

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**

**Diversidade do repertório eletrocomunicativo de
Microsternarchus cf. bilineatus Fernández – Yépez,
1968 (Pisces: Gymnotiformes) durante a maturação
sexual em cativeiro**

ADÍLIA NOGUEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva.

MANAUS-AM
2006

**MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA – MCT
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA**

**Caracterização e análise do repertório
eletrocomunicativo de *Microsternarchus* cf.
bilineatus Fernández – Yépez, 1968 (Pisces:
Gymnotiformes) durante a maturação sexual em
cativeiro**

ADÍLIA NOGUEIRA

ORIENTADOR: Dr. José A. Alves Gomes

CO-ORIENTADOR: Dr. Jansen Zuanon

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva.

MANAUS-AM
2006

N778 Nogueira, Adília P. R.
Caracterização e análise do repertório eletrocomunicativo de *Microsternarchus* cf. *bilineatus* Fernández-Yépez, 1968 (Pisces: Gymnotiformes) durante a maturação sexual em cativeiro / Adília Nogueira – 2006.
80 f. il.
Dissertação (mestrado) – INPA/UFAM.
1. Gymnotiformes 2. Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial 3. Peixe Elétrico - Comportamento 4. Peixe Elétrico – Maturação Sexual 5. Eletrocomunicação
CDD19/ed. (*) 597.50438

Sinopse: Estudo da evolução da eletrocomunicação exibida por um grupo de indivíduos de *Microsternarchus* cf. *bilineatus* Fernández-Yépez, 1968, através da análise dos parâmetros comportamentais e modulações elétricas produzidos durante a maturação sexual, de forma a relacionar a diversidade dos padrões comportamentais obtidos com os aspectos evolutivos conhecidos do Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial da ordem Gymnotiformes

Palavras-chave: peixes elétricos de água doce, *Microsternarchus* cf. *bilineatus*, Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial, estudo do comportamento reprodutivo, modulações elétricas, parâmetros motores, evolução da eletrocomunicação em Gymnotiformes.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista das características analisadas para a identificação dos 17 indivíduos iniciais escolhidos para o grupo experimental inicial..... 45

Tabela 2. Unidades comportamentais definidas para o comportamento locomotor observado durante a fase experimental..... 50

Tabela 3. Valores médios da taxa de descarga para 12 indivíduos sobreviventes do grupo experimental obtidos num período de 24 horas; de 12 horas diurnas (06:30-18:15h); de 12 horas noturnas (18:30-06:15h) 52

Tabela 4. Valores relativos em percentagem da amplitude da fase I, II e III, em relação aos valores de amplitude pico-a-pico, durante a fase diurna e a fase noturna..... 53

Tabela 5. Valores relativos em percentagem da duração da fase I, II e III, em relação à duração total do pulso, durante a fase diurna e a fase noturna..... 55

Tabela 6. Valores médios da taxa de descarga e respectivos desvios padrão, analisados durante a noite, para cinco fêmeas e dois machos..... 63

Tabela 7. Frequências médias de cada indivíduo durante as três horas de observação de cada par..... 68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática da hipótese filogenética da ordem Gymnotiformes proposta por Alves Gomes (1995) com caracteres moleculares, morfológicos e eletrofisiológicos, retirada de Alves-Gomes (1995) 11
- Figura 2.** Ilustração adaptada de <http://animaldiversity.ummz.edu>, de *Electrophorus electricus* Linnaeus..... 12
- Figura 3.** Exemplos do formato da onda da DOE adaptado de Alves-Gomes (1995). Na esquerda pulso de *Brachyhypopomus*, na direita descarga de *Apteronotus*..... 14
- Figura 4.** Exemplos de DOE monofásica (*Electrophorus electricus*), DOE bifásica (*Brachyhypopomus beebei*) e DOE multifásica (*Hypopygus lepturus*), adaptado de Hopkins (1988) 15
- Figura 5.** Esquema do mecanismo neurológico de agressividade e cortejo de machos do gênero *Brachyhypopomus* (interrupções; acelerações; diminuições e “chirps”), adaptado de Hopkins (1995) 17
- Figura 6 A e B.** Exemplos de registros de diferentes modulações da DOE de Gymnotiformes: a) “bursts”; b) diminuição e acelerações da frequência; c) interrupções; d) “chirps”, adaptado de Kawasaki & Heiligenberg (1989) 18
- Figura 7.** Representação esquemática da fisiologia dos dois tipos principais de eletroreceptores. Eletroreceptores tuberosos (a) e eletroreceptores ampulários (b), adaptado de Heiligenberg (1993) 20
- Figura 8.** Exemplo de exibição de comportamento locomotor e elétrico de cortejo em *Eigenmannia lineata*, adaptado de Moller (1995) e *Brachyhypopomus pinnicaudatus* adaptado de Chaval (2003)..... 25
- Figura 9.** Exemplo da presença de dimorfismo sexual na forma de onda da DOE de *Microsternarchus bilineatus*. Registros da DOE de uma fêmea à esquerda e da DOE de um macho à direita, retirados de Sullivan (1997).....28
- Figura 10.** Imagem de satélite da área do médio e baixo rio Negro (AM). Local de coleta assinalado a amarelo..... 33
- Figura 11.** Exemplo da ficha de identificação elaborada para o grupo experimental. Sexto indivíduo da lista de identificação..... 34
- Figura 12.** Representação esquemática do local experimental..... 35
- Figura 13.** Foto do aquário III (143 Litros), onde foi efetuada a indução da maturação sexual 36

Figura 14. Aquário III (143 Litros), pormenor da simulação do substrato natural e esconderijos encontrados nos habitats destes organismos.....	37
Figura 15. Esquema representativo do aquário I (13 Litros), utilizado nas gravações individuais circadianas, modificado de Moll (2001).....	37
Figura 16. Foto do aquário II (53 Litros), onde foi efetuada a obtenção de dados para a caracterização da DOE durante a maturação sexual.....	39
Figura 17. Esquema da classificação de unidades comportamentais segundo Delgado & Delgado (1962) <i>In</i> Lenher (1996)	40
Figura 18. Esquema representativo das medições efetuadas durante a análise da forma de onda.....	42
Figura 19. Fotos representativas das unidades comportamentais definidas para os pares analisados durante este trabalho.....	50
Figura 20. Gráfico da variação circadiana da freqüência relativa de <i>Microsternarchus cf. bilineatus</i> , ao longo de 24 horas, utilizando a média da taxa de descarga obtida para os 12 indivíduos amostrados em intervalos de 15 minutos.....	55
Figura 21. Distribuição ao longo de 24 horas das taxas de descarga percentuais médias, para cada hora, obtidas para os 12 indivíduos amostrados, em que as linhas concêntricas representam a freqüência em percentagem, em intervalos de 20%.....	56
Figura 22. Distribuição do desvio padrão médio das freqüências de <i>Microsternarchus cf. bilineatus</i> , ao longo de 24 horas.....	57
Figura 23 A e B. Gráficos da amplitude e duração relativa da fase I, II e III de <i>Microsternarchus cf. bilineatus</i>	57
Figura 24. Gráfico da razão entre as amplitudes relativas e as durações relativas das fases I, II e III de <i>Microsternarchus cf. bilineatus</i>	58
Figura 25 A, B e C. Variação da condutividade, pH e coluna de água ao longo da fase da maturação sexual.....	59
Figura 26. Fotos de uma fêmea ovada pertencente ao grupo experimental e de dois de seus ovos com escala em milímetros.....	60
Figura 27 A e B. Gráficos da amplitude média relativa das fases I, II e III antes da maturação sexual (n=12) e depois da maturação sexual (n=7).....	60
Figura 28 A e B. Gráficos da duração média relativa das fases I, II e III antes da maturação sexual (n=12) e depois da maturação sexual (n=7).....	61

Figura 29 A e B. Amplitude e duração relativas das fases I, II e III de machos e fêmeas depois da maturação sexual.....	61
Figura 30. Gráfico da razão entre as amplitudes e as durações das fases I, II e III depois da maturação sexual.....	62
Figura 31. Gráfico da variação da frequência em Hz do par amostrado antes da indução da maturação sexual, ao longo de três horas de observação direta....	64
Figura 32. Gráfico da variação da frequência em Hz do par amostrado após a indução da maturação sexual, constituído por um casal, ao longo de três horas de observação direta.....	65
Figura 33. Gráfico da variação da frequência em Hz do par amostrado após a indução da maturação sexual, constituído por duas fêmeas, ao longo de três horas de observação direta.....	66
Figura 34 A e B. Gráficos das frequências relativas obtidas para os oito pares observados durante 10 segundos, para a unidade comportamental de forrageio e de natação.....	68
Figura 35 A, B e C. Gráficos das frequências relativas obtidas para três pares observados durante 20 segundos, para as unidades comportamentais de aproximação, perseguição e afastamento.....	69

RESUMO

Os peixes elétricos de água doce possuem um sistema sensorial e motor, designado por Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial, que está associado à detecção e geração de campos elétricos. Os Gymnotiformes da América Central e do Sul possuem órgãos elétricos especializados e eletroreceptores utilizados na localização ativa de objetos e organismos e na interação social inter e intraespecífica. O conhecimento da diversidade da eletrocomunicação tem mostrado ser um excelente modelo para o estudo da origem e do significado adaptativo do comportamento e da comunicação animal: a variação de algumas propriedades físicas relativas ao formato da onda e dos padrões temporais da DOE parecem ser fundamentais para a exibição de comportamentos agonísticos e reprodutivos. Este trabalho teve como objetivo principal caracterizar a diversidade de manifestações eletrocomunicativas durante a maturação sexual de *Microsternarchus* cf. *bilineatus*. Assim, com os resultados obtidos foi possível caracterizar a descarga de *Microsternarchus* cf. *bilineatus*, como sendo tipo pulso; trifásica; com uma taxa de repetição que variou entre 146Hz e 34Hz, e com ciclo circadiano bem definido. Foi possível estabelecer dimorfismo sexual para o grupo estudado na taxa de repetição (superior nos machos) e na forma de onda (amplitude relativa da fase III e duração relativa da fase I superior nas fêmeas). Finalmente, foram identificados e descritos comportamentos de defesa de território e dominância associados a taxas de repetição mais elevadas. Com estes resultados foi possível concluir que as modulações características do repertório eletrocomunicativo de *Microsternarchus* cf. *bilineatus* podem ser encontradas, principalmente, na análise da forma de onda.

ABSTRACT

The electric fishes possess a sensorial and motor system, denominated Electrogenic and Electrosensory System, responsible for the detection and generation of electric fields. The Gymnotiforms from South and Central America possess specialized electric organs and electroreceptors used in active electrolocalization of objects and organisms and in inter and intraspecific social interaction. The knowledge of the diversity of electrocommunication has shown to be a good model for the study of the origin and adaptative meaning of behavior and communication: the variation of some physical properties related to the shape and temporal patterns of the electric organ discharge seem to be fundamental for the display of agonistic and reproductive behaviors. The main objective of this work was to characterize the diversity of electrocommunicative displays during sexual maturation of *Microsternarchus* cf. *bilineatus*. Therefore, with the obtained results it was possible to characterize the electric organ discharge of *Microsternarchus* cf. *bilineatus* as a pulse type discharge, with three distinct phases, with a frequency from 146Hz to 34Hz, and with a well defined circadian cycle. It was possible to establish sexual dimorfism in the frequency (greater in males) and in the shape of the electric organ discharge (relative amplitude of phase III and relative duration of phase I greater in females). Finally, it was possible to identify and describe defense of territory and dominance behavior's related to high frequencies. With these results we can conclude that the characteristic modulations of the electrocommunicative repertory of *Microsternarchus* cf. *bilineatus* can be found, mainly, in the analysis of the shape of the electric organ discharge.

I. INTRODUÇÃO

1.1. Peixes elétricos de água doce – Aspectos gerais

Os ambientes fluviais das regiões tropicais são dominados principalmente por peixes pertencentes à Superordem Ostariophysi. Dentro desta, mais de 75% das espécies conhecidas encontram-se distribuídas pelas ordens: Characiformes, Siluriformes, Cypriniformes e Gymnotiformes, sendo que estes últimos são vulgarmente conhecidos como peixes elétricos de água doce, pelo fato de possuírem um tecido especializado, o órgão elétrico, capaz de gerar descargas elétricas (Lowe-McConnell, 1975; Kullander *et al.*, 2003).

De acordo com Moller (1995), desde a antiguidade os peixes elétricos, devido à sua capacidade de gerar corrente elétrica, exercem um certo fascínio sobre a espécie humana, especialmente espécies como a enguia elétrica *Electrophorus electricus* e *Malapterurus electricus* do Nilo, capazes de gerar descargas de centenas de volts. No entanto, a grande maioria possui descargas detectadas apenas com o auxílio de equipamentos eletrônicos. Igualmente fascinante, foi a descoberta de que estes peixes possuem um sistema sensorial e motor, que em conjunto, estão associados à detecção e geração de campos elétricos, utilizados na comunicação e interação social inter e intraespecífica (Lissmann, 1951 *In* Hopkins, 1995).

Os peixes elétricos de água doce encontram-se divididos em dois grupos principais, com histórias evolutivas distintas: os Mormyriiformes (Osteoglossomorfa) na África e os Gymnotiformes (Ostariophysi) da América do Sul, mas existem outros peixes eletrogênicos ou eletroreceptivos distribuídos por outros grupos taxonômicos (Nelson, 1994 *In* Moller, 1995; Alves-Gomes, 2001). Alves-Gomes (1999), calibrou taxas absolutas de evolução molecular para genes mitocondriais 12S e 16S de rRNA da superordem Ostariophysi e Osteoglossomorfa e estimou que os Gymnotiformes se diferenciaram entre 79 e 117 milhões de anos atrás, enquanto que os Mormyriiformes africanos surgiram entre 61 e 72 milhões de anos atrás.

Exemplares de Gymnotiformes foram encontrados em todos os sistemas fluviais Neotropicais, desde o Rio Salado na Argentina (36°S) até ao Rio San Nicolas no México (18°N), assim como em vários rios a oeste dos Andes, mas este grupo apresenta a sua maior abundância e diversidade na Bacia dos Rios Amazonas, Orinoco e Rio de la Plata (Hagedorn, 1986; Moller, 1995). Por serem capazes de tolerar uma gama elevada de valores relativos a diversos parâmetros ecológicos (condutividade, temperatura, concentração de oxigênio, pH, quantidade de nutrientes), habitam os três tipos de água existentes na Bacia Amazônica (água branca, preta e clara). Assim, estes organismos ocupam vários tipos de ambientes aquáticos, incluindo canais profundos dos rios principais, pequenos cursos de água, lagos e cachoeiras (Kramer *et al.*, 1981; Hagedorn, 1986; Marrero & Taphorn, 1991 *In* Moller, 1995; Alves-Gomes, 1997; Kullander *et al.*, 2003).

Mesmo sendo o grupo com menor número de espécies descritas na região Neotropical, os Gymnotiformes possuem mais de 120 espécies distribuídas por cinco (Albert, 2001), seis (Mago-Leccia, 1976; 1994) ou sete famílias (Alves-Gomes *et al.*, 1995). Ao tentar unir informações moleculares, morfológicas e eletrofisiológicas, Alves-Gomes *et al.* (1995) propôs uma nova hipótese sobre as relações filogenéticas dentro da ordem Gymnotiformes, onde clados suportados por este conjunto de dados foram propostos.

Assim, atualmente, a sistemática do grupo compreende as seguintes famílias: Sternopygidae, Hypopomidae, Apterontidae (a mais diversa e mais numerosa em indivíduos e gêneros), Rhamphichthyidae, Electrophoridae, Gymnotidae e Eigenmanniidae (figura 1) e, levando em consideração os principais aspectos eletrofisiológicos, estas podem ser agrupadas em: peixes elétricos com descarga do tipo pulso e peixes elétricos com descarga do tipo onda (Mago-Leccia, 1994; Alves-Gomes, 1995; 1997).

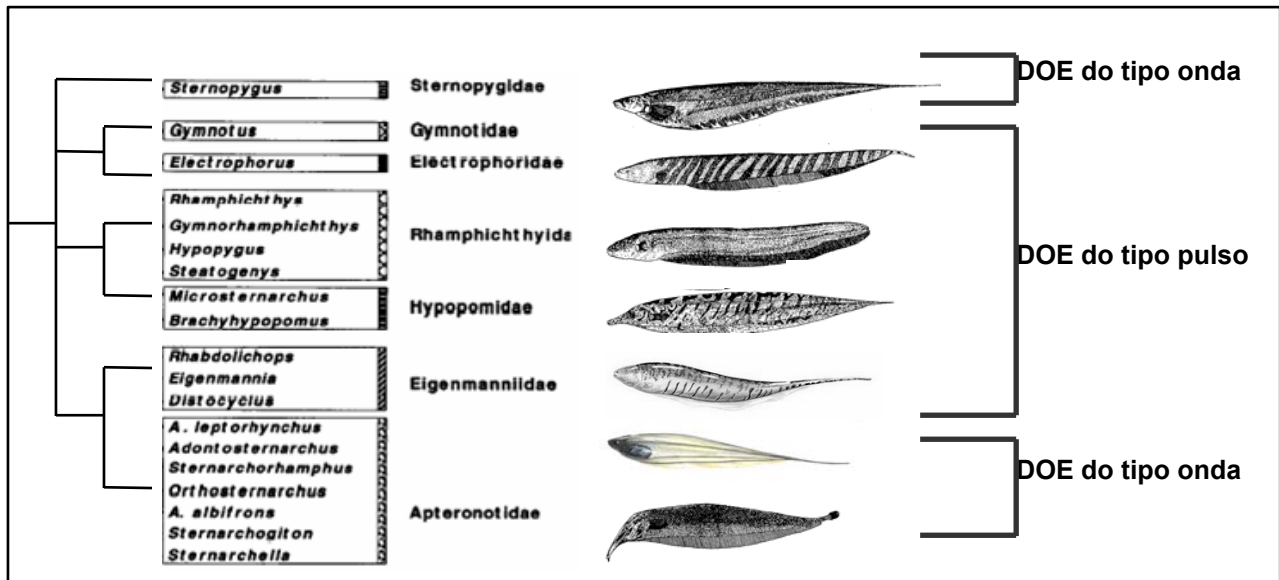


Figura 1. Representação esquemática da hipótese filogenética da ordem Gymnotiformes proposta por Alves Gomes (1995) com caracteres moleculares, morfológicos e eletrofisiológicos, retirada de Alves-Gomes (1995); Figuras retiradas de Reis *et al.* (1998).

Atualmente, sabe-se que o número de espécies é muito maior do que o proposto inicialmente por Mago-Leccia (1976), estando neste momento em fase de descrição cerca de trinta e quatro espécies novas (Crampton & Albert, 2005).

Os Gymnotiformes compõem uma parte importante da ictiofauna noturna dos ecossistemas sul-americanos Neotropicais e possuem a capacidade única entre os vertebrados de regenerar as porções terminais do corpo (Marrero & Taphorn, 1991 *In* Moller, 1995). De acordo com Albert & Campos-da-Paz (1998), são organismos peculiares e facilmente identificáveis, pois toda a sua morfologia está intimamente ligada a uma natação através de movimentos ondulatórios da longa nadadeira anal, que combinada com outras características lhes dão a aparência de faca, daí o nome vulgar em inglês de “knifefish” (figura 2). O corpo é cilíndrico ou comprimido lateralmente e não apresentam nadadeiras pélvicas nem nadadeira dorsal. A morfologia variável da cabeça é outra característica marcante, que aparentemente reflete adaptações a diferentes formas de alimentação (Hagedorn, 1986; Albert, 2001). Parecem ser na sua maioria carnívoros, com uma dieta baseada em larvas de invertebrados, pequenos insetos e pequenos peixes, buscando alimento ao redor das folhas de plantas aquáticas, raízes de plantas flutuantes ou no lodo (Hagedorn, 1986; Alves-Gomes, 1997).



Figura 2. Ilustração adaptada de <http://animaldiversity.ummz.edu>, de *Electrophorus electricus* Linnaeus, 1766.

1.2. Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial de Gymnotiformes

A comunicação entre peixes por meio de descargas elétricas requer um conjunto de adaptações especiais, incluindo células eletroreceptoras e eletrogênicas. Apesar dos benefícios óbvios de possuir estes dois sistemas, a eletrogênese e a eletrorecepção nem sempre ocorrem em simultâneo em peixes (Bullock, 1969). Existem vários peixes eletroreceptivos que não são capazes de produzir eletricidade e existe pelo menos um exemplo de um teleósteo eletrogênico que não possui nenhuma capacidade eletroreceptiva evidente (Alves-Gomes, 2001).

Os Gymnotiformes possuem órgãos elétricos especializados e eletroreceptores para a produção e recepção de correntes elétricas respectivamente, cujo funcionamento em conjunto resulta num sistema motor e sensorial complexo, utilizado para a localização ativa de objetos e organismos e para interações sociais, como o reconhecimento específico e sexual; exibição no período reprodutivo; territorialidade; acasalamento; agressividade e alarme (Bass, 1986; Carr & Maler, 1986).

Alves-Gomes (1999), ressaltou que estes dois sistemas bioeletrofisiológicos representam histórias evolutivas distintas e utilizou o termo “Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial” (SEE) para designar a sua atividade coordenada. O funcionamento do SEE como uma unidade funcional consiste na transmissão de sinais elétricos gerados por órgãos especializados (órgão elétrico) desde o sinalizador para o receptor (eletroreceptores), sob a forma de

campos eletromagnéticos, gerando padrões tridimensionais de corrente elétrica captados pelos eletroreceptores e decodificados em níveis hierárquicos mais elevados no sistema nervoso central (Hopkins, 1972, 1999; Alves-Gomes, 2001).

1.2.1. Bioeletrogênese

Na história evolutiva dos vertebrados, a eletrogênese surgiu inicialmente nos peixes cartilaginosos, tendo sido a sua presença identificada em três gêneros de raias: *Torpedo* Houttuyn; *Narcine* Henle; *Raja* Linnaeus, só mais tarde aparecendo em vários grupos de teleósteos. Apesar da sua origem bastante antiga, o aparecimento da eletrogênese é mais recente do que o aparecimento da eletrorecepção em peixes (Alves-Gomes, 2001).

Dentro da linhagem evolutiva dos teleósteos, o órgão elétrico surgiu pelo menos oito vezes de forma independente e, dessas, cinco teriam ocorrido dentro da superordem Ostariophysi. Julga-se que esta evolução em várias linhagens de peixes deva refletir, pelo menos, os benefícios da bioeletrogênese nos organismos aquáticos, especialmente se a capacidade eletroreceptiva estiver também presente (Alves-Gomes, 2001). A fisiologia e anatomia do órgão elétrico são responsáveis pelo formato da onda produzida pela descarga do órgão elétrico (DOE) e uma vasta cadeia de comandos nervosos cerebrais e medulares controlam o número de descargas ao longo do tempo, produzindo padrões voluntários de descarga que constituem um vasto repertório de sinais utilizados por estas espécies em diversas atividades (Hopkins, 1988; 1995; 1999).

A maioria das espécies de Gymnotiformes produz um sinal de fraca intensidade, que é gerado por um órgão elétrico formado por uma agregação de tecidos especializados que é composta por células denominadas de eletrócitos (Moller, 1995). Nos casos estudados, o desenvolvimento embrionário destas células indica uma origem muscular (órgãos elétricos miogênicos), mas na família Apterontidae os eletrócitos derivaram de células

neurais (órgãos elétricos neurogênicos). Os órgãos miogênicos são capazes de produzir descargas de voltagem superior de que os órgãos neurogênicos, mas estes últimos possuem a vantagem de atingir frequências mais elevadas devido à capacidade dos neurônios de descarregar em taxas mais altas do que as células musculares (Bennett, 1971; Bullock, 1969; Bass, 1986).

Os princípios fisiológicos subjacentes ao funcionamento do órgão elétrico são bastante similares em todos os teleósteos: as membranas excitáveis dos eletrócitos geram um potencial de ação derivado de excitação coligénica proveniente dos neurônios motores da medula espinal. Assim, a forma da onda da DOE torna-se específica devido à interação complexa entre os padrões de inervação, a distribuição dos canais iônicos pelos eletrócitos, o número de membranas excitáveis por célula, o número e a disposição dos eletrócitos no órgão elétrico e a presença ou ausência de órgãos elétricos acessórios (Bass, 1986; Dye, 1986).

Com base no formato da onda da DOE, todos os peixes elétricos podem ser classificados como peixes pulsadores, que produzem uma descarga curta semelhante a um pulso, com intervalos entre descargas relativamente longos e irregulares, ou como peixes onduladores, quando a duração da descarga é maior ou do mesmo tamanho do que o intervalo entre descargas consecutivas (figura 3).

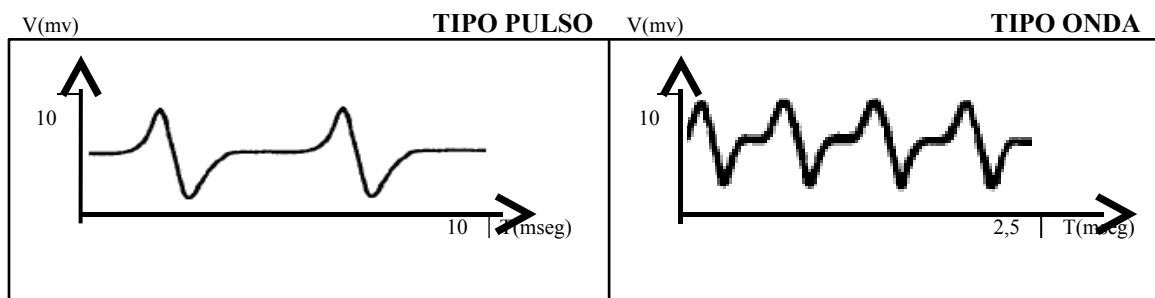


Figura 3. Exemplos do formato da onda da DOE adaptado de Alves-Gomes (1995). Na esquerda, pulso de *Brachyhypopomus*, na direita, descarga de *Apteronotus*.

Nos teleósteos, as descargas tipo onda surgiram três vezes, mas as evidências estudadas por Alves-Gomes (1995) e Sullivan (1997) mostram que a transformação da descarga elétrica do tipo pulso em tipo onda ocorreu duas

vezes e de forma independente nos Gymnotiformes: primeiro no gênero *Sternopygus* e mais tarde no ancestral comum de *Eigenmannia* e Apterontidae.

Dependendo da espécie, um peixe com descarga do tipo pulso pode disparar o seu órgão elétrico desde poucas vezes até mais de 100 vezes por segundo, ou seja, possuem uma considerável plasticidade em variar os padrões temporais da DOE. Enquanto que, os peixes com DOE do tipo onda não alteram significativamente a sua taxa de descarga obtendo as informações que necessitam através de uma taxa mais constante e elevada (Hopkins & Heiligenberg, 1978). Em especial, os Gymnotiformes mostram uma alta variabilidade quanto à forma de onda, sendo possível de encontrar espécies com DOEs monofásicas, bifásicas ou ainda mais complexas (figura 4), compostas por 3 ou 4 fases quando estão presentes órgãos elétricos acessórios (Bullock, 1969; Hopkins, 1988; 1999).


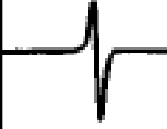

	<p>DOE MONOFÁSICA <i>Electrophorus electricus</i></p>
	<p>DOE BIFÁSICA <i>Brachyhypopomus beebei</i></p>
	<p>DOE MULTIFÁSICA <i>Hypopygus lepturus</i></p>

Figura 4. Exemplos de DOE monofásica (*Electrophorus electricus*), DOE bifásica (*Brachyhypopomus beebei*) e DOE multifásica (*Hypopygus lepturus*), adaptado de Hopkins (1988).

Além de ser espécie específica, a DOE pode apresentar variabilidade nos padrões temporais e espectrais entre machos e fêmeas da mesma espécie e até individuais, que têm sido associadas a funções comunicativas (Hopkins & Heiligenberg, 1978; Alves-Gomes, 1997; Crampton e Albert, 2005). A DOE

ainda pode apresentar modificações com alterações na composição físico-química da água (Pimentel-Souza, 1988; Pimentel-Souza e Siqueira, 1992; Thomas *et al.*, 1997; Thomas *et al.*, 1998) permitindo que estes peixes possam, ainda ser utilizados como bioindicadores da qualidade ambiental (e.g. Schwertner, 2005).

Nos Gymnotiformes, o controle dos padrões temporais de descarga é efetuado através de mecanismos neurológicos relativamente bem conhecidos (Dye & Meyer, 1986; Zakon, 1993). Na medula destes organismos foi identificado um núcleo de células (núcleo marcapasso) composto por células maiores, as células “relay”, e por células menores, as células de comando. O núcleo marcapasso das espécies tipo onda tendem a ter uma organização homogênea com estes dois tipos de células espacialmente misturadas, mas nas espécies tipo pulso estes dois tipos de células estão nitidamente separados (Bullock, 1969; Hopkins, 1988; 1995; 1999).

O funcionamento básico do mecanismo de controle dos padrões temporais da DOE é assegurado pelos ciclos de descarga regulares e intrínsecos gerados pelas células de comando no núcleo marcapasso. Estas descargas estimulam as células “relay” e estas, por sua vez, fazem com que estes impulsos cheguem ao órgão elétrico. Contudo, a atividade do núcleo marcapasso pode ser modificada por estímulos provenientes de duas fontes localizadas no cérebro: o núcleo pré-marcapasso diencefálico (PPn) e o núcleo pré-marcapasso sublemiscal (SPPn). Deste modo, o núcleo marcapasso na medula induz o órgão elétrico a produzir padrões variáveis dependentes do tipo de estímulo oriundo destes dois núcleos pré-marcapasso cerebrais (Kawasaki & Heiligenberg, 1987; 1989).

Um exemplo clássico do funcionamento desta cadeia de comandos nervosos é dado pelos machos de *Brachyhyopomus* sp. (figura 5) que, num contexto de comportamento social de agressividade ou exibição sexual, apresentam acelerações muito bruscas na frequência da DOE (“chirps”) resultantes de uma despolarização das células “relay” derivada de estímulos provenientes do núcleo pré-marcapasso PPn. No entanto, como surgem estes estímulos e quais são os seus efeitos nas interações sociais são questões ainda respondidas de forma insipiente (Hopkins, 1995).

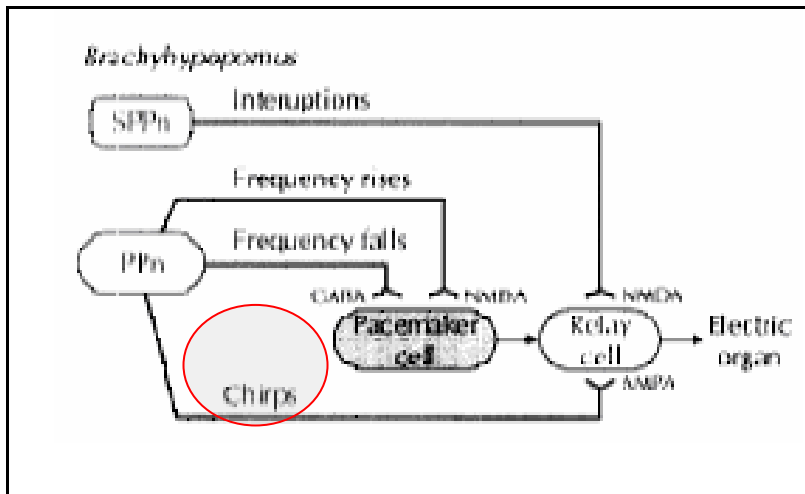


Figura 5. Esquema do mecanismo neurológico de agressividade e cortejo de machos do gênero *Brachyhyopomus* (interrupções; acelerações; diminuições e “chirps”), adaptado de Hopkins (1995) em Kawasaki & Heiligenberg (1987).

Padrões normais e modulações da DOE

A atividade elétrica produzida durante o repouso ou na ausência de interação social proporciona um padrão base com o qual é possível comparar todos os outros padrões. A sua função primeira é a eletrolocalização, mas, por exemplo, em algumas espécies com descarga do tipo onda, a frequência de repouso é usada para o reconhecimento interespecífico, sexual e até individual. Nas espécies com descarga do tipo pulso a descarga de repouso é normalmente bastante regular, apesar da presença de variação elevada a nível interespecífico, em relação aos peixes ondulares (Kramer *et al.*, 1981).

As modulações das DOEs podem ser definidas como mudanças transitórias da frequência de descarga do órgão elétrico e estão envolvidas em numerosas funções sociais. A aceleração acentuada da taxa de descarga seguida por um decréscimo até à taxa de repouso (figura 6a) é um dos exemplos mais comuns e é normalmente interpretado como um sinal de ameaça ou de atividade predatória (Hopkins, 1988). Explosões de pulsos ou “bursts” foram detectadas em *Brachyhyopomus* e *Hypopomus* durante o acasalamento (figura 6a) e os

machos de algumas espécies com descarga do tipo onda realizam “canções” de acasalamento complexas compostas por aumentos e diminuições da frequência de 50 a 150Hz (figura 6b). Foram igualmente detectadas interrupções completas na taxa de descarga de curta duração (menos de 1 segundo) ou de longa duração (mais de 1 segundo), que deixam o emissor silencioso, estando as interrupções de curta duração associadas a comportamentos de agressividade e cortejo e as interrupções de longa duração associadas a comportamentos de submissão ou alarme (figura 6c). Durante o acasalamento de muitas espécies de Gymnotiformes, na presença de fêmeas maduras, os machos geram seqüências contínuas de interrupções designadas por “chirps” (figura 6d) (Hopkins, 1988; Kawasaki & Heiligenberg, 1989; Hopkins, 1999).

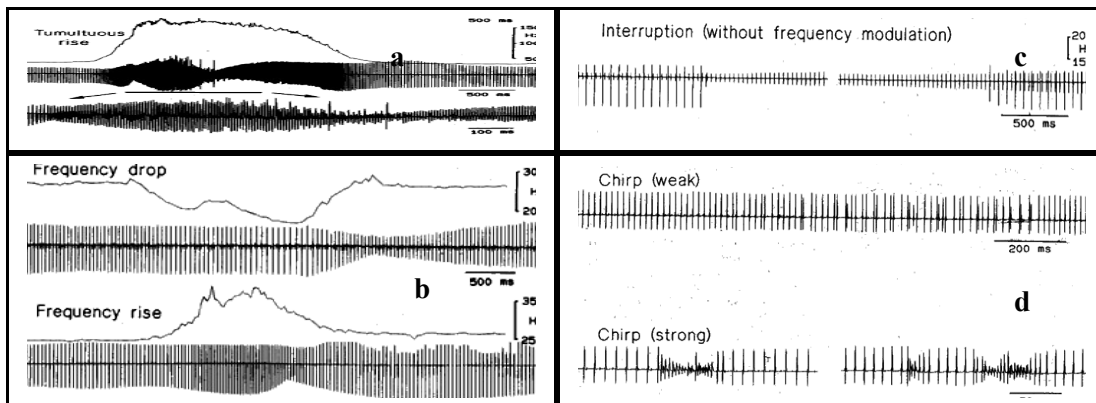


Figura 6. Exemplos de registros de diferentes modulações da DOE de Gymnotiformes: “bursts” (a), diminuição e aceleração da frequência (b); interrupções (c) e “chirps” (d), adaptado de Kawasaki & Heiligenberg (1989).

As propriedades eletrogênicas dos Gymnotiformes desempenham funções alternativas e complementares necessárias para a interpretação dos sinais elétricos inseridos num sistema direcionado para a eletrolocalização e para a comunicação. Por exemplo, durante o processo comunicativo, vários trabalhos têm mostrado que as propriedades físicas relativas ao formato da onda da DOE parecem servir para a codificação de sinais no reconhecimento específico e sexual e os padrões temporais das descargas (modulação da frequência; interrupções da descarga) têm sido associados a comportamentos de exibição

social, como defesa de território e reprodução (Hopkins, 1972; Hagedorn, 1986; Chaval, 2003).

1.2.2. Eletrorecepção

A eletrorecepção é uma modalidade sensorial ancestral na história evolutiva dos organismos vertebrados. Acredita-se que tenha surgido há mais de 500 milhões de anos e está presente em todas as linhagens ancestrais de vertebrados, incluindo os Petromyzontiformes e Condrichthyes, alguns Sarcopterygii (peixes pulmonados e alguns anfíbios) assim como alguns Actinopterygii (Alves-Gomes, 2001).

A unidade funcional do sistema eletrosensorial é conhecida como eletroreceptor e consiste em vários tipos de células especializadas responsáveis pela tradução de gradientes elétricos existentes no ambiente em potenciais de ação transportados até ao sistema nervoso central. No ambiente, campos elétricos existem não como ondas propagantes, como os sinais sonoros, mas existem como campos eletrostáticos quase estacionários (Bennett, 1971).

Recepção do sinal

Para que os sinais gerados e transmitidos pelos peixes elétricos de água doce possuam uma função comunicativa, os indivíduos receptores terão de detectar, processar e extrair informações relevantes dos sinais presentes no meio. Isso só é possível devido à existência de órgãos sensoriais especializados e responsáveis pela identificação do estímulo e que, portanto, possuem um papel fundamental para a seleção de uma resposta comportamental adequada por parte do peixe. No meio natural, os sinais elétricos também podem ser gerados por outras fontes animadas ou inanimadas, além da DOE do próprio peixe (Carr & Maler, 1986; Bullock, 1969).

Existem duas grandes classes de eletroreceptores (figura 7), de acordo com as suas características anatômicas e sensibilidade a diferentes tipos de sinais elétricos: os receptores ampulários e os receptores tuberosos (Carr & Maler, 1986; Bullock, 1969).

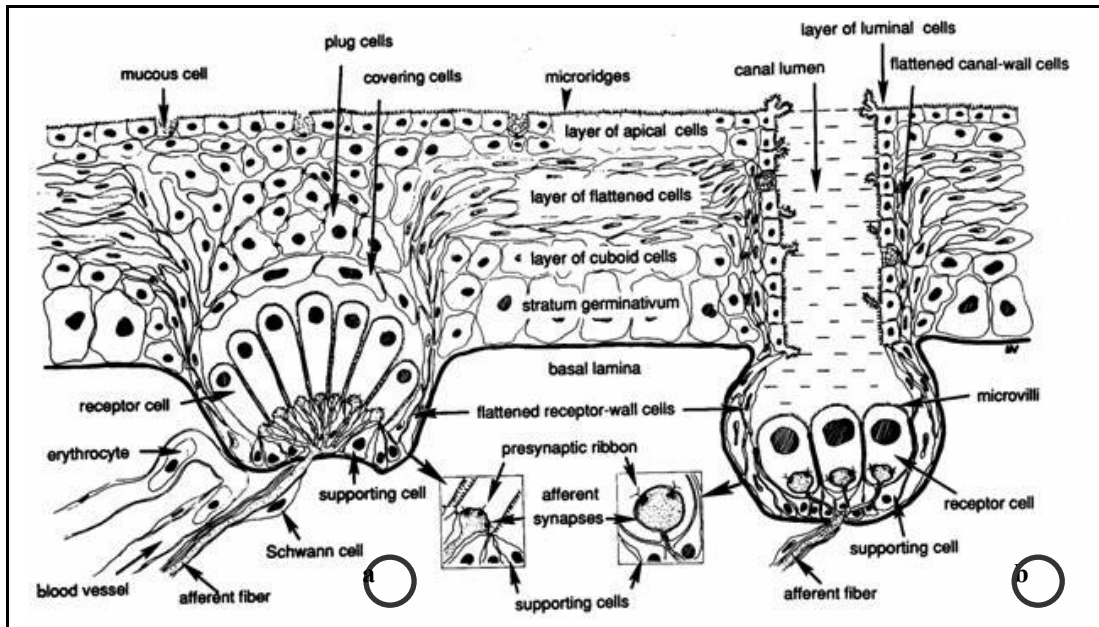


Figura 7. Representação esquemática da fisiologia dos dois tipos principais de eletroreceptores. Eletroreceptores tuberosos (a) eletroreceptores ampulários (b), adaptado de Heiligenberg (1973).

A origem evolutiva dos receptores ampulários (figura 7b) pode ser encontrada no início do Paleozóico (500-600 milhões de anos atrás), pois estão presentes em todos os Chondrichthyes (peixes cartilagosos), nos Petromyzontiformes (lampreias), Sarcopterygii (Dipnoi, Coelacanthimorpha e alguns anfíbios) e Chondrostei (Ascipenseriformes e Polypteriformes). No entanto, a evolução da eletrorecepção ampulária nos teleósteos é mais recente tendo ocorrido independentemente, em duas superordens: Osteoglossomorpha e Ostariophysii.

Nos Osteoglossomorpha, os eletroreceptores ampulários apareceram no ancestral comum de Notopteriformes e Mormyriiformes e nos Ostariophysii no ancestral comum de Siluriformes e Gymnotiformes (Alves-Gomes, 2001). Estes receptores ampulários são utilizados primariamente para detectar correntes contínuas ou correntes alternadas de baixa frequência oriundas de presas

potenciais e/ou de fontes inanimadas, estando, por isso, o seu funcionamento ligado tanto à eletrolocalização passiva, resultante de fontes eletrogênicas externas como à eletrolocalização ativa, oriunda da detecção da atividade eletrogênica própria (Heiligenberg, 1973; Hopkins, 1995).

A classe de receptores tuberosos (figura 7a) só se encontra presente nos grupos de peixes que também possuem órgãos elétricos, com apenas uma exceção conhecida: o gênero *Pseudocetopsis* da ordem Siluriformes (Andrés *et al.*, 1988). Esta classe de receptores é encontrada em todos os Gymnotiformes e Mormyriiformes e está adaptada para detectar correntes alternadas de frequências mais altas, sendo bastante sensíveis à frequência, amplitude e mudança de fase da DOE do próprio peixe e/ou DOEs de membros da mesma espécie (Alves-Gomes, 2001). Os eletroreceptores tuberosos podem apresentar três ou quatro sub-classes, dependendo de quais propriedades das descargas eles são capazes de decodificar. A presença de vários tipos de eletroreceptores espalhados pela superfície do corpo do peixe, e em número elevado, demonstra que o cérebro desenvolveu sistemas de recepção e processamento de informação especializados para decodificar ambientes com estímulos de natureza variável (Bullock, 1974; Carr & Maler, 1986).

Todos os Gymnotiformes possuem receptores do tipo ampulário, que parecem funcionar essencialmente para a detecção de presas e predadores (eletrolocalização passiva) e do tipo tuberoso T e P que, em conjunto, são responsáveis pela detecção da amplitude e características de fase do sinal elétrico (comunicação e eletrolocalização ativa) (Hopkins & Heiligenberg, 1978; Carr & Maler, 1986).

1.3. Evolução da eletrocomunicação

Ao demonstrar similaridades convergentes entre o canto de alarme de diferentes espécies de aves, Peter Marler mostrou que a seleção atua diretamente sobre o comportamento animal, neste caso, sobre a capacidade comunicativa (Lehner, 1996). Para os evolucionistas, a comunicação entre peixes na modalidade elétrica é especialmente atraente por permitir examinar uma variedade de forças seletivas, pois a base para uma boa explicação da evolução do Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial consiste num bom entendimento das relações evolutivas existentes entre os animais que o possuem (Hopkins, 1999).

Hopkins & Heiligenberg (1978) propuseram um possível caminho evolutivo na tentativa de explicar o significado adaptativo do Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial dentro de um contexto comportamental. Esta teoria supõe que a primeira espécie a gerar corrente elétrica o fez através de pulsos monofásicos de baixa taxa de repetição semelhantes aos potenciais de ação musculares. Os autores sugerem que a função inicial destas descargas terá sido a eletrolocalização, como por exemplo, as descargas monofásicas e de baixas frequências presentes no “poraquê” (*Electrophorus electricus*) e em *Hypopomus artedi*. Ao ser exigido, por condições ecológicas, um aumento da resolução temporal na detecção dos objetos, ocorreu um aumento da taxa de repetição das descargas do órgão elétrico, como é observado durante a noite em peixes pulsadores atuais. Este aumento na taxa de repetição de descargas regulares permitiu aos peixes elétricos não só a utilização de sinais para um melhor reconhecimento e exploração do espaço ambiental, mas também uma evolução da comunicação por meio do aumento da diversidade de modulações elétricas inter e intraespecíficas.

Paralelamente, num ambiente elétrico com altas densidades de peixes, as descargas de indivíduos vizinhos da mesma espécie tenderiam a produzir pulsos coincidentes durante cada ciclo, resultando em interferências. Tal fato, teria induzido o aparecimento de um mecanismo que minimizasse as interferências e preservasse a manutenção das capacidades eletrolocalizadoras, o que aconteceu pela mudança na frequência das descargas do órgão elétrico, através de uma mudança nos tempos de disparo.

Assim, através deste novo mecanismo, tornou-se possível evitar as interferências elétricas existentes no ambiente, o que terá eventualmente ocasionado o aparecimento de padrões de descargas senoidais, surgindo deste modo, as espécies de descarga do tipo onda.

Segundo esta teoria, a principal força evolutiva que moldou as diferentes características da eletrocomunicação foi a seleção de mecanismos eficientes para responder à necessidade de adaptar o sinal elétrico às características do ambiente. Outros fatores, como a presença de predadores eletroreceptivos ou presas, ou considerações biogeográficas teriam apenas uma influência local nos padrões evolutivos (Hopkins & Heiligenberg, 1978).

No entanto, Stoddard (2002) afirma que a fuga aos predadores é o mais forte candidato a força motriz do aumento na complexidade dos padrões de descarga. Esta teoria sustenta-se em algumas evidências tais como: os Gymnotiformes da América do Sul partilharam, desde a sua diferenciação, o ambiente com predadores com capacidade eletroreceptiva (Siluriformes); estes peixes possuem eletroreceptores ampulários adaptados para a detecção de campos de corrente contínua ou campos de corrente alternada de baixas frequências, descargas monofásicas possuem uma distribuição energética altamente assimétrica e geram campos elétricos de baixa frequência detectáveis pelos eletroreceptores ampulários. Com base nestes dados, o autor deduz que, para escapar dos predadores ocorreu um aumento da complexidade da DOE para, deste modo, tornando a DOE simétrica, aumentar o grau de camuflagem elétrica através da mudança do espectro emitido ou pela supressão de emissões em frequências vulneráveis detectadas pelos receptores ampulários.

1.4. Plasticidade etológica da reprodução em Gymnotiformes

O estudo da evolução da eletrocomunicação não compõe toda a informação sobre um determinado indivíduo, já que diferentes modalidades sensoriais indicam aspectos diferentes da sua condição geral. No entanto, a existência de

uma eficácia maior na realização de uma determinada função resultante da combinação de sinais oriundos de outras modalidades sensoriais, indica que a modalidade elétrica não evoluiu e nem age sozinha (Alcock, 1979; Sargent *et al.*, 1998).

A visão clássica do comportamento reprodutivo compreende toda a interação entre indivíduos de ambos os sexos até à formação de gametas, que inclui rituais de cortejo e acasalamento entre machos e fêmeas. O cortejo é definido como reconhecimento de um organismo co-específico de sexo adequado, estimulação da gametoposição e favorecimento do acasalamento através de sinais específicos. No entanto, sabe-se que também existem conflitos importantes entre machos e fêmeas durante o cortejo e hoje, o comportamento reprodutivo é visto como um conjunto de ações para a formação de uma aliança instável e difícil entre machos e fêmeas em que cada indivíduo tenta maximizar o êxito na propagação dos seus próprios genes (Krebs & Davies, 1993). Em peixes teleósteos, este conjunto de ações pode ser composto por vários repertórios desde a simples deposição de gametas na proximidade de outro indivíduo da mesma espécie até seqüências complexas, que podem incluir defesa territorial, preparação de ninho, formação de casais e proteção da prole (Balon, 1975; 1981).

Nas espécies de fecundação externa considera-se a existência de três etapas principais: a) cortejo, comportamento prévio à gametoposição que envolve a busca, atração e excitação de um companheiro potencial; b) a desova, que inclui vários movimentos de machos e fêmeas de forma a coordenar e sintonizar a gametoposição; c) e cuidados parentais, ações posteriores à deposição dos gametas que tendem a cuidados direcionados aos ovos e/ou prole (Liley & Stacey, 1983).

O cortejo em Gymnotiformes compreende manifestações locomotoras e elétricas. A caracterização de diversas manifestações motoras foi abordada em trabalhos realizados com *Eigenmannia virescens*, *Eigenmannia lineata* (figura 9), *Apteronotus leptorhynchus*, *Sternopygus macrurus* e *Eletrophorus electricus* (Hopkins, 1974; Kirschbaum, 1979; Hagedorn & Heiligenberg 1985; Assunção & Schwassmann, 1992; Moller, 1995). Em relação às manifestações elétricas

conhecem-se modulações da DOE próprias do período reprodutivo de *Brachyhypopomus pinnicaudatus* (figura 8), *Eigenmannia virescens*, *Apteronotus leptorhynchus* e *Sternopygus macrurus*. Estas espécies apresentam DOEs sexualmente diferentes utilizadas no reconhecimento e seleção do par e ambos os sexos podem modificar a sua freqüência de modo a produzir sinais sociais específicos de cortejo e acasalamento (Hopkins, 1974; Hagedorn & Heiligenberg 1985; Kawasaki & Heiligenberg, 1989; Stoddard *et al.*, 1996; Chaval, 2004).

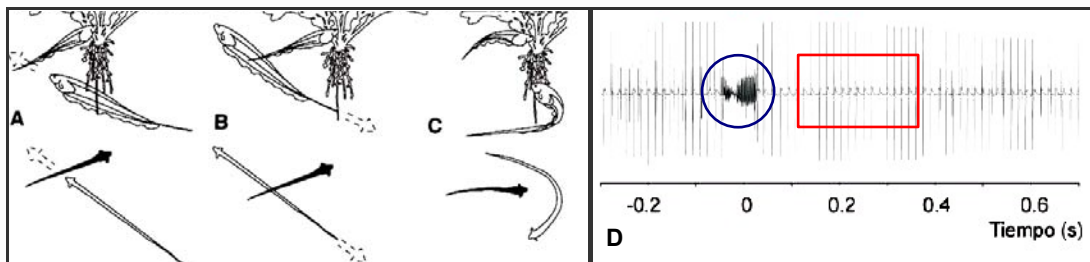


Figura 8. Exemplo de exibição de comportamento locomotor e elétrico de cortejo em *Eigenmannia lineata*, adaptado de Moller (1995) e *Brachyhypopomus pinnicaudatus*, adaptado de Chaval (2003). **A** e **B** - macho nadando para a frente e para trás por baixo da fêmea; **C** – macho nadando em circunferências ao redor da fêmea; **D** – Registros das DOEs que mostram a ocorrência de “chirp” por parte do macho (azul) e interrupção por parte da fêmea (vermelho).

Algumas características da DOE (forma da onda, duração e taxa de descarga) são sensíveis a variações nas concentrações hormonais e estão dependentes de certos fatores ambientais, de maturação sexual e desenvolvimento do organismo (Zakon, 1986). Deste modo, a descarga do órgão elétrico é um excelente indicador das condições ambientais e um ótimo exemplo prático de plasticidade e expressão individual da variação comportamental, estando a sua forma e freqüência vulneráveis a um elevado número de parâmetros.

1.5. Considerações gerais sobre a família Hypopomidae

Segundo a hipótese filogenética de Alves-Gomes (2001), baseada em dados moleculares, morfológicos e eletrofisiológicos, a família Hypopomidae

não é monofilética e, ao contrário do que propôs Mago-Leccia (1994), contém três gêneros: *Microsternarchus*, *Brachyhypopomus* e *Hypopomus*, em vez de seis gêneros (*Hypopomus*, *Brachyhypopomus*, *Microsternarchus*, *Hypopygus*, *Steatogenys* e *Racenisia*).

Os hypopomídeos produzem descargas do tipo pulso, de curta duração quando comparada com o intervalo entre pulsos consecutivos e mostram DOEs com plasticidade significativa como resposta a stress e intensidade luminosa (Zupanc *et al.*, 2001). O seu órgão elétrico consiste em eletrócitos pequenos com formato de tambor dispostos em série dentro de bainhas de tecido conectivo que se estendem desde a parte inferior da cabeça até à ponta do filamento caudal. Várias destas colunas de eletrócitos encontram-se dispostas dorsoventralmente de modo a formarem fileiras. O filamento caudal está inteiramente ocupado por estas colunas.

O tipo mais comum de descarga elétrica desta família é bifásico, em que a forma da onda de um só eletrócito é semelhante à forma do órgão inteiro. A face innervada de cada eletrócito dispara em primeiro lugar, produzindo a fase positiva da DOE. Quase simultaneamente, a corrente do primeiro pico causa a despolarização das faces não enervadas, gerando a fase negativa da DOE, quase igual em duração e amplitude à primeira. As características da forma da onda são relativamente constantes dentro da mesma espécie, apesar de mudanças anatômicas e morfológicas nos eletrócitos e respostas hormonais poderem levar a mudanças substanciais nestas características. Outros hypopomídeos produzem DOEs monofásicas ou com mais de duas fases (Sullivan, 1997). Nos hypopomídeos bifásicos parece ser comum a existência de uma segunda fase alongada nos machos maduros e diferenças entre DOEs de machos e fêmeas, como por exemplo: *Brachyhypopomus beebei*; *Brachyhypopomus pinnicaudatus*; *Hypopomus artedi*; *Microsternarchus bilineatus* (Hopkins & Westby, 1986; Hopkins *et al.*, 1990; Sullivan, 1997; Chaval, 2004).

Os hypopomídeos encontram-se distribuídos desde as encostas da Costa Rica até à Bacia do Rio de La Plata na Argentina e Uruguai. Dentre as mais importantes bacias hidrográficas da América do Sul, a diversidade do

grupo parece ser mais elevada no sistema Amazonas, mas existem espécies cuja distribuição tende a ser bem mais restrita e até endêmica. No entanto, o padrão que prevalece nesta família é de as espécies que a compõem possuírem uma distribuição ampla nas bacias mais importantes (Sullivan, 1997).

A partir de evidências moleculares, Sullivan (1997) sugere que, apesar da existência de pouca diferenciação na maioria das características morfológicas da família Hypopomidae, as linhagens dentro desta são bastante antigas. A existência de diversidade antes da formação das bacias hidrográficas atuais seguida de uma fase evolutiva de menor diferenciação entre os organismos pode explicar o padrão de distribuição amplo que prevalece para as espécies de hypopomídeos. Adicionalmente, estes organismos são mais capazes de dispersão entre as bacias do que outros grupos taxonômicos devido à sua capacidade de viver em habitats com condições ambientais específicas de água rasa e sem corrente. Em épocas de chuva, os tributários das diferentes bacias do ecossistema amazônico podem estabelecer contacto em determinadas áreas, facilitando a dispersão destes organismos (Sullivan, 1997). Assim, a existência de espécies endêmicas neste grupo pode estar relacionada à selectividade das populações quanto ao microhabitat em que vivem, que provoca o seu isolamento nas áreas de ligação, e deste modo, facilita a divergência das espécies (Nijssen e Isbrücker, 1972; Walker, 2001).

O gênero *Microsternarchus* foi descrito por Fernández-Yepez em 1968, com base em diversas características morfológicas analisadas em 28 indivíduos coletados no rio São José, Venezuela, em 1965, como por exemplo: ausência de dentes exteriores; terminação em forma de cauda; região pós-cefálica com escamas, entre outras (Fernández-Yepez, 1968).

Até hoje, é considerado um gênero monotípico, tendo sido designada de *Microsternarchus bilineatus* a única espécie descrita, por possuir 2 faixas dorsais escuras. Estudos posteriores mostraram que esta espécie possui uma DOE bifásica, de fraca intensidade, com aproximadamente 3 ms de duração total nas fêmeas e machos imaturos. Os machos maduros parecem exibir uma descarga sexualmente diferente das fêmeas (figura 9), com a fase negativa mais prolongada (Fernández-Yepez, 1968; Mago-Leccia, 1994; Sullivan, 1997).

Acredita-se que a diversidade deste gênero assim como dos Gymnotiformes em geral se encontra bastante subestimada. São organismos encontrados preferencialmente em pequenos cursos de água, em locais em que a corrente não é muito forte, sob a liteira em bancos de areia (Nijssen e Isbrüker, 1972; Walker, 2001) ou no emaranhado de raízes da vegetação marginal que pende para dentro dos igarapés (Alves-Gomes, comunicação pessoal, Schmitt, 2005). Ainda pode ser encontrada em raízes e interiores de troncos podres e no meio de raízes suspensas, em locais em que a corrente é um pouco mais forte (Schmitt, 2005), não existindo registros de exemplares coletados no canal principal dos grandes rios (Mago-Leccia, 1994).

O gênero *Microsternarchus* Fernández-Yépez possui uma descarga do tipo pulso relativamente de longa duração (3-5ms) e uma taxa de descarga relativamente estável sendo considerado o representante atual da transição da descarga do tipo pulso para onda.

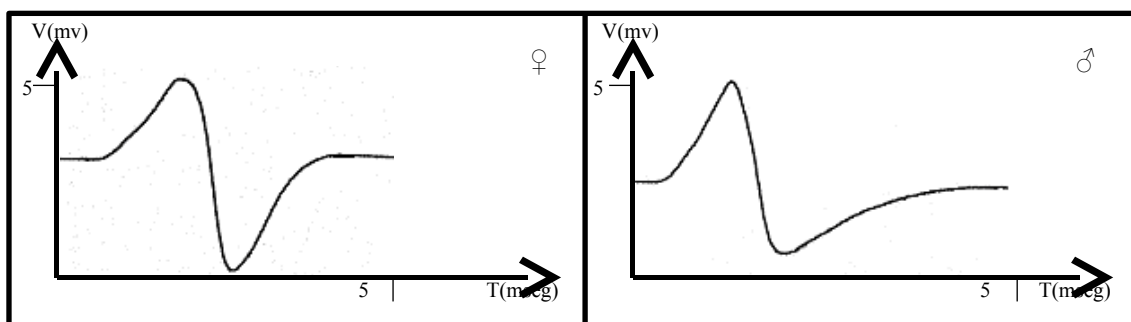


Figura 9. Exemplo da presença de dimorfismo sexual na forma de onda da DOE de *Microsternarchus bilineatus*. Registros da DOE de uma fêmea à esquerda e da DOE de um macho à direita, retirados de Sullivan (1997).

Os indivíduos utilizados durante este estudo apresentaram uma DOE constituída por três fases distintas, diferente da DOE bifásica descrita para a espécie *Microsternarchus bilineatus*. Levando em consideração a propriedade espécie específica da forma de onda da DOE e apesar de compartilharem os mesmos caracteres morfológicos, não foi possível identificar o grupo estudado, mesmo sendo comparável a *Microsternarchus bilineatus*. Assim, ao longo do trabalho, a espécie estudada recebeu a designação de *Microsternarchus* cf. *bilineatus*.

JUSTIFICATIVA

O aperfeiçoamento de métodos de análise filogenética tem vindo a revolucionar a biologia moderna ao causar impactos significativos em muitas áreas de estudo, incluindo o estudo da evolução da comunicação animal. A compreensão das relações filogenéticas entre os diferentes grupos de peixes elétricos de água doce ainda é insipiente, mas esta abordagem científica encerra em si a promessa de subsidiar um melhor entendimento sobre o valor adaptativo do comportamento animal, fundamental para a compreensão da dinâmica ambiental na Amazônia.

O comportamento representa uma das formas mais expressivas da adaptação dos organismos às condições ambientais e pode ser analisado de diferentes formas. Uma vez que, as características comportamentais podem refletir a ação da seleção natural sobre os organismos, o estudo de padrões de comportamento animal pode fornecer informações importantes sobre o processo evolutivo e conseqüente viabilização ou sucesso de determinadas espécies. Por outro lado, os princípios envolvidos na evolução de comportamentos cada vez mais complexos e o papel que estes desempenham na evolução não são bem conhecidos, tornando-o num dos campos científicos mais complexos e centrais às ciências do comportamento, incluindo questões etológicas e sociais inerentes à espécie humana.

O Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial tem mostrado ser um excelente modelo para o estudo da origem e do significado adaptativo do comportamento e da comunicação animal, pois os padrões de sinais elétricos envolvidos nas interações sociais, incluindo as interações reprodutivas, são relativamente simples e fáceis de serem registrados, gravados e analisados.

Nos Gymnotiformes, o conhecimento da diversidade de modulações elétricas a nível intra-específico, em especial durante o período reprodutivo, encontra-se reduzido a poucas espécies devido à falta de um melhor conhecimento sobre a ecologia da maioria dos taxóns pertencentes a esta ordem. Por outro lado, o conhecimento do repertório de sinalizações elétricas

durante este período é de grande importância evolutiva uma vez que, durante a reprodução, as diferentes espécies tendem a gerar padrões específicos de modulações que podem ser estudados comparativamente e entendidos no seu contexto adaptativo e filogenético.

Tendo isto em consideração, a realização de uma abordagem científica sobre as estratégias de especiação, manutenção e perpetuação da biodiversidade encerra em si a perspectiva de responder a várias questões pertinentes sobre a evolução da eletrocomunicação: 1) que tipos de forças evolutivas levaram ao aparecimento repetitivo de eletroreceptores e órgãos elétricos em peixes; 2) quantas espécies de fato existem com capacidades eletrogênicas e eletroreceptoras, já que os estudos mais recentes têm mostrado que, o que antes eram considerados clados monotípicos são na realidade complexos multiespecíficos; 3) qual a relação entre as espécies e os seus habitats, ou seja, de que forma determinadas formas de onda estão melhor ou pior adaptadas a certas condições ambientais e; 4) quanta variação existe na descarga do órgão elétrico a nível intrapopulacional e como pode estar relacionada com a especiação.

OBJETIVOS

Geral

Caracterizar a diversidade eletrocomunicativa durante a maturação sexual, exibida em *Microsternarchus* cf. *bilineatus*, de forma a adquirir informações relevantes sobre o valor adaptativo do comportamento reprodutivo dos peixes elétricos de água doce.

Específicos

- Induzir a maturação sexual, em cativeiro, de um grupo de indivíduos de *Microsternarchus* cf. *bilineatus*;
- Identificar, registrar e comparar as diferentes modulações de descargas elétricas e padrões de movimentos exibidos antes e durante a maturação sexual, entre diferentes pares de indivíduos;
- Descrever, associar e quantificar os parâmetros comportamentais e as descargas do órgão elétrico obtidos durante a fase experimental;
- Relacionar a diversidade dos padrões comportamentais reprodutivos obtidos com os aspectos evolutivos conhecidos do Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial da ordem Gymnotiformes.

II. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de coleta e delineamento amostral

A área de coleta encontra-se inserida numa área representada por pequenos afluentes (igarapés) do rio Negro, o maior tributário da bacia Amazônica em termos de descarga anual $-1,4 \times 10^{12}$ m³/ano, cobrindo uma área de aproximadamente 0,70 milhões de Km². Este rio é formado, devido a sua constituição química, de uma água caracteristicamente negra, com pH variando entre 3,5 a 5,5 e com condutividade em torno de 20 µs/cm. Contém uma infinidade de igarapés e um conjunto de ilhas bastante vasto de diversidade peculiar (Goulding *et al.*, 1988; Chao, 2001; Goulding *et al.*, 2003).

Durante o mês de Agosto de 2005 (estação seca), foi realizada uma excursão de campo ao igarapé Aduino (figura 10), situado na margem direita do rio Negro, no município de Novo Airão (Lat 60° 58' 8" Long 2° 61' 20") onde foram coletados indivíduos de ambos os sexos do *Microsternarchus cf. bilineatus* e anotados os valores de variáveis físico-químicas da água importantes para a realização deste trabalho: temperatura; pH; condutividade; oxigênio dissolvido, bem como informações sobre fauna e flora associadas.

Para a captura dos indivíduos, primeiramente eles foram localizados no ambiente através da utilização de um par de eletrodos fixados em um cabo de madeira, conectado a um mini-amplificador RadioShack, Inc. Este amplificador, converte o sinal elétrico em sinal sonoro e permite a detecção do campo elétrico produzido por estes organismos através de escuta. Uma vez localizados, os indivíduos foram capturados com a utilização de puçás e redinhas junto da vegetação e liteira do igarapé amostrado. Depois de capturados, os peixes foram mantidos vivos em sacos de plástico com água do local e transportados para Manaus onde passaram por um processo de triagem e aclimação nos aquários do Laboratório de Fisiologia Comportamental (LFC) do INPA.

Após esta fase, seguindo a descrição morfológica para a espécie *Microsternarchus bilineatus* de Fernández-Yépez (1968) em Mago-Leccia (1994), foram escolhidos 17 indivíduos, variando entre 5,5 cm e 11,5 cm de comprimento total e sem evidência de maturação gonadal. Devido à inexistência de diferenças morfológicas entre machos e fêmeas imaturos foi realizada uma estimativa do sexo dos indivíduos do grupo experimental em função de observações de campo, onde fêmeas sexualmente maduras parecem possuir uma proporção do comprimento da cauda em relação ao comprimento total menor do que a observada em machos. Assim, estimou-se que, dentre os indivíduos selecionados, 10 eram fêmeas e 7 eram machos.

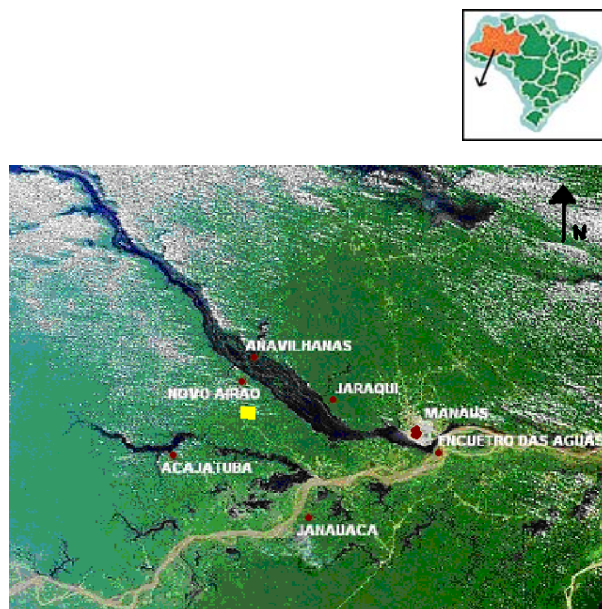


Figura 10. Imagem de satélite da área do médio e baixo rio Negro (AM). Local de coleta assinalado a amarelo.

2.2. Esquema experimental

Após estarem devidamente aclimatados às condições laboratoriais de cativeiro e antes terem sido colocados no aquário onde foi induzido o período reprodutivo, foi feita uma ficha de identificação para todos os indivíduos escolhidos, com as seguintes informações: identificação; comprimento total;

estimativa do sexo; data e hora da gravação da DOE; frequência instantânea; caracterização da forma de onda; foto e possíveis peculiaridades físicas.



IDENTIFICAÇÃO	L TOTAL	SEXO	FREQUÊNCIA INSTANTÂNEA	FORMA DA ONDA	FOTO
ada22s1742f	8,5cm	Fêmea	88Hz		

Figura 11. Exemplo da ficha de identificação elaborada para o grupo experimental. Sexto indivíduo da lista de identificação.

A figura 11, representa um exemplo da lista de identificação elaborada para o grupo experimental, em que “ada22s1742f” representa a identificação usada para cada indivíduo, em que “ada” são as primeiras três letras do igarapé onde o indivíduo foi coletado, neste caso, igarapé Adauto, “22s”, a data de coleta, 22 de Setembro, “1742” a hora de gravação do sinal elétrico e “f” a estimativa do sexo.

De forma a minimizar os erros na captação do sinal e obter o mesmo padrão das características da DOE para o grupo experimental, de acordo com o procedimento padrão adotado pelo Laboratório de Fisiologia Comportamental, a frequência instantânea e a imagem da forma da onda foram obtidos com o indivíduo preso no interior de um tubo de plástico estreito num aquário de gravação com a mesma água do aquário de aclimatação. A captação do sinal foi efetuada através da utilização de um par de eletrodos de carbono, dispostos verticalmente no aquário, conectados a um amplificador diferencial AC/DC da A-M Systems, Inc., utilizando um ganho de sinal de 500 vezes e a um sistema digital de aquisição de dados Digidata 1440A AxoScope9 associado ao software AxoScope9 para Windows.

Em seguida, os animais foram transferidos para o local experimental previamente elaborado e esquematizado na figura 12 A e B. De uma forma geral, a estrutura experimental montada consistiu de um espaço isolado, com iluminação própria e controlada, contendo três aquários com água nas mesmas condições físico-químicas. Um destes aquários foi usado para gravações individuais e estudo das variações circadianas nas DOEs (aquário I); outro para a gravação das DOEs de pares sexualmente maduros e escolhidos

aleatoriamente (aquário II) e o terceiro para a manutenção do grupo experimental e para a indução da maturação sexual (aquário III).

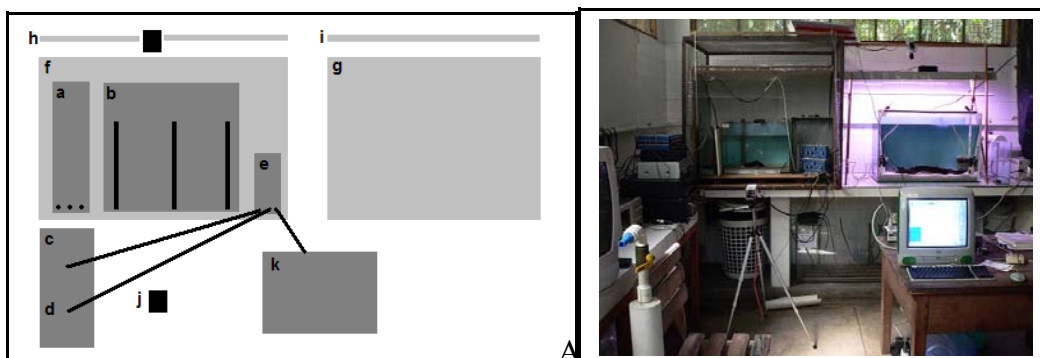


Figura 12 A e B. A - Representação esquemática do local experimental. a) aquário I para gravações individuais; b) aquário II para gravações de pares; c) osciloscópio; d) sistema de aquisição de dados vetter-digital; e) amplificador diferencial; f) caixa de Faraday; g) aquário III para a manutenção e indução da maturação sexual; h) luz vermelha controlada através de um timer; i) luz branca controlada através de um timer; j) duas câmeras noturnas; k) sistema de aquisição de dados MP100WS Acqknowledge III associado ao Macintosh. B - Foto do local experimental.

2.3. Indução da maturação sexual em cativeiro

Duas semanas antes do início dos experimentos, os 17 indivíduos foram colocados em um aquário de 80x51x35 cm (143 Litros) com água padronizada do laboratório (aquário III, figura 12 A e B; figura 13). Após duas semanas de habituação às novas condições, iniciou-se a indução da maturação sexual, que segundo Kirschbaum (1977), Adámek & Flajshans (1992), Silva et al. (2002) e Rotta (2004), para uma grande parte dos peixes neotropicais de água doce depende, fundamentalmente, da variação de três fatores, que ocorrem durante a transição da estação seca para a estação das chuvas: 1) condutividade da água; 2) o volume de água associado ao sinal acústico da chuva e 3) disponibilidade de alimento. Esta indução consistiu numa diminuição progressiva da condutividade pela adição periódica de água destilada; a variação do volume de água no aquário simulando o início do período de chuvas (cheia) na Amazônia e o aumento da disponibilidade de alimento. Assim, ao longo de 50 dias, entre Outubro e Dezembro de 2005, foi simulada a mudança de estação seca para estação das chuvas através de um aumento contínuo do nível da água do aquário (aumento de 2 cm a cada dois dias) e

conseqüente aumento da pressão hidrostática; da diminuição da condutividade da água pela diluição gradual de sais através da adição de água destilada e pela imitação do sinal acústico da chuva.



Figura 13. Foto do aquário III (143 Litros), onde foi efetuada a indução da maturação sexual. É possível visualizar o mecanismo construído e adaptado a duas bombas submersas, para a simulação do sinal acústico da chuva (círculos a amarelo).

Para suprir o aumento do gasto energético motivado pelo stress inerente à atividade reprodutiva, os organismos em estudo foram alimentados com uma dieta rica em proteínas constituída por larvas de *Artemia salina* e larvas de enquitréia (*Enchytraeus albidus*). Por ser uma fase delicada do ciclo de vida de qualquer organismo, para o sucesso da indução do período reprodutivo da espécie em estudo tentou-se uma reprodução o mais fidedigna possível do ambiente natural (figura 13 e figura 14). Para tal, foram feitos todos os esforços para eliminar possíveis fontes adicionais de stress, nomeadamente através da colocação de esconderijos naturais no fundo e na coluna de água do aquário experimental; da manutenção de uma temperatura condizente com as condições naturais (25-30 °C); de fotoperíodo constante de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão; e através da redução de interferências acústicas, elétricas e luminosas estranhas ao ambiente controlado, efetuado durante toda a fase experimental.



Figura 14. Aquário III (143 Litros), pormenor da simulação do substrato natural e esconderijos encontrados nos habitats naturais destes organismos.

2.4. Caracterização da atividade circadiana do órgão elétrico

Ao longo do período de indução da maturação sexual, foi efetuada a captação e gravação individualizada das DOEs de 12 indivíduos (cinco indivíduos do grupo experimental inicial não sobreviveram até esta fase), durante 24 horas, tendo-se o cuidado de manter, no aquário de gravação individual de 40x30x11 cm (13 Litros), as mesmas condições físico-químicas do aquário de manutenção. Após 48 horas de aclimação ao novo aquário (figura 15), o indivíduo foi deixado livre e a captação foi efetuada utilizando um par de eletrodos de carbono, dispostos verticalmente no aquário, conectados a um amplificador diferencial AC/DC da A-M Systems, Inc., utilizando um ganho do sinal de 1000 vezes, conectado a um osciloscópio Tektronix TDS 220, para visualização e controle das condições de aquisição do sinal elétrico.

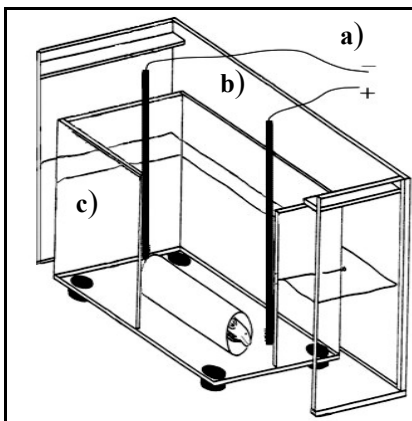


Figura 15. Esquema representativo do aquário I (13 Litros), utilizado nas gravações individuais circadianas, modificado de Moll (2001): a) par de eletrodos; b) caixa de Faraday; c) aquário.

A gravação e digitalização dos dados foram realizadas simultaneamente, através da utilização de um computador Macintosh conectado a um sistema digital de aquisição de dados MP100WS AcqKnowledge III, desenvolvido pela BIOPAC Systems, Inc. Cada amostragem consistiu na gravação da DOE durante dois segundos, efetuada de 15 em 15 minutos, durante 24 horas consecutivas. A taxa de amostragem foi de 12.000 pontos por segundo e no total, cada indivíduo obteve 96 amostragens de dois segundos da sua DOE, ao longo de um dia completo.

2.5. Caracterização da descarga do órgão elétrico durante a maturação sexual

Através da visualização da maturação das gônadas das fêmeas foi possível determinar o início da maturação e finalmente saber com exatidão o número total de fêmeas (oito) e machos (quatro) no grupo final de sobreviventes. Para a captação e gravação da descarga do órgão elétrico foram escolhidos de forma aleatória com reposição de indivíduos, oito pares sexualmente maduros, que foram transportados do aquário de manutenção para um novo aquário de 50x 35x30 cm (53 Litros), representado na figura 16. No interior deste aquário, foi colocado um só abrigo de forma a induzir comportamentos de agressividade, dominância ou submissão. Após 48 horas de aclimação ao aquário de gravação, foram feitas captações do sinal elétrico, utilizando um par de eletrodos colocados horizontalmente de forma a captar o sinal na área total do aquário. Estes encontravam-se conectados a um amplificador diferencial AC/DC da A-M Systems, Inc., utilizando um ganho do sinal de 1000 vezes que, por sua vez, enviava o sinal para três outros pontos: para um osciloscópio Tektronix TDS 220, para um conversor de áudio da RadioShack, Inc. para que as DOEs pudessem ser ouvidas na sala de gravação, e para um conversor analógico-digital acoplado a um sistema de gravação. Esta foi efetuada em fita magnética num videocassete Sony SLV-770HF ligado ao conversor PCM Vetter-Digital. Uma vez gravadas, as amostras das DOEs registradas foram digitalizadas através do sistema

MP100WS AcqKnowledge III e analisadas num computador Macintosh (figura 16).

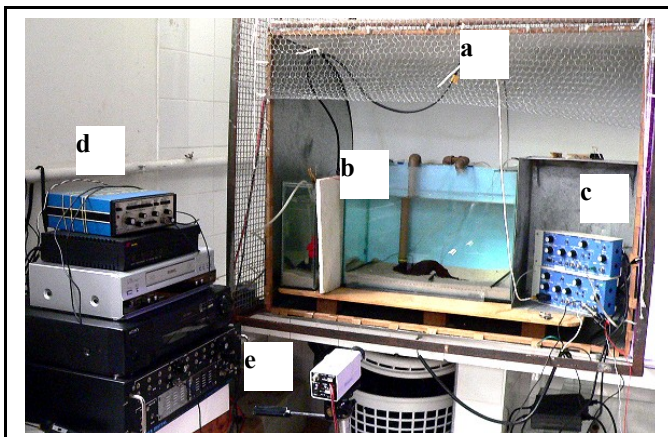


Figura 16. Foto do aquário II (53 Litros), onde foi efetuada a obtenção de dados para a caracterização da DOE durante a maturação sexual: a) caixa de Faraday; b) aquário de gravação com o abrigo; c) amplificador; d) sistemas de gravação da DOE e imagem; e) câmera de vídeo CCD.

Antes de ser possível estabelecer o sexo dos indivíduos foram formados e gravados três pares. Quando foi possível confirmar a maturação sexual através da visualização das gônadas femininas, foram formados dois pares fêmea/macho e dois pares fêmea/fêmea. Não foi possível realizar a gravação de pares macho/macho devido à morte, durante esta fase experimental, de três dos quatro machos do grupo experimental sobrevivente. As gravações pareadas consistiram em registros de cinco minutos a cada dez minutos, através do sistema Vetter, das 20 às 23h ou toda vez que, entre estas três horas, se escutava uma mudança no sinal sonoro através do conversor RadioShack, Inc.

Durante a captação e gravação da DOE do par, também foi feita a captação da imagem de topo e frontal do aquário através de duas câmeras CCD noturnas de alta resolução. As imagens destas duas câmeras foram alimentadas a um “splitter” que permitia a visão simultânea das duas numa tela de TV e gravadas em fita magnética num videocassete marca Toshiba VC X796. Estes dados analógicos foram mais tarde digitalizados através de um computador HP equipado com placa de TV e software WinTV da Hauppauge, Inc. Com este recurso, foi possível associar os padrões da descarga do órgão elétrico adquiridos durante a maturação sexual com as atividades locomotoras de cada par.

2.6. Descrição e quantificação das categorias comportamentais

Após as etapas descritas anteriormente, as imagens e os registros das DOEs foram processados em conjunto de modo a possibilitar a descrição de categorias comportamentais gerais e posterior classificação dos dados em unidades comportamentais qualitativas, independentes e não ambíguas. Juntamente com as 38 horas obtidas de gravação de imagem e de sinal elétrico, foram também utilizados dados resultantes de observações diretas, realizadas durante os três meses experimentais.

Adotando a classificação (figura 17) de Delgado & Delgado (1962) esquematizada em Lehner (1996), em que a definição das unidades comportamentais se realiza mediante a complexidade e o nível de interação dos indivíduos, foram descritas unidades para os comportamentos observados em cativeiro. Assim, a partir dos dados coletados foram descritas unidades comportamentais, cuja definição estava relacionada com a regularidade de exibição de determinadas interações associada a padrões locomotores específicos, em qualquer domínio espaço-temporal.

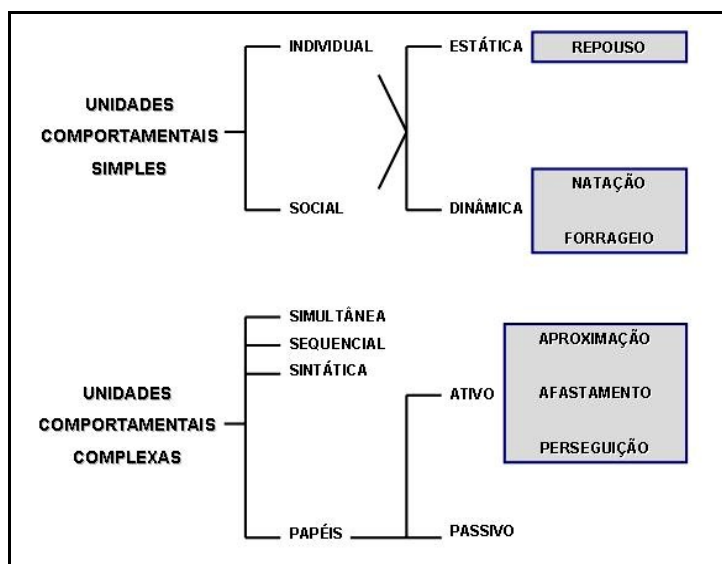


Figura 17. Esquema da classificação de unidades comportamentais segundo Delgado & Delgado (1962) *in* Lehner (1996). Em azul, as unidades comportamentais descritas para os comportamentos observados neste trabalho, em cativeiro.

Para os registros obtidos durante a gravação do ciclo circadiano da DOE, foi feita a análise da frequência instantânea de cada indivíduo para os

intervalos de dois segundos amostrados, com o respectivo desvio padrão, e para tal foram utilizados todos os pulsos captados e gravados durante cada amostra de dois segundos de duração. A frequência instantânea (F) é definida como o inverso do período (T) que, por sua vez, é dado pelo tempo, em segundos, entre dois picos consecutivos da DOE. Posteriormente, os dados obtidos para cada indivíduo foram analisados em conjunto para o tempo total (24h), para o intervalo de tempo correspondente à fase diurna e para o intervalo de tempo correspondente à fase noturna. Foi também verificada a existência ou não de diferenças estatisticamente significativas na taxa de descarga diurna e noturna, na forma de onda exibida durante o dia e durante a noite, através da análise dos valores obtidos para o teste estatístico t-student, dados pelo software SigmaStat 8.0 em relação às medições da amplitude e duração total do pulso e de cada fase da DOE (figura 18). Para estas medições foram utilizados três pulsos de cinco amostras de dois segundos captados durante 24 horas.

Para os registros obtidos durante a gravação da DOE de pares sexualmente maduros foi igualmente analisada a frequência de cada indivíduo do par e os respectivos desvios padrões, durante a exibição das unidades comportamentais definidas anteriormente. Nos casos em que foram observadas unidades comportamentais complexas, as alterações detectadas na taxa de descarga foram correlacionadas com a distância física entre os indivíduos e foram analisadas separadamente as seqüências comportamentais de cada par, ao longo do tempo. Para averiguar a existência ou não de dimorfismo sexual foi analisada a forma de onda de cinco machos e cinco fêmeas, cujo registro da DOE foi efetuado durante a fase de maturação sexual em cativeiro. Esta análise correspondeu à medição da amplitude e duração total do pulso da DOE e a amplitude e duração de cada fase do pulso (figura 18) e respectiva avaliação dos valores obtidos para o teste estatístico t-student, dados pelo software SigmaStat 8.0. Para estas medições, foram utilizadas amostras de cinco minutos e feita uma média, para todos os parâmetros analisados, de três pulsos em cada segmento de dois segundos de duração.

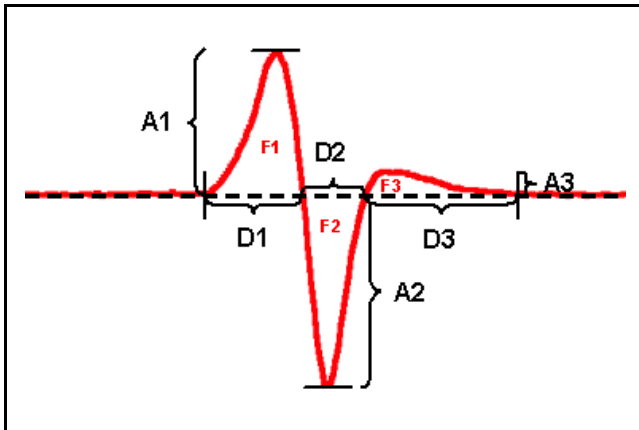


Figura 18. Esquema representativo das medições efetuadas durante a análise da forma de onda. F1; F2; F3 – fase 1, fase 2, fase 3. A1; A2; A3 – amplitude da fase 1, amplitude da fase 2, amplitude da fase 3. D1; D2; D3 – duração da fase 1, duração da fase 2, duração da fase 3. Traços horizontais – amplitude pico-a-pico ou amplitude total (A1+A2). Traços verticais – duração total (D1+D2+D3).

III. RESULTADOS

3.1. Identificação dos indivíduos e das unidades comportamentais

O grupo inicial escolhido para este trabalho foi sujeito ao registro de várias informações antes da execução da fase experimental propriamente dita (tabela 1), de modo a obter dados que permitissem a identificação de cada indivíduo durante a gravação da atividade circadiana, durante a identificação e descrição das unidades comportamentais exibidas e durante as gravações das DOEs de pares sexualmente maduros.

Como se pode ver através da análise da lista de identificação efetuada para o grupo experimental inicial, não foram encontradas características morfológicas ou características da DOE que possibilitassem o reconhecimento individual. Assim, não foi possível descrever diferenças e peculiaridades morfológicas detectáveis visualmente; não foram encontradas diferenças na forma de onda resultantes de diferenciação individual; a grande variação individual da frequência instantânea ao longo de 24h, encontrada para todos os indivíduos, não permitiu a definição de uma taxa de repetição característica de cada indivíduo e, devido ao aumento do comprimento total dos organismos ao longo do período experimental, não foi possível separá-los por comprimento total.

Tabela 1. Lista das características analisadas para a identificação dos 17 indivíduos iniciais escolhidos para o grupo experimental inicial.

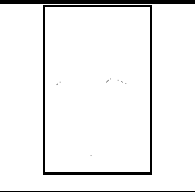

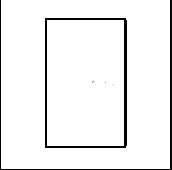

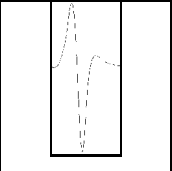

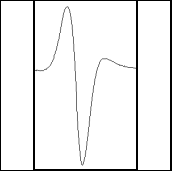

IDENTIFICAÇÃO	L TOTAL	SEXO	FREQUÊNCIA	FORMA DA ONDA	FOTO
iba24a1130m	7,1cm	Macho	75Hz		
ada22s1440f	5,5cm	Fêmea	91Hz		
ada22s1400m	8,5cm	Macho	95Hz		
ada22s1702f	9,2cm	Fêmea	92Hz		

Tabela 1. Lista das características analisadas para a identificação dos 17 indivíduos iniciais escolhidos para o grupo experimental inicial.

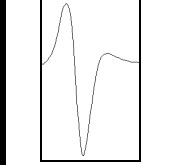

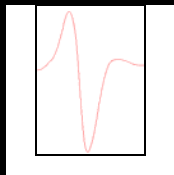

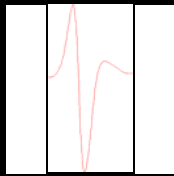

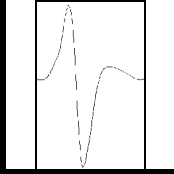

IDENTIFICAÇÃO	L TOTAL	SEXO	FREQUÊNCIA	FORMA DA ONDA	FOTO
ada22s1723f	9cm	Fêmea	85Hz		
ada22s1742f	8,5cm	Fêmea	88Hz		
ada22s1758m	8,6cm	Macho	99Hz		
ada22s1811f	7,9cm	Fêmea	79Hz		

Tabela 1. Lista das características analisadas para a identificação dos 17 indivíduos iniciais escolhidos para o grupo experimental inicial.

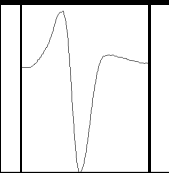

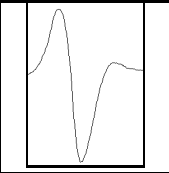

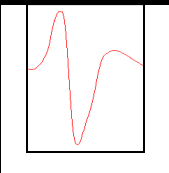
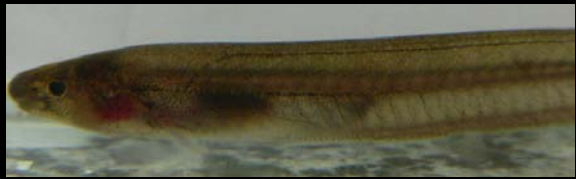
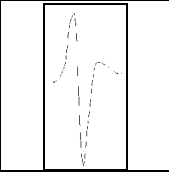

IDENTIFICAÇÃO	L TOTAL	SEXO	FREQUÊNCIA	FORMA DA ONDA	FOTO
ada22s1825m	9,4cm	Fêmea	82Hz		
ada22s1836f	8,4cm	Fêmea	72Hz		
ada23s1645m	9,8cm	Macho	91Hz		
ada23s1703m	9,8cm	Macho	87Hz		

Tabela 1. Lista das características analisadas para a identificação dos 17 indivíduos iniciais escolhidos para o grupo experimental inicial.

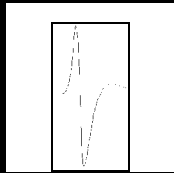

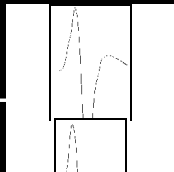

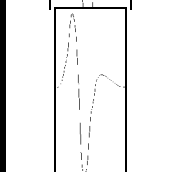

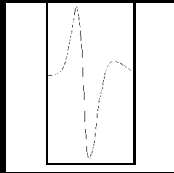

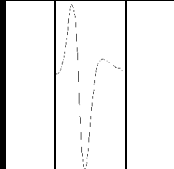

IDENTIFICAÇÃO	L TOTAL	SEXO	FREQUÊNCIA	FORMA DA ONDA	FOTO
ada23s1725m	11,5cm	Macho	100Hz		
ada23s1739f	8,9cm	Fêmea	91Hz		
ada23s1750f	9,6cm	Fêmea	105Hz		
ada23s1815f	8,2cm	Fêmea	81Hz		

Tabela 1. Lista das características analisadas para a identificação dos 17 indivíduos iniciais escolhidos para o grupo experimental inicial.

IDENTIFICAÇÃO	L TOTAL	SEXO	FREQUÊNCIA	FORMA DA ONDA	FOTO
ada23s1823m	9cm	Macho	97Hz		

De acordo com os eventos locomotores observados durante este trabalho, o passo seguinte da análise dos resultados consistiu na identificação e definição das unidades comportamentais (tabela 2), consoante a sua complexidade; o estado espacial dos organismos e o nível de interação entre eles, definidas para o período anterior à indução da maturação sexual em cativeiro (estação seca) e durante o período de indução da maturação sexual (estação da chuva).

Tabela 2. Unidades comportamentais definidas para o comportamento locomotor observado durante o período experimental.

U. Comportamental	Complexidade	Estado espacial	Dinâmica	Interação
Repouso	simples	em paralelo com o fundo com ou sem contato	imóvel	individual
Natação	simples	em paralelo com o fundo e sem contato	com movimento	individual
Forrageio	simples	perpendicular ou em ângulo (entre 30° e 90°) em relação ao fundo, com contato intermitente	com movimento	individual
Aproximação	complexo	indivíduos em posição frontal um em relação ao outro com as cabeças em paralelo	distância entre as cabeças diminui com o tempo	par
Afastamento	complexo	indivíduos em posição frontal um em relação ao outro com as cabeças em paralelo	distância entre as cabeças aumenta com o tempo	par
Perseguição	complexo	indivíduos em posição frontal um em relação ao outro com as cabeças em paralelo	cabeças próximas e sem alteração da distância entre elas	par

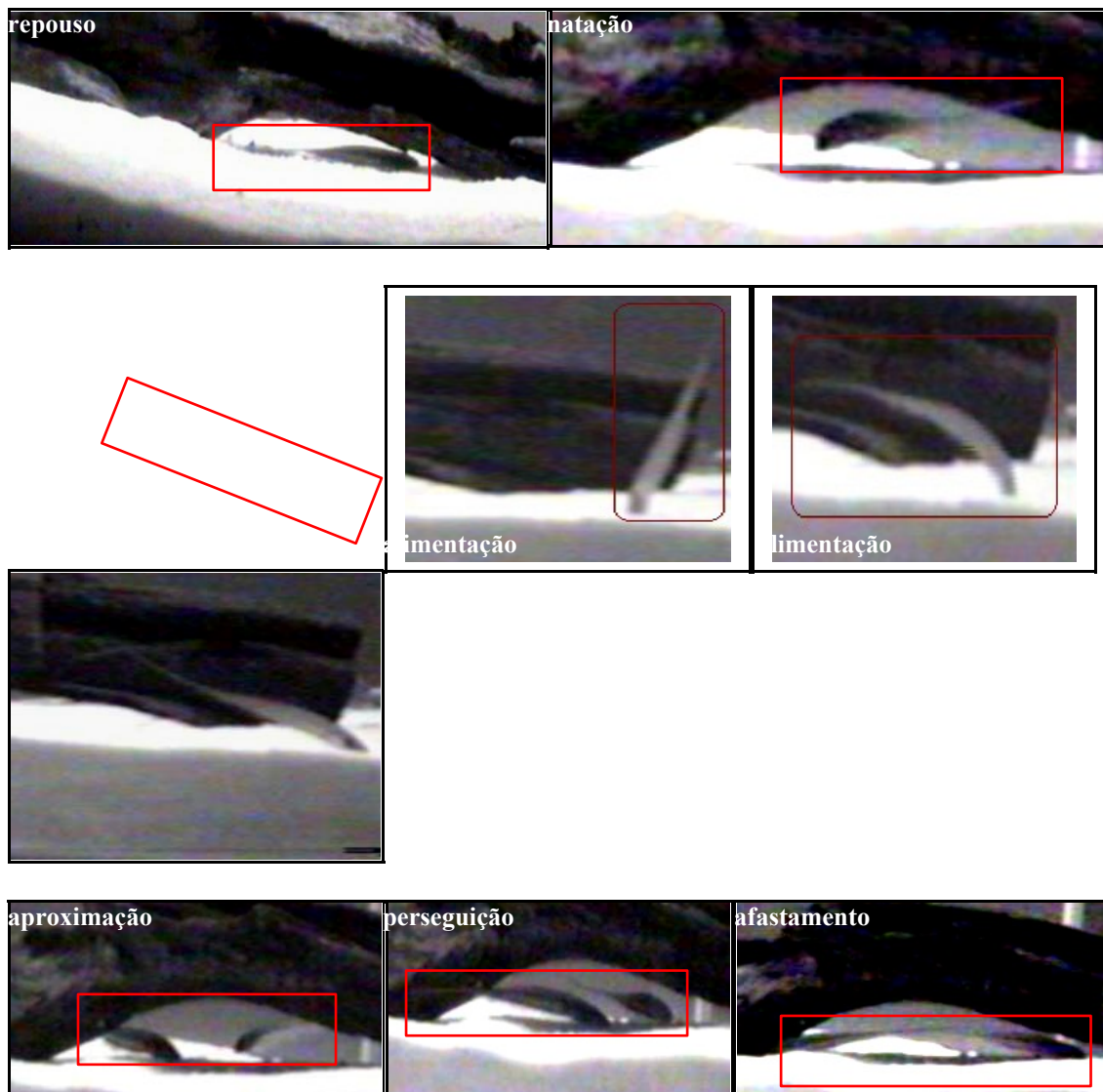


Figura 19. Fotos representativas das unidades comportamentais definidas para os pares analisados durante este trabalho, destacadas a vermelho.

Na figura 19 encontram-se representados alguns exemplos de registros visuais, captados durante a noite, do comportamento locomotor dos indivíduos e que forneceram as informações básicas para a definição das seis unidades comportamentais qualitativas, independentes e não ambíguas encontradas antes e durante a maturação sexual. Depois de devidamente identificadas, para cada uma delas, foi feita a caracterização da frequência instantânea da DOE de cada um dos indivíduos envolvidos.

3.2. Caracterização da descarga do órgão elétrico de *Microsternarchus cf. bilineatus*

De acordo com a análise dos registros elétricos obtidos durante as gravações circadianas para cada um dos 12 indivíduos sobreviventes do grupo experimental inicial de 17 indivíduos, foi efetuada uma caracterização da DOE para a espécie *Microsternarchus cf. bilineatus*. Em valores absolutos, para um período de 24h, a taxa de descarga variou entre 33,7Hz e 146,3Hz. Durante as 12h diurnas (das 06:30h às 18:15h), a variação da DOE foi entre 35,4Hz e 122,5Hz e durante as 12h noturnas (18:30h às 06:15h) esta variou entre 33,7Hz e 146,3Hz. A média das taxas de descarga obtidas para os 12 indivíduos amostrados num período de 24h foi de 96,1Hz com desvio padrão de 10,1Hz. Durante a fase diurna, a média das taxas de descarga foi de 84,3Hz, com desvio padrão de 12,8Hz e, durante a fase noturna, a média das taxas de descarga foi de 107,9Hz com desvio padrão de 10,9Hz (tabela 3). Pode-se verificar que a média das taxas de descarga foi maior durante a noite, mas o desvio padrão médio encontrado para a fase diurna foi superior ao desvio padrão médio encontrado durante a noite. Pode-se também verificar que os valores de desvio padrão individuais variam bastante entre os 12 indivíduos, principalmente durante a fase noturna, e que para o mesmo indivíduo o desvio padrão varia bastante ao longo de 24h, sendo maior durante o dia para a maioria dos indivíduos.

Tabela 3. Valores médios da taxa de descarga para 12 indivíduos sobreviventes do grupo experimental obtidos num período de 24h; de 12h diurnas (06:30h às 18:15h) e de 12h noturnas (18:30h às 06:15h).

Indivíduo	Média e DP(Hz)	24 HORAS	DIA	NOITE
1		86,0±22,6	86,6±19,8	85,4±25,3
2		77,4±21,5	61,4±6,3	93,3±19,4
3		93,6±22,9	78,9±22,2	108,3±11,2
4		96,1±22,1	80,2±17,9	112,1±12,7
5		99,8±20,7	86,8±19,9	112,8±10,9
6		78,7±27,7	59,6±15,0	98,1±24,1
7		104,6±21,3	90,0±19,8	119,2±9,3
8		104,6±20,8	90,8±21,3	118,5±5,3
9		103,9±16,9	92,4±16,0	115,4±7,2
10		100,0±9,3	98,7±9,7	101,4±8,9
11		106,2±8,8	100,3±7,7	112,1±4,9
12		101,7±19,2	85,6±14,5	117,8±2,8
Média e DP (Hz)		96,1±10,1	84,3±12,8	107,9±10,9

Em relação à forma de onda encontrada para este grupo, todos os indivíduos apresentaram uma descarga constituída por três fases distintas e foram analisados os parâmetros referentes: 1) à duração total do pulso; 2) à amplitude de cada fase em relação à amplitude pico-a-pico e 3) à duração de cada fase em relação à duração total do pulso (tabelas 4 e 5), através da análise dos mesmos registros elétricos utilizados na caracterização da taxa de descarga (tabela 3).

As diferenças entre os valores médios da amplitude relativa das fases I, II e III e entre os valores médios da duração relativa das fases I, II e III foram estatisticamente significativos ($P \leq 0.001$), o que comprova a existência de um pulso com três fases de amplitude e duração distintas. Assim, para um período de 24h, o valor absoluto máximo encontrado para a duração total do pulso foi de 5,7ms e o valor absoluto mínimo foi de 1,8ms, enquanto que a média do valor absoluto da duração total do pulso encontrado para esta espécie foi de $3,3 \pm 1,9$ ms.

Tabela 4. Valores relativos em percentagem da amplitude da fase I, II e III, em relação aos valores de amplitude de pico-a-pico, durante a fase diurna e a fase noturna.

Ind.	A (%)	FASE I		FASE II		FASE III	
		DIA	NOITE	DIA	NOITE	DIA	NOITE
1		54,1±2,2	48,5±2,5	48,0±2,6	54,8±2,6	5,2±1,5	6,1±2,2
2		49,5±6,2	47,2±3,1	61,7±3,3	55,6±2,3	3,3±1,0	7,2±1,6
3		44,3±0,6	45,1±2,6	64,6±1,8	62,1±8,5	6,5±3,2	6,4±1,3
4		44,8±2,6	51,6±8,3	54,4±5,1	53,4±10,5	8,2±2,0	10,3±2,4
5		45,3±2,7	42,0±9,6	61,0±7,1	56,1±11,3	6,3±1,8	6,8±2,1
6		41,4±0,5	44,0±5,9	63,4±3,1	67,5±5,9	6,9±2,4	10,1±2,3
7		39,5±0,5	48,3±8,8	60,9±6,6	58,2±10,9	7,5±3,2	12,6±4,4
8		48,4±0,8	53,9±7,3	61,3±5,8	53,6±5,6	9,2±2,1	12,1±1,8
9		41,3±1,6	41,7±4,4	60,6±5,6	66,7±8,4	11,4±4,7	11,9±3,3
10		46,5±1,3	52,2±6,7	60,7±6,4	62,3±9,3	8,2±2,0	9,7±1,9
11		45,0±1,6	39,6±4,8	58,9±2,1	66,6±7,0	12,5±4,8	13,7±2,7
12		40,9±3,6	47,7±8,9	63,8±4,0	70,4±15,0	8,8±1,8	9,2±1,7
Média e Dp (%)		45,1±4,2	46,8±4,5	59,9±4,6	60,6±6,1	7,8±2,5	9,6±2,6

Em relação aos valores relativos em percentagem da amplitude de cada fase, foram calculados os valores encontrados durante o dia e durante a noite

para cada indivíduo do grupo experimental e os desvios padrão, os valores médios diurnos e noturnos para cada fase e respectivos desvios padrão (tabela 4). A amplitude da fase I durante o dia variou entre 39,5% e 54,1% em relação à amplitude pico-a-pico e durante a noite variou entre 39,6% e 53,9%. A amplitude da fase II variou durante o dia entre 48,0% e 64,6% em relação à amplitude pico-a-pico e durante a noite entre 53,4% e 70,4%, enquanto que a amplitude da fase III variou durante o dia entre 3,3% e 12,5% e durante a noite entre 6,1% e 13,7%. A maior amplitude relativa encontrada foi a amplitude relativa da fase II, tanto de dia como de noite, enquanto que, os valores menores encontrados foram os valores de amplitude relativa diurna e noturna da fase III. Os valores de amplitude relativa média durante o dia para as fases I, II e III são menores que os valores de amplitude relativa média durante a noite, assim como os respectivos desvios padrão. O valor de desvio padrão maior foi encontrado para a amplitude relativa média da fase II (6,1%), durante a noite, enquanto que os desvios padrão encontrados durante o dia e durante a noite para as amplitudes relativas da fase I e da fase II foram semelhantes. O desvio padrão relativo à amplitude da fase I, II e III variou entre os indivíduos, tanto de dia como de noite, mas essa variação foi maior em relação à amplitude relativa da fase II durante a noite. Os indivíduos 4, 5, 7 e 12 obtiveram valores altos de desvio padrão em relação à amplitude relativa da fase I durante a noite e em relação à amplitude relativa da fase II durante a noite.

Em relação aos valores relativos em percentagem da duração de cada fase, foram calculados os valores encontrados durante o dia e durante a noite para cada indivíduo do grupo experimental, os valores médios diurnos e noturnos para a duração de cada fase e respectivos desvios padrão (tabela 5). Os valores relativos de duração obtidos para a duração da fase I durante o dia variaram entre 26,7% e 37,8% e durante a noite entre 25,9% e 46,6%. Os valores relativos em percentagem obtidos para a duração da fase II durante o dia variaram entre 15,3% e 23,5% e durante a noite entre 15,3% e 33,1%, enquanto que os valores relativos em percentagem obtidos para a duração da fase III variaram durante o dia entre 36,3% e 52,9% e durante a noite entre 40,0% e 59,0%. A duração relativa da fase III encontrada foi maior, tanto durante o dia como durante a noite, do que a duração relativa da fase I e II,

enquanto que, os valores menores encontrados foram os valores de duração relativa diurna e noturna da fase II. O desvio padrão encontrado para a duração relativa da fase I e da fase II, durante a noite, foi maior que o desvio padrão encontrado durante o dia, mas os valores superiores de desvio padrão encontrados tanto de dia como de noite são relativos à duração da fase III. É possível verificar uma variação nos valores de desvio padrão encontrados entre os indivíduos, sendo maiores em relação à duração relativa da fase I e da fase II durante a noite. Os indivíduos 1, 11 e 5 obtiveram valores mais altos de desvio padrão em relação à duração relativa da fase III durante a noite e em relação à fase I e II durante a noite, respectivamente.

Tabela 5. Valores relativos em porcentagem da duração da fase I, II e III, em relação à duração total do pulso, durante a fase diurna e a fase noturna, média e desvio padrão.

Ind.	D (%)	FASE I		FASE II		FASE III	
		DIA	NOITE	DIA	NOITE	DIA	NOITE
1		37,7±2,9	35,1±4,3	21,4±2,8	25,4±4,4	36,3±6,1	40,3±10,8
2		37,1±6,6	36,2±3,7	22,0±3,1	23,3±1,7	41,2±9,9	41,7±4,6
3		26,7±1,9	25,9±5,6	16,1±1,4	15,3±2,7	51,5±8,0	59,0±8,0
4		32,4±4,8	32,0±2,8	20,1±3,3	21,6±2,6	47,5±5,3	47,4±3,9
5		35,7±5,3	46,6±11,6	23,0±2,5	33,1±10,6	42,3±8,2	47,5±6,5
6		30,5±3,6	30,4±4,4	15,3±1,7	16,5±2,2	52,9±4,5	52,9±6,3
7		34,8±2,6	33,2±1,4	20,3±2,9	21,9±3,5	40,4±3,2	45,9±4,1
8		37,8±2,0	36,3±2,7	23,5±1,3	21,5±1,2	35,9±4,0	42,2±3,8
9		33,1±2,5	29,9±2,1	16,5±1,0	19,7±1,5	49,0±5,0	48,6±2,9
10		32,4±3,7	30,9±2,0	20,7±2,4	24,4±1,1	43,9±2,9	44,3±2,9
11		36,1±3,3	27,1±8,5	20,3±1,8	21,5±4,3	40,3±3,5	51,4±12,6
12		33,6±2,0	32,8±1,4	20,8±2,7	24,3±4,6	44,4±4,6	40,0±2,2
Média e Dp (%)		34,0±3,3	33±5,4	20,0±2,7	22,4±4,5	43,8±5,5	46,7±5,7

3.3. Análise dos padrões das DOEs

Após a descrição da DOE de *Microsternarchus cf. bilineatus*, para caracterizar e analisar o repertório eletrocomunicativo desta espécie, durante a maturação sexual, foi necessário definir os padrões elétricos demonstrados durante a fase antecedente à indução da maturação sexual para, deste modo,

obter uma situação controle possível de ser comparada com os padrões elétricos demonstrados durante a maturação sexual do grupo experimental. Os dados relativos à situação controle foram obtidos através da caracterização da atividade circadiana da DOE de 12 indivíduos anterior à fase da indução da maturação sexual e os dados relativos à maturação sexual foram obtidos através da caracterização da atividade da DOE de oito pares escolhidos aleatoriamente (três pares de sexo indeterminado; dois pares macho/fêmea; três pares fêmea/fêmea).

3.3.1. Análise da frequência instantânea durante o ciclo circadiano

Para 12 indivíduos sexualmente imaturos foi efetuado o cálculo da taxa de descarga média a partir de amostras da DOE de dois segundos de duração obtidas de 15 em 15 minutos, durante 24h. As frequências médias calculadas para períodos de dois segundos foram transformadas em percentuais da frequência máxima para cada indivíduo, padronizando-se que a maior frequência registrada para o determinado peixe correspondia a 100%. Desta forma, foi possível comparar os valores entre os indivíduos e, a partir desta normalização, computou-se a variação média da taxa de descarga, ao longo de 24h, para *Microsternarchus cf. bilineatus*, representada na figura 20.

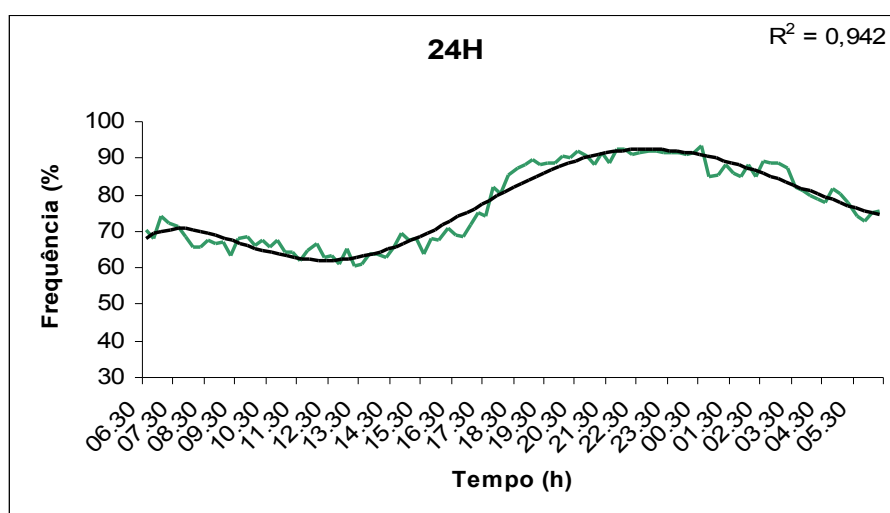


Figura 20. Gráfico da variação circadiana da frequência relativa de *Microsternarchus cf. bilineatus* ao longo de 24h, utilizando a média da taxa de descarga obtida para os 12 indivíduos amostrados, em intervalos de 15 minutos.

Segundo a figura 20, *Microsternarchus cf. bilineatus* varia a sua taxa de descarga, ao longo de 24h, de forma polinomial, cujo valor do índice de correlação foi de 0,94. Através do cálculo da diferença entre os valores médios obtidos durante o dia e obtidos durante a noite, verificou-se que existe uma diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,001$) entre estes grupos de valores. Assim, o grupo experimental apresentou um ciclo circadiano para a taxa de descarga do órgão elétrico, em que os peixes aceleram as suas taxas de descarga à noite, quando estão ativos, geralmente forrageando. Os valores da taxa de descarga durante o dia são geralmente abaixo dos 70% da taxa máxima e nos horários correspondentes à transição entre dia e noite ocorre uma variação acentuada da taxa de descarga.

Durante o ciclo circadiano da DOE de *Microsternarchus cf. bilineatus* a frequência instantânea relativa produzidas por estes organismos atinge o seu valor menor (42%) durante a fase diurna e o valor máximo (100%) durante a fase noturna. Adicionalmente, a figura 21 mostra que entre as 20:30h e a 01:30h todos os peixes amostrados tendem a manter as suas taxas de repetição em valores máximos.

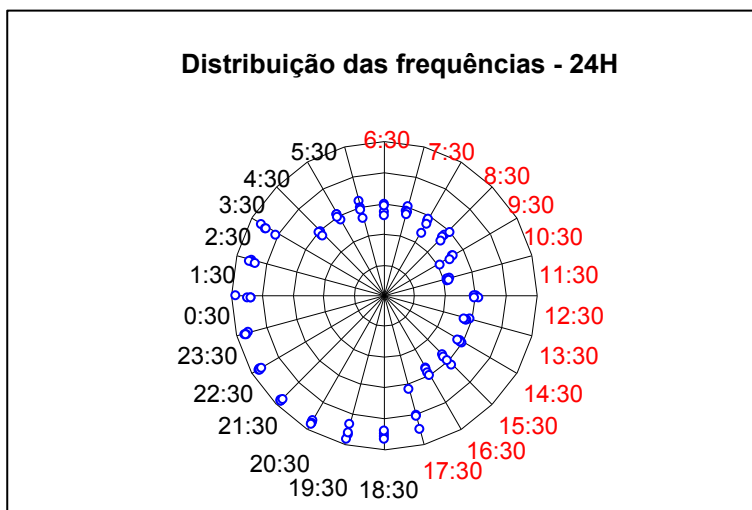


Figura 21. Distribuição, ao longo de 24h, das taxas de descarga percentuais médias, para cada hora, obtidas para os 12 indivíduos amostrados, em que as linhas concêntricas representam a frequência em percentagem, em intervalos de 20%.

A figura 22 mostra que os valores máximos de desvio padrão para a variação circadiana da taxa de descarga foram obtidos durante o dia (valor mínimo de 13% e valor máximo de 21%), porém, a variação do desvio padrão é maior durante a noite (valor mínimo de 5% e valor máximo de 19%).

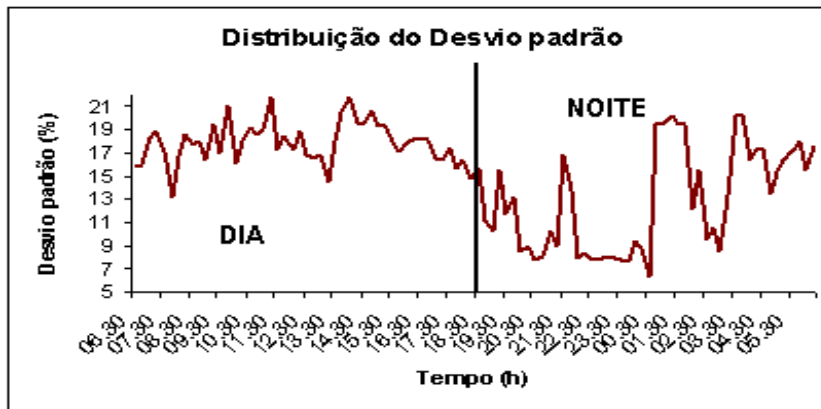


Figura 22. Distribuição do desvio padrão médio da taxa de DOE de *Microsternarchus cf. bilineatus* ao longo de 24h.

3.3.2. Caracterização da forma de onda durante o ciclo circadiano

Pela disposição dos eletrodos e do volume do aquário utilizado durante as gravações individuais assume-se que a duração e amplitude relativas de cada fase não variaram significativamente com a variação da posição do peixe em relação ao par de eletrodos. Assim, ao comparar as medições feitas das amplitudes relativas de cada fase do pulso durante o horário noturno e o horário diurno (figura 23 A), não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Em relação à questão temporal, a razão entre dia e noite para a duração total do pulso foi de 0,96, indicando a ausência de variação significativa circadiana para este parâmetro. Também não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a duração relativa de cada fase do pulso, entre dia e noite (figura 23 B).

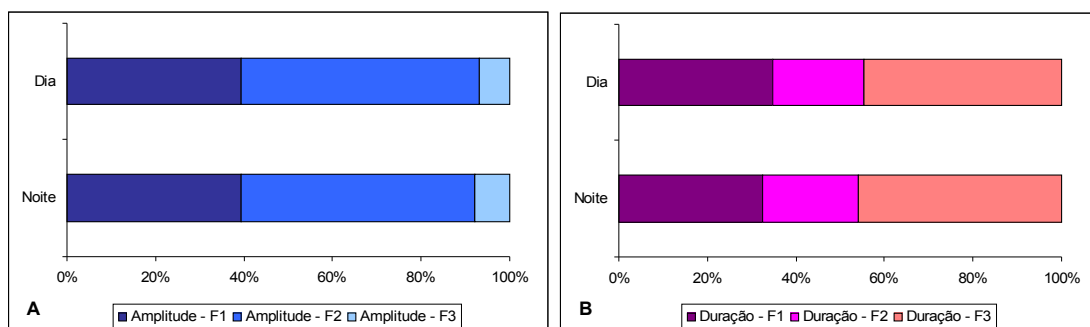


Figura 23 A e 23 B. Gráficos da amplitude e duração relativa da fase I, II e III de *Microsternarchus cf. bilineatus*.

Entretanto, ao analisar a razão entre as amplitudes relativas das diferentes fases, verifica-se que a razão entre a amplitude da fase I e a amplitude da fase III durante a noite corresponde a 77% da razão entre a amplitude da fase I e da amplitude da fase III durante o dia, assim como a razão entre a amplitude da fase II e a amplitude da fase III durante a noite corresponde a 76% da razão entre a amplitude da fase II e da amplitude da fase III durante o dia. Visto que os valores obtidos para a amplitude relativa da fase III foram superiores durante a noite (tabela 4), a relação encontrada entre as diferentes fases significa que a amplitude da fase III varia em função da luminosidade. A razão entre as amplitudes das fases I e II não se altera durante 24h, assim como a razão entre a duração de cada uma das três fases (figura 24).

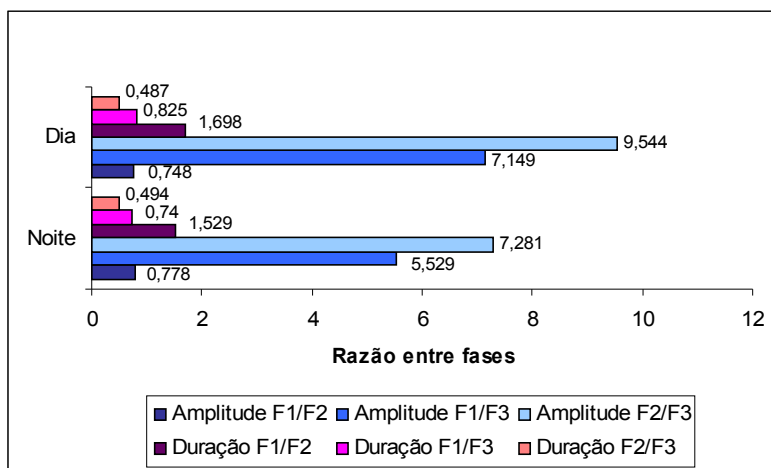


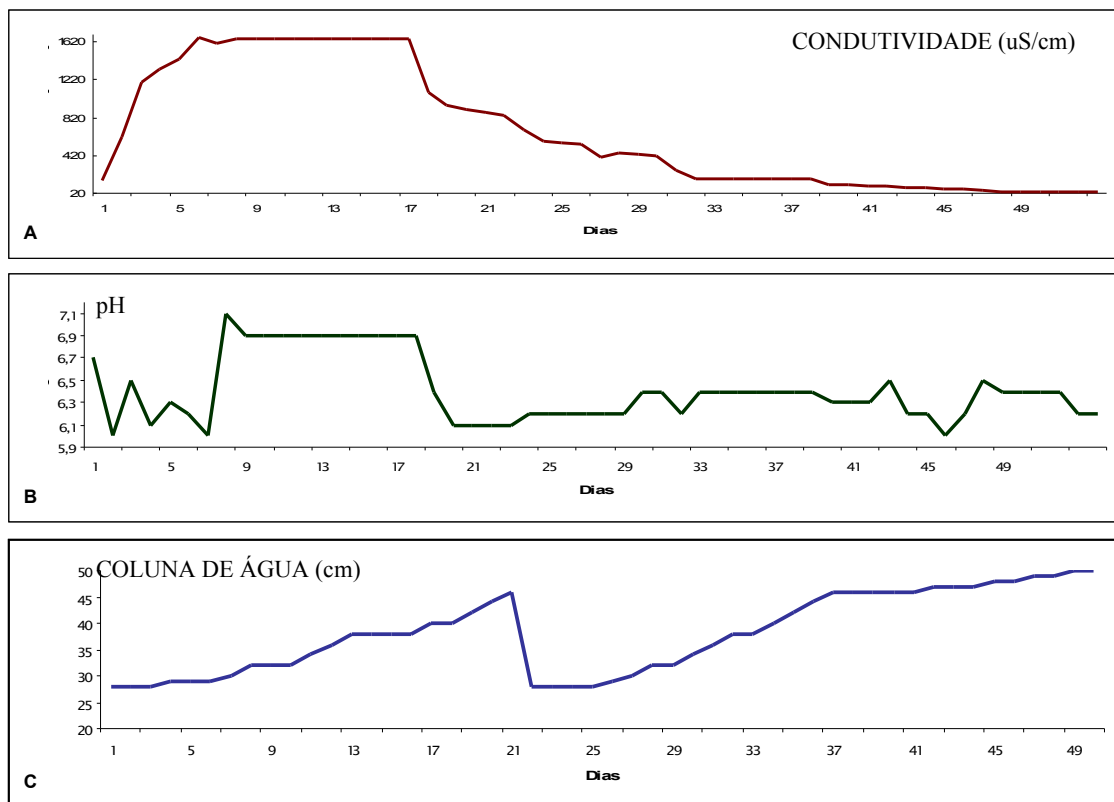
Figura 24. Gráfico da razão entre as amplitudes relativas e as durações relativas das fases I, II e III para *Microsternarchus cf. bilineatus*.

3.4. Análise dos registros das DOEs para cada unidade comportamental durante a maturação sexual

3.4.1. Indução da maturação sexual

Durante 50 dias foram monitorados os parâmetros físico-químicos nos diferentes aquários experimentais, representados nas figuras 25 A, B e C, de modo a simular a transição entre a estação da seca e estação das chuvas.

Assim, segundo Kirschbaum (1979) e Adámek & Flajshans (1992), através da adição de sulfato de magnésio a condutividade da água foi aumentada até a um ponto inicial de 1620 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dando-se início à estação da seca que foi mantida durante 18 dias. Após este período de tempo, iniciou-se a simulação do período da cheia com a adição gradual de água destilada, o que provocou uma diminuição gradual da condutividade até 35 $\mu\text{S}/\text{cm}$, após 23 dias a partir do fim da estação seca e, igualmente, um aumento gradual da coluna de água e conseqüente pressão hidrostática. Durante este período a oferta de alimento foi abundante para garantir um consumo “ad libitum” dos indivíduos no aquário. Após nove dias a uma condutividade de 35 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e volume máximo de água, foi finalmente observada a maturação sexual das fêmeas existentes do mesmo grupo de 12 indivíduos que foi amostrado durante a caracterização da atividade circadiana da DOE (figura 26). A partir daí, foi efetuada a gravação da DOE de oito pares aleatórios de indivíduos, com reposição. O valor mínimo de condutividade (20 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e máximo de coluna de água (50 cm) foram mantidos até ao final da fase experimental e, durante a simulação os valores de pH oscilaram entre 6,1 e 7.



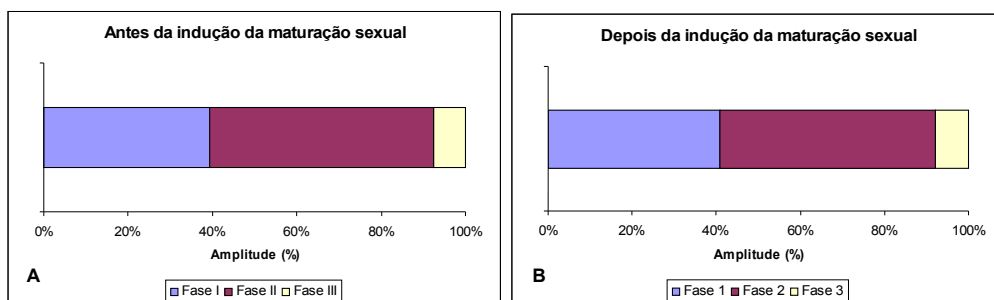
Figuras 25 A, B e C. Variação da condutividade, pH e coluna de água ao longo da fase de indução da maturação sexual.



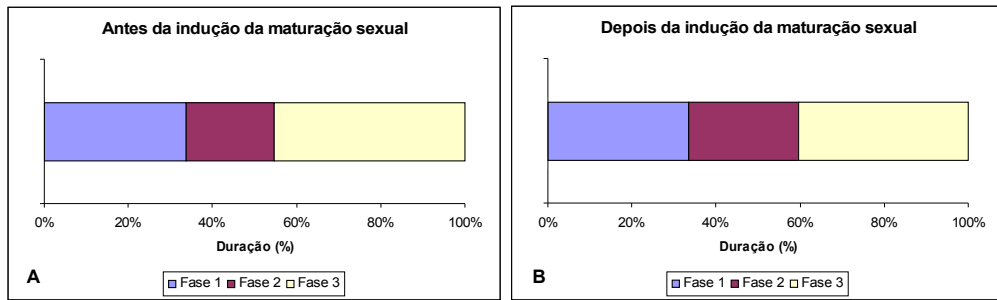
Figura 26. Fotos de uma fêmea ovada pertencente ao grupo experimental e de dois dos seus ovos com escala em milímetros.

3.4.2. Averiguação da existência de dimorfismo sexual nas DOEs

Pela disposição dos eletrodos e do volume do aquário utilizado durante as gravações individuais assume-se que a duração e amplitude relativas de cada fase não variaram significativamente com a variação da posição do peixe em relação ao par de eletrodos. Assim, ao comparar as medições feitas da amplitude relativa e duração relativa das três fases, utilizando os registros elétricos obtidos para 12 indivíduos durante 24 horas de gravação, antes da indução da maturação sexual, e as medições feitas da amplitude relativa e duração relativa das três fases para sete indivíduos (cinco fêmeas e dois machos) utilizando os registros elétricos efetuados depois da indução da maturação sexual e apenas durante a noite, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre estes dois grupos, (figura 27 A e B), exceto entre a amplitude relativa da fase III ($P=0.029$).

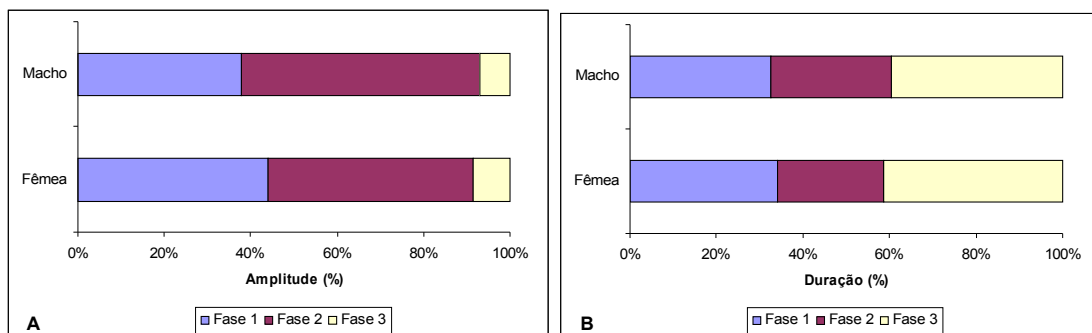


Figuras 27 A e B. Gráficos da média da amplitude relativa das fases I, II e III antes da maturação sexual ($n=12$) e depois da maturação sexual ($n=7$).



Figuras 28 A e B. Gráficos da média da duração relativa das fases I, II e III antes da maturação sexual (n=12) e depois da maturação sexual (n=7).

Ao analisar as medições feitas da amplitude relativa e duração relativa das três fases para as cinco fêmeas e os dois machos em separado, depois da indução da maturação sexual encontrou-se diferença estatisticamente significativa apenas entre a duração relativa da fase I ($P=0.04$). As fêmeas apresentaram uma amplitude relativa da fase I 6% maior do que a encontrada para os machos (figuras 29 A e B).



Figuras 29 A e B. Amplitude e duração relativas das fases I, II e III de machos e fêmeas depois da maturação sexual.

Em relação à taxa de descarga média observada durante a noite para machos e fêmeas, nota-se que todas as fêmeas analisadas apresentaram uma taxa de descarga média cerca de 10 Hz inferior à taxa de descarga dos machos (tabela 6).

Tabela 6. Valores médios da taxa de descarga e respectivos desvios padrão, analisados durante a noite, para cinco fêmeas e dois machos.

Sexo	Taxa de descarga	Desvio padrão
Fêmea	77,4	21,5
Fêmea	78,7	27,7
Fêmea	93,6	22,9
Fêmea	100,0	9,3
Fêmea	101,7	19,2
Macho	103,9	16,9
Macho	104,6	21,3
Média e DP (Hz)	Fêmea 90,3±11,6	Macho 104,3±0,5

Entretanto, ao analisar a razão entre as amplitudes relativas das diferentes fases entre machos e fêmeas (figura 30), verifica-se que a razão entre a amplitude da fase I e a amplitude da fase III das fêmeas corresponde a 85% da razão entre a amplitude da fase I e da amplitude da fase III dos machos, e principalmente, a razão entre a amplitude da fase II e a amplitude da fase III das fêmeas corresponde a 67% da razão entre a amplitude da fase II e da amplitude da fase III dos machos. A relação encontrada entre as diferentes fases mostra que a amplitude relativa da fase III das fêmeas é superior à amplitude relativa da fase III dos machos.

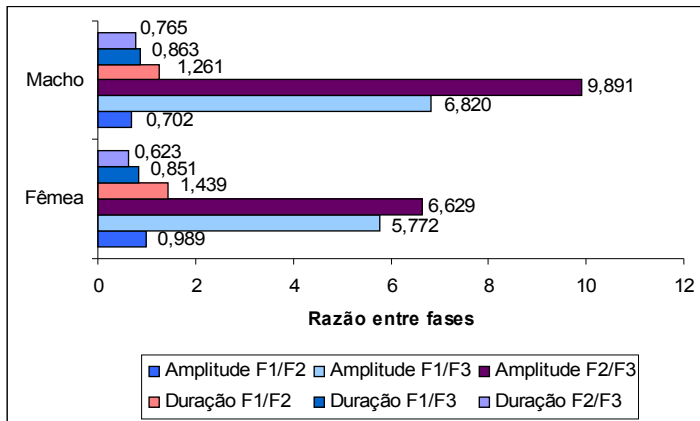


Figura 30. Gráfico da razão entre as amplitudes e as durações das fases I, II e III após a maturação sexual

3.4.3. Análise dos registros comportamentais e das DOEs dos pares

Foram analisadas as médias das taxas de descarga de oito pares escolhidos aleatoriamente calculadas a partir de amostras de frequência instantânea de 30 segundos obtidas de cinco em cinco minutos, durante três horas de observação direta. Nas figuras 31, 32 e 33, estão representados os resultados obtidos para três pares representativos de registros comportamentais antes e depois da indução da maturação sexual e que foram escolhidos para análise por apresentarem a maioria das unidades comportamentais descritas neste trabalho.

O par amostrado antes da indução da maturação sexual (figura 31), não mostrou uma relação clara entre possíveis modulações da DOE (acelerações, decréscimos ou interrupções da taxa de descarga) e relações de dominância, submissão ou agressividade. No entanto, durante todo o período de observação, no caso em que o par era constituído por uma fêmea e um macho (figura 32), o macho apresentou uma taxa de descarga superior à taxa de descarga da fêmea. Por sua vez, quando o par era constituído por duas fêmeas (figura 33), a fêmea que se encontrava no abrigo ou numa zona bastante próxima, apresentou, na maioria das vezes, uma taxa de descarga superior à taxa de descarga da fêmea que ocupava as áreas desprotegidas do aquário,

provavelmente indicando que as relações de dominância e submissão são relacionadas com a taxa de repetição. O par formado por um casal, tanto o macho como a fêmea, apresentaram taxas de descarga mais constantes ao longo do tempo, enquanto que o par formado por duas fêmeas apresentou um aumento progressivo da taxa de descarga ao longo do tempo. Já o par registrado antes da indução da maturação sexual foi o que apresentou taxas de descarga com maiores oscilações ao longo do tempo.

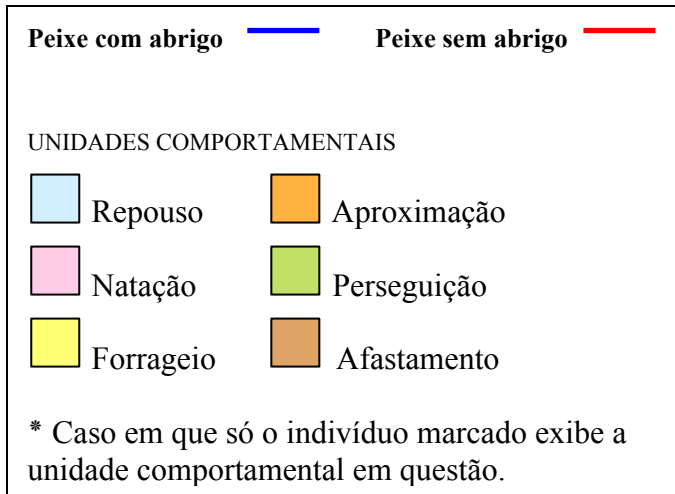
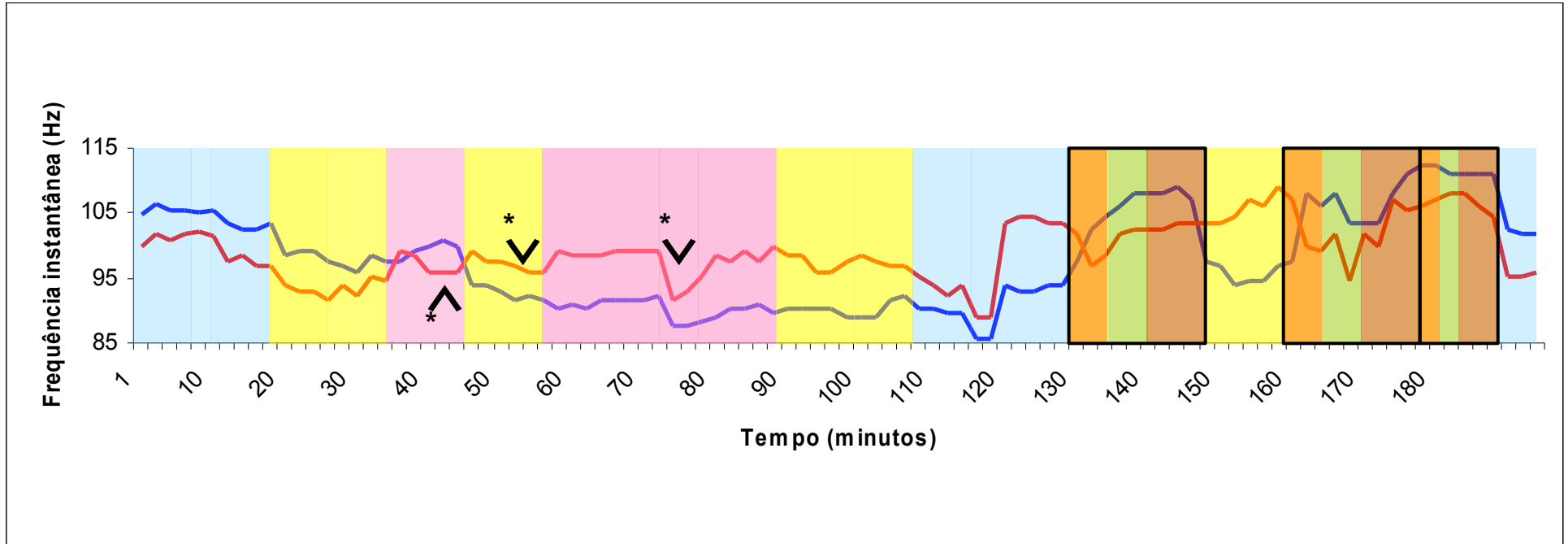


Figura 31. Gráfico da variação da frequência em Hz do par amostrado antes da indução da maturação sexual, ao longo de três horas de observação direta.

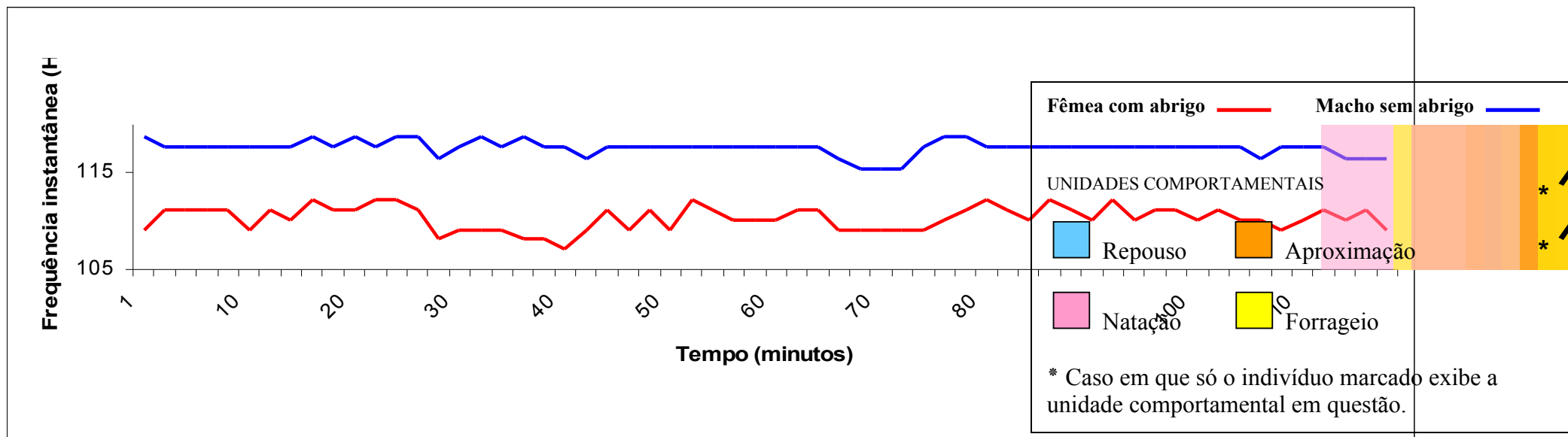
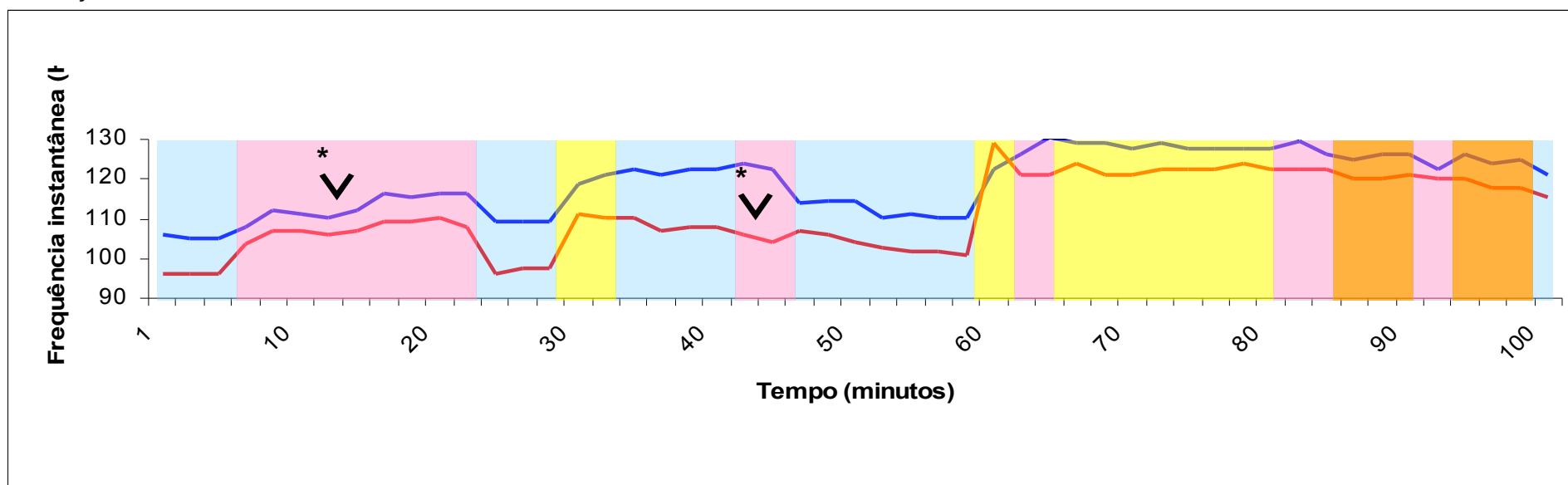


Figura 32. Gráfico da variação da frequência em Hz do par amostrado após a indução da maturação sexual, constituído por um casal, ao longo de três horas de observação direta.



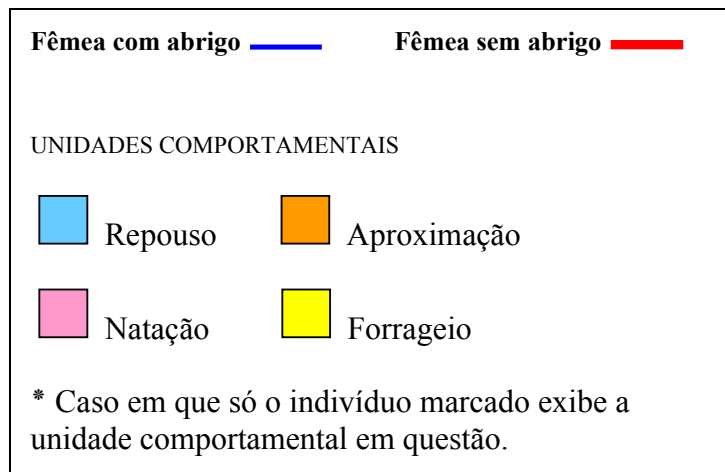


Figura 33. Gráfico da variação da frequência em Hz do par amostrado após a indução da maturação sexual, constituído por duas fêmeas, ao longo de três horas de observação direta.

De modo a analisar os padrões da taxa de descarga do órgão elétrico amostrados em conjunto com as unidades comportamentais descritas neste trabalho, foram escolhidos registros de imagens e gravações das DOEs de 10, 20 e 40 segundos de duração, associados à identificação de comportamentos motores e elétricos. Foram efetuados cálculos da frequência instantânea dos dois indivíduos, durante o intervalo de tempo correspondente à unidade comportamental identificada. Assim, para os oito pares gravados foram analisados trechos de 40 segundos em que os indivíduos se encontravam em repouso; trechos de 10 segundos em que os indivíduos se encontravam em alimentação e em natação e, em três pares (dois pares fêmea/fêmea e um par de sexo indeterminado) foram analisados trechos de 20 segundos em que os indivíduos demonstraram interação entre eles (aproximação; perseguição e afastamento).

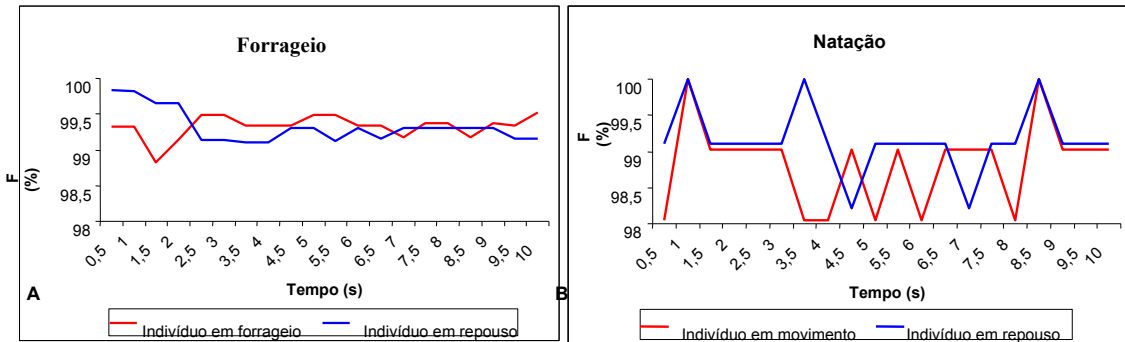
Na tabela 7, comparando-se os três pares gravados antes da indução da maturação sexual com os cinco pares gravados após a indução da maturação sexual, para a unidade comportamental de repouso, verifica-se que em 100% dos casos é o indivíduo que possui a taxa de descarga instantânea superior que permanece no abrigo ou áreas próximas. É possível estabelecer uma relação entre taxa de descarga maiores com comportamentos de defesa de território e dominância. Só quando o par se tratou de um casal é que o indivíduo que possuía a taxa de descarga instantânea menor permaneceu no abrigo, que neste caso se tratava da fêmea. Assim, para os pares nº 4 e 5, a fêmea possuía uma taxa de descarga média inferior à do macho cerca de 6,4Hz.

Tabela 7. Frequências médias de cada indivíduo durante as três horas de observação de cada par.

Frequência (Hz)	Par 1	Par 2	Par 3	Par 4 M/F	Par 5 M/F	Par 6 F/F	Par 7 F/F	Par 8 F/F
Com abrigo	103,5	108,1	116,5	111,1 (F)	110,1 (F)	114,3	113,2	120
Sem abrigo	100	99,2	94,5	117,7 (M)	114,3 (M)	108,1	108,1	114,3

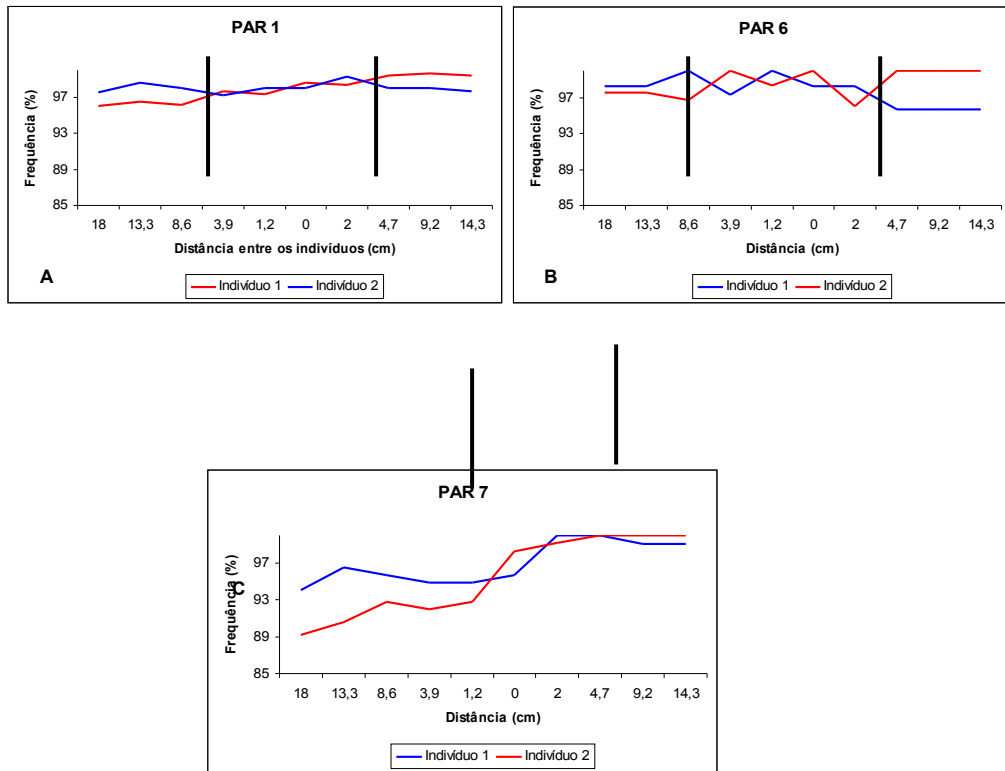
Durante o forrageio, os indivíduos mantêm as suas taxas de descarga constantes e elevadas, cujos valores oscilam pouco em torno do valor máximo

que conseguem atingir. O padrão obtido para a taxa de descarga quando o indivíduo se encontra em natação, é muito semelhante ao padrão obtido durante o forrageio, ou seja, os indivíduos mantêm as suas frequências bastante altas, mas com oscilações maiores em torno do valor máximo do que aquelas encontradas durante o forrageio (figura 34 A e B).



Figuras 34 A e B. Gráficos das frequências relativas obtidas para os oito pares observados durante 10 segundos, para a unidade comportamental de forrageio e de natação.

Quando ocorre interação direta entre os indivíduos, foi observado que esta unidade comportamental poderia ser dividida em três categorias diferentes (aproximação, perseguição e afastamento), devido às diferenças encontradas nos padrões locomotores e elétricos demonstrados pelos peixes. Assim, em registros de 20 segundos, foi possível observar que o indivíduo com uma taxa de descarga inferior (vermelho), à medida que se aproxima do indivíduo com a taxa de descarga superior (azul), vai aumentando a sua frequência até esta coincidir ou ultrapassar a frequência do outro indivíduo. Após uma fase de confronto mútuo de alguns segundos em que as taxas de descarga se cruzam várias vezes, os indivíduos afastam-se fisicamente e a relação entre as frequências dos dois volta ao estado inicial, em que o indivíduo com uma taxa de descarga mais elevada mantém-se posicionado no abrigo (figuras 35 A, B e C). No entanto, esta unidade comportamental nunca foi observada para os pares constituídos por macho/fêmea (Par nº 4 e nº 5).



Figuras 35 A, B e C. Gráficos das frequências relativas obtidas para três pares observados durante 20 segundos, para as unidades comportamentais de aproximação (à esquerda da primeira barra), perseguição (entre as duas barras) e afastamento (à direita da segunda barra).

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A realização de um estudo sobre o comportamento durante o período reprodutivo de organismos, como os peixes elétricos de água doce, implica uma série de dificuldades devido à semelhança física entre os indivíduos e à ineficácia de identificar características únicas e mesuráveis capazes de separar os indivíduos. Além do mais, devido ao stress inerente à manutenção destes organismos em cativeiro e à dificuldade em manipular todas as condições laboratoriais, só foi possível atingir a maturação sexual dos indivíduos, ou seja, não foi observado comportamento de cortejo, acasalamento ou desova.

Com os resultados obtidos durante este trabalho foi possível fazer uma caracterização da taxa de descarga de *Microsternarchus* cf. *bilineatus*. Assim, ficou claro que os organismos coletados possuem uma descarga elétrica do tipo pulso, constituída por três fases distintas, diferente da DOE bifásica descrita para a única espécie do gênero (*Microsternarchus bilineatus*) e que sugere a presença de um órgão elétrico acessório no grupo experimental, não existindo referências sobre tal para este gênero (Fernández-Yépez, 1968; Mago-Leccia, 1976, 1994; Reis, 2003). Deste modo, levando em consideração a propriedade específica da forma da onda da DOE dos peixes elétricos de água doce, não se pode assumir que o grupo estudado pertence a esta espécie, sendo necessário efetuar análises morfológicas e moleculares posteriores para inferir se a forma de onda da DOE da espécie foi inicialmente mal descrita ou se esta se trata de uma nova espécie (Hopkins & Heiligenberg, 1978; Kramer & Kirschbaum, 1981; Moller, 1995; Hopkins, 1999; Alves-Gomes, 1995; Albert, 2001).

Este grupo apresentou uma taxa de descarga com uma variação individual diária bastante elevada (entre 33,7Hz e 146,3Hz), o que indica que nos períodos de inatividade, que correspondem principalmente à fase diurna do dia, o órgão elétrico produz descargas em intervalos de tempo maiores do que durante os períodos de atividade do organismo (durante a noite) em que as taxas de descargas são mais elevadas e mais constantes.

Em relação à constituição da forma de onda encontrada para este grupo, depois de analisar a amplitude e duração de cada fase foi possível concluir que, apesar das variações observadas entre os indivíduos e também no mesmo indivíduo, as três fases apresentam valores diferentes em relação a estes parâmetros. A fase III possui em média a menor amplitude relativa observada, enquanto que as fases I e II possuem amplitudes semelhantes, o que é compatível com as propriedades fisiológicas do órgão elétrico principal e a possível presença de um órgão elétrico acessório, em que a excitação membranar corresponde à fase positiva (fase I) seguida de uma fase negativa (fase II) correspondente à inibição dos canais iônicos (Carr & Maler, 1986; Franchina & Stoddard, 1998).

A frequência da DOE *Microsternarchus cf. bilineatus* apresenta uma variação circadiana que pode ser interpretada como uma aceleração das taxas de descarga durante a noite, quando estão ativos, geralmente forrageando, diminuindo drasticamente durante o dia quando se encontram em repouso. Nos momentos correspondentes à transição entre dia e noite verifica-se que a variação da frequência é mais acentuada, o que corresponde à transição entre a fase ativa do comportamento e a fase inativa. Além do mais, a distribuição da frequência é mais constante e com taxas máximas entre as 20:30 e a 01:30, o que sugere que durante este período do dia, estes organismos realizam a maior parte das suas atividades (alimentação, reconhecimento de território e interação social), enquanto que durante o resto do dia limitam a sua atividade ao repouso depois de encontrado um local de abrigo, que possivelmente se refere a uma estratégia de defesa contra predadores Stoddard, 1999; Zupanc *et al.*, 2001).

Em relação à existência de diferenças na forma de onda da DOE durante o dia e durante a noite, observou-se que não existem diferenças significativas entre as amplitude da fase I e II e duração da fase I, II e III produzidas durante o dia e durante a noite, mas a amplitude da fase III em relação à amplitude das outras duas fases varia consoante a luminosidade (amplitude relativa da fase III com valores superiores durante o período noturno), o que pode indicar um funcionamento diferente, ao longo de 24 horas, de um possível órgão elétrico acessório.

Por se ter conseguido induzir a maturação sexual do grupo experimental foi verificada a existência ou não de dimorfismo sexual da DOE através de uma comparação da forma de onda de indivíduos sexualmente imaturos e sexualmente maduros e uma análise da forma da onda de machos e fêmeas em separado. Assim, após a indução da maturação sexual, verifica-se que a amplitude relativa da fase III e a duração relativa da fase I das fêmeas são superiores à amplitude relativa da fase III e duração da fase I dos machos. Em média, a taxa de repetição dos machos foi sempre superior das fêmeas. Estes resultados sugerem a presença de mecanismos hormonais sexuais que influenciam o formato da onda da DOE e que podem ter importância na fase inicial da reprodução, como por exemplo, na identificação e estimulação sexual do parceiro (Hopkins, 1972; Sargent *et al.*, 1998). Estes resultados podem também indicar que existem diferenças morfológicas entre os eletrócitos e disposição espacial do órgão elétrico de machos e fêmeas, produzindo potenciais de ação diferentes e estimulação de diferentes classes de eletroreceptores interligados anatomicamente com centros cerebrais de controle hormonal, que por sua vez influenciam a maturação sexual (Kawasaki & Heiligenberg, 1987; 1989; Metzner, 1999).

Depois da análise conjunta dos padrões elétricos e motores demonstrados pelos oito pares amostrados, antes e após a maturação sexual, foi possível associar a taxa de descarga do órgão elétrico de cada indivíduo com comportamentos de defesa de território, agressividade, dominância e submissão, já que foi possível estabelecer uma relação clara entre o indivíduo que apresentava uma taxa de descarga superior com a defesa do único abrigo existente no aquário (Black-Cleworth, 1970; Hagedorn, 1986; Chaval, 2003). Quando os dois se encontravam em repouso, o indivíduo que adotava um comportamento de submissão, por vezes apresentava uma taxa de descarga superior ao indivíduo dominante. Estas observações podem representar um maior investimento na eletrolocalização associado a um certo estado de alerta devido ao estado espacial mais vulnerável do indivíduo submisso. Aliás, sempre que foi registrado uma interação direta entre os dois indivíduos observou-se que os valores máximos das taxas de descarga de ambos alternavam até que ocorria um afastamento e era restituído o estado inicial de dominância. Quando o par era constituído por um macho e uma fêmea,

verificou-se que o macho defendia o território do casal, ficando em alerta, enquanto que a fêmea se mantinha no abrigo, exibindo sempre uma taxa de descarga inferior à taxa de descarga do macho (Hopkins, 1988; 1999; Kirschbaum & Schugardt, 2002).

Durante a alimentação e natação, os indivíduos apresentaram taxas de descarga com pequenas oscilações em torno dos valores máximos que cada um podia produzir, o que indica a presença e o funcionamento do sistema de localização elétrica através de um investimento energético na produção de um campo eletromagnético vinculado a uma forte atividade motora, para a recepção e interpretação dos sinais elétricos produzidos pelo organismo (Bullock *et al.*, 1969; Bullock, 1974; Bass, 1986).

Através dos resultados obtidos durante a realização deste trabalho é possível concluir que a diversidade específica do gênero *Microsternarchus* encontra-se subestimada, o que reforça a idéia da existência de um desconhecimento sobre a quantidade de espécies de peixes elétricos de água doce adaptadas às diferentes condições ambientais exibidas pelo ecossistema amazônico.

Nenhum dos resultados obtidos coloca em causa a explicação adaptativa da evolução de uma DOE do tipo pulso para uma DOE do tipo onda, em que o gênero *Microsternarchus* representa a transição entre um sistema de altas frequências para um mecanismo senoidal de produção de campos elétricos, mas ainda com variações significativas entre indivíduos e no mesmo indivíduo. Além do mais, os valores elevados de desvio padrão encontrados para a forma de onda (amplitude e duração relativas das três fases), indicam a possível existência de diferentes modulações da forma de onda de machos e fêmeas, que poderão ser encontradas durante o acasalamento e cortejo. Estas modulações deverão ser encontradas durante o período noturno, já que os desvios padrão diurnos, para todos os parâmetros da forma de onda analisados durante este trabalho, sofreram sempre um aumento durante a fase noturna.

As diferenças encontradas entre os diferentes parâmetros eletromotores estudados a nível intrapopulacional mostram que, o Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial dos peixes elétricos de água doce representa diversos papéis na comunicação social entre indivíduos de uma mesma espécie, possíveis de

analisar através da detecção de diferenças, por vezes subtis, em diversas características da descarga do órgão elétrico produzida durante as várias fases do ciclo de vida, sendo a modalidade de percepção mais importante para estes organismos.

Para o futuro, seria interessante alargar o estudo do comportamento reprodutivo exibido pelos peixes elétricos de água doce de modo a obter um melhor entendimento sobre o funcionamento e evolução do Sistema Eletrogênico e Eletrosensorial em fases mais avançadas do que apenas a maturação sexual, o que, em simultâneo, significaria numa procura, no ambiente natural, de informações acerca da ecologia básica deste grupo.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adámek, Z.; Flajshans, M. 1992. Cyclic reproduction of tropical freshwater fishes: comparative experimental aspects. *Proceedings of the scientific conference fish reproduction*. Vodnany, Checoslovaquia. 115-123 p.
- Albert, J. S. 2001. *Species diversity and phylogenetic systematics of american knifefishes (Gymnotiformes, Teleostei)*. Miscellaneous Publications. Museum of Zoology, University of Michigan, nº 190. 127pp.
- Albert, J. S.; Crampton, G. R. 2003. Family Hypopomidae. *In*: Org: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, Jr, C. J.. 2003. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS.
- Alcock, J. 1979. *Animal behavior – an evolutionary approach*. Second Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 532 pp.
- Alves-Gomes, J. A.; Ortí, G.; Haygood, M.; Heiligenberg, W.; Meyer, A. 1995. Phylogenetic analysis of the south american electric fishes (Order Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: a synthesis base on morphology, electrophysiology and mitochondrial sequence data. *Mol. Biol. Evol.* 12(2). 298-318 p.
- Alves-Gomes, J. A. 1997. Informações preliminares sobre a bio-ecologia de peixes elétricos (Ordem Gymnotiformes) em Roraima. *In*: Ed: Barbosa, R. I.; Ferreira, E. J. G.; Castellón, E. G. 1997. *Homem, ambiente e ecologia no estado de Roraima*. Inpa. Manaus. 509-557 p.
- Alves-Gomes, J. A. 2001. The evolution of electroreception and bioelectrogenesis in teleost fish: a phylogenetic perspective. *J. Fish Biology*, 58, 1489-1511.
- Bass, A. H. 1986. Electric organs revisited: evolution of a vertebrate communication and orientation organ. *In*: Ed: Bullock, T. H.; Heiligenberg,

- W. 1986. *Electroreception*. Wiley-Interscience publication. New York. 13-71 p.
- Bell, C. C.; Szabo, T. 1986. Electroreception in mormyrid fish: central anatomy. *In*: Ed: Bullock, T. H.; Heiligenberg, W. 1986. *Electroreception*. Wiley-Interscience publication. New York. 375-421 p.
- Black-Cleworth, P. 1970. The role of electrical discharges in the non-reproductive social behavior of *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Pisces). *In*: Ed: Cullen, J. M.; Beer, C. G. 1970. *Animal Behavior Monographs*. Vol. 3. 77 pp.
- Bradford, M. R. 1986. African knifefishes: the xenomystines. *In*: Ed: Bullock, T. H.; Heiligenberg, W. 1986. *Electroreception*. Wiley-Interscience publication. New York. 453-464 p.
- Bullock, T. H.; Fernandes-Souza, N.; Graf, W.; Heiligenberg, W.; Langner, G.; Meyer, D. L.; Pimentel-Souza, F.; Scheich, H.; Viancour, T. A. 1969. *Aspectos do uso da descarga do órgão elétrico e eletorrecepção nos Gymnotoidei e outros peixes amazônicos*. Inpa. Manaus. 31 pp.
- Bullock, T. H. 1974. Specialized receptors in lower vertebrates. An essay on the discovery of sensory receptors and the assignment of their functions together with an introduction to electroreceptors. *In*: Fessard, A. 1974. *Handbook of sensory physiology*. III. Springer-Verlag. New York.
- Carr, C. E.; Maler, L. 1986. Electroreception in gymnotiform fish: central anatomy and physiology. *In*: Ed: Bullock, T. H.; Heiligenberg, W. 1986. *Electroreception*. Wiley-Interscience publication. New York. 319-375 p.
- Capurro, A.; Pakdaman, K.; Perrone, R.; Macadar, O. 1999. Analysis of the jamming avoidance response in the electric fish *Gymnotus carapo*. *Biol. Cybern.* 80. 269-283 p.

- Chaval, A. 2003. Despliegues locomotores y eléctricos de cortejo en *Brachyhyopomus pinnicaudatus*. Dissertação para obtenção de grau de mestre apresentada à Universidade de Montevideo, Uruguai.
- Dye, J. 1987. Dynamics and stimulus –dependence of pacemaker control during behavioral modulations in the weakly electric fish, *Apteronotus*. *Journal of Comparative Physiology A*. 161. 175-185 p.
- Fernández-Yépez, a. 1968. Contribucion al conocimiento de los peces Gymnotiformes.
- Franchina C. R.; Stoddard, P. K. 1998. Plasticity of the electric organ discharge waveform of the electric fish *Brachyhyopomus pinnicaudatus*. I. Quantification of day-night changes. *Journal of Comparative Physiology*. 183. 759-768 p.
- Hagedorn, M. 1986. The ecology, courtship and mating of gymnotiform electric fish. *In*: Ed: Bullock, T. H.; Heiligenberg, W. 1986. *Electroreception*. Wiley-Interscience publication. New York. 497-527 p.
- Heiligenberg, W. 1973. Electrolocation and jamming avoidance in a *Eigenmannia* (Rhamphichthyidae, Gymnotoidei). *J. Comp. Physiol.* 87. 137-164 p.
- Hopkins, C. D. 1972. Sex differences in electric signaling in an electric fish. *Science*. Vol. 176. 1035-1037 p.
- Hopkins, C. D.; Heiligenberg, W. 1978. Evolutionary designs for electric signals and electroreceptors in gymnotoid fishes of Surinam. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 3. 115-134 p.
- Hopkins, C. D. 1986. Behavior of Mormyridae. *In*: Ed: Bullock, T. H.; Heiligenberg, W. 1986. *Electroreception*. Wiley-Interscience publication. New York. 527-576 p.

- Hopkins, C. D. 1988. Neuroethology of electric communication. *Ann. Rev. Neurosci.* 11: 497-535 p.
- Hopkins, C. D. 1995. Convergent designs for electrogenesis and electroreception. *Current opinion in neurobiology.* 5:769-777 p.
- Hopkins, C. D. 1999. Signal evolution in electric communication. *In:* Ed: Hauser, M. D.; Konishi, M. 1999. *The design of animal communication.* M.I.T. Press. Cambridge, Massachusetts. 461-491 p.
- Kawasaki, M.; Heiligenberg, W. 1987. Individual prepacemaker neurons can modulate the pacemaker cycle of the gymnotiform electric fish, *Eigenmannia*. *J. Comp. Physiol. A.* 162: 13-21 p.
- Kawasaki, M.; Heiligenberg, W. 1989. Distinct mechanisms of modulation in a neuronal oscillator generate different social signals in the electric fish, *Hypopomus*. *J. Comp. Physiol. A.* 165: 731-741 p.
- Kirschbaum, F. 1979. Reproduction of the weakly electric fish *Eigenmannia virescens* (Rhamphichthyidae, Teleostei) in captivity. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 4, 331-355 p.
- Kirschbaum, F.; Schugardt, C. 2002. Reproductive strategies and development aspects in mormyrid and gymnotiform fishes. *Journal of Physiology.* 96. 557-566 p.
- Kramer, B.; Kirschbaum, F. 1981. Species specificity of electric organ discharges in a sympatric group of gymnotoid fish from Manaus (Amazonas). *Sensory Physiology of Aquatic Lower Vertebrates.* 195-219 p.
- Lehner, P. N. 1996. *Handbook of ethological methods.* Second Edition. Cambridge University Press. Cambridge. 672 pp.

- Lissmann, H. W. 1958. On the function and evolution of electric organs in fish. *J. Exp. Biol.* 35. 156-191 p.
- Lowe-McConnell, R. H. 1975. *Fish Communities in Tropical Freshwater*. Longman, London, 338 pp.
- Lowe-McConnell, R. H. 1987. *Ecological studies in tropical fish communities*. Cambridge Univ. Press. Cambridge. 382 pp.
- Mago-Leccia, F. 1976. *Los peces Gymnotiformes de Venezuela: un estudio preliminar para la revisión del grupo en la América del Sur*. Tesis Doctoral. Universidade Central da Venezuela. Caracas. 376 pp.
- Mago-Leccia, F. 1994. *Electric fishes of the continental waters of América*. Fundación para el desarrollo de las ciencias físicas, matemáticas y naturales. Biblioteca de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Vol. 29. Caracas. 206 pp.
- Martin, P.; Bateson, P. 1993. *Mesuring behavior – an introduction guide*. Second Edition. Cambridge University Press. Cambridge. 222 pp.
- Metzner, W. 1999. Neural circuitry for communication and jamming avoidance in gymnotiform electric fish. *J. Experimental Biology*. 202. 1365-1375 p.
- Moller, P. 1995a. A history of bioelectrogenesis. In: Moller, P. 1995. *Electric Fishes – history and behavior*. Chapman & Hall. London. 5-39 p.
- Moller, P. 1995b. Taxonomy, Zoogeography, General Ecology. In: Moller, P. 1995. *Electric Fishes – history and behavior*. Chapman & Hall. London. 427-467p.
- Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, Jr, C. J.. 2003. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS.

- Sargent, R. C.; Rush, V. N.; Wisenden, B. D.; Yan, H. Y. 1998. Courtship and mate choice in fishes: integrating behavioral and sensory ecology. *American Zoologist*. Vol. 38. 82-90 p.
- Sioli, H. 1983. *Amazônia. Fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais*. Rio de Janeiro: Editora Vozes.
- Stoddard, P. K. 1999. Predation enhances complexity in the evolution of the electric fishes signals. *Nature*. Vol. 400. 254-256 p.
- Stoddard, P. K. 2002. The evolutionary origins of the electric signal complexity. *Journal of Physiology*. Paris. 96. 485-491 p.
- Sullivan, J. P. 1997. A phylogenetic study of the neotropical hypopomid electric fishes (Gymnotiformes: Rhamphichthyoidea). Dissertação para grau de doutor submetida ao Departamento de Zoologia da Universidade de Duke, Estados Unidos.
- Zupanc, M.; Engler, G.; Midson, A.; Oxberry, H.; Hurst, L. 2001. Light-dark controlled changes in modulations of the electric organ discharge in the teleost *Apteronotus leptorhynchus*. *Animal Behavior*. 82. 1119-1128 p.