae. (2nd ed.). New York: Wiley.
- efg's Computer Lab (www.efg2.com/lab).

# ANEXO A

# A computer-controlled color vision test for children based on the Cambridge Colour Test

PAULO R. K. GOULART, <sup>1</sup> MARCIO L. BANDEIRA, <sup>2</sup> DANIELA TSUBOTA, <sup>2</sup> NESTOR N. OIWA, <sup>2</sup> MARCELO F. COSTA, <sup>2,3</sup> and DORA F. VENTURA<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Filosofia, Universidade Federal do Pará, Belém, Brazil <sup>2</sup>Instituto de

Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>3</sup>Núcleo de Neurociências e Comportamento, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

(RECEIVED September 28, 2007; ACCEPTED March 18, 2008)

#### Abstract

The present study aimed at providing conditions for the assessment of color discrimination in children using a modified version of the Cambridge Colour Test (CCT, Cambridge Research Systems Ltd., Rochester, UK). Since the task of indicating the gap of the Landolt C used in that test proved counterintuitive andOor difficult for young children to understand, we changed the target stimulus to a patch of color approximately the size of the Landolt C gap (about 78 of visual angle at 50 cm from the monitor). The modifications were performed for the CCT Trivector test which measures color discrimination for the protan, deutan and tritan confusion lines. Experiment 1 sought to evaluate the correspondence between the CCT and the child-friendly adaptation with adult subjects (*n* 3 29) with normal color vision. Results showed good agreement between the two test versions. Experiment 2 tested the child-friendly software with children 2 to 7 years old (*n* 3 25) using operant training techniques for establishing and maintaining the subjects' performance. Color discrimination thresholds were progressively lower as age increased within the age range tested (2 to 30 years old), and the data—including those obtained for children—fell within the range of thresholds, a pattern repeatedly observed in adults tested with the CCT. The results demonstrate that the test is fit for assessment of color discrimination in young children and may be a useful tool for the establishment of color vision thresholds during development.

Keywords: Color vision, Hue discrimination, Visual development, Operant training, Cambridge Colour Test

#### Introduction

The Cambridge Colour Test (CCT; Cambridge Research Systems, Rochester, UK)-the commercially available version of the Mollon-Reffin color discrimination test (Mollon & Reffin, 1989; Mollon & Regan, 2000; Regan et al., 1998)-is a computercontrolled est designed for rapid determination of colordiscrimination thresholds. The test consists of a mosaic of small varying both in size and luminance, with a subset of circles circles defined with a different chromaticity forming a Landolt-C shaped target. Subjects are required to indicate the orientation (left, right, up, down) of the Landolt-C gap either verbally or by pressing the corresponding button on a response box. In its short test version (Trivector), the target chromaticities are calculated in the CIE (1976) u', v' diagram along the protan, deutan, and tritan color confusion lines. Initially the target is presented with a high saturation for each of the three axes and the chromatic

difference (contrast) between the target and background is increased or decreased according to the subject's performance, until a threshold is obtained for each confusion line.

Preliminary normative data for the CCT were described by Ventura et al. (2003a) for adults ranging from 18 to 30 years of age with normal color vision (independently assessed by the Farnsworth-Munsell 100-Hue test). The CCT has been a useful tool for the assessment of color discrimination in a variety of studies with different clinic populations, see e.g., Simunovic et al. (1998), for patients with dominant optic atrophy; Regan et al. (1998) and Silva et al. (2005) for Parkinsonian patients; Ventura et al. (2002b) for patients treated with chloroquine; Ventura et al. (2003b) for diabetic patients; Ventura et al. (2004, 2005) for individuals with mercury intoxication; Castelo-Branco et al. (2004) for glaucoma patients; Ventura et al. (2007) for carriers of Leber's hereditary optic neuropathy; Costa et al. (2007) for patients with Duchenne muscular dystrophy), as well as with individuals without pathologies (Costa et al., 2006). Following the preliminary norms the test was applied in children (Ventura et al., 2002a), as part of an ongoing study seeking to extend the norms to other ages. For children younger than 7 years old, however, the task of indicating

Address correspondence and reprint requests to: Paulo Roney Kilpp Goulart, Av. Conselheiro Furtado, 1776, apto 206, 66040-100; Belém, PA, Brasil. E-mail: goulartprk@gmail.com

#### Goulart et al.



Fig. 1. Example of the stimulus arrangement in the commercial (left) and adapted (right) versions of the Cambridge Colour Test. Two main modifications in the stimuli display were performed to create a more intuitive task: (1) the subjects had to indicate a colored region rather than its interruption; (2) the full screen spatial-luminance noise produced a more homogeneous stimulus configuration.

the gap of a Landolt C under the same test conditions (e.g., viewing distance, response mode) used for adults yielded inconsistent, unreliable results.

The present work aimed at providing conditions for the precise psychophysical assessment of color discrimination in small children (and potentially for verbally impaired or non-verbal subjects), for whom the original task of indicating the Landolt-C gap is potentially counterintuitive and0or difficult to understand. An analogous approach with animals was presented by Mancuso et al. (2006). Experiment 1 sought to validate the alternative stimulus arrangement using a prototype version. Experiment 2 tested a selfbuilt "child-friendly" software with children 2 to 7 years old using operant training techniques for establishing and maintaining the subjects' performance.

### **Experiment 1**

#### Methods

Participants were 29 adults (13 females) aging 18-30 years (mean = 20.8 ± 6.2) recruited among undergraduate students at the Universidade de São Paulo. All subjects had a best corrected visual acuity of 20/20 or better and did not report any diseases or use of medication. Informed consent was obtained from all subjects. The only information on the participant's color vision was that provided by the present testing. Only the data from participants with normal color vision according to the limits established in Ventura et al. (2003*b*) are presented. The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki.

The original version and an adapted version (prototype) of the CCT version 2.0 were installed in a PC (Dell Dymension XTC-600, Winston-Salem, NC). The prototype version was developed by changing the stimulus generation routine of the original code (provided by Cambridge Research Systems). Modifications were performed in Object Pascal language (Borland's Delphi 7.0) and the whole system was compatible with a high-performance monitor (Philips 202P4) and with graphic board VSG 205 (Cambridge Research Systems). The monitor was gamma corrected regularly with the OptiCAL 200-E photometer (Cambridge Research Systems) using the standard calibration routine of the VSG Desktop

library (version 8.0). Chromaticity coordinates and luminances were verified with a Minolta CS1000 spectrophotometer.

For both the original and prototype tests the luminance of the circles composing the stimulus was randomly set at any of six luminance  $\frac{1}{2}$ levels between 7  $cd/m^2$  and 15  $cd/m^2$ . A subset of circles filled with a hue different from that of the remaining circles forming an approximately square patch of about the same size of the Landolt-C gap (1° of visual angle at a viewing distance of 3.0 m) (Fig. 1) was substituted for the stimulus of the original test. Stimulus chromaticities were calculated in the CIE (1976) u, v diagram. The CRT phosphor limits were: red phosphor (R) u = 0.416; v = 0.522; green phosphor (G) u = 0.117; v = 0.559; blue phosphor (B) u = 0.159; v 3 0.177. In the Trivector test the background chromaticity is defined at an achromatic point of the 1976 CIE diagram (u = 0.1977, v = 0.4689). Target chromatic- ities vary along the t hree test axes, that correspond to protan, deutan, and tritan confusion lines passing through the neutral point and converging to the points u = 0.6579, v = 0.5013 (protan), u = -1 .2174, v = 0.7826 (deutan), and u = 0.2573, v = 0.0 (tritan). The excursion along each axis could vary between  $1100 \times 10^{-4}$  and  $20 \times 10^{-4} uv$  units.

Each subject was exposed to three Trivector sessions of each version (original and prototype), and the order of the six ses- sions was randomized within subjects (Costa et al. (2006) showed no learning effects afer repeated testings). Since Costa et al. (2006) showed that there is no difference between the monocu- lar and binocular measurements, tests were performed binocu- larly, in a darkened room with the subject placed 2.6 m from the monitor. Subjects were instructed to press the button on a response box corresponding to the position of the Landolt-C gap in the CCT or of the color patch in the adapted test. For both tests the time allowed for the subject to respond (response time) was 3 s. The test uses a dynamic staircase method to measure the threshold discrimination. The protan, deutan, and tritan stair- cases are alternated randomly. The target is initially defined at the most saturated point of each axis and correct responses cause the target chromaticity to approach the background chro- maticity while incorrect responses produce the opposite effect. After a criterion of 11 reversals for each staircase thresholds are computed and expressed in CIE (1976) u, v coordinates.

#### Color vision test for children

In order to verify the agreement between the two versions the product-moment coefficient of correlation was determined for the mean values of the protan, deutan, and tritan thresholds obtained for each of the three exposures to each version. Additional statistical analysis is provided following the methods proposed by Bland and Altman (1987, 1999) for evaluating the correspondence between methods. In Bland-Altman's analysis agreement between two methods can be quantified with the aid of graphical methods using the differences between the outcomes of each method for the same subjects (see below for greater detail).

#### Results and discussion

The comparison between the means of three exposures to each version showed moderate correlation (protan: r = 0.61, p < 0.01; deutan: r = 0.69, p < 0.01; tritan  $r \ge 0.46$ , p < 0.05). In view of traditional approaches for assessing between-method agreement, such correlation coefficients alone would suffice for validating the alternative stimulus configuration proposed here. Additional analysis, however, is recommended by Bland and Altman (1987), which pointed out that, since the correlation measures only the strength of a relation between two variables, even correlation coefficients much higher than those obtained in the present analysis could conceal considerable lack of agreement.

For the Bland-Altman comparison the so-called "limits of agreement" were estimated by two standard deviations around the mean of the differences between the two measurements. Also computed were the 95% confidence intervals for the mean differences as well as for the lower and upper limits of agreement. The 95% confidence intervals were calculated as  $t_{n-1}$  standard errors around the desired value, the standard errors being  $\sqrt{\sigma^2/n}$  for the mean differences and  $\sqrt{3\sigma^2/n}$  for the lower and upper limits of agreement.

The limits of agreement (backed up by the confidence intervals) are to be used as a measure of how much two methods are likely to disagree. As would be expected, the smaller the difference, the stronger will be the agreement between methods. In the case of psychophysical measurements, however, considerable intrasubject fluctuation is already expected even for multiple measurements with the same instrument. For this reason, in the present analysis a second comparison was carried out for two CCT measurements ("CCT vs. CCT" comparison) in order to serve as a template for the "CCT versus Prototype" comparison.

The results of both comparisons are presented in Fig. 2. Each panel consists of a plot of the difference between measurements against their mean, showing the mean difference ( $\mu_D$  dashed line) and the limits of agreement (  $\mu_D \pm 2s$  dashed lines) for each comparison. Data are presented in  $10^{-4}$  uv units of the 1976 CIE diagram. In the "CCT versus Prototype" comparison for the protan thresholds, the mean difference (  $\mu_D$ ) was 3.10 (95% confidence interval - 0.96 to 7.16) and the limits of agreement were -18.25 (95% confidence interval -25.29 to -11.22) to 24.46 (95% confidence interval 17.43 to 31.49); for the deutan thresholds  $\mu_D$ was -0.34 (95% confidence interval 34.97 to 4.28) and the limits of agreement were -24.65 (95% confidence interval -32.66 to -16.65) to 23.96 (95% confidence interval 15.96 to 31.79); and for the tritan thresholds  $\mu_D$  was 8.93 (95% confidence interval 2.25 to 15.62) and the limits of agreement were 326.22 (95% confidence interval -37.80 to -14.64) to 44.08 (95% confidence interval 32.51 to 55.66).

As can be readily seen from the comparison of panels E and F of Fig. 3 the mean difference between CCT and prototype measurements of the tritan axis is considerably higher than that be-

447

tween two CCT measurements. Nevertheless, a paired *t*-test showed no significant differences between the mean differences observed in both comparisons ( $t_{28} = 0.03$ , p > 0.9 for protan;  $t_{28} = 0.13$ , 0.9 > p > 0.5 for deutan; and  $t_{28} = 0.47$ , 0.45 > p > 0.25 for tritan). Also, the variances of the differences between measures of the two versions ( $V_D = 114.02$  for protan,  $V_D = 147.73$  for deutan, and  $V_D = 308.92$  for tritan) were not significantly different from those observed in the "CCT versus CCT" comparison ( $F_{28} = 1.10$ , p > 0.05;  $F_{28} = 1.61$ , p > 0.05; and  $F_{28} = 1.07$ , p > 0.05, respectively).

Taken together the Bland-Altman comparisons and the tests of significance for both  $\mu_D$  and  $V_D$  demonstrate that the intra-subject variation between the measures provided by both versions have the same magnitude of the intra-subject fluctuation seen between individual CCT measurements ("CCT versus CCT" comparison), suggesting that both alternative stimulus configurations may be used interchangeably.

#### **Experiment 2**

#### Methods

Twenty-five children (12 females) from 2 to 7 years (mean =  $4.24 \pm 1.30$ ), recruited in a school at São Paulo, SP, Brazil, and 35 adults (15 females) aging 18–30 years (mean =  $21.8 \pm 3.79$ ) recruited among undergraduate students at the Universidade de São Paulo participated. Adult participants all had a best corrected visual acuity of 20/20 or better. Informed consent was obtained for all subjects. The only information on the participant's color vision was that provided by the present testing. Only the data from participants with normal color vision according to the limits established in Ventura et al. (2003*b*) are presented.

For this experiment a new code was developed in Object Pascal language (Borland's Delphi 7.0) and Microsoft Windows platform with VSG8 hardware/software interface. Hardware (PC, graphic board, and monitor) and stimulus arrangement were the same used in Experiment 1. The luminance of the circles composing the stimulus was randomly set at any value between 7 cd/m<sup>2</sup> and 15 cd/m<sup>2</sup>.

The Trivector test was performed binocularly in a darkened room. For adults the tests were exactly as described in Experiment 1. Children were placed 0.5 m from the monitor (a viewing distance at which the color patches subtended about 78 of visual angle) and were required to touch the color target. Response time was increased to 9 s. When a response was performed, the experimenter pressed the corresponding button on the response box, which produced the same changes in target chromaticity described in Experiment 1. The monitor screen was cleaned before each session.

Operant training techniques were employed for establishing and maintaining the subjects' performance. For the initial training condition, target chromaticities were defined along three axes arbitrarily chosen in vectors outside the confusion lines. The minimum excursion for each axis was defined at  $100 \times 10^{-4} uv'$ , a point at which the target was still recognizable for most children. The child was asked to touch the colored target, with the experimenter eventually providing verbal prompts (e.g., "Up there. See?") or physical prompts (touching the target for the child to see or guiding his/her hand). Correct responses were followed by positive reinforcement, consisting of a praise word (e.g., "Good)") and a token, which would be exchanged for a reward at the end of the test.

The criterion for terminating the training session was three consecutive correct responses at the minimum excursion value for each axis. In the subsequent test session the target chromaticities

Goulart et al.



Fig. 2. Results of the comparisons between measurements made with CCT and Prototype version (panels A, C, and E) against results of the same analysis of two individual measurements made with CCT (panels B, D, and F). The CCT and Prototype versions showed similar sensitivity and the same intra-subject flutuation for multiple measurements (see text for details). Data are in  $10^{-4}$  u v units of the 1976 CIE diagram.

were again defined along the characteristic protan, deutan, and tritan color confusion lines and the session proceeded as described for Experiment 1.

#### Results and discussion

Color discrimination thresholds were obtained in u v units of the CIE 1976 color diagram, for protan, deutan, and tritan axes, respectively. For robustness in data analysis, children were initially divided into two main groups (2–4 years; 5–7 years), each consisting of approximately the same number of subjects (Fig. 3). For the sake of comparison, the thresholds of 37 children (20 females) aged 7–11 years (mean =  $7.99 \pm 1.26$ ) of an earlier application of the CCT (Ventura et al., 2002*a*), and of 75 adults (37 females) aged 18–30 years (mean:  $22.16 \pm 2.81$  years) of the Ventura et al.

(2003a) work are presented. The same data are also shown with greater age resolution, but with a variable number of subjects (Fig. 4). The results showed color discrimination thresholds get- ting progressively lower as age increased, a tendency also evident in the analysis based on alternative age groupings, despite the small number of subjects contributing to the averages.

The discrimination was better at earlier ages than would be expected from the CCT results obtained with children aged 7–11 years (Fig. 3). Given that Experiment 1 demonstrated the validity of the alternative stimulus display used in the present study, showing that adults have similar results in CCT and prototype tests, it seems that the color discrimination thresholds of the 7–11 year-olds were probably underestimated due to greater difficulty with the task in the CCT: not only the stimulus arrangement was counterintuitive, the children did not receive the same kind of



**Fig. 3.** Averaged and standard deviation (error bars of the thresholds obtained with the child-friendly test for three age groups against data produced independently for the other two populations). Both tests show a decrease in the threshold with the age measured for the three color confusion axes. In both tests the tritan threshold is higher than the protan and deutan thresholds (Ventura et al., 2002*a*, 2003*b*).

ostensive training provided in the present study. This age group is currently being examined with the child-friendly test.

Consistent with the observation in Experiment 1, the childfriendly version produced substantially lower tritan thresholds relative to the CCT norms. This finding is further discussed below.

#### **General discussion**

There was one conspicuous difference between the results obtained with the new target and those of the original test: tritan thresholds were lower when compared with the CCT normative data for the



**Fig. 4.** The same data presented in left panel of the Fig. 3 plotted for alternative age groupings. The evident development in this function shows that at the age of 7 years the thresholds are higher than those obtained for the adults.

same age group. Although not statistically significant, the mean difference between tritan thresholds in the "CCT versus Prototype" comparison was considerably higher than the mean difference in the "CCT versus CCT" comparison (8.93 against 0.69) in Experiment 1. Such bias might be related to the spatial variations in the pre- receptoral filtering of short-wavelength (SW) light promoted by macular pigmentation in the central retina. T he higher density of macular pigmentation occurs in the central 1-28 of the fovea. Pigment density decreases with retinal eccentricity, promoting increased sensitivity to shorter wavelengths toward the peripheral retina. Since the luminous efficiency function,  $V_1$ , will be different in different retinal locations (e.g., Davies & Morland, 2004; Smithson et al., 2003) spatial variations in macular pigment density "can cause problems if spectral responses need to be compared at different retinal locations within a subject" (Davies & Morland, 2004, p. 539). This is precisely the case in the comparisons reported here between tritan thresholds obtained with stimuli having different spatial properties and demanding different patterns of looking behavior from the observer.

The perception of SW stimuli is also known to be influenced by the spectrally selective absorption of the lens, whose density increases linearly as a function of age (Pokorny et al., 1987). However, since the tritan thresholds obtained with the alternative stimulus arrangement were lower in the adults as well as in the children, it seems that differences in the spectral filtering of the lens can be ruled out as a major source of variation in the present study. Nevertheless, whatever its origin, the bias will have to be taken into account if future studies eventually seek to compare data obtained both with the traditional Landolt C and the alternative stimulus.

In spite of these differences, the present study clearly demonstrated that given some special conditions the Mollon-Reffin test is fit for assessment of color discrimination in young children. The use of a more intuitive stimulus display as well as the introduction of a training condition designed to provide the child with the repertoire needed for consistent performance in the test make the Mollon-Reffin test a useful tool for the study of color vision during development. The same stimulus display and training protocol could also be employed for assessing the color discrimination of verbally impaired individuals, as well as of non-human animals.

The suggestion of a continuous, gradual improvement in color discrimination between 2 and 7 years observed in Experiment 2 is consistent with the findings of Knoblauch et al. (2001), in a thoroughly executed study that also used a computer-controlled test to access hue discrimination across the life span. Using random luminance noise with temporal as well as spatial modula- tion, and a test stimulus composed of a set of three bars subtending a spatial frequency of 0.43 cpd (a variation of the stimulus developed by Barbur et al., 1993), their test evaluated discrimina- tion along the protan, deutan, and tritan confusion lines with 172 subjects ranging in age from 3 months to 86 years, showing a marked decrease of thresholds until adolescence, followed by a more modest increase starting around 16 years.

The child-friendly test adopted in the present study is already being used in ongoing investigations of the development of color discrimination in infants younger than 2 years old and in subjects between 7 and 18 years old, which will guarantee a more complete comparison with the findings of Knoblauch et al. (2001). Given the proven applicability of the CCT as a rapid, reliable, and noninvasive means of detecting color vision de- fects in early stages of several diseases (Simunovic et al., 1998; Regan et al., 1998; Ventura et al., 2002b, 2003a, 2004, 2005, 2007; Castelo-Branco et al., 2004; Silva et al., 2005; Costa et al., 2007), the establishment of normal limits of hue discrim- ination for infants and children will make it possible to expand the study of color vision to several ophthalmological and neuro- logical pathologies at earlier ages.

#### Acknowledgments

This research was supported by grants to DFV from FAPESP Projeto Temático 02/12733-8, CNPq #523303095-5; and CAPES-PROCAD #0019/ 01-1. PRKG had a CNPq doctoral fellowship; MLB and DT had CNPq undergraduate fellowships and NNO had a FAPESP TT5 fellowship. DFV is a CNPq 1A Research Fellow. We thank José de Oliveira Gil (IEE/USP) for the calibration of the stimuli and Augusto Paranhos, Jr. (Federal University of São Paulo) for statistical advice. We are also grateful to Hannah Smithson for important insights for the interpretation of our results.

#### References

- BARBUR, J.L., BIRCH, J. & HARLOW, A.J. (1993). Colour vision testing using spatiotemporal luminance masking. In *Colour Vision Deficiencies XI*, ed. Drum, B., pp. 417–426. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- BLAND, J.M. & ALTMAN, D.G. (1987). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Biochimica Clinica* 11, 399–404.
- BLAND, J.M. & ALTMAN, D.G. (1999). Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research* 8, 135– 160.
- CASTELO-BRANCO, M., FARIA, P., FORJAZ, V., KOZAK, L.R. & AZEVEDO, H. (2004). Simultaneous comparison of relative damage to chromatic pathways in ocular hypertension and glaucoma: Correlation with clinical measures. *Ophthalomology and Visual Science* 45, 499–505.
- COSTA, M.F., OLIVEIRA, A.G.F., FEITOSA-SANTANA, C., ZATZ, M. & VENTURA, D.F. (2007). Red-green color vision impairment in Du- chenne muscular dystrophy. *American Journal of Human Genetics* 80, 1064– 1075.

- COSTA, M.F., VENTURA, D.F., PERAZZOLO, F., MURAKOSHI, M. & SIL-VEIRA, L.C.L. (2006). Absence of binocular summation, eye domi- nance, and learning effects in color discrimination. *Visual Neuroscience* 23, 461– 469.
- DAVIES, N.P & MORLAND, A.B. (2004). Macular pigments: Their characteristics and putative role. *Progress in Retinal and Eye Research* 23, 533–559.
- KNOBLAUCH, K., VITAL-DURAND, F. & BARBUR, J.L. (2001). Variation of chromatic sensitivity across the life span. *Vision Research* 41, 23– 36.
- MANCUSO, K., NEITZ, M. & NEITZ, J. (2006). An adaptation of the Cambridge Colour Test for use with animals. *Visual Neuroscience* 23, 695–701.
- MOLLON, J.D. & REFFIN, J.P. (1989). A computer-controlled colour vision test that combines the principles of Chibret and Stilling. *Journal of Physiology* **414**, 5P.
- MOLLON, J.D. & REGAN, J.P. (2000). Handbook of the Cambridge Colour Test. London, UK: Cambridge Research Systems (www.crsltd.com).
- POKORNY, J., SMITH, V.C. & LUTZE, M. (1987). Aging of the human lens. *Applied Optics* **26**, 1437–1440.
- REGAN, B.C., FREUDENTHALER, N., KOLLE, R., MOLLON, J.D. & PAULUS,
  W. (1998). Colour discrimination thresholds in Parkinson's disease:
  Results obtained with a rapid computer-controlled colour vision test.
  Vision Research 38, 3427–3431.
- SILVA, M.F., FARIA, P., REGATEIRO, F.S., FORJAZ, V., JANUÁRIO, C., FREIRE, A. & CASTELO-BRANCO, M. (2005). Independent patterns of damage within magno-, parvo- and koniocellular pathways in Parkinson's disease. *Brain* 128, 2260–2271.
- SIMUNOVIC, M.P., VOTRUBA, M., REGAN, B.C. & MOLLON, J.D. (1998). Colour discrimination ellipses in patients with dominant optic atrophy. *Vision Research* 38, 3413–3419.
- SMITHSON, H.E., SUMNER, P. & MOLLON, J.D. (2003). How to find a tritan line. In Normal and Defective Colour Vision, ed. Mollon, J.D., Pokorny, J. & Knoblauch, K., pp. 327–334. Oxford, UK: Oxford University Press.
- VENTURA, D.F., COSTA, M.F., GUALTIERI, M., NISHI, M., BERNICKI, M., BONCI, D. & SOUZA, J.M. (2003a). Early vision loss in diabetic patients assessed by the Cambridge Colour Test. In *Normal and Defective Colour Vision*, ed. Mollon, J.D., Pokorny, J. & Knoblauch, K., pp. 391–399. Oxford, England: Oxford University Press.
- VENTURA, D.F., COSTA, M.T.V., COSTA, M.F., BEREZOVSKY, A., SALOMAO, S.R., SIMÕES, A.L., LAGO, M., PEREIRA, L.H.M.C., SOUZA, J.M. & SILVEIRA, L.C.L. (2004). Multifocal and full-field electroretinogram changes associated with color vision loss in mercury vapor exposure. *Visual Neuroscience* 21, 421–429.
- VENTURA, D.F., GUALTIERI, M., OLIVEIRA, A.G.F., COSTA, M.F., QUIROS, P., SADUN, F., DE NEGRI, A.M., SALOMAO, S.R., BEREZOVSKY, A., SHERMAN, J., SADUN, A.A. & CARELLI, V. (2007). Male prevalence of acquired color vision defects in asymptomatic carriers of Leber's hereditary optic neuropathy. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 48, 2362–2370.
- VENTURA, D.F., RODRIGUES, A.R., MOURA, A.A., VARGAS, A.C., COSTA, M.F., DE SOUZA, J.M. & SILVEIRA, L.L. (2002a). Color discrimination measured by the Cambridge Colour Vision Test (CCVT) in children and adults. *Investigative Ophthalmology & Vision Science* 43, E-Abstract 3796.
- VENTURA, D.F., SILVEIRA, L.C.L., NISHI, M., COSTA, M.F., GUALTIERI, M., SANTOS, R.M.A., PINTO, C.T., MOURA, A.L.A., RODRIGUES, A.R., SAKURADA, C., SAUMA, M.F.L.C. & SOUZA, J.M. (2002b). Color vision loss in patients treated with chloroquine. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia* 66, 09–15.
- VENTURA, D.F., SILVEIRA, L.C.L, RODRIGUES, A.R., GUALTIERI, M., SOUZA, J.M., BONCI, D. & COSTA, M.F. (2003b). Preliminary norms for the Cambridge Colour Test. In Normal and Defective Colour Vision, ed. Mollon, J.D., Pokorny, J. & Knoblauch, K., pp. 327–334. Oxford, UK: Oxford University Press.
- VENTURA, D.F., SIMÕES, A.L., TOMAZ, S., COSTA, M.F., LAGO, M., COSTA, M.T.V., PEREIRA, L.H.M.C., SOUZA, J.M., FARIA, M.A.M. & SILVEIRA, L.C.L. (2005). Color vision and contrast sensitivity losses of mercury intoxicated industry workers in Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 19, 523–529.

Goulart et al.

# ANEXO B

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (CRIANÇAS)

# Estudo da Visão de Cores

**Pesquisadores**: Paulo Roney Kilpp Goulart, Marcio Leitão Bandeira, Dr. Marcelo F. Costa, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Dora F. Ventura.

Estamos testando um programa de computador projetado para medir a visão de cores de bebês e crianças. Trata-se de uma versão adaptada de um teste feito na Inglaterra, o Cambridge Colour Test, que é muito mais preciso e mais fácil de aplicar que outros testes disponíveis. Neste teste, um alvo colorido aparece na tela do computador e a cor do alvo vai sendo mudada até o ponto em que o alvo não pode ser diferenciado do fundo. Esse ponto varia de uma pessoa para outra. As crianças com mais de 2 anos de idade deverão tocar no alvo quando ele for visível e receberão uma recompensa para cada acerto. No caso de bebês, o experimentador registrará a direção para a qual a criança olhará na tela do computador. A testagem dura cerca de 45 minutos.

- Os testes não são invasivos e não oferecem qualquer risco.
- Os resultados serão sigilosos e o nome dos voluntários não será divulgado.
- Caso haja interesse por parte dos pais, será fornecido um relato detalhado acerca do teste e dos resultados obtidos nele.
- Os pais ou responsáveis, assim como a criança, poderão esclarecer suas dúvidas sobre qualquer aspecto deste estudo bem como desistir a qualquer momento que desejarem. A participação no estudo é totalmente voluntária.

Como mãe/pai ou responsável, sua assinatura neste termo de consentimento, após ter lido a informação descrita acima, indica que você autoriza a participação da criança ...... neste estudo e permite a utilização dos resultados para pesquisa.

Assinatura do Responsável	Data	Assinatura do pesquisador	
Nome do Voluntário/a			
Nome do Responsável (grau)			
Documento de identidade Nº		_ Data de nascimento	//
Endereço		N°	Apto
Bairro	Cidade		
CEP	Telefone_		

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (ADULTOS)

# Estudo Psicofísico da Visão de Cores

**Pesquisadores**: Paulo Roney Kilpp Goulart, Marcio Leitão Bandeira, Dr. Marcelo F. Costa, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Dora F. Ventura.

Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo que tem como objetivo comparar duas versões de um teste computadorizado de visão de cores. As cores serão apresentadas num monitor de computador e você será solicitado(a) a indicar se as enxerga. Você realizará seis blocos de teste, três com cada versão do teste. A avaliação leva aproximadamente 45 minutos e poderá ser realizada em múltiplas sessões. Depois dos testes, você terá conhecimento sobre sua visão de cores. Os testes não são invasivos e não oferecem qualquer risco.

Você pode esclarecer suas dúvidas sobre qualquer aspecto deste estudo bem como desistir a qualquer momento que desejar. A participação no exame é totalmente voluntária.

Sua assinatura neste termo de consentimento, após ter lido a informação descrita acima (ou alguém ter lido para você), indica que você concorda em realizar os teste e permite a utilização dos resultados para pesquisa.

Assinatura do Responsável	Data	Assinatura do pesquisador	
Nome do Participante			
Nome do Responsável (grau)			
Documento de identidade Nº		Data de nascimento	//
Endereço		N°	Apto
Bairro	Cidade		
CEP	Telefone		