



# Estudo do comportamento do peixe de água doce *Phalloceros harpagos* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) submetido à alteração artificial do pH

**Luciano Lazzarini Wolff**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste. Colegiado de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Contato: [luciano\\_biol@yahoo.com.br](mailto:luciano_biol@yahoo.com.br)

**Lucélia Donatti**

Universidade Federal do Paraná – UFPR. Departamento de Biologia Celular. Contato: [donatti@ufpr.br](mailto:donatti@ufpr.br)

## Resumo:

Respostas comportamentais podem ser adotadas como medida compensatória à estressores ambientais, tais como a acidificação antrópica de ecossistemas aquáticos e serem, portanto, utilizadas como ferramentas avaliativas de qualidade ambiental. O objetivo deste estudo foi descrever e comparar os padrões comportamentais do peixe de água doce *Phalloceros harpagos*, submetido a um experimento de acidificação artificial. Seu repertório comportamental foi registrado por meio de etogramas, anotando-se as frequências dos comportamentos associados com os padrões motores de postura básica: motilidade, manutenção e comportamentos associados ao agonismo. Ocorreram alterações significativas do padrão comportamental exibido por *P. harpagos* quando submetido acidificação (pH = 6,0). Essas alterações se deram principalmente pela intensificação de sua motilidade, inibição de comportamentos agonísticos e pela falta de um padrão claro de ocupação da coluna d'água no aquário. Os resultados indicam que *P. harpagos*, em condições laboratoriais, é afetado pela acidificação, apresentando alterações comportamentais e possivelmente fisiológicas.

**Palavras-chave:** Comportamento animal, acidificação, mudança comportamental, respostas fisiológicas, poeciliídeos.

## Behavioral study of freshwater fish *Phalloceros harpagos* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) submitted to artificial pH change

### Abstract:

Behavioural responses might be adopted as a compensatory measure to environmental stressors, such as anthropogenic acidification of the freshwater ecosystems and are used as evaluative tools of environmental quality. The aim of this study was describe and compare the behaviours patterns of the freshwater fish *Phalloceros harpagos*, submitted to an artificial acidification experiment. Its behavioral repertory was registered in ethograms, lettering the behaviors frequency associated with the motors swimming patterns, the maintenance and aggressiveness. *P. harpagos* presented significant changes in its behavioral pattern when submitted to acidification (pH = 6.0). These changes occurred mainly by intensification of its motility, inhibiting agonistic behavior and by the lack of a clear occupation pattern in the water's column. The outcomes point out that *P. harpagos*, in laboratory conditions, is affected by the acidification, presenting behaviors changes and possibly physiological.

**Key-words:** Animal behavior, acidification, change behavior, physiological responses, poeciliid.

Como citar este artigo:

WOLFF, L. L.; DONATTI, L. Estudo do comportamento do peixe de água doce *Phalloceros harpagos* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) submetido à alteração artificial do pH. **Luminária**, União da Vitória, v.18, n. 1, p. 10-21, 2016.

## INTRODUÇÃO

O estudo do comportamento animal refere-se ao acompanhamento e descrição das atividades que norteiam a existência dos organismos, como obtenção e manipulação do alimento, corte e acasalamento, fuga de predadores e outras atividades que hierarquizam os indivíduos dentro de um contexto social (TINBERGEN, 1950; 1951; 1953; DAVIES; KREBS, 1996; DEL-CLARO, 2004). No Brasil estudos comportamentais da sua ictiofauna de água doce têm sido desenvolvidos tanto diretamente em ambientes naturais, onde as condições de transparência da água permitem (SABINO e CASTRO, 1990; SABINO, 1999; LEITÃO et al., 2007; AZEVEDO et al., 2011), quanto sob condições laboratoriais (KAWALL, 1993; BANDEIRA, 2000; GERHARDT, 2007; BROWN et al., 2012; MUKHOPADHYAY et al., 2015). Esses últimos, entretanto, associam as consequências comportamentais apresentadas, com as alterações do ambiente (*i.e.*, acidificação ou a exposição a poluentes agroindustriais).

No passado, esforços foram dedicados a pesquisas sobre os efeitos das águas ácidas em peixes, principalmente relacionados ao problema das chuvas ácidas em bacias hidrográficas com baixa capacidade de tamponamento (BROWN et al., 1981; GUNN, 1986; ÅTLAND, 1998). Atualmente, pulsos de acidificação (que ocorrem por meio do escoamento superficial) sobre ecossistemas de água doce, têm ocorrido de forma esporádica (SERRANO et al., 2008; BROWN et al., 2012), contudo, acarretando problemas comportamentais e de sobrevivência para a biota. No Brasil, entretanto, são desconhecidos estudos de comportamento de peixes de água doce sob efeitos da acidificação *in situ*, muito embora a alteração antrópica do pH de seus rios, já tenha ocorrido (*i.e.*, como visto no rio Cubatão, São Paulo, na década de 1980), ou ainda esteja ocorrendo nos dias atuais (ESTEVEZ, 1998; LARA et al., 2001). As consequências de tal fenômeno sobre as comunidades aquáticas podem ser as mais variadas possíveis. Para a ictiofauna os principais efeitos estão relacionados com os processos fisiológicos, alterando, por exemplo, as taxas de absorção e transporte de oxigênio, regula-

ção iônica e equilíbrio ácido-base (FROMM, 1980; ESTEVES, 1998).

Os peixes podem adotar diferentes comportamentos diante da redução do pH do meio, tendo como resposta a tomada de atitudes distintas da habitual (ÅTLAND, 1998; ALLIN e WILSON, 2000; KITAMURA e IKUTA, 2000). Neste sentido, comportamentos natatórios ou de sociabilidade podem ser afetados, tendo como consequência a redução nas taxas de crescimento individual, má formação do esqueleto e/ou alterações na reprodução (ÅTLAND, 1998; KITAMURA e IKUTA, 2000). Considerando a faixa etária, os ovos e os alevinos são ainda mais afetados em relação aos adultos, o que pode induzir mudanças na estruturação etária das populações naturais (ESTEVEZ, 1998; ALLIN e WILSON, 2000).

No Brasil, a despeito de sua elevada diversidade de peixes de água doce (aproximadamente 2500 espécies oficialmente descritas; BUCKUP et al., 2007), é crescente a degradação e poluição difusa de seus rios, especialmente aqueles de menor volume que abrigam espécies de pequeno porte. A acidificação de águas continentais, não deixa de ser ainda um problema ambiental, com consequências, todavia não estimadas. Utilizar, portanto, o comportamento de organismos em condições controladas de acidificação, fornece informações indiretas, que possibilitam realizar inferências sobre a qualidade ambiental do ecossistema. Neste sentido, o presente estudo teve o objetivo de avaliar, sob condições laboratoriais de redução do pH da água, o comportamento do peixe de água doce *P. barpagos*, inferindo-se sobre possíveis alterações de seus padrões comportamentais associados à nataçãõ, agressividade, fuga e perseguiçãõ.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *P. barpagos* utilizados neste estudo foram coletados em um córrego, com aproximadamente 500 m de comprimento, situado no *campus* do CEDETEG (Centro de Desenvolvimento Educacional e Tecnológico de Guarapuava – UNICENTRO, Guarapuava – PR). Esse *campus* ocupa aproximadamente 46 alqueires, possuindo áreas de campo com cultivo experimental, capoeiras com pre-

domínio de vassorão (Asteraceae) e áreas edificadas. Outros detalhes sobre o local de coleta e dos procedimentos de captura dos espécimes encontram-se em Wolff et al., (2007).

Para os estudos experimentais foram montados dois aquários de 40 litros cada (enchidos até 30 litros), designados, respectivamente de Aquário 1 (peixes experimentais) e Aquário 2 (peixes controle). Esses aquários tiveram suas águas descloradas e descansadas por 24hs e posteriormente foram equipados com aeradores, termostatos e aquecedores, os quais mantiveram as condições de oxigenação e temperatura constantes. Foram introduzidos em cada aquário, seis exemplares fêmeas do peixe *P. harpagos* (comprimento padrão médio = 3,87 cm  $\pm$  0,27 cm). Optou-se por utilizar apenas exemplares fêmeas em função de que estas foram mais abundantes nas capturas e previamente observadas em cardumes no riacho (WOLFF et al., 2007). Esses peixes permaneceram em processo de aclimação durante cinco dias, sob condições abióticas controladas, sendo a temperatura à 26 °C ( $\pm$  2 °C), o fotoperíodo de 12h claro: 12h escuro, o pH em sua neutralidade (7,0) e a aeração constante. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia com 20 fragmentos (aproximadamente 2 mm) de minhocas (Annelidae, Oligochaeta), sempre nos períodos matutino (08:00hs) e vespertino (19:00hs). Após o período de aclimação, os peixes experimentais (Aquário 1) foram submetidos à acidificação artificial. Tal acidificação foi realizada por meio de diluições sucessivas de ácido sulfúrico a 0,5 mol/L, buscando-se atingir o respectivo valor de pH 6,0. Inicialmente estabeleceu-se uma concentração de 0,001 mol/L do qual 2 ml desta solução foi acrescida em um litro de água. Desta última solução retiram-se 30 ml para serem acrescidos nos 30 litros de água colocados no aquário experimental. Ao final das diluições, a concentração final foi estabelecida em 5,0. 10<sup>-7</sup> mol/L do ácido sulfúrico para atingir o valor de pH 6,0. Os animais controle (Aquário 2) não sofreram acidificação, sendo o pH mantido em 7,0. As medidas de pH foram realizadas com o auxílio de um Kit hth® Fita Teste e monitoradas nos dois aquários ao longo do estudo. Temperatura, oxigenação e fotoperíodo foram constantes, sendo também monito-

rados por meio de um Kit Alcalon® Teste os parâmetros nitrito e nitrato, que se mantiveram abaixo de 0,2mg/l e 50mg/l, respectivamente, faixa tolerada por peixes de água doce.

O repertório comportamental estudado em *P. harpagos*, foi relacionado aos padrões motores de manutenção, e àqueles associados com o agonismo (confrontos e/ou disputas) e postura básica de motilidade, comuns entre os peixes Actinopterygii (SABINO, 1999). As descrições destes padrões, bem como as unidades comportamentais investigadas, encontram-se sumarizados na tabela 1.

As análises comportamentais foram realizadas por meio do método *ad libidum*, observando-se sem restrições os padrões comportamentais de todos os indivíduos do aquário, simultaneamente (SABINO, 1999). Nos etogramas, foram quantificados os diferentes comportamentos executados pelos peixes em períodos cronometrados de 10 minutos. Essas quantificações foram realizadas por meio de observações através de um orifício de um papel cartolina, colocadas em frente aos aquários. As observações foram repetidas três vezes (*i.e.*, manhã, tarde e noite) ao longo de dois dias, após a aclimação dos peixes. Após esse período, todos os indivíduos foram sacrificados em uma overdose do anestésico benzocaína (AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 2001) e depositados no laboratório de Zoologia da UNICENTRO. Dados da natação, agressividade, fuga e perseguição foram coletados tanto no aquário 1 (experimental) quanto no aquário 2 (controle).

Além das unidades comportamentais descritas na tabela 1, foram também registradas as frequências numéricas das respectivas posições dos indivíduos no aquário. A posição no aquário foi definida como o local na coluna d'água onde o peixe realizava manobras e nadados durante o período de observação. As três posições estudadas foram: posição de superfície (até 10 cm), posição de meio (entre 11 e 30 cm) e posição de fundo (de 31 cm até 40 cm de profundidade do aquário).

Para verificar se os padrões comportamentais *P. harpagos* são alterados devido à acidificação, primeiramente foi realizada uma análise de correspondência (AC) (MANLY, 2008), combinando-se as frequências das uni-

**Tabela 1:** Descrição, baseado em Keenleyside (1979) e Sabino (1999), dos padrões comportamentais em peixes Actinopterygii de água doce e as respectivas unidades comportamentais investigadas.

Padrão comportamental	Definição da categoria comportamental	Unidade comportamental
<b>Padrões motores de manutenção</b>	Nesse tipo de padrão há uma variedade de atitudes realizadas pelo indivíduo que, aparentemente, não possui relação com o contexto social em que o peixe vive. Incluem padrões que auxiliam o animal a manter a sua homeostasia, como, por exemplo, a alimentação e o bocejo.	Estímulo para a tomada do alimento Tomada do alimento
<b>Padrões motores associados com o agonismo</b>	São mecanismos de natureza social que visam proteger o animal contra ataques de outros animais (neste caso contra seus coespecíficos), e exercer uma posição hierárquica ou de defesa de território.	Agressividade (Boca/Boca) Agressividade (Boca/Lateral) Agressividade (Boca/Cauda) Perseguição Fuga
<b>Padrões de postura básica de motilidade</b>	Tal padrão é considerado quando o animal se desloca e movimenta as nadadeiras, principalmente as peitorais, que realizam movimentos ondulatórios suaves. Também ocorrem períodos de repouso, tanto na coluna d'água quanto no fundo do aquário em contato com o substrato.	Natação para frente Natação para trás Natação para as laterais Natação superior Natação inferior Posição estacionária Natação com mudança abrupta de direção

dades comportamentais associadas à postura básica e ao agonismo entre os indivíduos dos aquários controle e experimental.

Posteriormente, os escores dos dois primeiros eixos da AC, assim como as frequências numéricas da posição dos indivíduos no aquário, foram submetidos cada qual, a uma análise de variância (ANOVA). Para a posição no aquário, o teste de múltipla comparação de Tukey foi aplicado a *posteriori* da ANOVA para determinar quais médias das posições de fundo, meio e superfície diferiram entre si. Os pressupostos da ANOVA foram examinados por meio dos testes de *Shapiro-Wilk* para a normalidade dos dados e de *Levene's* para a homogeneidade das variâncias. Esses pressupostos e as análises de variância foram realizados no software STATISTICA versão 7.0, enquanto que a AC foi realizada no software PAST versão 2.01.

## RESULTADOS

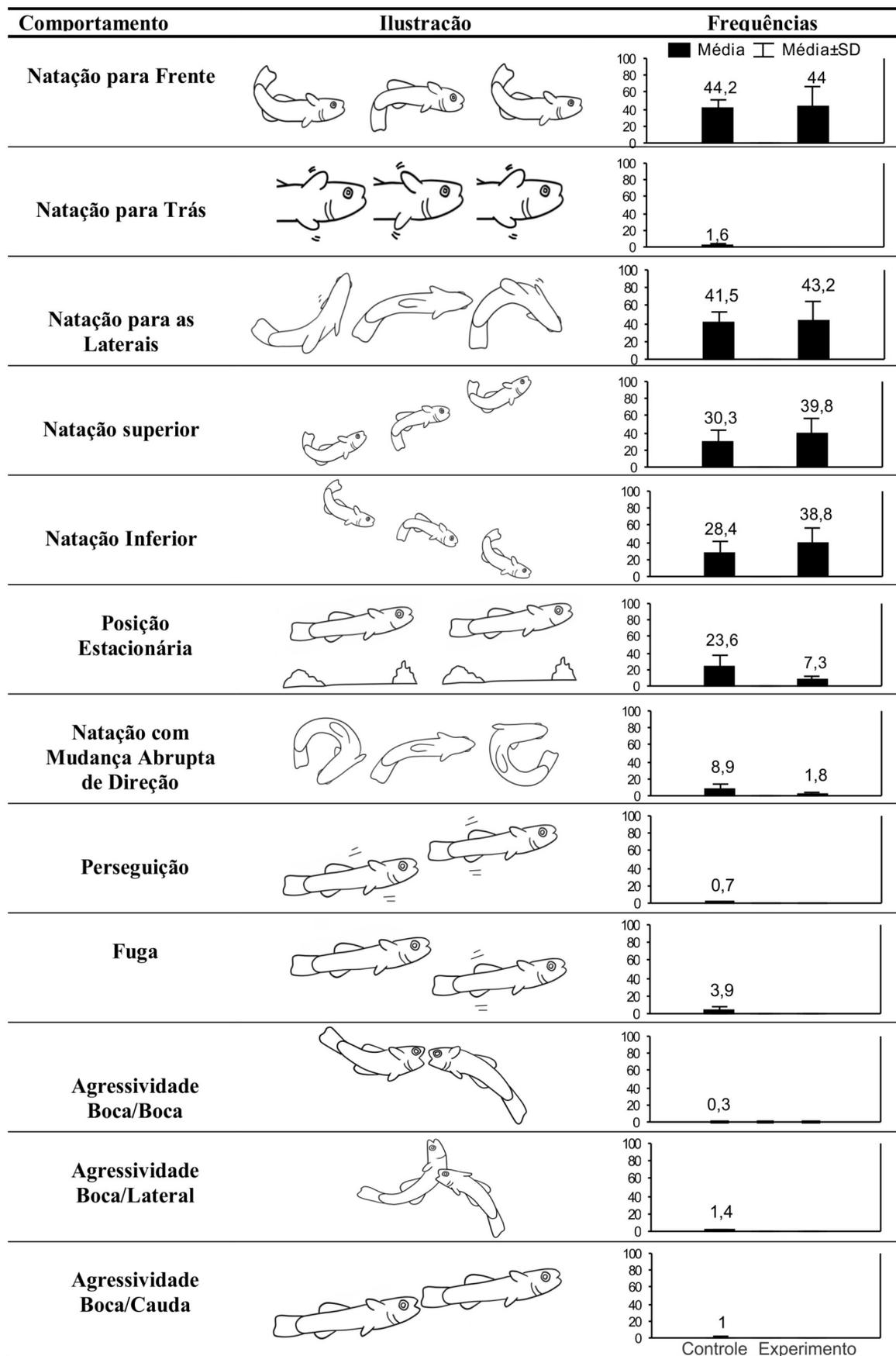
*Phalloceros harpagos* foi ativo durante o estudo, exibindo padrões comportamentais,

tanto de motilidade e manutenção, quanto de comportamentos associados ao agonismo. A tabela 2 descreve de forma detalhada, as unidades comportamentais exibidas pela espécie.

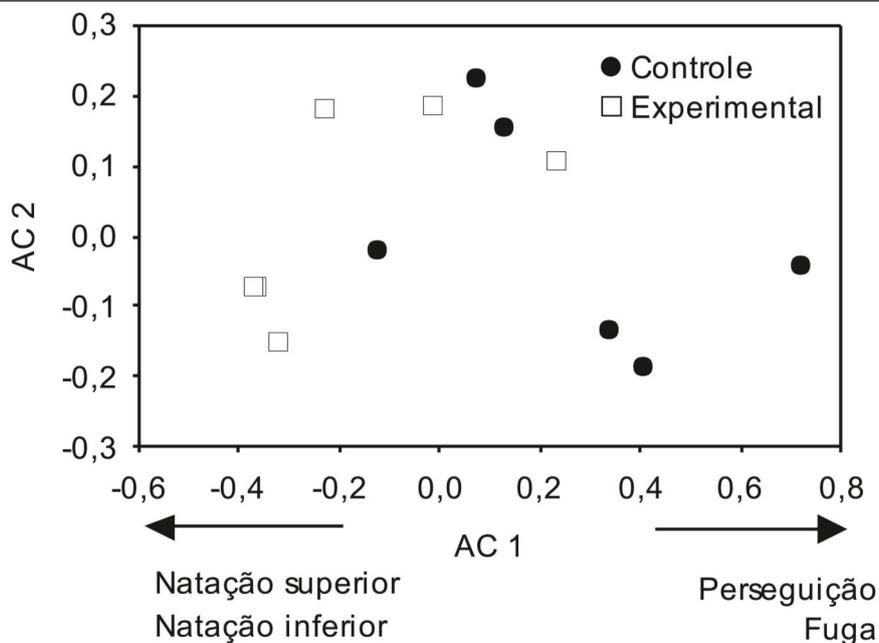
Natação para frente foi o comportamento mais frequente tanto no aquário controle (n=506; 23,3 %), quanto no aquário experimental (n=264; 25,1%). Por outro lado, perseguição (n=8; 0,36%) para o aquário controle e natação com mudança abrupta de direção (n=11; 1,05 %) para o aquário experimental, foram as unidades comportamentais menos frequentes. Já a natação para trás e os comportamentos associados com o agonismo não foram registrados no aquário experimental (Quadro 1). Natações superiores e inferiores foram em média mais frequentes no aquário experimental, enquanto que natação com mudança abrupta de direção e posição estacionária foram mais frequentes no aquário controle (Quadro 1). Natação para frente e para as laterais foram ligeiramente mais frequentes no aquário controle e experimental, respectivamente.

**Tabela 2:** Descrição dos padrões comportamentais exibidos por *P. harpagos* em condições laboratoriais controladas. A descrição dos comportamentos foi baseada nas observações realizadas durante o período de aclimação dos peixes.

Unidade comportamental	Descrição do comportamento
Natação para frente	Caracterizou-se pelo deslocamento do animal para frente, seguido de movimentos da nadadeira caudal, bem como de movimentos ondulatórios do corpo. Para que o atrito com a corrente de água fosse menor, as nadadeiras dorsal, peitorais e anal se aproximavam do corpo. Quando a natação cessava as nadadeiras se eriçavam e a boca e os opérculos voltavam a apresentar movimentos respiratórios.
Natação para trás	Caracterizou-se pelo deslocamento do animal para trás. Os peixes apresentavam uma inversão do movimento das suas nadadeiras peitorais, como se estivessem remando para trás.
Natação para as laterais	Caracterizou-se por nados que interrompiam parcialmente o deslocamento do peixe em sua trajetória linear. Como se fosse uma contra posição do nado frontal, no nado lateral o peixe deslocava-se em ambas as laterais, podendo subitamente reassumir o seu deslocamento frontal original, ou assumir um novo nado frontal a partir deste.
Natação superior	Foi caracterizado como o deslocamento vertical superior do animal em relação à coluna de água.
Natação inferior	Foi uma natação contrária ao nado superior. O nado inferior caracterizou-se pelo deslocamento vertical inferior do peixe em relação à coluna d'água.
Posição estacionária	Nesta situação o indivíduo se movia e alterava a posição do seu corpo sem se deslocar.
Natação com mudança abrupta de direção	Nesta situação o indivíduo se deslocava em velocidade superior a média e subitamente mudava de direção, para a direita ou para a esquerda.
Estímulo para a alimentação	Esse comportamento caracterizou-se pelo interesse do peixe para com o alimento. Os peixes realizavam nados em direção ao alimento mordiscando-o, porém sem realizar a sua deglutição.
Alimentação	A alimentação foi caracterizada pela apreensão do alimento, seguido da ingestão do mesmo.
Agressividade boca/boca	Caracterizou-se por mordidas face a face entre dois indivíduos, seguido de um comportamento de submissão do peixe agredido, com posterior fuga deste.
Agressividade boca/lateral	Tal atitude caracterizou-se quando um peixe agressor mordida outro indivíduo, que por sua vez exibia uma de suas laterais, como possível minimização do contato com o agressor.
Agressividade boca/cauda	Neste comportamento o peixe agressor atingia com várias mordidas a cauda do peixe agredido.
Perseguição	A perseguição foi caracterizada quando um peixe nadava em direção a outro, acompanhando sua trajetória, atacando-o ou não. O animal perseguido se deslocava em fuga, em submissão ao perseguidor.
Fuga	Caracterizou-se pelo comportamento do animal perseguido, que se deslocava aproximadamente na mesma velocidade do perseguidor, a fim de sair da sua proximidade.



**Quadro 1:** Repertório comportamental exibido por *P. barpagos* durante a experimentação. Média ± desvio padrão da ocorrência das diferentes atividades comportamentais.

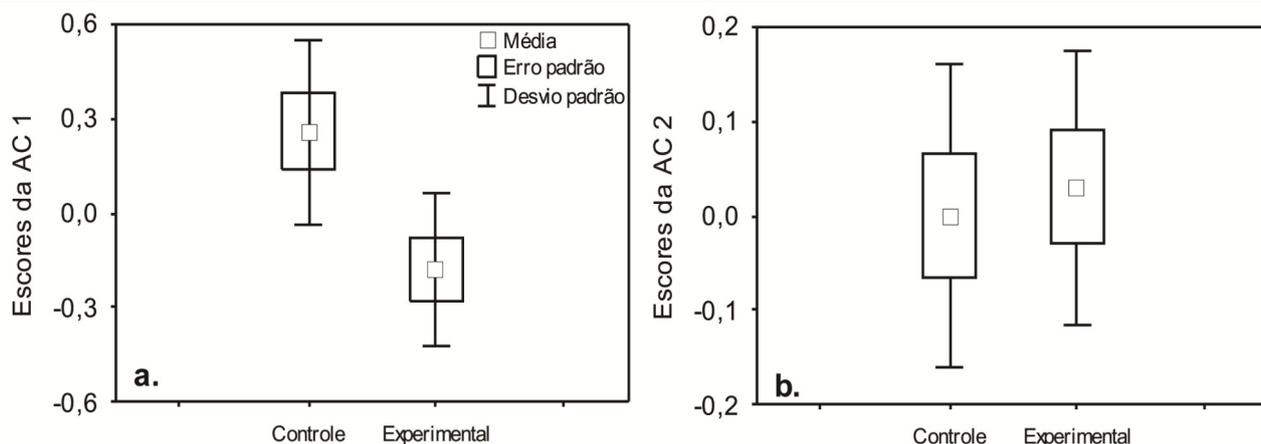


**Figura 1:** Ordenação dos grupos (controle x experimental) de acordo com o repertório comportamental apresentado por *P. harpagos*. Análise de correspondência (AC) foi aplicada sobre a matriz de frequência das unidades comportamentais.

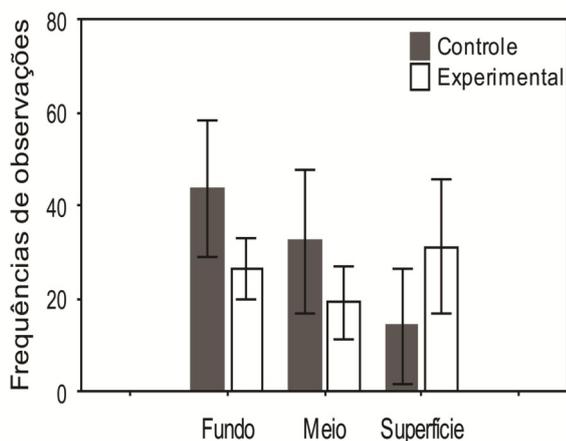
A análise de correspondência (AC) ordenou as unidades comportamentais exibidas por *P. harpagos* e tendeu a segregar o grupo controle, com escores mais positivos, e os submetidos à acidificação com escores mais negativos (Figura 1). Os dois primeiros eixos da AC explicaram juntos 82% da variabilidade total dos dados. Perseguição e fuga foram os comportamentos que mais se correlacionaram positivamente, enquanto que natação superior e natação inferior foram os comportamentos que mais se correlacionaram negativamente com o eixo 1 (Tabela 3). Para os escores do primeiro eixo da AC, o repertório comportamental apresentado por *P. harpagos* diferiu significativamente entre indivíduos submetidos ao aquário controle e experimental ( $F_{1,10} = 7,79$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 2a). Por outro lado, para os escores do segundo eixo a diferença não foi significativa ( $F_{1,10} = 0,19$ ;  $p > 0,05$ ; Figura 2b). Os espécimes de *P. harpagos* ocuparam com maior frequência a posição de fundo e meio do aquário controle ( $F_{2,15} = 11,87$ ;  $p < 0,05$ ; Tukey  $p < 0,05$ ), enquanto que no aquário experimental, embora tenha ocorrido uma tendência de maior ocupação da superfície, não houve diferenças significativas entre as diferentes posições ( $F_{2,15} = 1,82$ ;  $p > 0,05$ ; Tukey  $p > 0,05$ ; Figura 3).

**Tabela 3:** Valores da correlação de Pearson, autovalores e variabilidade explicada para os dois primeiros eixos da AC, aplicada sobre a matriz dos dados de comportamento de *P. harpagos* (Negrito = comportamentos que mais influenciaram na formação dos eixos).

Comportamentos	Eixo 1	Eixo 2
Natação para frente	-0,073	-0,092
Natação para trás	1,130	0,188
Natações laterais	-0,092	-0,097
Natação superior	<b>-0,188</b>	0,099
Natação inferior	<b>-0,203</b>	0,068
Posição estacionária	0,776	0,081
Natação abrupta	0,551	<b>0,468</b>
Perseguição	<b>1,475</b>	<b>-0,855</b>
Fuga	<b>1,323</b>	-0,387
Agressão boca/boca	0,907	-0,473
Agressão boca/lateral	1,181	-0,211
Agressão boca/cauda	1,181	-0,711
<b>Autovalores</b>	<b>0,12</b>	<b>0,02</b>
<b>Variância explicada</b>	<b>70,5</b>	<b>11,5</b>



**Figura 2:** Média  $\pm$  desvio padrão para os escores oriundos da análise de correspondência aplicada sobre a matriz de frequência das unidades comportamentais apresentadas por *P. harpagos*. (a) Escores do primeiro eixo da AC e (b) escores do segundo eixo da AC.



**Figura 3:** Média  $\pm$  desvio padrão das posições nos aquários controle e experimental ocupadas por *P. harpagos* durante o experimento de acidificação.

## DISCUSSÃO

O repertório comportamental de *P. harpagos*, demonstrou que a espécie teve um incremento de suas atividades motoras, especialmente quando submetida à acidificação artificial. Os comportamentos mais típicos estiveram associados aos padrões de postura básica e motilidade (KEENLEYSIDE, 1979; SABINO, 1999). Esse padrão também tem sido verificado para outros poecilídeos como o zebrafish (Mukhopadhyay et al., 2015), o que demonstra que *P. harpagos* deva ser uma espécie hiperativa nos seus movimentos natatórios. Em contra partida, os comportamentos associados à manutenção (*i.e.*, estímulo e tomada do alimento), e agonísticos foram me-

nos frequentes durante o estudo. Enquanto que a alimentação ocorreu apenas durante a aclimação, os confrontos não foram registrados no aquário experimental. Além dos peixes estarem fora do seu ambiente natural, o baixo estímulo à alimentação pode também ter sido associado ao tipo de alimento oferecido. *Phalloceros harpagos* é categorizada como uma espécie detritívora (WOLFF et al., 2013), isso, poderia explicar seu baixo interesse pela alimentação por minhocas, já que não seria um item habitual da sua dieta. Já a inexistência de comportamentos agonísticos na experimentação, parece refletir um mecanismo compensatório, com maiores frequências de comportamentos motores, para se evitar da acidez do meio.

A intensificação nos nados superiores e inferiores parece ter sido a principal atividade para evitar os efeitos da redução do pH. Em habitat natural, os peixes podem por meio da seleção de micro e meso-habitats, evitar locais acidificados ou poluídos onde as condições da água sejam prejudiciais (MILLER, 1964; ÁTLAND, 1998; JARAMILLO-VILLA e CARAMASCHI, 2008). De fato, a movimentação aumenta as chances de sobrevivência por facilitar a procura e captura de alimento, a fuga dos inimigos, bem como de condições ambientais adversas. Contudo em ambientes confinados, como os aquários, a seleção por habitats fora da ação ácida, não pode ser realizada. Sendo assim, a intensificação dos nados pode ser caracterizada como uma sintomatologia comportamental de *P. harpagos* diante de

possíveis efeitos fisiológicos, e uma compensação para evitar regiões de maior acidez. Brown et al., (1981) salienta que quando uma condição ambiental é alterada, ela se torna um estímulo que promoverá uma resposta do sistema nervoso, induzindo ao movimento do animal por meio da produção e liberação de hormônios. Respostas fisiológicas e bioquímicas subsequentes ocorrem, e são denominadas respostas secundárias, enquanto que as respostas comportamentais, o movimento propriamente, são as últimas a ocorrer e são denominadas de respostas terciárias.

Além do aumento dos nados superiores e inferiores, outros comportamentos como aqueles associados ao agonismo também diferiram entre os tratamentos. Os comportamentos agonísticos avaliados em *P. harpagos* foram os de agressividade boca/boca, boca/lateral, boca/cauda, perseguição e fuga, contudo, essas atividades não ocorreram durante a acidificação. Esses resultados corroboram com o estudo realizado por Kawall (1993), onde sob condições experimentais de redução do pH *Gymnocorymbus ternetzi* reduziu significativamente seus comportamentos agonísticos. De acordo com Miller (1964), as frequências de comportamentos agonísticos aumentam durante o ciclo reprodutivo das espécies e isso é um fato comum entre peixes ciclídeos, onde machos maiores tornam-se mais agressivos diante da competição por fêmeas e recursos ambientais (KAKINAMI, 1990; MEDEIROS et al., 2005). Embora as espécies da família Poeciliidae, da qual *P. harpagos* pertence, não apresentem comportamentos territorialista, a ocorrência de confrontos e perseguições no aquário controle reflete interações sociais comuns entre peixes, já que indivíduos de algumas espécies buscam a companhia uns dos outros, sob a forma de cardumes, para cooperarem, compartilharem recursos e evitarem predadores (BAERENDS, 1971). Por outro lado, a inexistência de comportamentos agonísticos na acidificação, parece retratar uma desestruturação dessas interações, haja vista as prováveis respostas fisiológicas e a visível sintomatologia comportamental apresentada pelos indivíduos.

No contexto do organismo, pouco se conhece a respeito da ação letal sobre os pei-

xes que são submetidos a pHs moderados (*i.e.*, 6,0-5,0). Por outro lado, pHs abaixo de 5,0, têm demonstrado diminuição na abundância e recrutamento e aumento considerável do *stress* fisiológico (BROWN et al., 2012). Contudo, pHs moderados (*i.e.*, 6,0-5,0) têm aparentado prejudicar a habilidade natatória e as percepções sensoriais, caracterizando assim, efeitos subletais sobre os peixes (WILSON et al., 1994; BROWN et al., 2012). Exposições subletais induzem diversos tipos de mecanismos compensatórios, no entanto, as respostas comportamentais parecem ser importantes para se reestabelecer a homeostasia do animal (JOHNSON et al., 1992; ÅTLAND, 1998). Neste sentido, a intensificação natatória e a errática atividade comportamental de *P. harpagos* durante a acidificação, poderia ser uma resposta comportamental a possíveis distúrbios enzimáticos e iônicos nos seus tecidos e plasma sanguíneo (MUKHOPADHYAY et al., 2015). Esse padrão comportamental poderia ser reflexo de um *stress* respiratório causado pela exposição ao ácido, já que o aumento na concentração de H<sup>+</sup> do meio é responsável pela elevação de pressão de CO<sub>2</sub> nas brânquias e no sangue, resultando assim, em um estado de acidose do organismo (FANTA et al., 1989). Tentar livrar-se inicialmente do CO<sub>2</sub> concentrado nas brânquias é provavelmente uma estratégia comportamental para evitar o desconforto respiratório, entretanto, compensações fisiológicas atreladas ao aumento da hemoglobina e do número de células vermelhas podem prover um melhor tamponamento para a acidose, bem como manter a capacidade de transporte do oxigênio (ALLIN e WILSON, 2000; KITAMURA e IKUTA, 2000).

Em condições naturais, *P. harpagos* exhibe preferência por sítios próximos ao substrato, nas margens de pequenos riachos (ARANHA e CARAMASCHI, 1997). Essa preferência está relacionada com o seu comportamento alimentar, o qual envolve diferentes táticas como a poda e a catação de pequenas partículas de fundo (SABINO e CASTRO, 1990). Sua composição alimentar inclui microalgas unicelulares e matéria orgânica em decomposição (ARANHA e CARAMASCHI, 1999; WOLFF et al., 2013), as quais encontram-se

aderidas e depositadas no substrato de fundo. Assim, embora em condições artificiais, e, portanto sob possível *stress* fisiológico, a preferência de *P. harpagos* por regiões de fundo e meio no aquário controle, podem ter ocorrido em consequência de seu padrão comportamental habitual, inerente a sua alimentação. Por outro lado, não foi detectado nenhum padrão de uso ou preferência da coluna d'água no aquário experimental. Isso indica que possivelmente o próprio comportamento alimentar da espécie seja alterado, ou mesmo inibido em condições de águas ácidas. Outro fator que possivelmente implicaria na adoção de tais atitudes, refere-se a ausência de vegetação ou estruturas imersas nos aquários, as quais caracterizassem lugares de refúgio para a espécie. Aranha e Caramaschi, (1997), salientam que *P. harpagos* ocupou remansos em áreas protegidas por vegetação, contudo, quando essa vegetação é inexistente, a espécie ocupa locais mais profundos próximos ao substrato.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou que fêmeas de *P. harpagos*, sob condições laboratoriais, são sensíveis mesmo a uma leve acidificação (pH=6,0), ocorrendo aumento da motibilidade (nados superiores e inferiores intensos), e inibição de comportamentos agonísticos. Extrapolando esses resultados para as condições naturais, é possível sugerir que a distribuição de *P. harpagos* possa ser influenciada em rios ou riachos com pH inferior ao neutro. Embora sob essas situações a espécie possa evitar sítios de maior acidez, seu limite de tolerância parece ser baixo, apresentando sintomatologias comportamentais já desde uma leve variação do pH. Contudo, outros trabalhos sobre níveis de tolerância frente acidificação devem ser realizados, no intuito de determinar seus níveis de letalidade e mesmo para confirmar eventuais efeitos de pHs inferiores a 6,0. Esses resultados também poderiam tornar a espécie um bioindicador de condições ácidas em sistemas lóticos, já que sua ocorrência é bastante comum em riachos e pequenos córregos do sul-sudeste do Brasil.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Departamento de Biologia da UNICENTRO, Universidade Estadual do Centro-Oeste, pelo fornecimento dos aquários e demais equipamentos; e aos colegas Durinézio Jose de Almeida pelo auxílio na coleta dos exemplares, e Dilermando P. Lima Junior pela leitura do manuscrito e pelas boas sugestões.

### REFERÊNCIAS

- ALLIN, C.J.; WILSON, R.W. Effects of pre-acclimation to aluminium on the physiology and swimming behaviour of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during a pulsed exposure. **Aquatic Toxicology**, v.51, n.2, p.213–224, 2000.
- AMERICAN VETERINARY ASSOCIATION MEDICAL ASSOCIATION. Report of the AVMA panel on euthanasia. **Javma**, v.218, p.669-696, 2001.
- ARANHA, J.M.R.; CARAMASCHI, E.P. Distribuição longitudinal e ocupação espacial de quatro espécies de Cyprinodontiformes no rio Ubatiba, Maricá, RJ. **Acta Biológica Paranaense**, v.26, n.1-4, p.125-140, 1997.
- ARANHA, J.M.R.; CARAMASCHI, E.P. Estrutura populacional, aspectos da reprodução e alimentação dos Cyprinodontiformes (Osteichthyes) de um riacho do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, p.637-651, 1999.
- ÅTLAND, A. Behavioural responses of brown trout, *Salmo trutta*, juveniles in concentration gradients of pH and Al – a laboratory study. **Environmental Biology of Fishes**, v.53, p.331–345, 1998.
- AZEVEDO, P.G.; MELO, R.M.C.; YOUNG, R.J. Feeding and social behavior of the piabanha, *Brycon devillei* (Castelnau, 1855) (Characidae: Bryconinae) in the wild, with a note on following behavior. **Neotropical Ichthyology**, v.9, n.4, p.807–814, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252011005000046>
- BAERENDS, G.P. The ethological analysis of fish behavior. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. (Orgs.). **Fish physiology**. New York: Academic Press, 1971. p.

- 279-370.
- BANDEIRA, S.A.P.M. **Comportamento de *Ictalurus punctatus* (Osteichthyes, Teleostei, Siluriforme) em condições laboratoriais**. 2000. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Ensino de Biologia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2000.
- BROWN, D.J.A. The effects of various cations on the survival of brown trout, *Salmo trutta* at low pHs. **Journal of Fish Biology**, v.18, p.31-40, 1981.
- BROWN, G.E.; ELVIDGE, C.K.; FERRARI, M.C.O.; CHIVERS, D.P. Understanding the importance of episodic acidification on fish predator-prey interactions: Does weak acidification impair predator recognition? **Science of the Total Environment**, v.439, p.62-66, 2012.
- BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; GHAZZI, M.S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. 195p.
- DAVIES, N.B.; KREBS, J.R. **Introdução a Ecologia Comportamental**. São Paulo: Atheneu, 1996. 420p.
- DEL-CLARO, K. **Comportamento Animal**. Uma introdução à Ecologia Comportamental. Jundiaí: Livraria Conceito, 2004. 132p.
- FANTA, E.; LUCCHIARI, P.H.; BACILA, M. The effect of environmental oxygen and carbon dioxide levels in the tissue oxygenation and the behavior of Antarctic fish. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.93A, n.4, p.819-831, 1989.
- FROMM, P.O. A review of some physiological and toxicological responses of freshwater fish to acid stress. **Environmental Biology of Fishes**, v.5, p.79-93, 1980.
- GERHARDT, A. Aquatic Behavioral Ecotoxicology. Prospects and Limitations. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 13, n.3, p.481-491, 2007.
- GUNN, J.M. Behaviour and ecology of salmonid fishes exposed to episodic pH depression. **Environmental Biology of Fishes**, v.17, n.4, p.241-252, 1986.
- JARAMILLO-VILLA, U.; CARAMASCHI, E.P. Índices de integridade biótica usando peixes de água doce. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, n.3, p.442-462, 2008.
- JOHNSON, E.O.; KAMILARIS, T.C.; CHROUSOS, G.P.; GOLD, P.W. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioural homeostasis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.16, n.2, p.115-130, 1992.
- KAKINAMI, S.M. **Aspectos comportamentais e alguns mecanismos sobre a organização da hierarquia de dominância territorial na tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 1990. 74 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 1990.
- KAWALL, H.G. **Efeito de águas ácidas em *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger, 1895) (Pices: Characidae)**. 1993. 111 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.
- KEENLEYSIDE, M.H.A. **Diversity and Adaptations in Fish Behaviour**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. 208pp.
- KITAMURA, S.; IKUTA, K. Acidification severely suppresses spawning of hime salmon (land-locked sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*). **Aquatic Toxicology**, v.51, p.107-113, 2000.
- LARA, L.; ARTAXO, P.; MARTINELLI, L.A.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO, P.B.; KRUSCHE, A; AYERS, G.P.; FERRAZ, E.S.B.; BALLESTER, M.V. Chemical composition of rainwater and anthropogenic influences in the Piracicaba River Basin, Southeast Brazil. **Atmospheric Environment**, v.35, n.29, p.4937-4945, 2001.
- LEITÃO, R.P.; CARAMASCHI, E.P.; ZUANON, J. Following food clouds: Feeding association between a minute loricariid and a characidiin species in an Atlantic Forest stream, Southeastern

- Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.5, n.3, p.307–310, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252007000300011>
- MANLY, B.J.F. **Métodos estatísticos multi-variados: uma introdução**. Porto Alegre: Bookman, 2008. 229p.
- MEDEIROS, A.P.T.; CHELLAPPA, S.; CA-CHO, M.S.R.F.; YAMAMOTO, M.E. Encontros agonísticos e territorialidade entre machos de híbrido vermelho de tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) x *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) e de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Revista Brasileira de Zootecias**, v.7, n.2, p.273–284, 2005.
- MILLER, R.J. Studies on the social Behavior of the Blue Gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pices: Belontiidae). **Copeia**, v.1964, n.3, p.469-497, 1964.
- MUKHOPADHYAY, D.; PRIYA, P.; CHATTOPADHYAY, A. Sodium fluoride affects zebrafish behaviour and alters mRNA expressions of biomarker genes in the brain: Role of Nrf2/Keap1. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.40, n.2, p.352–359, 2015.
- SABINO, J.; CASTRO, R.M.C. Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da Floresta Atlântica. **Revista Brasileira de Biologia**, v.50, p.21-34, 1990.
- SABINO, J. Comportamento de peixes de riachos: métodos de estudos para uma abordagem naturalística. **Oecologia Brasiliensis**, v.6, p.183-208, 1999.
- SERRANO, I.; BUFFAM I.; PALM D.; BRANNAS, E.; LAUDON, H. Thresholds for survival of brown trout during the spring flood acid pulse in streams high in dissolved organic carbon. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.137, n.5, p.1363–1377, 2008.
- TINBERGEN, N. The hierarchical organization of mechanisms underlying instinctive behaviour. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, v.4, p.305–312, 1950.
- TINBERGEN, N. **The study of instinct**. London: Oxford University Press, 1951. 228p.
- TINBERGEN, N. **Social behaviour in animals**. London: Methuen, 1953.
- WILSON, R.W.; WRIGHT, P.M., MUNGER, S.; WOOD, C.M. Ammonia excretion in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the importance of gill boundary layer acidification: lack of evidence for Na<sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> exchange. **Journal of Experimental Biology**, v.191, p.37–58, 1994
- WOLFF, L.L.; CARNIATTO, N.; HAHN, N.S. Longitudinal use of feeding resources and distribution of fish trophic guilds in a coastal Atlantic stream, southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.11, n.2, p.375–386, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252013005000005>
- WOLFF, L.L.; HRECIUK, E.R.; VIANA, D.; ZALESKI, T.; DONATTI, L. Population structure of *Phalloceros caudimaculatus* (Hensel, 1868) (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) collected in a brook in Guarapuava, PR. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.3, p.417–423, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132007000300008>

Recebido em 28 de junho de 2016.

Revisões em 27 de julho de 2016.

Aceito em 28 de agosto de 2016.