Universidade Federal da Paraíba

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

COMUNICAÇÃO ACÚSTICA E QUÍMICA NO RECONHECIMENTO DE PARCEIRO EM CAVALO-MARINHO *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933

Shaka Nóbrega Marinho Furtado

JOÃO PESSOA - PB

AGOSTO DE 2015

SHAKA NÓBREGA MARINHO FURTADO

COMUNICAÇÃO ACÚSTICA E QUÍMICA NO RECONHECIMENTO DE PARCEIRO EM CAVALO-MARINHO *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Zoologia, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ierecê Maria de Lucena Rosa

Co-orientador: Dr. Carlos Barros de Araújo

JOÃO PESSOA - PB

AGOSTO DE 2015

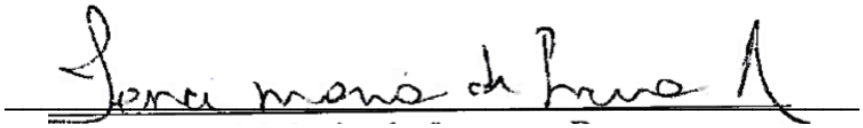
F992c Furtado, Shaka Nóbrega Marinho.
Comunicação acústica e química no reconhecimento de parceiro em cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933/ Shaka Nóbrega Marinho Furtado.- João Pessoa, 2015.
73f. : il.
Orientadora: Ierecê Maria de Lucena Rosa
Coorientador: Carlos Barros de Araújo
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN
1. Zoologia. 2. Cavalo-marinho. 3. Escolha de parceiro. 4. Bioacústica. 5. Comunicação química. 6. Feromônio.

UFPB/BC CDU: 59(043)

SHAKA NÓBREGA MARINHO FURTADO

COMUNICAÇÃO ACÚSTICA E QUÍMICA NO RECONHECIMENTO DE PARCEIRO EM CAVALO-MARINHO *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933

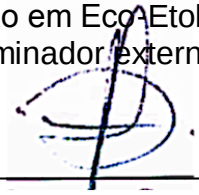
BANCA EXAMINADORA:



Profª. Drª Ierecê Maria de Lucena Rosa
Universidade Federal da Paraíba – UFPB
(orientadora)

Dr. Carlos Barros de Araújo
Universidade Federal da Paraíba – UFPB
(co-orientador)

Profª. Drª. Maria Clara P. Amorim
Unidade de Investigação em Eco-Etologia, ISPA/ Portugal
(examinador externo)



Profª. Drª. Renata Santoro de Sousa Lima Mobley
Universidade Federal do Rio Grande do Norte -UFRN
(examinador externo)

Prof. Dr. Luiz Carlos Serramo Lopez
Universidade Federal da Paraíba – UFPB
(examinador suplente)

JOÃO PESSOA-PB
2015

À minha família

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa durante o período do curso de mestrado (agosto/2013 a julho/2015);

À Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, pelo apoio durante o trabalho e pela concessão da taxa de bancada;

À minha orientadora, Dra. Ierecê Lucena Rosa, meu muito obrigada por ter me dado essa oportunidade de desenvolver essa trabalho, ao carinho e apoio;

Ao meu co-orientador Dr. Carlos Barros de Araújo, por todos os ensinamentos, pela parceria ao longo desses anos e pela paciência de entender os processos envolvidos em fazer ciência, meu mais sincero agradecimento;

Aos docentes do PPGCB, pela contribuição na minha formação, tanto profissional quanto pessoal;

Ao secretário do PPGCB, Josias Xavier, por toda a simpatia, amizade, ajuda e conselhos;

Ao Prof. Dr. Alan Loures Ribeiro, por ter me cedido um valioso espaço no Laboratório de Ornitologia da UFPB para a realização dos experimentos acústicos desse trabalho;

Ao Prof. Dr. Gustavo Henrique Vieira, por ter ajudado nas análises estatísticas;

À Dra. Tacyana Oliveira por ter nos cedidos alguns equipamentos para a realização dos testes de tratamento acústico;

Aos meus colegas do Laboratório de Peixes: Ecologia e Conservação (LAPEC), pelo dia a dia de trabalho e ajuda nesse tempo que compartilhamos;

Ao Msc. Cassio Rachid Simões por ter me acompanhado e ajudado em grande parte desse trabalho, e por ter quebrado a cabeça junto comigo por muitos momentos. Agradeço muito sua amizade;

Aos meus amigos queridos da “zueira” , deixarei aqui suas identidades preservadas (rs), minha imensa gratidão por tudo mesmo, não tenho nem como expressar o quanto sou grata pela amizade, companheirismo, sorrisos, lagrimas...enfim, por tudo;

Aos meus colegas do PPGCB, essa experiência de 2 anos conta muito com a influencia de vocês e como tal, não teria sido a mesma sem vocês;

À minha família, pelos mais diversos fatos, sou eternamente grata a todos vocês, que me acompanham desde sempre e que acima de tudo, nunca deixaram de me incentivar e amar;

Ao meu companheiro que esteve ao meu lado, mesmo nos momentos mais trevosos e que ainda assim, conseguiu me arrancar sorrisos e não deixou que peteca caísse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécime de *Hippocampus reidi* (macho). Foto: S.N.M.Furtado**...20**

Figura 2: Desenho esquemático do crânio do cavalo-marinho *Hippocampus zosterae*; destacados, em cinza, os ossos do crânio responsáveis pela produção de cliques (SO= supraoccipital; C= coroa) (modificado de Colson *et al.*, 1998)**.....31**

Figura 3: Aquário experimental demonstrando o tratamento interno e externo, bem como o *set up* experimental**.....33**

Figura 4: Espectrograma de uma modulação de frequência reproduzida durante os experimentos de tratamento do aquário. (A) Espectrograma demonstrando o som no aquário antes de receber o tratamento. O quadrado amarelo evidencia a presença de ressonância entre 3 e 6kHz; (A.I) Zoom do espectrograma A, demonstrando a ressonância encontrada no aquário;(B) Espectrograma demonstrando o som no aquário após receber o tratamento; (B.I) Zoom do espectrograma B elucidando a ausência da ressonância na faixa entre 3 e 6kHz antes observada no espectrograma A. Frequência de amostragem 44.1Hz, Hanning window, FFT 1024, Window Width 100%**.....36**

Figura 5: Gráficos demonstrando os espectrogramas (I), oscilogramas (II) e espectros de potência (III) dos sons estímulo(A) e controle (B)**.....37**

Figura 6: Gráfico demonstrando os espectros de potência do clique sintetizado**.....39**

Figura 7: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação da fêmea de *Hippocampus reidi* à cada uma das zonas de resposta durante o experimento de playback. SOM = zona de resposta do clique de corte sintetizado de cavalo-marinho *Hippocampus reidi*; NEUTRA = zona de resposta neutra; CONTROLE = zona de resposta ao grunhido (do inglês, *grunt)* de *Pomadasys corvinaeformis*.....**41**

Figura 8: Tempo relativo de associação da fêmea de *Hippocampus reidi* à zona de resposta do som do clique de cavalo-marinho. PRE = período de 300 segundos antes da execução do playback; PBK = período de 300s durante a execução do playback; POS = período de 300s após a execução do playback.....**42**

Figura 9: Aquário estímulo (80x32x55cm) contendo seis compartimentos separados por divisórias (três transparentes e duas opacas). Em cada compartimento foi alocado um animal estímulo. Foto: S.N.M.Furtado.....**59**

Figura 10: Teste de diluição com corante para fixar a taxa de fornecimento do estímulo químico.....**60**

Figure 11: Esquema demonstrando o *set up* experimental de sinalização química, adaptado de Ratterman *et al.,* 2009. Os estímulos foram produzidos em aquários separados e depois depositados nos aquários fornecimento. Tubos intravenosos, com as extremidades posicionadas a 3 cm do fundo do aquário fornecimento e a 3 cm acima da superfície da água no aquário experimental, forneceram os estímulos para o indivíduo focal. **61**

Figura 12: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação das fêmeas quando submetidas ao tratamento macho vs controle. F.MACHO= feromônio do macho**.....65**

Figura 13: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação das fêmeas quando submetidas ao tratamento fêmea vs controle. F.FEMEA= feromônio da fêmea. **.....65**

Figura 14: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação das fêmeas quando submetidas ao tratamento macho vs fêmea. F.MACHO= feromônio do macho; F.FEMEA = feromônio da fêmea**. 66**

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

°N Graus norte

°S Graus sul

° Graus

m Metros

cm Centímetro

mm Milímetro

L Litros

ml Mililitros

h Horas

s Segundos

ms Milissegundos

Hz Hertz

kHz Quilohertz

dB Decibéis

V Volts

µPa Micropascal

FFT Transformada rápida de Fourier (do inglês, *Fast Fourier Transform*)

% Porcentagem

UV Ultravioleta

ppm Partes por milhão

NH_3 Amônia

NO^-_2 Nitrito

pH Potencial hidrogeniônico

°C Graus Celsius

MHIIb Complexo de Histocompatibilidade Classe II de cadeia beta

IUCN União Internacional para a Conservação da Natureza

CITES Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens Ameaçadas de Extinção

MMA Ministério do Meio Ambiente

E.V.A. Espuma vinílica acetinada

PRE Período do experimento acústico denominado de precedente a execução do playback

PBK Período do experimento acústico denominado durante a execução do playback

POS Período do experimento acústico denominado de após a execução do playback

F Fêmea

M Macho

C Controle

SUMÁRIO

Introdução geral.....14

Objetivos 19

Objetivo Geral..... 19

Objetivos Expecíficos 19

Espécie estudada.....20

Sistema de manutenção dos cavalos-marinhos 21

Referências bibliográficas 22

CAPÍTULO 1: Comunicação Acústica

Resumo.....14

Abstract 15

Introdução 16

Material e métodos 18

Aquário Experimental 18

Tratamento interno e externo 18

Experimentação..... 23

Estímulo acústico (playback)..... 23

Fonotaxia 25

Análises de dados..... 26

Resultados.....27

Discussão.....29

Referências bibliográficas 32

CAPÍTULO 2 : Comunicação Química

Resumo.....40

Abstract 41

Introdução 42

Material e Métodos.....44

Aquário estímulo..... 44

Aquário experimental..... 47

Experimentação..... 48

Quimiotaxia..... 48

Reconhecimento do sexo..... 48

Análises de dados 49

Quimiotaxia..... 49

Reconhecimento do sexo..... 49

Resultados.....50

Quimiotaxia..... 50

Reconhecimento do sexo 52

Discussão.....53

Referência Bibliográfica.....55

Considerações finais.....58

Introdução geral

Os cavalos-marinhos (gênero *Hippocampus*) são peixes ósseos, membros da família Syngnathidae, juntamente com os peixes-cachimbo, cavalos-cachimbo e dragões-marinhos. Distribuem-se em águas temperadas e tropicais, entre 50°N e 50°S, e ocorrem de forma esparsa no ambiente (Lourie *et al.,* 2004; Rosa *et al.,* 2007), caracterizando uma distribuição agregada possivelmente sobre manchas de recursos. Habitam caracteristicamente ambientes rasos e costeiros, sendo encontrados em associação com bancos de algas e fanerógamas, corais, raízes de mangue (Dias & Rosa, 2003; Lourie *et al.,* 2004) e têm limite de distribuição vertical registrado de 55 m (Vari, 1982).

Uma característica singular dos cavalos-marinhos é a sua morfologia altamente diferenciada, que inclui a cabeça formando um ângulo reto em relação ao eixo corporal, corpo envolto por anéis ósseos, ausência de nadadeiras pélvica e caudal, cauda terminal preênsil, e boca localizada na extremidade de um focinho tubular (Lourie *et al.,* 1999, 2004; Foster & Vincent, 2004; Nelson, 2006).

Outra peculiaridade desses peixes é a reprodução, que inclui elaborados rituais de corte e acasalamento, e a transferência dos ovócitos da fêmea para uma bolsa localizada na região ventral do macho, onde a prole é incubada até o nascimento (Vincent, 1994; Masonjones & Lewis, 1996; Foster & Vincent, 2004; Mattle & Wilson, 2009). Somando-se a esses aspectos, na maioria das espécies estudadas do gênero *Hippocampus*, foi registrada a formação de pares reprodutivos estáveis (Foster & Vincent, 2004).

Adicionalmente, os cavalos-marinhos exibem uma grande variedade de padrões de colorido, que auxiliam na camuflagem para a captura de presas (pequenos peixes, crustáceos e outros invertebrados) e para evitar a predação (por siris e alguns peixes pelágicos) (Gill, 1905; Lourie *et al.,* 1999; Foster & Vincent, 2004), como também apresentam a capacidade de mudar rapidamente de cor quando em interação com outro indivíduo como, por exemplo, durante o comportamento de corte (Vincent & Sandler, 1995).

Devido às diversas peculiaridades apresentadas por seus representantes, os cavalos-marinhos e os demais representantes da família Syngnathidae constituem modelos únicos para estudos de seleção sexual. Nesta família, verificam-se padrões reprodutivos singulares, como, por exemplo, o cuidado parental exercido exclusivamente por indivíduos machos; além disso, em várias espécies ocorre a reversão de papéis sexuais (*e.g. Syngnathus typhle*, Berglund & Rosenqvist, 2001), além de sistemas de acasalamento variando da monogamia à poliginandria (ver Rosenqvist & Berglund, 2011).

O conceito de seleção sexual foi introduzido por Darwin (1859), de forma a explicar diferenças morfológicas marcantes encontradas entre os diferentes sexos de uma mesma espécie. Embora muitos avanços no entendimento das causas e consequências da seleção sexual tenham ocorrido desde então, ainda existem muitos aspectos desconhecidos.

A seleção sexual está diretamente relacionada a diversos sistemas de comunicação, para que as informações referentes a cada sexo sejam efetivamente transmitidas, e utilizadas para a seleção de um parceiro adequado. Tais sistemas de comunicação evoluíram de modo que um indivíduo possa tomar decisões baseadas em sinais, mas que em realidade refletem a qualidade na execução de comportamentos (*e.g.* reprodução, cuidado parental, comportamentos agonísticos), fisiologia e morfologia de outros indivíduos (Endler, 1993).

Portanto, um sistema de comunicação, é, por assim dizer, uma combinação de expressão, transmissão e recepção de sinais em diversas modalidades (Amorim *et al., 2015*). Mudanças nesse aspecto sensorial pode inibir a capacidade de um animal relacionar-se com seu ambiente, afetando a comunicação em si, e consequentemente, sua sobrevivência (Fay & Popper, 2000).

O processo de escolha de um parceiro pode envolver diversos fatores, incluindo sinais comportamentais, visuais, químicos e vocais (Andersson, 1994). Isto faz com que, geralmente, os machos sejam mais coloridos, mais vistosos e vocalizem mais do que as fêmeas, bem como apresentem caracteres sexuais secundários (Darwin, 1871; Fisher, 1930), que são utilizados pelas fêmeas na escolha de parceiros. A preferência da fêmea por uma característica fenotípica específica pode aumentar a frequência desse fenótipo na população (no caso do fenótipo ter um fundo genético), podendo assim ser compreendida como um

fenômeno evolutivo. Muitas características fenotípicas selecionadas pela fêmea – a exemplo da plumagem ou o canto das aves (Hill, 1991; Silva *et al.,* 2000), estariam relacionadas à qualidade dos machos, e assim esses sinais poderiam oferecer a fêmea informação acerca da qualidade dos parceiros.

Em se tratando de comunicação visual, além do tamanho influenciar amplamente a competição entre machos e a escolha de parceiros em cavalos-marinhos (Mattle & Wilson, 2009), sabe-se hoje, especificamente em relação a *H. reidi*, que a ornamentação é uma importante característica na seleção sexual. Neste sentido, foi demonstrado preferência das fêmeas por machos que apresentam máculas dorsolaterais (Furtado, 2013), que consistem em uma série de manchas, escuras e circulares, distribuídas dorso-lateralmente ao longo do tronco e serviriam para comunicar a disponibilidade do macho para reproduzir (Oliveira *et al.*, 2010). No entanto, ainda não há informações disponíveis sobre o custo energético para o macho de exibir as máculas, se essas máculas são um sinal honesto e como estas transmitem informações acerca da qualidade dos machos de *H. reidi*.

Outra modalidade de comunicação usada em um contexto de seleção sexual é a acústica. Esta se destaca em diversos grupos animais, incluindo os peixes, como forma de transmissão de informação (Bradbury & Vehrencamp, 2011). Cavalos-marinhos são peixes reconhecidamente sonoros (*e.g.* Gill, 1905; Colson *et al.,* 1998; Anderson, 2009; Oliveira *et al.,* 2014), e, ao considerarmos que a espécie *Hippocampus reidi* produz sons do tipo ‘clique’ (*sensu* Oliveira, 2011; Furtado, 2013; Oliveira *et al.*, 2014) durante contextos reprodutivos, é possível que esses sinais estejam relacionados à seleção sexual. Entretanto, o uso de sinais acústicos para transmitir informações acerca da qualidade dos machos de *H. reidi* segue por se testada.

Apesar das evidências de que sinais químicos são comuns na comunicação sexual (Wyatt, 2003), quando comparados aos estudos que abordam sinais acústicos e visuais, outros sistemas de comunicação, como o químico, ainda são pouco estudados (Coleman, 2009).

Segundo Bossert & Wilson (1963) a sintetização de sinais químicos não é custosa, podendo constituir uma opção para um ou outro sexo. Tal sinalização pode ser empregada por peixes para localizar presas e parceiros, evitar predadores, bem como também para comunicar maturidade sexual de fêmeas, através da liberação

de feromônios sexuais na água; estes estimulam atividades como natação e comportamentos de corte nos machos (Bisazza *et al.,* 1989).

O papel da comunicação química na seleção sexual dos singnatídeos ainda não é plenamente compreendido (Rosenqvist & Berglund, 2011). O único trabalho realizado com *Hippocampus* sobre o tema (Bahr *et al.,* 2012) mostrou que a escolha de parceiros pelas fêmeas de *H. abdominalis* é influenciada pela diversidade do Complexo de Histocompatibilidade de Classe II de cadeia beta (MHIIb), enquanto que a escolha exercida pelos machos é baseada no tamanho do corpo, nesse sistema de escolha mútua de parceiros

Destaca-se que diversos estudos têm apontado a multimodalidade como sistema de comunicação efetivo no contexto de escolha de parceiro. Essa tem sido sugerida como forma de transferência de informação sobre diferentes aspectos da qualidade do parceiro (Moller & Pomiankowski, 1993; Johnstone, 1996), podendo também operar como uma redundância de sinal caso ruídos ambientais possam mascarar uma das modalidades de comunicação utilizadas (Johnstone, 1996). Escolhas de parceiros são decisões frequentemente, se não sempre, influenciadas por múltiplos sinais do sexo oposto (Andersson, 1994; Partan & Marler, 2005), os quais, em geral, podem aumentar a probabilidade de detecção e consequentemente expandir o número de parceiros em potencial (Rowe, 1999). Embora informações sobre o uso de conjunto de modalidades sensoriais, além de sinais visuais sejam escassas (Fish, 1953) recentemente, alguns trabalhos acerca da sinalização multimodal no grupo dos peixes têm sido desenvolvidos (*e.g.* Ratterman *et al.,* 2009; Amorim *et al.,* 2010; Verzijden *et al.,* 2010; Oliver & Lobel, 2012).

Considerando que (1) o tamanho macho geralmente está correlacionado com as características espectrais do som produzido (Myrberg *et al.,* 1993; Fletcher, 2004) e que, em algumas espécies, os sons podem servir como anúncio da presença e localização dos machos, o que permite as fêmeas encontrar um parceiro em potencial (Estramil *et al.,* 2013); (2) vocalizações têm o potencial de informar sobre o sexo, o tamanho, a motivação, e outros parâmetros de aptidão que pode desempenhar um papel na seleção sexual (Simões *et al.* 2008); e (3) a comunicação química parece ter sua importância na seleção sexual de peixes (Estramil *et al.,* 2013), neste trabalho busca-se verificar a utilização dos sistemas de comunicação acústica e química na seleção de parceiros, tendo como foco a espécie *Hippocampus reidi*.

A escolha da espécie teve como base os seguintes aspectos: (1) a mesma apresenta coloração bastante variada (Lourie *et al.,* 2004; Oliveira *et al.,* 2010); (2) é considerada sexualmente dimórfica, uma vez que os machos apresentam quilha proeminente e pigmentada, bem como máculas dorsolaterais (Oliveira *et al.,* 2010); (3) recentemente, a produção de sons nesta espécie foi descrita em diversos contextos comportamentais (Oliveira, 2011; Furtado, 2013; Oliveira *et al.,* 2014).

Além disso, considerando que a espécie está ameaçada de extinção (Brasil/ MMA, 2014), compreender aspectos reprodutivos pode auxiliar a traçar estratégias para a sua conservação, seja *in situ* ou *ex situ*. A identificação dos sinais de comunicação cruciais no contexto da seleção sexual pode, por exemplo, auxiliar no direcionamento de medidas mitigatórias em processos de licenciamento ambiental que minimizem os impactos sobre tais sinais em seu ambiente natural. Já em cativeiro, o estabelecimento de protocolos de reprodução que levem em conta esses sistemas de comunicação, pode ajudar a atender um comércio de peixes ornamentais, reduzindo o impacto da retirada de animais das populações selvagens.

Objetivos

Objetivo Geral

Esse trabalho busca um maior entendimento do uso de comunicação acústica e química no reconhecimento de parceiro nos cavalos-marinhos, especificamente em *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933, inclusive como forma de contribuir com sua conservação.

Objetivos Específicos

- Avaliar se as fêmeas de cavalos-marinhos apresentam fonotaxia positiva para sons produzidos pelos machos;

- Examinar se as fêmeas de cavalos-marinhos possuem quimiotaxia positiva para feromônios intraespecíficos;

-Verificar se as fêmeas usam sinais químicos no reconhecimento do sexo.

Espécie estudada

A espécie foco deste trabalho, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Figura 1), é uma das duas espécies nominais de cavalos-marinhos com registro de ocorrência para o Brasil (Lourie *et al.,* 2004; Rosa *et al.,* 2005).

Atualmente, 38 das 48 espécies consideradas válidas de *Hippocampus* (Vincent *et al.*, 2011) encontram-se listadas na União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2015) como “deficiente de dados”, a exemplo de *H. reidi.* Adicionalmente, todo o gênero *Hippocampus* foi listado no Apêndice II da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens Ameaçadas de Extinção (CITES), que o demanda a demonstração de que o comércio internacional de cavalos-marinhos não é prejudicial para as populações naturais.

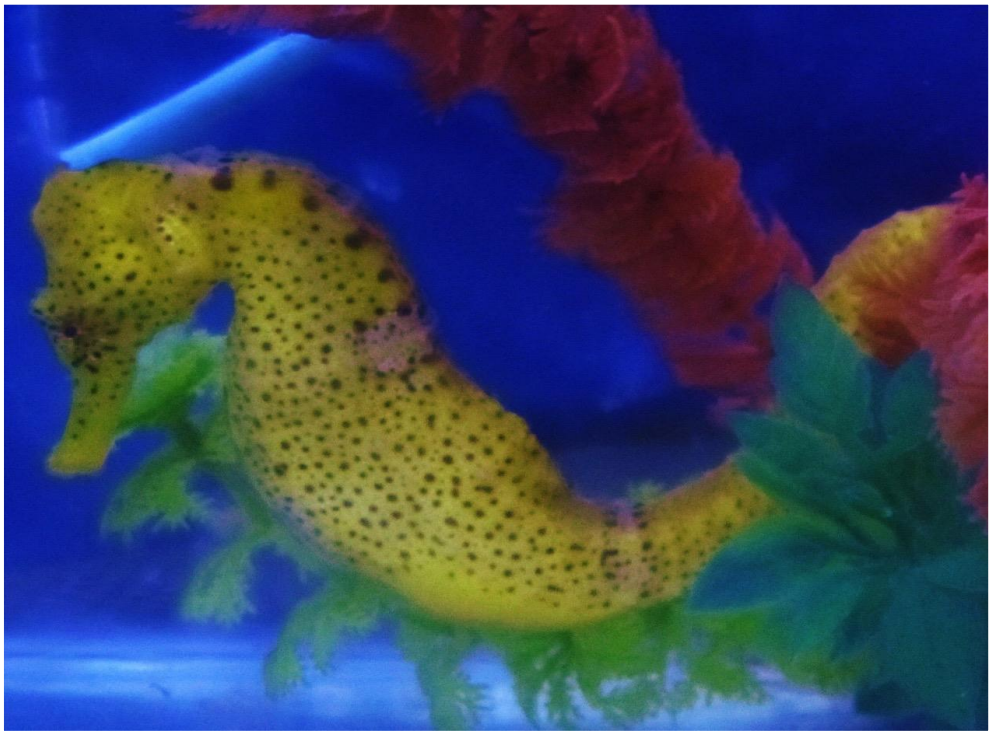


Figura 2: Espécime de *Hippocampus reidi* (macho). Foto: S.N.M.Furtado

Sistema de manutenção dos cavalos-marinhos

Os indivíduos utilizados neste trabalho compõem a população estoque do Laboratório de Peixes: Ecologia e Conservação (LAPEC) da Universidade Federal da Paraíba. Os animais constituem a primeira geração obtida no laboratório, a partir de um plantel adquirido no comércio legal de peixes ornamentais.

Os aquários de manutenção incluíam sistema de circulação de água com filtros mecânicos (*e.g.* lã acrílica, espumas de poliuretano) e biológicos (espuma de poliuretano e biocerâmicas) para a manutenção da qualidade da água. Adicionalmente, cada sistema encontrava-se conectado a um *skimmer*, para a retirada de impurezas e proteínas dissolvidas na água, bem como um filtro UV, para esterilização.

O fotoperíodo adotado foi de 10L:14E e os parâmetros da água dos aquários, aferidos diariamente, foram mantidos como se segue: NH_3= 0 ppm; NO^-_2 < 0,3 ppm; pH = 8,0; temperatura = 24 – 26°C; e salinidade = 26 – 28.

Os exemplares de *Hippocampus reidi* utilizados no presente estudo foram alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia (09:00h e 16:00h), com pós-larva de camarão (*Litopaenneus vannamei*). Após a alimentação, os camarões não consumidos e as fezes dos animais eram removidos, sendo feita uma troca parcial diária de água, de 10-20% do volume do aquário.

Todos os cavalos marinhos utilizados nos experimentos eram reprodutivamente ativos e não realizaram nenhuma cópula no intervalo mínimo de 15 dias antes dos experimentos. Este período é, segundo Vincent (1990), o tempo referente à incubação dos filhotes pelo macho ou ao intervalo entre a produção de ovócitos pela fêmea.

Referências bibliográficas

Amorim, M. C. P; Simões, J. M.; Mendonça, N.; Bandarra, N. M.; Almada, V. C.; Fonseca, P.J. Lusitanian toadfish song reflects male quality. The Journal of Experimental Biology, 213: 2997 – 3004. 2010.

Amorim, M. C. P., Vasconcelos, R. O. & Fonseca, P. J. Fish Sounds and Mate Choice. In: Ladich, F. **Sound Communication in Fishes**. Springer Vienna, 2015. p. 1-33.

Anderson, P. A. The functions of sound production in the lined seahorse, *Hippocampus erectus*, and effects of loud ambient noise on its behavior and physiology in captive environments, Ph.D. thesis: University of Florida, 2009. 190p.

Andersson, M. Sexual Selection. New Jersey: Princeton University Press, 1994. 624p.

Bahr, A., Sommer, S., Mattle, B., & Wilson, A. B. Mutual mate choice in the potbellied seahorse (*Hippocampus abdominalis*). Behavioral Ecology, ars045. 2012

Berglund. A.; Rosenqvist, A. Male pipefish prefer dominant over attractive females. Behavioral Ecology and Sociobiology, 12(4): 402-406. 2001.

Bisazza, A.; Marcondo, A.; Marin, G. Male competition and female choice in *Padogobius matensi* (Pisces, Gobiidae). Animal Behaviour, 38: 406 – 413. 1989.

Bossert, W. H.; Wilson, E. O. The analysis of olfactory communication among animals. Journal of Theorical Biology, 5: 443 – 469. 1963.

Bradbury, J. W.; Vehrencamp, S. L. Principles of animal communication. 2ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2011. 697p.

Brasil/MMA. Portaria n^{o} 445, de 17 de dezembro de 2014. Diário Oficial da União – Seção 1, 245: 126-130. 2014.

Coleman, S. W. Taxonomic and sensory biases in the mate-choice literature: there are far too few studies of chemical and multimodal communication. Acta ethologica, 12 (1): 45-48. 2009

Colson, D. J.; Patek, S. N.; Brainerd, E. L.; Lewis, S. M. Sound production during feeding in *Hippocampus* seahorses (Syngnathidae). Environmental Biology of Fishes, 51: 221–229. 1998.

Da Silva, M. L., Piqueira, J. R. C. & Vielliard, J. M. Using Shannon entropy on measuring the individual variability in the rufous-bellied thrush *Turdus rufiventris* vocal communication. Journal of Theoretical Biology, 207 (1): 57-64. 2000.

Darwin, C. R. The descent of man, and selection in relation to sex. London: John Murray, 1871. 898p.

Darwin, C. R. The origins of species. London: John Murray, 1859. 502p.

Dias, T. L. P; Rosa, I. L. Habitat preferences of a seahorse species, *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil. Journal of Ichthyology and Aquatic Biology, 6 (4): 165-176. 2003.

Endler, J. A. Some general comments on the evolution and design of animal communication systems. Philosophical Transactions of Biological Sciences, 340: 215-225. 1993.

Estramil, N., Bouton, N., Verzijden, M. N., Hofker, K., Riebel, K. & Slabberkoorn, H. Cichlids respond to conspecific sounds but females exhibit no phonotaxis without the presence of live males. Ecology of Freshwater Fish. 2013.

Fay, R. R., & Popper, A. N. Evolution of hearing in vertebrates: the inner ears and processing. Hearing research, 149(1): 1-10. 2000.

Fish, M. P. The production of underwater sound by the northern seahorse, *Hippocampus hudsonius*. Copeia, 1953 (2): 98-99. 1953.

Fisher, R.A. The genetic theory of natural selection. Oxford: The Clarendon press, 1930. 272p.

Fletcher, N. H. A simple frequency-scaling rule for animal communication. The Journal of the Acoustical Society of America, 115(5): 2334-2338. 2004.

Foster, S.J.; Vincent, A.C.J. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. Journal of Fish Biology, 65: 1-61. 2004.

Furtado, S. N. M. Seleção sexual em *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae): influência de sinais visuais e acústicos. Monografia. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2013. 71p.

Gill, T. The life history of the sea-horses (Hippocampids). Proceedings US National Museum, 28 (1408): 805-814. 1905.

Hill, G. E. Plumage coloration is a sexually selected indicator of male quality. Nature, 350: 337-339. 1991.

Johnstone, R. A. Multiple displays in animal communication: 'backup signals' and 'multiple messages'. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 351: 329 – 338. 1996.

Lourie, S. A.; Vincent, A. C. J.; Hall, H. J. A Guide to the Identification of Seahorses: Project Seahorse and TRAFFIC North America. Washington D.C.: University of British Columbia and World Wildlife Fund, 2004. 114p.

Lourie, S. A.; Vincent, A. C. J.; Hall, H. J. Seahorses: an identification guide to the world's species and their conservation. London: Project Seahorse, 1999. 206p.

Masonjones, H. D. & Lewis, S. M. Courtship behavior in the dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae*. Copeia, 1996(3): 634-640. 1996.

Mattle, B.; Wilson, A. B. Body size preferences in the pot-bellied seahorse *Hippocampus abdominalis*: choosy males and indiscriminate females. Behavioral Ecology and Sociobiology, 63:1403–1410. 2009.

Moller, A.P.; Pomiankowski, A. Why have birds got multiple sexual ornaments? Behavioral Ecology and Sociobiology, 32: 167 – 176. 1993.

Myrberg Jr., A. A., Ha, S. J. & Shamblott, M. J.. The sounds of bicolor damselfish (*Pomacentrus partitus*): predictors of body size and a spectral basis for individual recognition and assessment. The Journal of the Acoustical Society of America, 94: 3067–3070.1993.

Nelson, J. S. Fishes in the world, 4ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. 601p.

Oliveira, T. P. R. Produção de som, sensibilidade auditiva e comunicação acústica em *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae), Tese (Doutorado): Universidade Federal da Paraíba, 2011. 119p.

Oliveira, T. P. R., Ladich, F., Abed- Navandi, D., Souto, A. S., & Rosa, I. L. Sounds produced by the longsnout seahorse: a study of their structure and functions. Journal of Zoology, 294 (2): 114-121. 2014

Oliveira, T. P. R.; Castro, A. L. C.; Rosa, I. L. Novel sex-related characteristics of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. Neotropical Ichthyology, 8 (2):373-378. 2010.

Oliver, S. J, Lobel, P. S. Direct mate choice for simultaneous acoustic and visual courtship displays in the damselfish, *Dascyllus albisella* (Pomacentridae). Environmental Biology of Fishes, 96 (4): 447-457. 2010.

Partan, S. R.; Marler, P. Issues in the classification of multimodal communication signals. The American Naturalist, 166 (2): 231 – 245. 2005.

Project Seahorse 2003. *Hippocampus reidi*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on August 2015.

Ratterman, N. L.; Rosenthal, G. G.; Jones, A. G. Sex recognition via chemical cues in the sex-role-reversed gulg pipefish (*Synganthus scovelli*). Ethology, 115: 339 – 346. 2009.

Rosa, I. L., Oliveira, T. P., Castro, A. L., Moraes, L. E., Xavier, J. H., Nottingham, M. C. & Monteiro-Neto, C. Population characteristics, space use and habitat associations of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae). Neotropical Ichthyology, 5 (3), 405-414. 2007.

Rosa, I. M.; Alves, R. R. M.; Bonifácio, K. M.; Mourão, J. S.; Osorio, F. M.; Oliveira, T. P. R.; Nottingham, M. C. Fishers' knowledge and seahorse conservation in Brazil. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 1:12. 2005.

Rosenqvist, G.; Berglund, A. Sexual signals and mating patterns in Syngnathidae. Journal of Fish Biology, 78: 1647-1661. 2011.

Rowe, C. Receiver psychology and the evolution of multicomponent signals. Animal Behaviour, 58(5): 921-931. 1999.

Simões, J. M., Duarte, I. G., Fonseca, P. J., Turner, G. F., Amorim, M. C. Courtship and agonistic sounds by the cichlid fish *Pseudotropheus zebra*. Journal of the Acoustical Society of America, 124 (2): 1332-1338. 2008

Vari, R. P. The seahorses (Subfamily Hippocampinae). In: Böhlke, J. M.; Cohen, D. M.; Collette, B. B.; Eschmeyer, W. N.; Gibbs-Jr, R.H. Pietsch, T.W. Richards, W.J.; Smith, C. L.; Thomson, K.S. Fishes of the Western North Atlantic, Part 8. Order Gasterosteiformes, Suborder Syngnathoidea. Syngnathidae

(Doryrhamphinae, Syngnathinae, Hippocampinae). New Haven: Sears Foundation for MarineResearch, 1982. 198p.

Verzijden, M. N., Van Heusden, J., Bouton, N., Witte, F., ten Cate, C., & Slabbekoorn, H. Sounds of male Lake Victoria cichlids vary within and between species and affect female mate preferences. Behavioral Ecology, 21 (3), 548-555. 2010.

Vincent, A. C. J. & Sandler, L. M. Faithful pair bonds in wild seahorses, *Hippocampus whitei.* Animal Behavior, 50: 1557-1569. 1995.

Vincent, A. C. J. Reproductive ecology of seahorses, Ph.D. thesis: University of Cambridge, 1990. 107p.

Vincent, A. C. J. Seahorses exhibit conventional sex roles in mating competition, despite male pregnancy. Behaviour, 128: 135-151. 1994.

Vincent, A. C. J.; Foster, S. J.; Koldewey, H. J. Conservation and management of seahorses and other Syngnathidae. Journal of Fish Biology, 78: 1681–1724. 2011.

Wyatt, T. D. Pheromones and animal behaviour: communication by smell and taste. Cambridge University Press, 2003. 391p.

CAPÍTULO 1: Comunicação Acústica

Resumo

A produção de sons é utilizada por diversos grupos animais para transmitir informações acerca de um emissor. Não obstante, peixes desenvolveram a maior diversidade de mecanismos de produção sonora e a utilização desse sinal acústico já foi reportada para várias espécies dentro do contexto de escolha de parceiro. O objetivo deste trabalho foi verificar se fêmeas de cavalo-marinho *Hippocampus reidi* apresentam fonotaxia positiva ao som do clique de macho intraespecífico. Para isto, realizamos experimentos de *playback*, nos quais foram fornecidos às fêmeas dois tipos de som: um controle e um estímulo. Registrou-se um total de 9000 segundos de experimento, e para as análises, foram considerados os 7200s em que as fêmeas estiveram em atividade. As fêmeas testadas não demonstraram fonotaxia positiva ao clique de corte. Também não foi observado nenhum efeito do *playback* na fêmea durante o tempo que ela ficou na zona do som estímulo (Kruskal-Wallis = 4.1272, $p > 0.05$), indicando que o sinal acústico (clique de corte) não foi o suficiente para obter preferência da fêmea. Assim, destaca-se a necessidade de examinar as outras modalidades de comunicação, a fim de verificar se *Hippocampus reidi* utiliza-se de um sistema de sinalização multimodal de seleção sexual.

Palavras-chaves: escolha de parceiro, bioacústica, playback, cavalos-marinhos.

Abstract

Sound production is used by several animal groups to provide information about an individual *(i.e*. a sender). However, fishes developed a myriad of sound production mechanisms, and the use of such acoustic signals has already been reported for many species within the context of mate choice, including seahorses (genus *Hippocampus*). The aim of this study is to verify weather females of the longsnout seahorse (*Hippocampus reidi*) present a positive phonotaxis to the accoustical signals of an intraspecific male. We conducted playback experiments, in which two types of sound were provided to the females: a control and a stimulus. We recorded a total of 9000 seconds in the experiment, and for the analysis, we considered 7200s that females were active. The tested females did not demonstrate positive phonotaxis to the courtship click, and no playback effect was observed in the female during the time that it was into the stimulus zone (Kruskal-Wallis = 4.1272, $p>0.05$). Our results indicate that the acoustic signal (courtship click) alone was not enough to attract the female. We highlight the need to consider others modalities of communication in future studies, addressing the possibility ability of *H. reidi* to using the multimodal signalling system in the context of sexual selection.

Keywords: mate choice, bioacoustics, playback, seahorse.

Introdução

O ambiente subaquático é uma mistura variável de sons, provenientes de diversas fontes. Nessa miscelânea sonora, há ruídos bióticos (biofonia; Fariña, 2014) produzidos por organismos como mamíferos marinhos, peixes, caranguejos, camarões, e ainda ruídos abióticos resultantes de processos meteorológicos e geológicos (geofonia; Fariña, 2014), tais quais: vento, fluxo de água, atividade sísmica e precipitação (Hildebrand, 2004; Lammers *et al.,* 2008). Além desses, os sons antropogênicos como os provocados por navios comerciais, sonares, explosões subaquáticas, operações de perfuração *offshore* (antropofonia; Fariña, 2014) contribuem na constituição do ruído ambiental (Fox *et al.,* 2013). A forma como o som é percebido pelo receptor depende não só das condições ambientais, tais como temperatura da água, salinidade, tipo de substrato, batimetria e profundidade (Hildebrand, 2004), mas também da quantidade de ruído ambiental presente (Fox *et al.,* 2013).

A produção de sons é utilizada por diversos grupos animais para transmitir informações (Bradbury & Vehrencamp, 2011). Dentre os vertebrados, destacam-se os peixes, sendo provavelmente o grupo mais diverso a produzir sons (Ladich, 2004) e que desenvolveram a maior diversidade de mecanismos de produção de som (Ladich & Fine 2006; Bass & Ladich 2008). A maioria dos mecanismos sonoros conhecidos neste grupo é produzida de duas formas principais: (1) estridulação, quando ocorre a fricção de elementos ósseos, tais como dentes ou espinhos das nadadeiras; e (2) vibração da bexiga natatória, quando há uma rápida contração dos músculos especializados, que contraem ou estendem a bexiga natatória, resultando na emissão de som (Bass & Ladich, 2003).

A maioria dos sons produzidos pelos peixes tende a ser sinais pulsáteis e variados em termos de frequência e duração (Bass & Ladich, 2008), e podem conter informações biológicas relevantes como localização (de alimento, parceiro, predador, presa), identidade do indivíduo (idade, sexo, força), status social (dominante ou submisso), indicar *fitness* do parceiro (tamanho, vigor, taxa de displays), discriminar a espécie, e ainda sincronizar a liberação de gametas (Lobel *et al.,* 2010; Simmons, 2010).

Na seleção sexual, os sinais acústicos são tipicamente produzidos pelos machos para atrair as fêmeas receptivas e podem transmitir informações sobre as espécies e identidade sexual, motivação sexual, e localização (Bradbury &

Vehrencamp, 2011). Em peixes, sons produzidos durante a corte podem ajudar a anunciar e aumentar a desova ou até mesmo agrupar os indivíduos (Fish, 1953; Myrberg & Lugli, 2006). Além desses fatores, os sinais acústicos podem ser indicadores honestos do tamanho e condição corporal do macho (Amorim *et al.,* 2013), como observado na família Pomacentridae, onde as fêmeas preferem sons de freqüência mais baixa, que indicam um maior tamanho do macho (Myrberg *et al*., 1986). Tais sinais também desempenham um importante papel no reconhecimento específico, como demonstrado para pomacentrideos (Myrberg *et al.,* 1978) e para ciclídeos (Lobel, 1998; Amorim *et al.,* 2008).

No caso dos cavalos-marinhos, a produção de som se dá pela fricção entre os ossos do crânio, especificamente entre o supra-occipital e a coroa (Figura 2), e assim a produção do som consiste em um mecanismo estridulatório (Fish & Mowbray, 1970), resultante em um clique que se assemelha a um estalar de dedos (Colson *et al.,* 1998). Os cliques emitidos pelos cavalos-marinhos foram descritos em diversos contextos comportamentais, principalmente durante a alimentação (*e.g.* Gill 1905, James & Heck, 1994, Berget & Wainright, 1997, Felício *et al.,* 2006, Anderson 2009, Chakraborty *et al.,* 2014; Oliveira *et al.,* 2014; Lim *et al.,* 2015), mas também quando esses peixes são introduzidos a um novo ambiente (Fish 1953) e durante o comportamento de corte (Anderson, 2009; Furtado, 2013; Oliveira *et al.,* 2014). Além dos cliques, há registros de sons de baixa frequência neste grupo (Dufossé, 1874; Anderson, 2009; Oliveira *et al.,* 2014), produzidos em situação de estresse (*i.e*., quando os animais são manuseados), provavelmente pela contração de músculos esqueléticos e amplificados pela bexiga natatória (Dufossé, 1874).

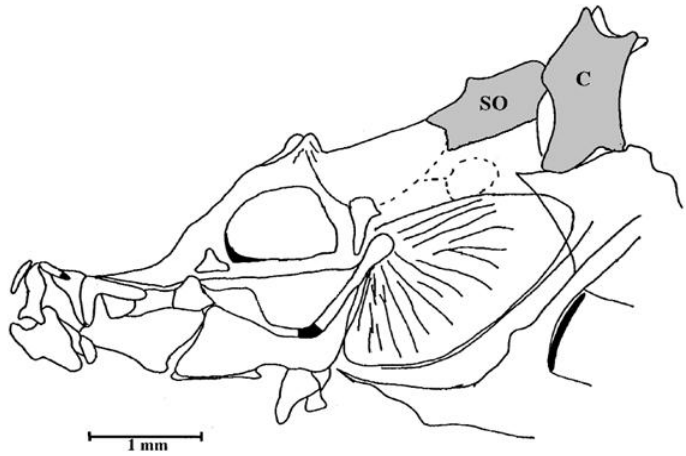


Figura 2: Desenho esquemático do crânio do cavalo-marinho *Hippocampus zosterae*; destacados, em cinza, os ossos do crânio responsáveis pela produção de cliques (SO= supraoccipital; C= coroa) (modificado de Colson *et al.*, 1998).

Material e métodos

Aquário Experimental

Os experimentos foram realizados em um aquário experimental de 140.5L (80 x 32 x 55cm) demarcado com um marcador permanente em três zonas distintas (Figura 2): uma zona neutra central com 40cm de comprimento e duas zonas de resposta, uma referente ao som estímulo e outra ao som controle, uma em cada extremidade do aquário, com 20cm de comprimento, cada. Em cada zona de resposta foi posicionada, a 10cm do assoalho do aquário para evitar efeitos de vibração, uma caixa de som subaquática UW30 (Lubell Labs Inc.), para a reprodução do playback.

Uma bomba de circulação de 400L/h foi posicionada no aquário para assegurar a aeração e filtragem de água, bem como foi disponibilizada uma planta artificial para que servir de substrato para o animal focal (*sensu* Altmann, 1974). Durante a realização dos experimentos, a bomba de circulação foi desligada e os animais focais não receberam alimento, sendo este ofertado após o término da experimentação. Os parâmetros físico-químicos da água e o regime de fotoperíodo foram mantidos semelhantes àqueles dos aquários de manutenção.

Tratamento interno e externo

A problemática de gravar e reproduzir sons em ambientes fechados como um aquário (*e.g.* ressonâncias, reverberações) tornou necessária a busca por um tratamento que atenuasse ao máximo as distorções daquele tipo de ambiente. Com esse propósito, foram realizados testes visando encontrar materiais que apresentassem uma boa absorção, os quais foram utilizados na construção de um ambiente acusticamente equilibrado.

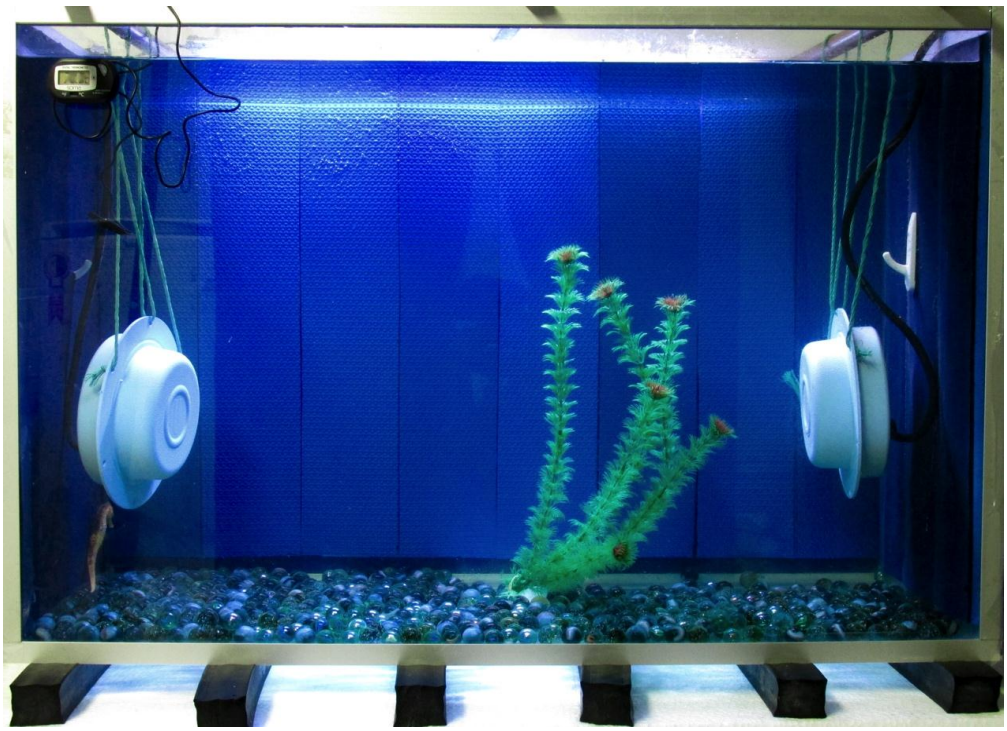


Figura 3: Aquário experimental, mostrando o tratamento interno e externo, bem como o *set up* experimental.

A primeira etapa na construção do aquário experimental próximo ao que seria um ambiente acústico equilibrado foi projetá-lo de forma que seguisse proporções que minimizassem a sobreposição de ressonâncias naturais (De Marco, 2002) e que assim se encontrassem no interior do diagrama de Bolt (1949). Utilizou-se a razão aurea de 1: 1.6:1.6^2, resultando, portanto, nas dimensões 32 x 55 x 80cm. Conforme assinalado por Everest & Pohlmann (2001), as proporções corretas reduzem drasticamente os efeitos das ressonância naturais; assim, um ambiente que se enquadre no diagrama de Bolt (1949) possui uma qualidade acústica superior.

As proporções, porém, não são o único fator a ser levado em conta na construção de um ambiente acusticamente equilibrado (Everest & Pohlmann, 2001), e a etapa seguinte foi encontrar materiais, para além do próprio vidro, cujos perfis de absorção fossem distintos entre si e gerassem um equilibro espectral na absorção de energia acústica. Para isso, verificou-se a curva de absorção relativa de 8 materiais, sendo eles: Espuma D23 de 20mm de espessura, E.V.A de 3mm, E.V.A. de 10mm, plástico-bolha, neoprene de 3mm, meia-calça de seda, pedrinhas para ornamentação de aquário e bolas de gude.

Para a obtenção das curvas relativa de absorção dos materiais, gerou-se no programa Cool Edit Pro 2.0 (Syntrilium Software Corporation) um ruído branco, que

foi reproduzido dentro do aquário por meio de uma caixa de som subaquática UW30 conectada a um amplificador MK1200 (Mark Audio Indústria e Comércio de Aparelhos de Som LTDA.), ligado a uma placa iO2 Express 24-Bit USB Recording Interface (Alesis) controlada por um MacBook OS X (Apple Inc). A captação e gravação do som foi obtida por meio do uso de um hidrofone modelo *SQ26-08* (frequência de captação de 0,030 a 30 kHz, sensibilidade: -193 dBV re 1V/µPa; *Cetacean Research Technology*) conectado a um gravador *M-Audio MicroTrack II solid state* (taxa de amostragem de 44,1 kHz, 16 bits). Foram realizadas 48 gravações, sendo 6 gravações para cada material testado (3 com material no interior do aquário e 3 sem material no aquário - controle). Posteiormente, no software S_TOOLS-STx 4.0.0 (Acoustics Research Institute, Austrian Academy of Sciences, Viena, Áustria), através de uma análise de *cepstrum-smoothed spectra,* obteve-se os valores de bandas de oitavas de frequência. Posteriormente, os valores médios de frequências para cada material foi subtraído dos valores médios controle, e com isso, foi gerado um gráfico de linhas no qual foi possível avaliar as curvas relativas de absorção.

A partir dos resultados obtidos, optou-se por utilizar E.V.A. de 10mm de espessura e neoprene de 2mm de espessura nas paredes do aquário, pois juntamente com alguma área de vidro, garantiam uma boa absorção ao longo de todo o espectro de frequência, garantindo assim o equilíbrio acústico interno do aquário. Foram utilizadas uma folha de EVA na parede traseira do aquário e uma camada de neoprene em cada uma das paredes laterais do aquário. Por fim, para eliminar efeitos indesejados de paralelismo (De Marco, 2002, Everest & Pohlmann, 2001), o EVA e uma das camadas de neoprene foram dispostos em zig-zag, em um ângulo de 4^{o}. Uma vez que a quantidade de vidro no aquário se mostrou suficiente, optamos por utilizar uma camada irregular de bolas de gudes no assoalho com o intuito de reduzir o paralelismo com a superfície de água (Figura 3).

Adicionalmente, a fim de aumentar a absorção das frequências agudas nas proximidades do aquário, foram dispostos ao redor do tanque blocos de espuma de 20cm. Como resultado final obteve-se um tratamento onde, por meio de uma absorção equilibrada ao longo de todo o espectro, evitou-se que o som fosse reforçado em frequências específicas, passando o aquário a apresentar um espectro igualmente equilibrado, sem ressonâncias ou excesso de reverberação (Figura 4). Por fim, o aquário encontrava-se sobre uma plataforma de isolamento de vibrações,

formada por uma folha de isopor de 25mm de espessura e tiras de borracha de 35mm de espessura.

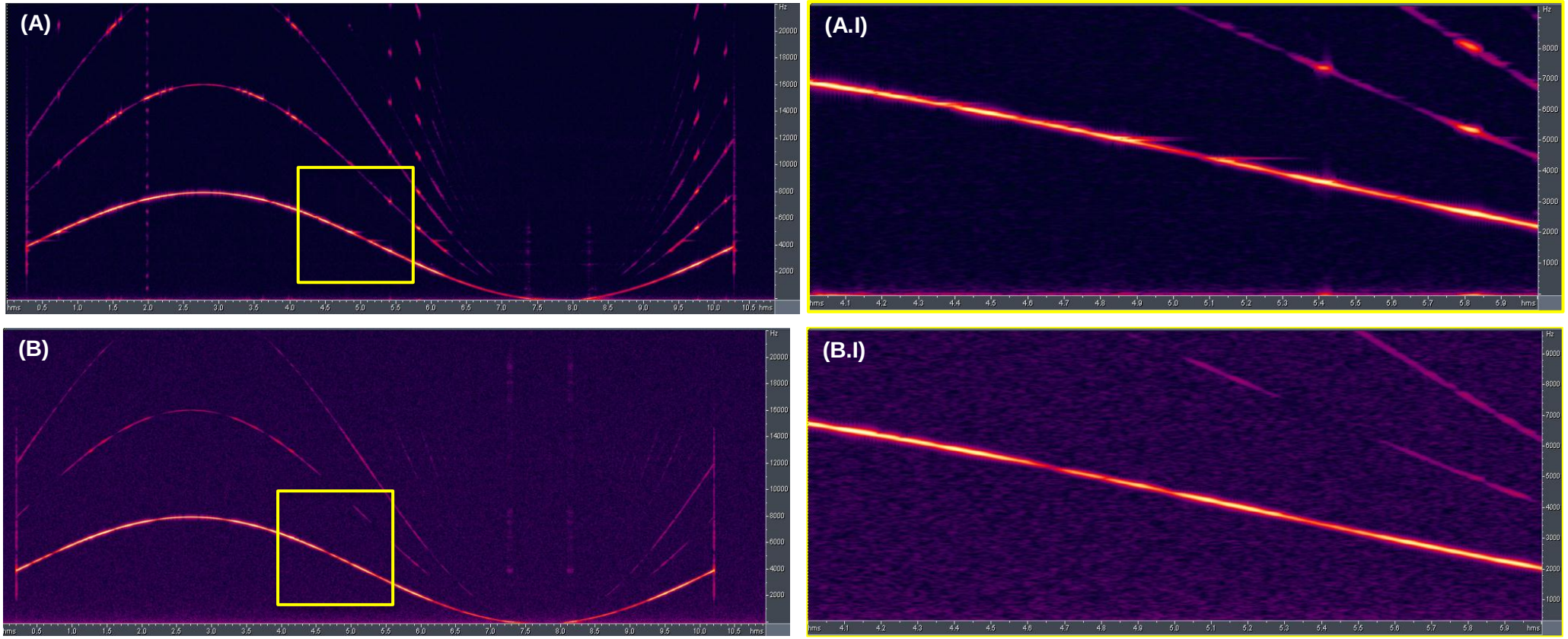


Figura 4: Espectrograma de uma modulação de frequência reproduzida durante os experimentos de tratamento do aquário. (A) Espectrograma demonstrando o som no aquário antes de receber o tratamento. O quadrado amarelo evidencia a presença de ressonância entre 3 e 6kHz; (A.I) Zoom do espectrograma A, demonstrando a ressonância encontrada no aquário;(B) Espectrograma demonstrando o som no aquário após receber o tratamento; (B.I) Zoom do espectrograma B elucidando a ausência da ressonância na faixa entre 3 e 6kHz antes observada no espectrograma A. Frequência de amostragem 44.1Hz, Hanning window, FFT 1024, Window Width 100%.

Experimentação

Estímulo acústico (playback)

Para o experimento de *playback* foram utilizados dois tipos de som, sendo um usado como som estímulo (Figura 5A) e outro como som controle (Figura 5B). O som estímulo foi do tipo clique do cavalo-marinho, sintetizado a partir de um ruído branco, enquanto que o som controle foi do tipo grunhido (do inglês, *grunt)* do peixe *Pomadasys corvinaeformis* (Steindachner, 1868).

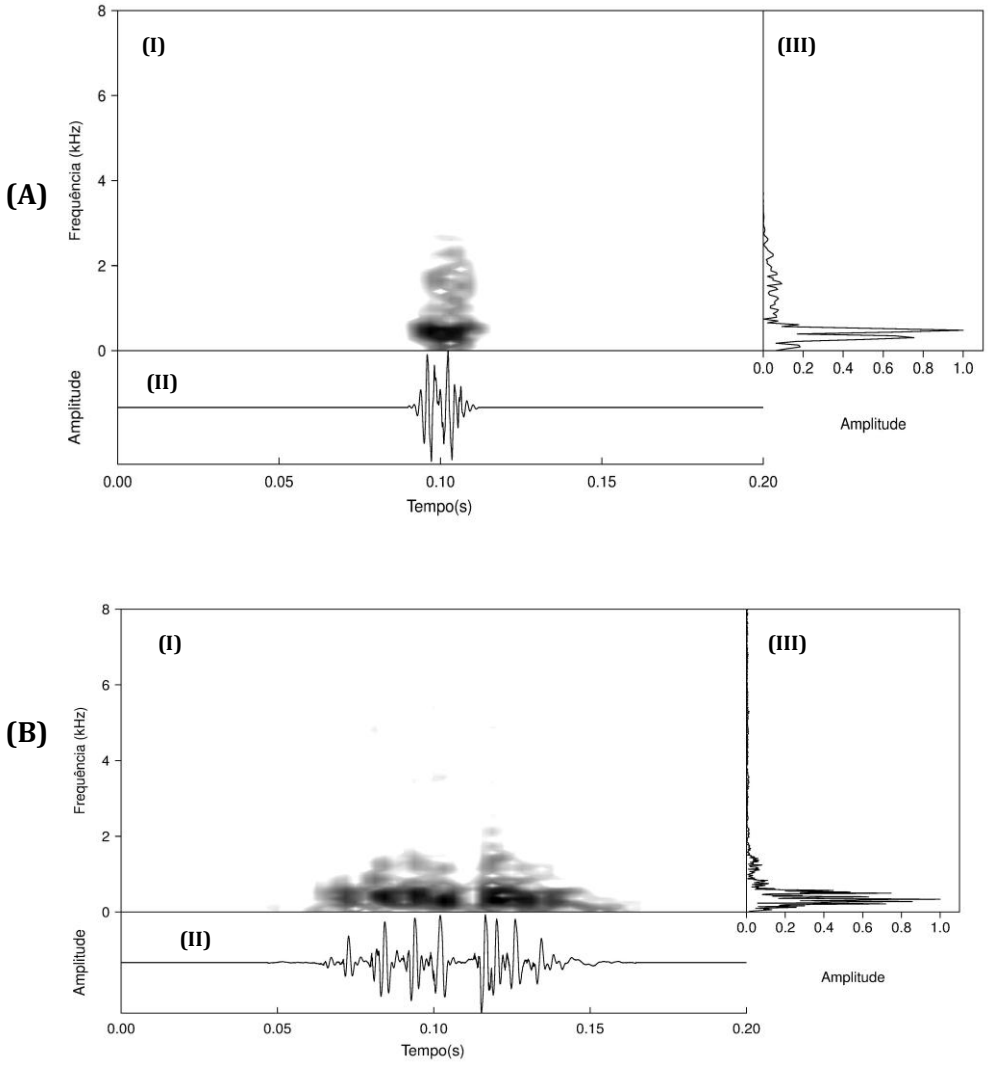


Figura 5: Espectrogramas (I), oscilogramas (II) e espectros de potência (III) dos sons estímulo (A) e controle (B)

O estímulo foi sintetizado de modo a apresentar propriedades espectrais e temporais similares aos cliques gravados no estudo de Furtado (2013), que apresentou médias de frequência dominante de 741 ± 97Hz e duração de 12.6 ± 1.2ms (n =101). Segundo McKibben & Bass (1998), ao isolar sinais acústicos do meio comportamental potencialmente complexo, o playback nos permite uma comparação mais direta entre as propriedades físicas de um som e a resposta do receptor. A síntese acústica foi realizada no programa Cool Edit Pro 2.0 a partir de um ruído branco de duração inicial de 12.6ms. Posteriormente, o espectro de potência foi ajustado por meio de um equalizador gráfico, a fim de que esse som apresentasse características espectrais semelhantes a um clique natural. Para tanto, os valores de bandas de frequência foram obtidos através de uma análise de *cepstrum-smoothed spectra* no S_TOOLS-STx 4.0.0. Os resultados obtidos representavam a energia em 32.000 bandas, de forma que para obter o timbre 1/3 de oitava somamos os respectivos intervalos de bandas por meio a equação (Bistafa, 2011):

$$\text{Lp}= 10 \log \left(\sum_{i=1}^{N} 10^{(L_{Pi}/10)} \right).$$

Os valores de intensidade em 1/3 de oitava obtidos por meio da análise foi utilizado como referência para a equalização, também em 1/3 de oitava (30 bandas), realizada com o auxílio de um equalizador gráfico no software Cool Edit Pro 2.0. Esse procedimento fez com que a distribuição de energia no espectro de frequência (timbre) do ruído branco se assemelhasse aquele encontrado nos clicks de *H. reidi.* Após analisar o espectro de potência, utilizou-se um filtro de FFT LowPass em 4KHz de -13dB para ajustes finos, e para reduzir a energia nas frequências em que não são encontradas em ambiente natural (Oliveira *et al.,* 2014; Figura 6).

Um grunhido apresenta uma duração de 50ms e frequência dominate de até 2.5kHz, sendo produzido por estridulação numa série de 4-5/s (Fish & Mowbray, 1970). A gravação do grunhido de *P. corvinaeformis* foi obtido na plataforma do FishBase. Segundo Hercule Florence (*apud* Viellard, 1993), o

sinal sonoro produzido por um individuo é espécie-específico, portanto espera-se que apenas indivíduos de sua mesma espécie deveriam responder ao estímulo, principalmente em um contexto tão específico como o de corte. *P. corvinaeformis* apresenta registro de ocorrência em localidades onde também há *H. reidi* (Oliveira & Pessanha, 2014), não sendo uma espécie predadora de cavalo-marinho, de forma que sua presença não gera alterações comportamentais nesse.

Fonotaxia

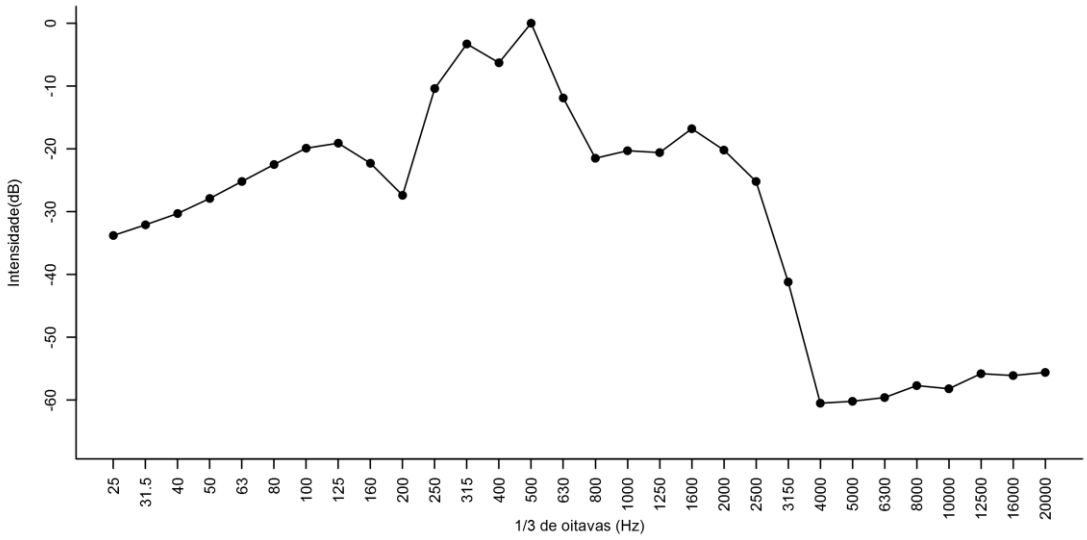


Figura 6: Espectro de potência do clique sintetizado.

Os experimentos foram realizados na Universidade Federal da Paraíba, no Laboratório de Ornitologia. Foram utilizados 10 fêmeas de *Hippocampus reidi* como animais focais (Altmann, 194). Buscou-se verificar se o estímulo acústico é capaz de atrair a fêmea de cavalo-marinho *Hippocampus reidi*.

Para testar se as fêmeas de cavalos-marinhos apresentam fonotaxia positiva ao som do clique foram realizados experimentos de playback, nos quais eram apresentados às fêmeas focais dois tipos de som (o som estímulo e o som controle). O protocolo de *playback* (adaptado de Amorim *et al*., 2013) constava de 900s de duração, sendo 300s antes do *playback* (PRE), 300s de *playback* (PBK) e 300s após o *playback* (POS). Para assegurar que ambos os

sons apresentavam a mesma intensidade estes foram normalizados a 0dB. Foi reproduzida uma sequencia de 6 sons/min , sendo um som a cada 10s, de forma que intercalou-se um clique (estímulo), depois um grunhido de *P. corvinaeformis* (controle). No início de cada experimento, o lado de reprodução do som estímulo e do som controle foi escolhido de forma alternada, para excluir possíveis tendências. Durante os períodos PREs e POSs não foi reproduzido nenhum som, apenas observada a atividade das fêmeas focais.

As caixas de som subaquáticas encontravam-se conectadas a um amplificador MK1200, ligado a uma placa iO2 Express 24-Bit USB Recording Interface (Alesis) controlada por um MacBook OS X, onde as pistas de playback estavam montadas para execução no programa Cool Edit Pro 2.0. Para posterior revisão e análise, todos os experimentos foram filmados, utilizando-se uma câmera Canon Powershot SX170, posicionada a 1m de distância do aquário experimental, por trás de uma cortina azul-marinho opaca.

Análises de dados

O tempo que os indivíduo focais despenderam em cada zona (neutra, estímulo ou controle) foi considerado como tempo de associação. Por meio da análise dos vídeos foi mensurada a proporção de tempo que a fêmea despendeu em cada zona. Para comparar o tempo relativo despendido na zona de resposta do estímulo nos três períodos (PRE, PBK, POS) e verificar se a presença do som alterou o tempo de associação à zona testada, foi usado um Kruskall-Wallis. As fêmeas que permaneceram em uma única zona ou estiveram em repouso durante todo o experimento não foram consideradas nas análises. Nenhum indivíduo foi testado mais de uma vez. As análises foram realizadas no software R 3.2.0.

Resultados

Registrou-se um total de 9000 segundos de experimento, onde 7200s foram considerados nas análises; os demais 1800s foram excluídos uma vez que, nestes, as fêmeas focais não saíram do repouso. Os comportamentos observados (ver Furtado, 2013) durante os experimentos foram: natação, ascender, clique e repouso. Foi registrada a produção sonora por um único individuo durante os períodos PBK (N=1) e POS (N=3).

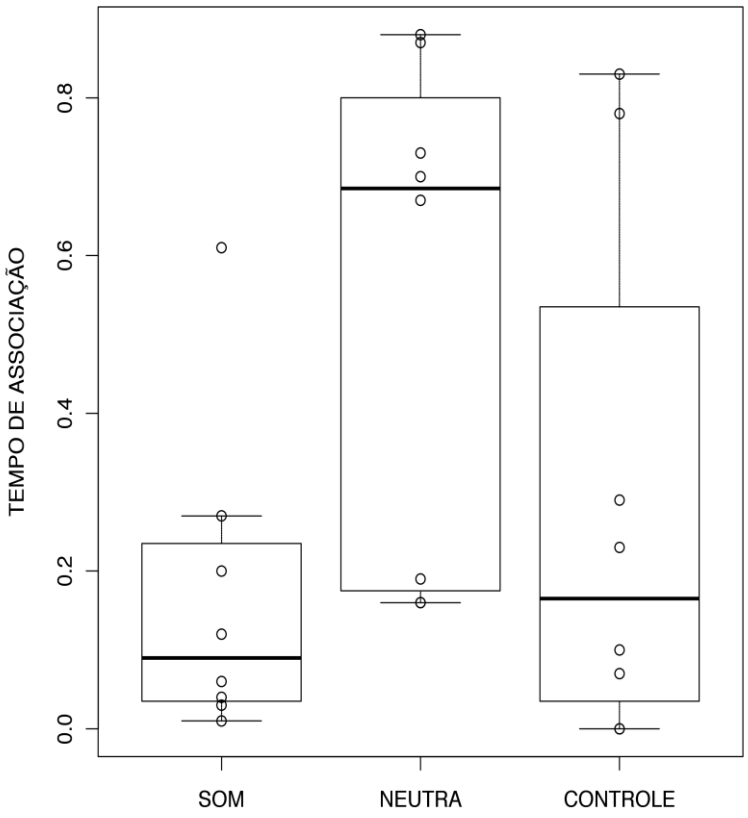


Figura 7: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação da fêmea de *Hippocampus reidi* à cada uma das zonas de resposta durante o experimento de *playback*. SOM = zona de resposta do clique de corte sintetizado de cavalo-marinho *Hippocampus reidi*; NEUTRA = zona de resposta neutra; CONTROLE = zona de resposta ao grunhido (do inglês, *grunt)* de *Pomadasys corvinaeformis*.

As fêmeas testadas não demonstraram fonotaxia positiva ao clique de corte, uma vez que despenderam maior tempo associada à zona neutra do que às zonas de respostas, tanto do som estímulo quanto do controle (Figura 7).

Com relação ao tempo relativo em que a fêmea permaneceu na zona de resposta do som estímulo nos períodos PRE, PBK e POS do experimento (Figura 8), também não foram verificadas diferenças entre PRE, PBK e POS após a execução do *playback* (Kruskal-Wallis = 4.1272, p >0.05).

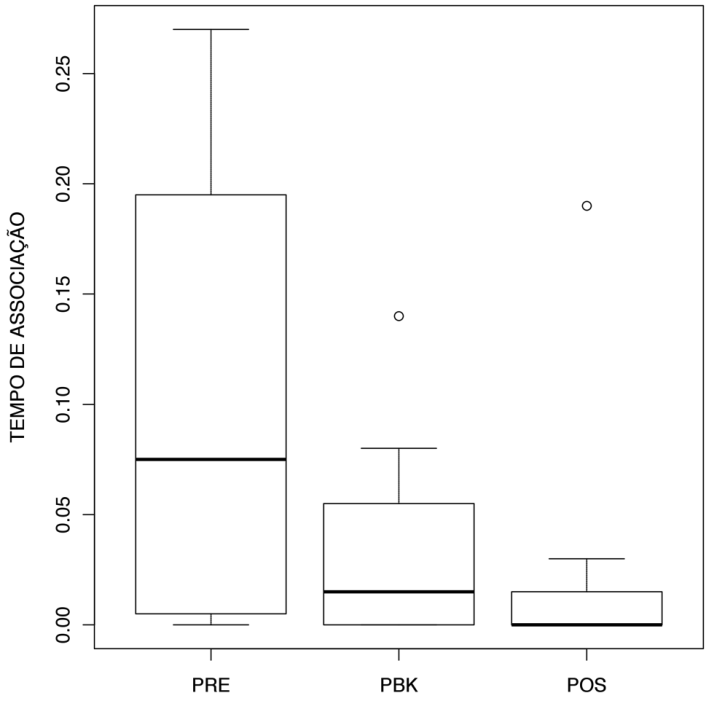


Figura 8: Tempo relativo de associação da fêmea de *Hippocampus reidi* à zona de resposta do som do clique de cavalo-marinho. PRE = período de 300 segundos antes da execução do playback; PBK = período de 300s durante a execução do playback; POS = período de 300s após a execução do *playback*.

Discussão

No ambiente estuarino ocupado por *Hippocampus reidi*, outros organismos (*e.g.* caranguejos, camarões) também produzem som pulsado e com banda larga de frequência (Clayton, 2001; Bradley *et al.,* 2013) semelhantes ao cliques produzidos pelo cavalo-marinho. Esses sons ocupam o mesmo intervalo espectral de vocalizações de corte da maioria dos peixes (Ladich & Myrberg, 2006), de forma que existe uma competição de nicho acústico entre esses organismos. Alguns grupos animais são responsáveis por elevarem o nível do ruído sonoro (Fish & Mowbray, 1970), como é o caso de camarões estaladores (do inglês, *snapping shrimps*) que produzem sons tão intensos que são suficientes para perturbar a comunicação subaquática (Lohse *et al.*, 2001). Outro fator importante a se considerar é que, além dessa competição acústica, caranguejos e cavalos-marinhos dividem o mesmo microhabitat nos estuários com interações agonísticas (Rosa *et al.*, 2005). Diante disso, é possível que a comunicação acústica não seja o sinal de comunicação mais eficiente na atração de parceiros.

A maioria dos sinais acústicos produzidos pelos peixes apresenta baixa amplitude e é predominantemente produzida a curtas distâncias durante contextos de corte e interações agonísticas (Myrberg & Lugli, 2006; van der Sluijs *et al.,* 2011). Em muitas espécies, os sons podem servir como forma de anunciar a presença e localização dos potenciais parceiros. Porém, muitas vezes, os sons só são bem sucedidos quando já houve a localização do indivíduo do sexo oposto, e os potenciais parceiros encontram-se em estreita proximidade um do outro (Estramil *et al.,*2013).

Neste trabalho, observou-se que o som de corte, quando emitido isoladamente, parece não ser suficiente para atrair a fêmea. Este resultado corrobora o encontrado por Tavolga (1958) para uma espécie de gobídeo, no qual a preferencia do parceiro pareceu não ser afetada pelo *playback* de um som de corte. Ainda, outros estudos apontam para a resposta das fêmeas ao *playback* co-específico quando estas foram pré-expostas a estímulos de

outras modalidades sensoriais, como o visual ou químico (Tavolga, 1958; Lugli *et al.,* 2004; Estramil *et al.,* 2013). Amorim e colaboradores (2013) sugerem que a sinalização acústica, quando apresentada em um contexto bimodal torna-se uma característica importante a ponto de substituir informação visual. Possivelmente, o único estudo que verificou fonotaxia positiva foi o realizado por McKibben & Bass (1998), que observaram uma atração da fêmea de *Porichthys notatus* pelo playback do som do macho da mesma espécie, sem um estímulo visual adicional.

Por outro lado, estudos em que a produção de sons durante o processo de corte da espécie (Furtado, 2013; Oliveira *et al.,* 2014), com um aumento da sua produção nos últimos dias (Oliveira *et al.,* 2014), demonstram que esse tipo de sinalização estaria ocupando um papel relevante neste contexto. Mas, se o som de corte não é suficiente para a atração de parceiros, como os cavalos-marinhos evoluíram um sistema de corte tão complexo e com a utilização de sons? A resposta pode estar no fato de que os estudos citados acima verificaram a sinalização acústica de forma conjunta a outros tipos de sinalização, o que enfatiza a possibilidade dela ser um elemento integrador de um sistema mais complexo de multimodalidade.

Quando estabelecida a proximidade entre os indivíduos, os sons de corte transmitem a motivação e auxiliam na sincronização da cópula (Bradbury & Vehrencamp, 2011). Ademais, há um reconhecido efeito da comunicação acústica no aumento da atividade de corte em algumas espécies de peixes (Amorim *et al.,* 2013). Desta forma, uma vez que os potenciais parceiros estejam próximos, então os machos realizariam uma série de comportamentos que podem incluir displays visuais e vocalizações, eventualmente culminando com o acasalamento (Amorim *et al.,* 2015).

O aumento na taxa de repetição dos sons ao decorrer dos dias no processo de corte pode estar associado ao fato de que esse aumento estaria diretamente relacionado às maiores chances do parceiro receber aquele sinal (Bradbury & Vehrencamp, 2011). Oliveira e colaboradores (2014) observaram que há um pico na produção de cliques no ultimo dia da corte (3^{o} dia), e também, quando o macho e a fêmea encontram-se numa distância inferior a

15 cm, o que estaria indicando a prontidão para acasalar. Anderson (2009) concluiu que em *Hippocampus erectus* a sinalização acústica pode ajudar a manter a ligação dos pares e identificar parceiros sexualmente maduros.

De uma forma geral, os aspectos abordados enfatizam a funcionalidade da comunicação acústica quando usada em curtas distâncias na escolha de parceiro. Porém, sons de peixes são geralmente acompanhadas por sinais de outras modalidades sensoriais (Amorim *et al.,* 2013), o que torna difícil estabelecer o papel de sinais acústicos. Os resultados obtidos neste estudo, quando somados aos de Oliveira (2011) e Oliveira e colaboradores (2014), sugerem que, no contexto da seleção sexual de *Hippocampus reidi*, a comunicação acústica é parte integradora de um sistema multimodal. Nessa direção, estudos que levem em conta a sinergia de diferentes formas de sinalização serão de grande valia para ampliar a compreensão do complexo sistema de acasalamento e corte dentro do gênero *Hippocampus*.

Referências bibliográficas

Amorim, M. C. P., da Ponte, A. N., Caiano, M., Pedroso, S. S., Pereira, R., & Fonseca, P. J. Mate preference in the painted goby: the influence of visual and acoustic courtship signals. The Journal of experimental biology, 216(21): 3996-4004. 2013.

Amorim, M. C. P., Pedroso, S. S., Bolgan, M., Jordao, J. M., Caiano, M., & Fonseca, P. J. Painted gobies sing their quality out loud: acoustic rather than visual signals advertise male quality and contribute to mating success. Functional Ecology, 27(2): 289-298. 2013

Amorim, M. C. P., Simões, J. M., Fonseca, P. J., & Turner, G. F. Species differences in courtship acoustic signals among five Lake Malawi cichlid species (*Pseudotropheus* spp.). Journal of Fish Biology, 72(6): 1355-1368. 2008.

Amorim, M. C. P., Vasconcelos, R. O. & Fonseca, P. J. Fish Sounds and Mate Choice. In: Ladich, F. Sound Communication in Fishes. Springer Vienna, 2015. p. 1-33.

Anderson, P. A. The functions of sound production in the lined seahorse, *Hippocampus erectus*, and effects of loud ambient noise on its behavior and physiology in captive environments, Ph.D. thesis: University of Florida, 2009. 190p.

Bass, A. H. & Ladich, F. Vocal–Acoustic Communication: From Neurons to Behavior. Fish Bioacoustics, 2008. 253-278 pp.

Bergert, B. A., & Wainwright, P. C. Morphology and kinematics of prey capture in the syngnathid fishes *Hippocampus erectus* and *Syngnathus floridae*. Marine Biology, 127(4): 563-570. 1997.

Bistafa, Sylvio R. Acústica aplicada ao controle de ruído. 2ed. São Paulo: Blücher, 2011. 384p.

Bolt, R. H. Notes on normal frequency statistics for rectangular rooms. The Journal of the Acoustical Society of America, 15 (1): 130-133. 1946.

Bradbury, J. W.; Vehrencamp, S. L. Principles of animal communication. 2ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2011. 697p.

Chakraborty, B., Saran, A. K., Kuncolienker, D. S., Sreepada, R. A., Haris, K., & Fernandes, W. Characterization of yellow seahorse *Hippocampus kuda* feeding click sound signals in a laboratory environment: an application of probability density function and power spectral density analyses. Bioacoustics, 23(1): 1-14. 2014.

Clayton D. Acoustic calling in four species of ghost crabs: *Ocypode jousseaumei, O. platytarsus, O. rotundata* and *O. saratan* (Brachyura: Ocypodidae). Bioacoustics, 12(1): 37-55. 2001.

Colson, D. J.; Patek, S. N.; Brainerd, E. L.; Lewis, S. M. Sound production during feeding in *Hippocampus* seahorses (Syngnathidae). Environmental Biology of Fishes, 51: 221–229. 1998.

De Marco, C. S. Elementos de acústica arquitetônica. Nobel. 2002.

Dufossé, M. Recherches sur les bruits et les sons expressifs que font entendre les poissons d'Europe et sur les organs producteurs de ces phenomenes acoustiques ainsi que sur les appareils de l‘audition de plusieurs de ces animaux. Paris : Annales des Sciences, 1874. Vol 20, 134 pp.

Estramil, N., Bouton, N., Verzijden, M. N., Hofker, K., Riebel, K. & Slabberkoorn, H. Cichlids respond to conspecific sounds but females exhibit no phonotaxis without the presence of live males. Ecology of Freshwater Fish. 2013.

Everest, F. A. & Pohlmann, K. C. The master handbook of acoustics. Vol. 4. New York: McGraw-Hill, 2001.

Farina, A. Soundscape ecology. Springer, Dordrecht, NL, 2014. 315p.

Felício, A. K. C.; Rosa, I. L.; Souto, A. & Freitas, R. H. A. Feeding behavior of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. Journal of ethology, 24: 219-225. 2006.

Fish M. P. & Mowbray, W. H. Sounds of western North Atlantic fishes: a reference file of biological underwater sounds. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1970. 205p.

Fish, M. P. The production of underwater sound by the northern seahorse, *Hippocampus hudsonius*. Copeia, 1953 (2): 98-99. 1953.

Fish, M. P. The production of underwater sound by the northern seahorse, *Hippocampus hudsonius*. Copeia, 1953 (2):98-99. 1953.

Fox, B. K., Gorospe, K. D., Haverkort-Yeh, R. D., & Rivera, M. A. J. It'sa Snap! An Inquiry-Based, Snapping Shrimp Bioacoustics Activity. The American Biology Teacher, 75(7): 470-475. 2013.

Furtado, S. N. M. Seleção sexual em *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae): influência de sinais visuais e acústicos. Monografia. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2013. 71p.

Gill, T. The life history of the sea-horses (Hippocampids). Proceedings US National Museum, 28 (1408): 805-814. 1905.

Hildebrand, John. Sources of anthropogenic sound in the marine environment. In: Report to the Policy on Sound and Marine Mammals: An International Workshop. US Marine Mammal Commission and Joint Nature Conservation Committee, UK. London, England. 2004.

James, P. L. & Heck, K. L. The effects of habitat complexity and light intensity on ambush predation within a simulated seagrass habitat. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 176(2): 187-200. 1994.

Ladich, F. & Bass, A. H. Underwater sound generation and acoustic reception in fishes with some notes on frogs. In: Collin, S. P & Marshall, N. J. Sensory Processing in Aquatic Environments. New York: Springer-Verlag, 2003. pp. 173 – 193.

Ladich, F. & Bass, A. H. Underwater sound generation and acoustic reception in fishes with some notes on frogs. In: Collin, S. P. & Marshal, N. J. Sensory Processing in Aquatic Environments. Springer-Verlag, New York, 2003. pp. 173 - 193.

Ladich, F. & Fine, M. L. Sound generating mechanisms in fishes: a unique diversity in vertebrates. In: Ladich, F.; Collin, S. P.; Moler, P.; Kapoor, B .G. Communication in fishes. Enfield and Plymouth: Science Publishers, 2006. p. 3-43.

Ladich, F. & Myrberg, A. A. Agonistic behavior and acoustic communication. In: Ladich, F.; Collin, S. P.; Moler, P.; Kapoor, B .G. Communication in fishes. Enfield and Plymouth: Science Publishers, 2006. p. 121-148.

Ladich, F. Sound Production and Acoustic Communication. In: The Senses of Fishes. Adaptations for the Reception of Natural Stimuli. van der Emde, G., Mogdans, J. & Kapoor, B.G. Narosa Publ. House, New Delhi, 2004. 210-230 pp.

Ladich, F. Sound Production and Acoustic Communication. In: von der Emde, G.; Mogdans, J. & Kapoor, B.G. The Senses of Fish: Adaptations for the Reception of Natural. New Delhi: Narosa Publ. House, 2004. p. 210 – 230.

Lammers, M. O., Brainard, R. E., Au, W. W., Mooney, T. A. & Wong, K. B. An ecological acoustic recorder (EAR) for long-term monitoring of biological and anthropogenic sounds on coral reefs and other marine habitats. The Journal of the Acoustical Society of America, 123(3): 1720-1728. 2008.

Lim, A. C. O., Chong, V. C., Chew, W. X., Muniandy, S. V., Wong, C. S. & Ong, Z. C. Sound production in the tiger-tail seahorse *Hippocampus comes*: Insights into the sound producing mechanisms. Journal of the Acoustical Society of America, 138: 404-412. 2015.

Lobel, P. S. Possible species specific courtship sounds by two sympatric cichlid fishes in Lake Malawi, Africa. Environmental Biology of Fishes, 52(4): 443-452. 1998.

Lobel, Phillip S.; Kaatz, Ingrid M. & Rice, Aaron N. Acoustical behavior of coral reef fishes. In: Cole, Kathleen S. Reproduction and Sexuality in Marine Fishes: patterns and processes. Los Angeles: University of California, 2010. pp. 307-333.

Lohse, D., Schmitz, B. & Versluis, M. Snapping shrimp make flashing bubbles. Nature, 413(6855): 477-478. 2001.

Lugli, M., Pavan, G., & Torricelli, P. The response of the male freshwater goby to natural and synthetic male courtship sound playback following exposure to different female sexual stimuli. Ethology Ecology & Evolution, 16(1): 55-70. 2004.

McKibben, J. R. & Bass, A. H. Behavioral assessment of acoustic parameters relevant to signal recognition and preference in a vocal fish. The Journal of the Acoustical Society of America, 104(6): 3520-3533. 1998.

Myrberg, A. A. & Lugli, M. Reproductive behavior and acoustical interactions. . In: Ladich, F.; Collin, S.P.; Moler, P. & Kapoor, B.G. Communication in fishes. Enfield and Plymouth: Science Publishers, 2006. pp. 149-176.

Myrberg, A. A., & Lugli, M. Reproductive behavior and acoustical interactions. Communication in fishes, vol. *1*, 2006. pp. 149-176.

Myrberg, A. A., Mohler, M. & Catala, J. D. Sound production by males of a coral reef fish (*Pomacentrus partitus*): its significance to females. Animal Behaviour, 34(3), 913-923. 1986.

Myrberg, A. A., Spanier, E. H. U. D. & Ha, S. J. Temporal patterning in acoustical communication. Contrasts in behavior. Wiley, New York, 1978, pp.137-179.

Oliveira, T. P. R. Produção de som, sensibilidade auditiva e comunicação acústica em *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae), Tese (Doutorado): Universidade Federal da Paraíba, 2011. 119p.

Oliveira, R. E. & Pessanha, A. L. Fish assemblages along a morphodynamic continuum on three tropical beaches. Neotropical Ichthyology, 12(1): 165-175. 2014.

Oliveira, T. P. R., Ladich, F., Abed- Navandi, D., Souto, A. S., & Rosa, I. L. Sounds produced by the longsnout seahorse: a study of their structure and functions. Journal of Zoology, 294 (2): 114-121. 2014.

Rosa, I. M.; Alves, R. R. M.; Bonifácio, K. M.; Mourão, J. S.; Osorio, F. M.; Oliveira, T. P. R.; Nottingham, M. C. Fishers' knowledge and seahorse conservation in Brazil. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 1:12. 2005.

Simmons, A. M. Acoustic signals. In: Breed, M. D. & Moore, J. Encyclopedia of Animal Behavior. Elsevier, 2010. pp. 7-15.

Tavolga, W. N. Sound production and underwater communication in fishes. In: Lanyon, W. E. & Tavolga, W. N. Animal sounds and communication. Washington, D.C.: Intelligencer Printing Co., 1960. pp. 93–136.

Van der Sluijs, I., Gray, S. M., Amorim, M. C. P., Barber, I., Candolin, U., Hendry, A. P., & Wong, B. B. Communication in troubled waters: responses of fish communication systems to changing environments. Evolutionary Ecology, 25(3): 623-640. 2011.

Vielliard, J. M. E. A zoophonia de Hercule Florence. Editora Universitária UFMT, Cuiabá, 1993. 47 p.

CAPÍTULO 2 : Comunicação Química

Resumo

A sinalização química é amplamente utilizada entre os organismos, sendo considerada a modalidade mais antiga de comunicação. Sinais químicos (*i.e.* feromônios) são utilizados em vários contextos (*e.g.* atração de potenciais parceiros, demarcação de territórios, alarme, reconhecimento de grupo e/ou intraespecífico), podendo ser considerados como sinais que fornecem informações confiáveis sobre o emissor, refletindo com precisão a capacidade ou recursos deste. Considerando o ambiente aquático, essa modalidade de sinalização se torna facilitada diante da solubilidade da água. Neste estudo, buscou-se verificar, em fêmeas do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933, a capacidade de: (1) reconhecimento intraespecífico (quimiotaxia positiva); (2) reconhecimento de potenciais parceiros quando expostas apenas a sinais químicos no contexto de escolha de parceiro. Foram realizados experimento de gotejamento, constando de três baterias, com 10 repetições e duração de 900 segundos cada, onde as fêmeas focais foram expostas a feromônios. Cada bateria realizada continha um tratamento diferente, sendo eles: macho vs controle; fêmea vs controle; e, macho vs femea. Foram registrados um total de 18000s de experimento, onde 14400s foram considerados nas análises. No tratamento macho vs controle, as fêmeas permaneceram 55% do tempo associadas à zona do feromônio do macho e 45% na metade controle, demonstrando assim quimiotaxia positiva para o feromônio do macho (X^2 = 79.38, df = 1, $p < 0.01$), enquanto que no tratamento fêmea vs controle, as fêmeas despenderam 58% do tempo associadas à zona com o estímulo de feromônio, enquanto que 42% na zona controle, também evidenciando uma quimiotaxia positiva (X^2 = 79.38, df = 1, $p < 0.01$). Quando submetidas ao tratamento macho vs fêmea, estas despenderam 62% do tempo, de um total de 9000s, associadas à zona referente ao feromônio do macho, enquanto que 38% associadas à metade oposta onde era fornecido o feromônio da fêmea, evidenciando uma preferência pelo feromônio do macho (X^2= 192.08, df = 1, $p < 0.01$). Os resultados mostraram que as fêmeas de *H. reidi* usam feromônios para localizar indivíduos da mesma espécie, bem como para discriminar entre os sexos e escolher potenciais parceiros, de forma que esses sinais químicos apresentam uma funcionalidade geral dentro do contexto de escolha de parceiro na espécie.

Palavras-chaves: seleção sexual, comunicação química, feromônio, Syngnathidae.

Abstract

Chemical signaling is widely used among organisms, and it is considered the oldest type of communication. Chemical signals (*i.e.* pheromones) are used in several contexts *(e.g.* attraction of potencial mate, demarcation of territories, alarm, group recognition and/or intraspecific recognition), which can be regarded as honest signals that provide reliable information about the sender, reflecting with accuracy its capacity or resources. Water solubility renders that signaling mode easier. The aim of this study was to assess, in females of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933, the ability to: (1) intraspecific recognition (positive *chemiotaxis*); (2) sex recognition, when exposed only to chemical cues in a mate choice context. Delivery stimulus experiments were performed, consisting of three different trials, each one with 10 repetitions and duration of 900 seconds, in which focal females were exposed to pheromones. Each trial performed contained a different treatment, as follows: male vs. control; female vs. control; and, male vs. female. A total of 18000s of experiment were recorded, of which 14400s were considered in the analysis. In the male vs. control treatment, the females remained 55% of the time associated with male pheromone zone and 45% in the control zone, demonstrating positive chemotaxis for the male pheromone (X^2 = 79.38, df = 1, $p < 0.01$), while in the female vs. control treatment, females spent 58% of the time associated with the pheromone zone, and 42% with the control zone, also demonstrating a positive chemotaxis (X^2 = 79.38, df = 1, $p < 0.01$). When exposed to the male vs. female treatment, females spent 62% of the time, in a total of 9000s, associated to the zone related to male pheromone, while 38% were associated with the opposite zone, where female pheromone was provided, showing a preference for male pheromone (X^2= 192.08, df = 1, $p < 0.01$). Our results showed that females of *H. reidi* use pheromones in intraspecific recognition, as well as to discriminate sex and to choose potential mate, reinforcing that these chemical cues contains a general functionality in the context of mate choice for the species.

Keywords: sexual selection, chemical communication, pheromone, Syngnathidae.

Introdução

A sinalização química é amplamente utilizada entre os organismos. Considerada a modalidade mais antiga de comunicação, é utilizada em um amplo senso nos mais diversos níveis biológicos (Bradbury & Vehremcamp, 2011). Sinais químicos intraespecíficos (*i.e.* feromônios; Wyatt, 2003) são utilizados em vários contextos, como por exemplo na atração de potenciais parceiros, demarcação de territórios, alarme, reconhecimento de grupo e/ou intraespecífico. Estes podem ser considerados como sinais honestos que fornecem informações confiáveis sobre o emissor, refletindo com precisão a capacidade ou recursos deste (Guilford & Dawkins, 1995). Existe uma enorme diversidade de mecanismos que fazem a mediação da comunicação química, e esses são, muitas vezes, dimórficos sexualmente, para o emissor e o receptor.

Segundo Bradbury & Vehremcamp (2011), há quatro principais fontes de feromônios: (1) glândulas secretoras (endócrinas e/ou exócrinas) que manufaturam produtos específicos a sofrerem secreção extracorpórea; (2) produtos lançados como excrementos metabólicos; (3) produtos derivados de plantas; (4) produtos de degradação de microrganismos. Esses sinais químicos são transmitidos por fluxo de corrente, difusão, ou ainda, por contato direto entre o emissor e o receptor.

Nas últimas décadas, os sinais químicos têm atraído atenção considerável no estudo de reconhecimento de espécies, reconhecimento e avaliação de potenciais parceiros (McLennan, 2003; Plenderleith *et al.*, 2005;. Wong *et al.,* 2005). Sinais químicos são importantes na escolha do parceiro em algumas espécies de insetos, peixes e mamíferos (Sato *et al.,* 2014). De fato, a comunicação química entre os sexos ocorre em muitas espécies, e bactérias, protistas, fungos, plantas e animais, vertebrados ou invertebrados, usam sinais químicos para atrair e selecionar parceiros (Penn & Potts, 1998).

Em se tratando de organismos aquáticos, uma modalidade bastante lógica é a sinalização química, uma vez que a água é um excelente solvente; espécies evoluíram para detectar e responder a sinais químicos liberados por

membros da mesma espécie (Sorensen & Stacey, 2004). Conforme esperado, sinais químicos desempenham um grande papel na comunicação de peixes, facilitada pela solubilidade e difusão passiva de compostos químicos na água (Sorensen & Stacey, 2004). Sabe-se que os peixes se utilizam de sinalização química como barreira pré-zigótica e reconhecimento específico durante o acasalamento (Smadja & Butlin, 2009), para a escolha de parceiro intraespecífico (Wong *et al.,* 2005), avaliar a compatibilidade genética de potenciais parceiros (Bahr *et al.,* 2012) e outros indicadores de qualidade do parceiro (Penn & Potts, 1998; Fisher *et al.,* 2006). Os sinais químicos são também usados para sincronizar o comportamento reprodutivo (Sorensen & Stacey, 2004), podendo também fornecer indicadores particularmente eficazes do estado de saúde e infecção de um indivíduo (Penn & Potts, 1998), o que estaria intimamente ligado à sua aptidão. Adicionalmente, sabe-se que os feromônios masculinos podem ter efeitos notáveis sobre a fisiologia e comportamento reprodutivo de uma fêmea (*e.g.* aceleração da puberdade, estimulação da ovulação; Penn & Potts, 1998), porém, estudiosos da biologia sensorial muitas vezes pressupõem que esses sinais funcionam apenas para o reconhecimento de espécies ou para coordenar o acasalamento entre os sexos.

Com relação aos membros da família Sygnathidae (na qual os cavalos-marinhos se posicionam, como gênero *Hippocampus*), pouco se sabe a respeito da funcionalidade da comunicação química no contexto da escolha de parceiro, com poucos trabalhos desenvolvidos, sendo a maior parte deles focados nos peixes-cachimbo *Syngathus typhle* (Sundin *et al.,* 2010; Lindqvist *et al.,* 2011) e *Sygnathus scovelli* (Ratterman *et al.,* 2009) e apenas um único trabalho com a espécie de cavalo-marinho *Hippocampus abdominalis* (Bahr *et al.,* 2012).

No presente trabalho buscou-se avaliar a presença de comunicação química unimodal no cavalo-marinho *Hippocampus reidi*; investigou-se a capacidade da fêmea de: (1) reconhecer co-específicos (quimiotaxia positiva); (2) distinguir entre os sexos, apresentando preferência pelo feromônio do macho, utilizando-se unicamente de sinalização química.

Material e Métodos

As coletas de dados *ex-situ* foram realizadas na Universidade Federal da Paraíba, no Laboratório de Peixes: Ecologia e Conservação do Departamento de Sistemática e Ecologia. Para os experimentos de sinalização química foram usados dois tipos de aquários: um de 140.5L (80 x 32 x 55 cm) compartimentalizado em seis espaços para alocar os animais para a produção de estímulo químico; e outro aquário de 63L (60 x 30 x 35 cm) para a realização do experimento, seguindo o protocolo adaptado de Ratterman e colaboradores (2009).

Aquário estímulo

O aquário estímulo apresentava seis compartimentos separados por cinco divisórias de acrílico (três transparentes e duas opacas) que evitaram o contato físico e químico dos indivíduos, porém permitiam o contato visual entre cada casal de fêmea e macho (Figura 9). Em cada compartimento foi colocada uma planta artificial para servir de substrato para os animais. Uma mangueira para aeração também foi posicionada em cada compartimento. Para evitar contaminações, a superfície do aquário foi isolada do meio externo por meio de um plástico filme de PVC.

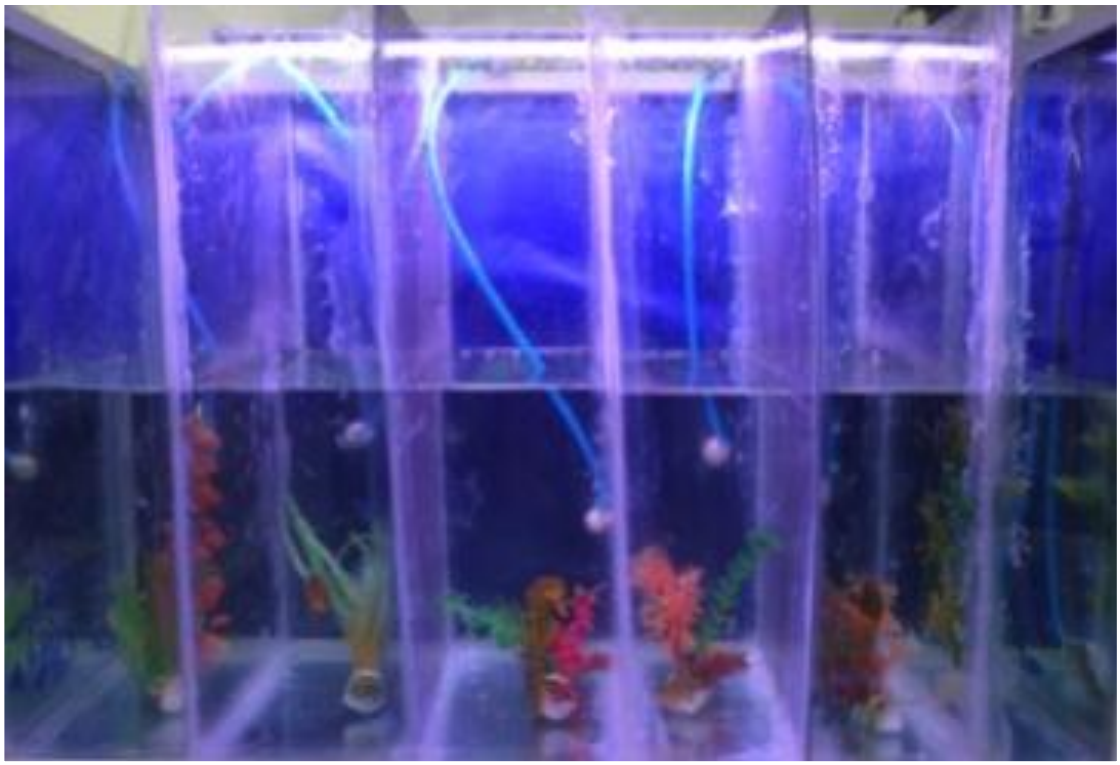


Figura 9: Aquário estímulo (80x32x55cm) contendo seis compartimentos separados por divisórias (três transparentes e duas opacas). Em cada compartimento foi alocado um animal estímulo. Foto: S.N.M.Furtado

Para cada produção de estímulo químico, foram usados seis indivíduos estímulo, sendo três fêmeas e três machos selecionados aleatoriamente dos tanques de manutenção. Os indivíduos estímulo foram transferidos para o aquário estímulo e alocados em compartimentos diferentes no início do fotoperíodo escuro (às 18:00h) do dia anterior à realização do teste. Uma película plástica aderente azul marinho foi fixada nas paredes externas do aquário estímulo para reduzir o estresse dos animais. Em cada compartimento foi colocada uma mangueira que garantia a aeração, bem como uma planta artificial para servir de substrato para os animais. A fim de evitar contaminações, a superfície da água foi isolada do meio externo por meio de um plástico filme de PVC.

No início do fotoperíodo luz (às 08:00h), os pares estímulo foram deixados em contato visual durante todo o período da manhã. As 12:00h, 3L

de água foram retirados de cada compartimento de produção de estímulo e colocados em um aquário de 10L (aquário fornecimento; 30 x 16 x 21 cm). Para controlar efeitos individuais, utilizou-se água com estímulo químico de três indivíduos diferentes para cada teste executado; sendo assim foram coletados 9L de estímulo para cada sexo (9L F; 9L M). Como controle, foi usada água do sistema de manutenção com a mesma temperatura e salinidade da água dos aquários estímulos.

A 'água estímulo' foi fornecida ao aquário experimental via tubos intravenosos esterilizados. Após a água ser ligeiramente sugada com o uso de pipeta do tipo Pasteur, o fluxo da água foi gerado por gravidade.

Para inferir o tempo de diluição do estímulo químico foi realizado um teste (Figura 10) com corante de bolo (Comércio e Representações Cecoti LTDA, Cláudio – MG, Brasil). O corante foi fornecido a uma taxa de 0,125 ml/s. O fluxo de fornecimento foi regulado através de pinças de soro. O corante alcançou a linha central do aquário aos 480 segundos com a maior concentração de corante próximo ao fornecimento. Portanto, foi estipulado que o animal focal teria até 900s para atravessar essa linha central.

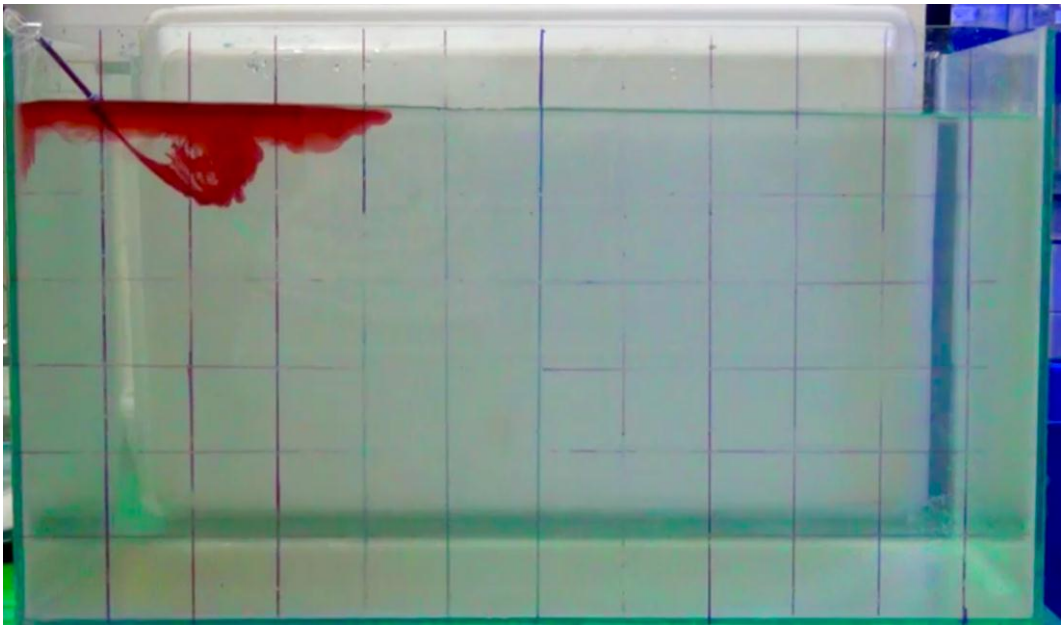


Figura 10: Teste de diluição com corante para fixar a taxa de fornecimento do estímulo químico

Aquário experimental

O aquário experimental teve sua área dividida ao meio por meio de um marcador à prova d'água (Figura 11). Na extremidade de cada metade, um tubo esterilizado foi fixado para gotejar estímulos diferentes. O lado de cada fornecimento dos estímulos foram alternados de um teste para outro, a fim de excluir possíveis tendências. As extremidades dos tubos intravenosos esterilizados foram fixados a 3 cm do fundo dos aquários fornecimento e 3 cm acima da superfície da água no aquário experimental.

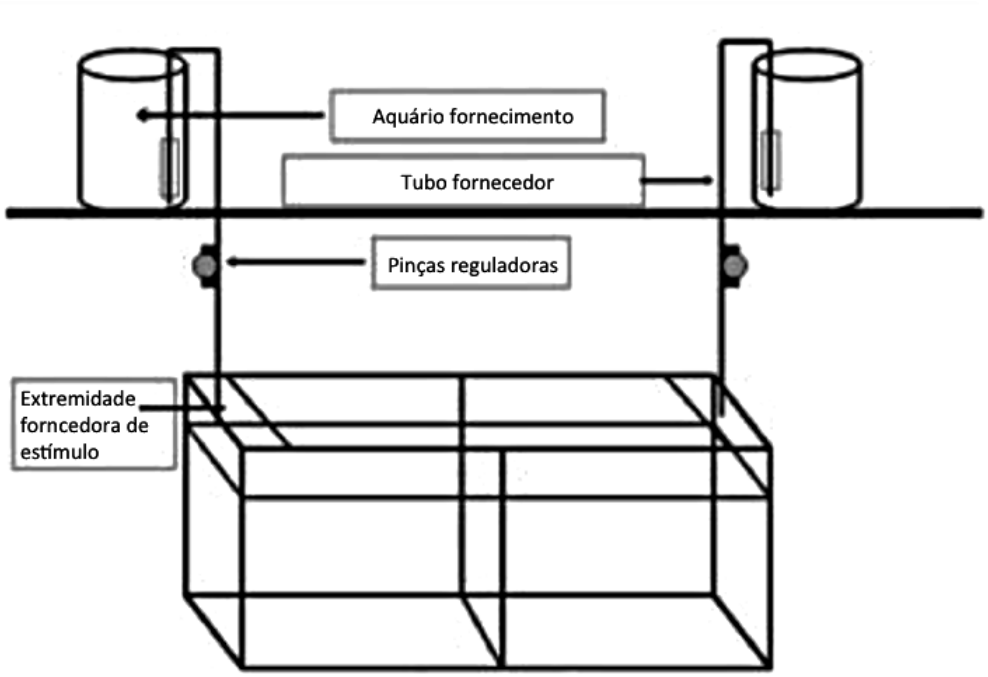


Figure 11: Esquema demonstrando o *set up* experimental de sinalização química, adaptado de Ratterman *et al.,* 2009. Os estímulos foram produzidos em aquários separados e depois depositados nos aquários fornecimento. Tubos intravenosos, com as extremidades posicionadas a 3 cm do fundo do aquário fornecimento e a 3 cm acima da superfície da água no aquário experimental, forneceram os estímulos para o indivíduo focal.

Experimentação

Quimiotaxia

Para este experimento as fêmeas foram testadas para responderem aos seguintes contrastes: (1) fêmea (tratamento) vs controle (FxC); (2) macho (tratamento) vs controle (MxC). A fêmea focal foi transferida para o aquário experimental uma hora antes do início de cada teste para aclimatar-se ao aquário.

Os testes tiveram inicio após o posicionamento do aquário experimental embaixo do aparato de fornecimento do estímulo químico. O estimulo controle consistiu em água padrão, com a mesma origem daquela utilizada para o aquário estímulo (ver acima). O estímulo tratamento consistiu na água com a mesma origem e propriedades físico-químicas, mas com traços de feromônio (masculino ou feminino, a depender do experimento). As pinças reguladoras de fluxo foram liberadas no inicio de cada teste, de forma simultânea. A posição inicial do peixe focal foi anotada e este teve um tempo (baseado no pré-teste de diluição, ver sessão Aquário Estímulo) para entrar no lado oposto do aquário. Para posterior revisão e análise, todos os experimentos foram filmados, utilizando-se uma câmera de vídeo Sony HDR-XR160, posicionada a 1m de distância do aquário experimental, por trás de uma cortina azul-marinho, opaca.

Reconhecimento do sexo

Este experimento seguiu o mesmo protocolo descrito anteriormente, porém desta vez as fêmeas foram testadas para responderem a um dos tratamentos macho vs fêmea. Nesse desenho amostral não houve estimulo controle, somente estímulos tratamento com traços de feromônio masculino de um lado do aquário, e feminino do lado oposto.

Análises de dados

Quimiotaxia

O tempo despendido em cada metade do tanque (tratamento e controle) foi registrado como tempo de associação. Nenhum individuo foi testado duas vezes ou usado como animal focal e gerador de estímulo. Os indivíduos que não cruzaram a linha central pelo menos uma vez ou permaneceram em repouso, foram excluídos das análises. Foram realizados 20 testes, sendo 10 para cada um dos experimentos, com 900s de duração cada teste.

Foi mensurada a proporção de tempo que a fêmea despendeu em cada metade. Para comparar se esses tempos relativos despendidos distinguiam-se entre si, foi usado um teste de Chi-Quadrado. As análises foram realizadas no software R 3.2.0.

Reconhecimento do sexo

As análises realizadas nessa sessão foram semelhantes àquelas usadas nos testes de quimiotaxia. Para reconhecimento do sexo, foram realizados 10 testes com 900s de duração cada teste.

Resultados

Quimiotaxia

Foi registrado um total de 18000s de experimento, onde 14400s foram considerados nas análises, enquanto que os demais 3600s foram excluídos pela ausência de atividade (ver material e métodos). Os comportamentos observados durante os experimentos foram: natação, ascender e repouso.

No tratamento macho vs controle, as fêmeas permaneceram 55% do tempo associadas à metade do feromônio do macho e 45% na metade do estímulo controle (Figura 12), demonstrando assim quimiotaxia positiva para o feromônio do macho ($X^2 = 79.38$, df = 1, $p < 0.01$). Considerando o tratamento fêmea vs controle, as fêmeas despenderam 58% do tempo associadas à metade com o estímulo de feromônio, enquanto que 42% na metade controle (Figura 13). Este resultado também evidencia uma quimiotaxia positiva para o feromônio da fêmea ($X^2 = 79.38$, df = 1, $p < 0.01$). Nossos resultados apontam para a capacidade das fêmeas reconhecerem co-específicos através de sinalização química, ou seja, elas apresentaram quimiotaxia positiva para o feromônio intraespecífico.

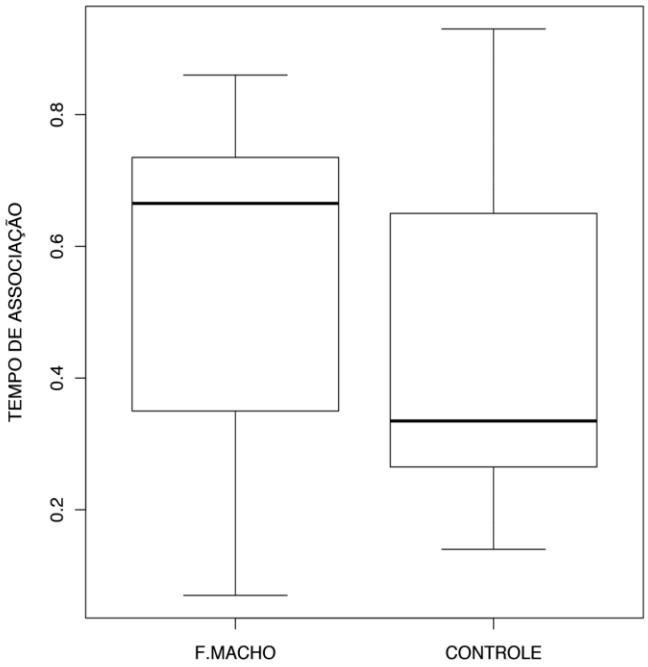


Figura 12: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação das fêmeas quando submetidas ao tratamento macho vs controle. F.MACHO= feromônio do macho.

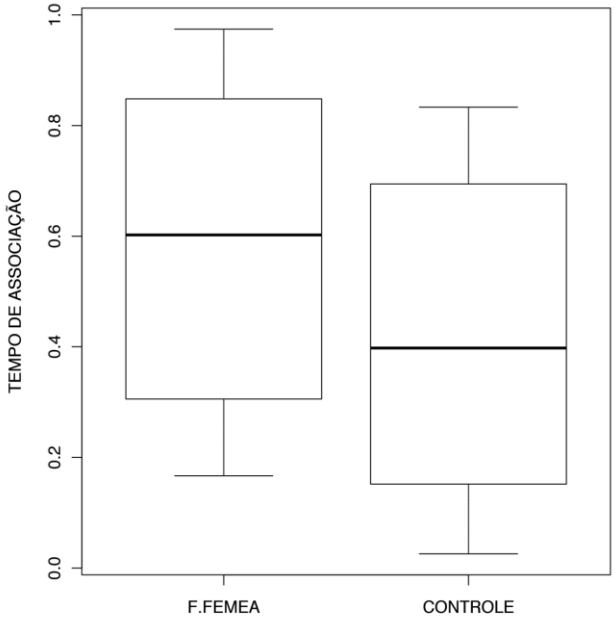


Figura 13: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação das fêmeas quando submetidas ao tratamento fêmea vs controle. F.FEMEA= feromônio da fêmea.

Reconhecimento do sexo

Foram analisados 9000s de experimentos; nestes, em 62% do tempo as fêmeas focais permaneceram associadas à metade referente ao feromônio do macho, enquanto que 38% ficaram associadas à metade oposta onde era fornecido o feromônio da fêmea (Figura 14). Os comportamentos observados durante os experimentos foram: natação, ascender e repouso, e as fêmeas apresentaram uma preferência pelo feromônio do macho (X^2= 192.08, df = 1, p < 0.01), demonstrando que elas distinguem o sexo através da sinalização química.

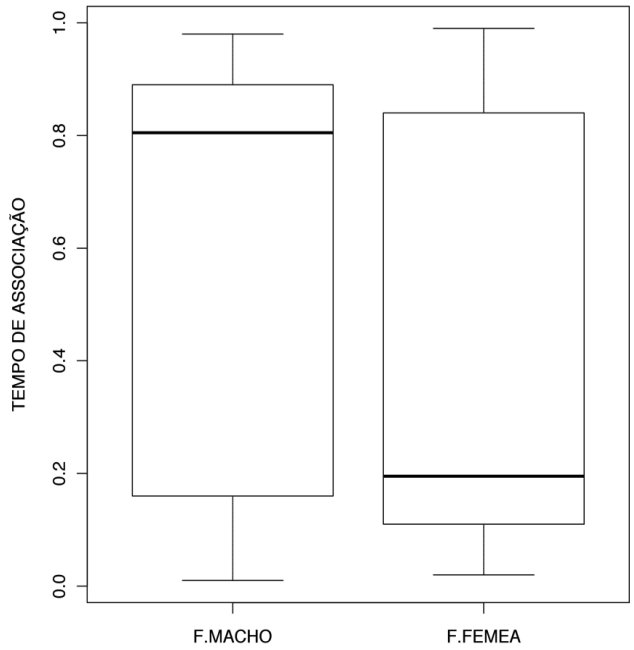


Figura 14: Boxplot demonstrando o tempo relativo de associação das fêmeas quando submetidas ao tratamento macho vs fêmea. F.MACHO= feromônio do macho; F.FEMEA = feromônio da fêmea.

Discussão

Os resultados encontrados neste estudo mostraram que as fêmeas de *Hippocampus reidi* apresentam quimiotaxia positiva, sendo capazes de se dirigir para as fontes dos sinais químicos, corroborando outros trabalhos que elucidam o uso de feromônios para reconhecimento específico (Capron de Caprona & Ryan, 1990; Stacey & Sorensen, 2002; McLennan, 2003; Sorensen & Stacey, 2004; Wong *et al.,* 2005).

Sinais químicos têm sido tradicionalmente classificados como sinais de longa distância em água em movimento (Dusenbery, 1992), e diante de um ambiente onde a visibilidade pode estar comprometida, o uso de sinais químicos pode aumentar (Heuschele & Candolin,2007); a partir de uma certa distância, sinais químicos podem alertar ao receptor a presença do emissor antes que este possa ser localizado visualmente (McLennan, 2003). Em um ambiente aquático que sofre influências da corrente, o aumento moderado do fluxo de água pode ajudar a dispersar sinais químicos ao longo de um escala espacial maior, aumentando o leque de atração (van der Sluijs *et al.,* 2011). Esse parece ser o caso do habitat de *Hippocampus reidi*, que mesmo podendo ser encontrado em recifes, é muito comum em estuários e mangues (Rosa *et al.,* 2007), onde a visibilidade é extremamente comprometida e o fluxo de água é constante. Assim, a comunicação química pode ser de extrema importância para o encontro de indivíduos em longa distância, uma vez que o canal de comunicação visual pode estar comprometido pela turbidez da água, enquanto os acústicos não parecem ter grande efetividade, ao menos em longas distâncias (ver capítulo I).

Além de reconhecimento específico, outra funcionalidade do feromônio é a avaliação de potenciais parceiros. Observou-se, neste trabalho, que as fêmeas de *H. reidi* demonstraram uma capacidade de distinguir entre os sexos quando expostas a sinais químicos masculinos e femininos, apresentando um preferência pelo feromônio do macho. Esse resultado também foi observado para outros membro da família Syngnathidae por Ratterman e colaboradores (2009) que sugerem que machos de peixe-cachimbo *Syngnathus scovelli* podem usar sinais químicos para distinguir os sexos. Essa característica pode

evitar um gasto de energia desnecessário durante a procura por parceiros sexuais.

O papel dos sinais químicos no reconhecimento de parceiro não é surpreendente (McLennan, 2003). Essa detectabilidade e atração de parceiros em potencial, através de sinais químicos, já foi observada em outras espécies de peixes (revisão Stacey & Sorensen, 2002). As fêmeas dirigem sua atenção aos feromônios masculinos, que transmitem uma quantidade surpreendente de informação (Penn & Potts, 1998). McLennan (2003) observou que, em *Culaea* e *Gasterosteus,* esse tipo de sinalização é provavelmente usado para a atração de parceiro à longa distância. Miranda e colaboradores (2005) verificaram que fêmeas de tilápia *Oreochromis mossambicus* secretam, através da urina e fezes, feromônios que são utilizados pelos machos para localizá-las, bem como influenciam diretamente na sua resposta comportamental. Nossos dados indicam que *Hippocampus reidi* não foge a esse padrão, uma vez que as fêmeas conseguem localizar feromônios de co-específicos, bem como distinguir o sexo.

Pesquisas desde a década de 1980 revelam que a sincronia reprodutiva entre um número muito grande de peixes é normalmente mediada por feromônios (Stacey & Sorensen, 2002). Fisher e colaboradores (2006) observaram que fêmeas de *Xiphophorus birchmanni* preferiram macho intraespecífico ao invés interespecífico em água limpa, mas perderam essa preferência quando testada usando água do rio, demonstrando a importância da comunicação química na escolha de parceiros e também a possibilidade do sinal ser mascarado quando em ambiente natural. Em *Poecilia reticulata*, fêmeas apresentadas a machos com aparências semelhantes utilizaram-se de sinais químicos para selecionar o parceiro (Sato *et al.,* 2014). Entretanto, dentro do contexto de seleção sexual, a forma com que informação acerca da qualidade do macho segue por ser determinada; o papel dos feromônios na seleção sexual em Syngnathidae e em especial em *Hippocampus reidi* ainda é desconhecido.

Referências Bibliográficas

Bahr, A., Sommer, S., Mattle, B., & Wilson, A. B. Mutual mate choice in the potbellied seahorse (*Hippocampus abdominalis*). Behavioral Ecology, ars045. 2012.

Bradbury, J. W.; Vehrencamp, S. L. Principles of animal communication. 2ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2011. 697p.

de Caprona, M. D. C., & Ryan, M. J. Conspecific mate recognition in swordtails, *Xiphophorus nigrensis* and *X. pygmaeus* (Poeciliidae): olfactory and visual cues. Animal Behaviour, 39(2): 290-296. 1990.

Dusenbery, D. B. Sensory ecology: how organisms acquire and respond to information. New York: W.H. Freeman,1992. 558p.

Fisher, H. S., Wong, B. B., & Rosenthal, G. G. Alteration of the chemical environment disrupts communication in a freshwater fish*. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 273(1591):* 1187-1193. 2006.

Guilford, T., & Dawkins, M. S. What are conventional signals? Animal Behaviour, 49(6): 1689-1695. 1995.

Mclennan, D. A. The importance of olfactory signals in the gasterosteid mating system: sticklebacks go multimodal. Biological Journal of the Linnean Society, 80(4): 555-572. 2003.

Heuschele, J., & Candolin, U. An increase in pH boosts olfactory communication in sticklebacks. Biology letters, 3(4): 411-413. 2007.

Lindqvist, C., Sundin, J., Berglund, A., & Rosenqvist, G. Male broad- nosed pipefish *Syngnathus typhle* do not locate females by smell. Journal of fish biology, 78(6): 1861-1867. 2011.

Miranda, A., Almeida, O. G., Hubbard, P. C., Barata, E. N., & Canario, A. V. Olfactory discrimination of female reproductive status by male tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Journal of Experimental Biology, 208(11): 2037-2043. 2005.

Penn, D., & Potts, W. K. Chemical signals and parasite-mediated sexual selection. Trends in Ecology & Evolution, *13*(10): 391-396. 1998.

Plenderleith, M., Van Oosterhout, C., Robinson, R. L., & Turner, G. F. Female preference for conspecific males based on olfactory cues in a Lake Malawi cichlid fish. Biology Letters, 1(4): 411-414. 2005.

Ratterman, N. L.; Rosenthal, G. G.; Jones, A. G. Sex recognition via chemical cues in the sex-role-reversed gulg pipefish (*Synganthus scovelli*). Ethology, 115: 339 – 346. 2009.

Rosa, I. L., Oliveira, T. P., Castro, A. L., Moraes, L. E., Xavier, J. H., Nottingham, M. C. & Monteiro-Neto, C. Population characteristics, space use and habitat associations of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae). Neotropical Ichthyology, 5 (3), 405-414. 2007.

Sato, A., Ozawa, N., & Karino, K. Variation in female guppy preference for male olfactory and visual traits. Journal of ethology, 32(3): 137-143. 2014.

Smadja, C., & Butlin, R. K. On the scent of speciation: the chemosensory system and its role in premating isolation. Heredity, 102(1): 77-97. 2009.

Sorensen, P. W., & Stacey, N. E. Brief review of fish pheromones and discussion of their possible uses in the control of non- indigenous teleost fishes. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 38(3): 399-417. 2004.

Stacey, N. E.; Sorensen, P. W. Fish hormonal pheromones. *In*: Pfaff, D. W.; Arnold, A. P.; Etgen, S.; Fahrbach, S.; Rubin, R. *ed*. **Hormones, Brain, and Behavior**, Vol. 2. New York, Aca-demic Press, 2002. 375–435 pp.

Sundin, J., Berglund, A., & Rosenqvist, G. Turbidity hampers mate choice in a pipefish. Ethology, 116(8): 713-721. 2010.

Wong, B. B., Fisher, H. S., & Rosenthal, G. G. Species recognition by male swordtails via chemical cues. Behavioral Ecology, 16(4): 818-822. 2005.

Wyatt, T. D. Pheromones and animal behaviour: communication by smell and taste. Cambridge University Press, 2003. 391p.

Considerações finais

Neste trabalho, explorou-se a funcionalidade de forma unimodal de dois tipos de sinalização – a acústica e a química –, na espécie de cavalo-marinho *Hippocampus reidi* em um contexto de escolha de parceiro, gerando informações relevantes para um maior entendimento da comunicação dentro deste contexto. O processo de escolha de um parceiro pode envolver diversos fatores, incluindo sinais comportamentais, visuais, químicos e acústicos. Estes diversos sinais são tipicamente produzidos para atração de potenciais parceiros, bem como para a transmissão de informações sobre as espécies, identidade e motivação sexual e localização.

Diante disso e dos resultados aqui obtidos, observou-se que a sinalização acústica, quando apresentada sozinha, não foi suficiente para atrair fêmeas de cavalos-marinhos, o que leva a crer que, provavelmente, esse tipo de sinal necessite de um cenário de multimodalidade para tornar-se efetivo. Por outro lado, no que tange à sinalização química, as fêmeas tanto foram capazes de reconhecer co-específicos, quanto potenciais parceiros. Porém, considerando que a habilidade do emissor controlar a transmissão de sinais químicos no ambiente é limitada, ratifica-se que para que a cópula ocorra, seria necessário o uso de outras modalidades de comunicação, mais um vez, reforçando a importância de uma sinalização multimodal.

Diante do observado com o presente estudo, bem como os resultados obtidos em estudo anterior (Furtado, 2013*)*, propõe-se que a escolha de parceiro em *H. reidi* se daria por meio do seguinte modelo: inicialmente, utilização da sinalização química para localizar potenciais parceiros no ambiente; subsequentemente, uso das sinalizações visual e acústica para escolher o parceiro com melhor *fitness*; e, finalmente, a emissão de sinalização acústica para sincronizar e efetivar a cópula. Entende-se, assim, que este conjunto de canais de comunicação seja utilizado no contexto de reprodução de *H. reidi*, caracterizando uma sinalização multimodal.

Desta forma, a realização de estudos que abordem a sinergia entre esse conjunto de sinais poderia contribuir para ampliar o conhecimento sobre a comunicação no contexto de reprodução dos cavalos-marinhos, inclusive considerando o modelo multimodal aqui proposto. Por outro lado, as informações do presente estudo já podem ser aplicadas a estratégias para a conservação desta espécie ameaçada de extinção, posto que indicam a necessidade de assegurar as condições ambientais necessárias afim de possibilitar uma efetiva comunicação, pelas diversas modalidades de sinalização, para garantir a sua reprodução.