

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

**A utilização das descargas dos órgãos elétricos de  
*Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*  
(Apteronotidae – Gymnotiformes) como bioindicadores  
em ambientes aquáticos.**

**Daniela Munhoz Rossoni**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

**Manaus – AM  
2005**

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

**A utilização das descargas dos órgãos elétricos de  
*Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*  
(Apteronotidae – Gymnotiformes) como bioindicadores  
em ambientes aquáticos.**

**Daniela Munhoz Rossoni**

**Orientador: José Antônio Alves Gomes, Ph.D.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

**Manaus – AM  
2005**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Rossoni, Daniela.M. 2005

A utilização das descargas dos órgãos elétricos de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii* (Apteronotidae-Gymnotiformes) como bioindicadores em ambientes aquáticos.

Manaus: INPA, 2005.

XIII + 86 p.

Dissertação de Mestrado

1. Biomonitoramento 2. Peixes elétricos 3. Apteronotidae 4. Ostariophisi 5. Qualidade da Água 6. Recursos Hídricos 7. Amazônia 8. pH 9. Água de Formação 10. Descarga dos órgãos elétricos (D.O.E)

### ***Sinopse:***

Contribuições para o desenvolvimento de um sistema de biomonitoramento de ambientes aquáticos por meio das propriedades biofísicas das descargas dos órgãos elétricos (D.O.E.s) de peixes elétricos amazônicos da família Apteronotidae (Gymnotiformes). Introdução geral; Capítulo 1 seleção das espécies, área de coleta e aparato metodológico; Capítulo 2 “padrão normal” das D.O.E.s de *A. hasemani* e *A. bonapartii*; Capítulo 3 influência do pH nas D.O.E.s das espécies; Capítulo 4 efeito da água de formação, composto secundário da exploração de petróleo, nas D.O.E.s de *A. hasemani*.

Palavras-chave: *Apteronotus hasemani*; *Apteronotus bonapartii*; Apteronotidae; Gymnotiformes; Biomonitoramento; D.O.E.s; pH; Água de Formação.

**Ao meu pai e minha irmã.**  
***In memoriam, à minha mãe.***

## AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros agradecimentos a **José Antônio Alves Gomes**, pela orientação, amizade e ensinamentos ao longo destes dois anos.

Ao **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e seus pesquisadores**, pela oportunidade e contribuição em minha formação acadêmica. Ao **Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq)** pela bolsa de estudos.

À **FAPEAM e CTPetro** pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

Ao meu pai, **Daneu Rossoni** e minha irmã, **Fabiane M. Rossoni** pela força incondicional, e porque sempre foram meu Porto Seguro, mesmo que geograficamente distantes.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Comportamental, **Evandro, Cristiano e Paulo**, pela dedicação de vocês aos trabalhos que desenvolvemos.

Aos **barqueiros do CPBA**, pela grande ajuda em coletas de campo.

Ao amigo **David**, por sua sensibilidade sistemática... a respeito da vida e dos Gymnotiformes... aprendi muito com você; **Renata Schmitt** por nossa convivência e por sua presença; **Gilberto** pelo trabalho em grupo e aprendizados dos sinais elétricos. Ao **Thiago Izzo** pela grande ajuda estatística.

Às minhas grandes amigas e minha família em Manaus, **Jú, Juju, Carlota**, pela presença de vocês na minha vida, pela alegria de acordar e vê-las pela nossa casa, por tudo que vivenciamos e aprendemos juntas nesses anos... e que me faz crescer a cada dia; e é claro, por nosso bom gosto musical. Ao **Pelúcio**, meu primeiro companheiro de estimação... saudades.

Aos amigos **Débora, Thiago, Paulinha, Amandinha, Jú Stropp, Fabrício, Marina, Dadão** pela presença de vocês, por nossas conversas e aprendizados.

À **Suzana, Maria Clara, Pedro Ivo e Feliz** pelo carinho e acolhida nesta etapa final em Manaus.

À **Bárbara Costa**, pela sintonia e carinho sublimes.

## ÍNDICE

FICHA CATALOGRÁFICA E SINOPSE .....	III
DEDICATÓRIA.....	IV
AGRADECIMENTOS.....	V
<b>RESUMO.....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>XII</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 1 - Seleção das espécies, área de coleta e processamento dos sinais elétricos.....</b>	<b>12</b>
1.1 Área de coleta.....	13
1.2 Manutenção dos indivíduos.....	14
1.3 Detecção, gravação e análise dos sinais elétricos.....	14
<b>CAPÍTULO 2 – Padrões Normais das Descargas dos Órgãos Elétricos (D.O.E.s) de <i>Apteronotus hasemani</i> e <i>Apteronotus bonapartii</i>.</b>	
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Antecedentes metodológicos e justificativas.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
2.2.1 Manutenção dos indivíduos.....	19
2.2.2 Hardware - Aquisição e gravação dos sinais elétricos.....	19
2.2.3 Software's - Análises das D.O.E.s.....	20
<b>2.3. RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
2.3.1 Frequência das D.O.E.s - <i>Apteronotus hasemani</i> .....	22
2.3.2 Frequência das D.O.E.s - <i>Apteronotus bonapartii</i> .....	23
2.3.3 As Formas de Onda de <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonapartii</i> .....	25
<b>2.4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
2.4.1 A Estabilidade das D.O.E.s de <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonapartii</i> .....	30

2.4.2 Caminho de comando e o órgão elétrico.....	31
2.4.3 Atributos do senso elétrico - Implicações Ecológicas e Comportamentais.....	31
2.4.4 A caminho de um sistema de biomonitoramento.....	32
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 3 - Efeito do pH nas Descargas dos Órgãos Elétricos de <i>Apteronotus hasemani</i> e <i>Apteronotus bonapartii</i>.</b>	
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>3.1. MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
3.1.1 Manutenção dos indivíduos e obtenção dos valores de pH.....	37
3.1.2 Aquisição e gravação do sinal elétrico.....	37
3.1.3 <i>Software's</i> - Análises das D.O.E.s.....	38
<b>3.2. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
3.2.1 Frequência das D.O.E.s - <i>Apteronotus hasemani</i> .....	40
3.2.2 Formas de Onda - <i>Apteronotus hasemani</i> .....	45
3.2.3 Frequência das D.O.E.s - <i>Apteronotus bonapartii</i> .....	47
3.2.4 Formas de Onda - <i>Apteronotus bonapartii</i> .....	53
<b>3.3. DISCUSSÃO.....</b>	<b>55</b>
3.3.1 Variáveis ambientais e a biologia das espécies.....	55
3.3.2 pH's ácidos e básicos nas frequências de <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonapartii</i> .....	55
3.3.3 O valor ótimo de pH para <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonaparti</i> .....	57
3.3.4 As formas de onda de <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonapartii</i> .....	58
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS - Algoritmos desenvolvidos para análise das descargas dos órgãos elétricos de <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonapartii</i>.....</b>	
<b>61</b>	
<b>CAPÍTULO 4 - Efeito da Água de Formação nas Descargas dos Órgãos Elétricos de <i>Apteronotus hasemani</i>.</b>	
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>4.1. MÉTODOS.....</b>	<b>65</b>
4.1.1 Manutenção dos indivíduos e testes com toxicidade.....	65

<b>4.2. RESULTADOS.....</b>	<b>68</b>
4.2.1 Freqüências das D.O.E.s.....	68
4.2.2 Formas de Onda das D.O.E.s.....	71
<b>4.3. DISCUSSÃO.....</b>	<b>76</b>
4.3.1 A modulação das D.O.E.s – aspectos comportamentais.....	77
4.3.2 A Lei de Ohm e as D.O.E.s de <i>A. hasemani</i> .....	78
4.3.3 Substâncias químicas no metabolismo de <i>A. hasemani</i> .....	78
4.3.4 A condutividade e a amplitude das D.O.E.s.....	79
4.3.5 A água de formação nas D.O.E.s de <i>A. hasemani</i> .....	79
4.3.6 A condutividade e a distribuição das espécies.....	80
4.3.7 O Sistema de Biomonitoramento – Perspectivas e Aplicabilidade.....	81
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXOS - Algoritmos desenvolvidos para análise das descargas dos órgãos elétricos de <i>A. hasemani</i>.....</b>	<b>85</b>

## RESUMO

Os peixes elétricos são conhecidos por sua conspícua habilidade de gerar e detectar campos elétricos, fenômenos conhecidos respectivamente como eletrogênese e eletrorecepção. A integração destes sistemas permite que os Gymnotiformes se comuniquem e eletrolocalizem objetos no meio circundante. Nesta dissertação, proponho uma nova alternativa ao monitoramento ambiental utilizando informações sobre as características biofísicas das descargas dos órgãos elétricos (D.O.E) de duas espécies de peixes elétricos Amazônicos da família Apterontidae: *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*. O princípio é fundamentado na caracterização temporal do sinal elétrico emitido pelo peixe e baseia-se no fato de que a frequência e forma de onda das descargas dos órgãos elétricos (D.O.E), variam em função das características físico-químicas do ambiente aquático. No capítulo 1 descrevo o caminho que seguimos na seleção das espécies. No capítulo 2 estabeleço os padrões normais de descargas, baseados na estabilidade temporal das D.O.E.s de *A. hasemani* e *A. bonapartii*. No capítulo 3 investigo o efeito do pH, um parâmetro que naturalmente varia em ambientes Amazônicos e que pode influenciar diretamente a atividade elétrica desses peixes. E no capítulo 4 testo o efeito da água de formação, um produto secundário da exploração do petróleo nas D.O.E.s de *A. hasemani*. Devido ao fato das D.O.E desempenharem um importante papel em interações sociais, mudanças induzidas por diferentes químicos podem influenciar o comportamento do peixe e sua sobrevivência. Os dados obtidos serão utilizados para contribuir no desenvolvimento de um modelo de biomonitoramento em tempo real para ambientes aquáticos expostos a efluentes potencialmente tóxicos.

## ABSTRACT

Electric fishes are well known for their conspicuous ability to generate and to detect electric fields, called electrogenesis and electroreception. The integrated electrogenic and electrosensory system of the Neotropical Gymnotiform fishes serves two purposes: communication, and active electrolocation. In this dissertation I suggest an alternative for environmental monitoring using information about biophysical characters of the electric organ discharges (E.O.D.) of the Amazonian electric knifefishes: *Apteronotus hasemani* and *Apteronotus bonapartii*. The principle is established on the time characterization of the electric signal emitted by the fish and is based in the fact that the E.O.D frequency and waveform, vary as a function of physico-chemical characteristics in aquatic environment. In the first chapter I describe the way that we follow to select the species. In the second chapter I establish the normal pattern discharges, based on the E.O.D temporal stability of both species. In chapter 3, this study evaluates the effects of pH, a variable that naturally change in Amazon environments and can cause directly influence on the electric activity of those species. In chapter 4 I test the effect of a secondary product associated to petroleum exploration, água de formação, in *A. hasemani* E.O.D. Because E.O.D plays a role in social interactions, changes induced by these chemicals could influence fish behavior and survival. These results will be used to contribute in development of a real time biomonitoring system to aquatic environments.

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 1 - Seleção das espécies, área de coleta e processamento dos sinais elétricos.**

**Tabela 1.1** – Composição físico-química da água do poço artesiano do INPA – I.....14

### **CAPÍTULO 2 – Padrões Normais das Descargas dos Órgãos Elétricos (D.O.E.s) de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*.**

**Tabela 2.1** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.....23

**Tabela 2.2** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.....23

**Tabela 2.3** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.....25

**Tabela 2.4** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.....25

### **CAPÍTULO 3 - Efeito do pH nas Descargas dos Órgãos Elétricos de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*.**

**Tabela 3.1** - Análise de Variância – *Apteronotus hasemani*.....44

**Tabela 3.2** - Modelo Geral Linear – *Apteronotus hasemani*.....44

**Tabela 3.3** – Análise de Variância – *Apteronotus bonapartii*.....51

**Tabela 3.4** - Modelo Geral Linear – *Apteronotus bonapartii*.....51

### **CAPÍTULO 4 - Efeito da Água de Formação nas Descargas dos Órgãos Elétricos de *Apteronotus hasemani*.**

**Tabela 4.1** – Análise físico-química da água de formação de Urucu.....65

**Tabela 4.2** – Análise química da água de formação de Urucu.....65

**Tabela 4.3** - Análise de Variância – *Apteronotus hasemani*.....70

**Tabela 4.4** - Modelo Geral Linear – *Apteronotus hasemani*.....71

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

<b>Figura 1.1</b> – Freqüências instantâneas de <i>A. hasemani</i> e <i>A. bonapartii</i> .....	12
<b>Figura 1.2</b> - Forma da onda <i>A. bonapartii</i> .....	12
<b>Figura 1.3</b> - Forma da onda <i>A. hasemani</i> .....	12
<b>Figura 1.4.</b> – Imagem LANDSAT da área do complexo de lagos Catalão.....	13

### CAPÍTULO 2

<b>Figura 2.1</b> – Freqüências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para <i>A. hasemani</i> (grupo I).....	22
<b>Figura 2.2</b> – Freqüências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para <i>A. hasemani</i> (grupo II).....	22
<b>Figura 2.3</b> – Freqüências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para <i>A. bonapartii</i> (grupo I).....	24
<b>Figura 2.4</b> – Freqüências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para <i>A. bonapartii</i> (grupo II).....	24
<b>Figura 2.5</b> – Forma da onda de <i>A. hasemani</i> no início do experimento.....	26
<b>Figura 2.6</b> – Forma da onda de <i>A. hasemani</i> ao final das 24 horas.....	26
<b>Figura 2.7</b> – Forma da onda de <i>A. bonapartii</i> no início do experimento.....	27
<b>Figura 2.8</b> – Forma da onda de <i>A. bonapartii</i> ao final das 24 horas.....	27
<b>Figura 2.9</b> - Espectro de Freqüência de <i>Apteronotus hasemani</i> , obtido através da Transformada de Fourier (FFT).....	28
<b>Figura 2.10</b> – Autocorrelação do sinal elétrico.....	28
<b>Figura 2.11</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> (grupo I).....	29
<b>Figura 2.12</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> (grupo II).....	29

### CAPÍTULO 3

<b>Figura 3.1</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 3.0.....	40
<b>Figura 3.2</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 4.0.....	41
<b>Figura 3.3</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 5.0.....	41
<b>Figura 3.4</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 6.0.....	42
<b>Figura 3.5</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 7.0.....	42
<b>Figura 3.6</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 8.0.....	43
<b>Figura 3.7</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo no pH 9.0.....	43
<b>Figura 3.8</b> – % de Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo para todos os valores de pH....	44
<b>Figura 3.9</b> - % de freqüência das D.O.E.s de <i>A. hasemani</i> em função do pH da água.....	45
<b>Figura 3.10</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> em pH 3.0.....	45

<b>Figura 3.11</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> em pH 4.0.....	46
<b>Figura 3.12</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> em pH 8.0.....	46
<b>Figura 3.13</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> em pH 9.0.....	47
<b>Figura 3.14</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 3.0.....	48
<b>Figura 3.15</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 4.0.....	48
<b>Figura 3.16</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 5.0.....	49
<b>Figura 3.17</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 6.0.....	49
<b>Figura 3.18</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 7.0.....	50
<b>Figura 3.19</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 8.0.....	50
<b>Figura 3.20</b> – % Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo no pH 9.0.....	51
<b>Figura 3.21</b> – % de Freqüência de <i>A. bonapartii</i> ao longo do tempo para todos os valores de pH.....	52
<b>Figura 3.22</b> - % de freqüência das D.O.E.s de <i>A. bonapartii</i> em função do pH da água.....	52
<b>Figura 3.23</b> – PSD para <i>A. bonapartii</i> em pH 3.0.....	53
<b>Figura 3.24</b> – PSD para <i>A. bonapartii</i> em pH 5.0.....	53
<b>Figura 3.25</b> – PSD para <i>A. bonapartii</i> em pH 6.0.....	54
<b>Figura 3.26</b> – PSD para <i>A. bonapartii</i> em pH 8.0.....	54
<b>Figura 3.27</b> – PSD para <i>A. bonapartii</i> em pH 9.0.....	54

## CAPÍTULO 4

<b>Figura 4.1</b> – % Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo do tempo na ausência de contaminante .....	68
<b>Figura 4.2</b> – % Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo de três horas. (1:10000).....	69
<b>Figura 4.3</b> – % Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo de três horas. (2:10000).....	69
<b>Figura 4.4</b> – % Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo de três horas. (4:10000).....	70
<b>Figura 4.5</b> – % Freqüência de <i>A. hasemani</i> ao longo de três horas. Aos 60 minutos os peixes foram submetidos às diferentes concentrações de água de formação.....	71
<b>Figura 4.6</b> – Forma da onda de <i>A. hasemani</i> no início do experimento (ausência de água de formação).....	72
<b>Figura 4.7</b> – Forma da onda de <i>A. hasemani</i> ao final do experimento, 1mL.....	72
<b>Figura 4.8</b> – Forma da onda de <i>A. hasemani</i> ao final do experimento, 2mL de água de formação.....	72
<b>Figura 4.9</b> – Forma da onda de <i>A. hasemani</i> ao final do experimento, 4mL de água de formação.....	73
<b>Figura 4.10</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> , 1mL de água de formação.....	74
<b>Figura 4.11</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> , 2mL de água de formação.....	74
<b>Figura 4.12</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> , 4mL de água de formação.....	75
<b>Figura 4.13</b> – PSD para <i>A. hasemani</i> , na ausência de água de formação.....	75

## INTRODUÇÃO

### A história da bioeletrogênese

A fascinação do homem por peixes elétricos data mais de 5000 anos atrás, sendo que a primeira ilustração de um peixe eletrogênico (*Malapterurus electricus*) está retratada em um templo funerário real no Antigo Egito, em Mastaba Ti (Moller, 1995). Durante os 1000 anos do período Greco-Romano (500 AC até 500 DC) esses peixes inspiraram filósofos, experimentalistas e físicos (Moller, 1995) que começaram a inferir sobre o fenômeno natural da eletricidade (Wu, 1984).

Na América do Sul, naturalistas como Carl Sachs e Alexander von Humboldt, por volta de 1800 relataram a intensiva utilização de *Electrophorus electricus*, o puraque (do tupi-guarani, “aquele que entorpece”), por índios nativos da região no tratamento de doenças, similarmente às práticas realizadas pelos antigos gregos (Ellis, 1913).

O interesse dado à eletricidade animal culminou na descoberta do fenômeno da bioeletricidade e no princípio fisiológico geral de que ela é desencadeada por nervos e atividades musculares. A própria invenção da bateria elétrica (pilha Voltaica) (Volta, 1800), foi baseada na tentativa de se reproduzir a ação de um órgão elétrico natural em laboratório. Os órgãos elétricos dos peixes promoveram questionamentos e dificuldades específicas na formulação da teoria da seleção natural. Uma das grandes questões deixadas por Charles Darwin no capítulo seis do seu livro “Sobre a origem das espécies” (Darwin, 1859), foi (1) como compreender e abordar teoricamente o significado biológico da descarga de órgãos elétricos, então recentemente descobertos, (2) qual a razão da existência destes órgãos, (3) e por quais pressões evolutivas foram gerados.

Ainda que a bioeletrogênese já tivesse suas bases estabelecidas no século XIX, foi somente no início de 1950 que Hans Lissman demonstrou a existência da eletorrecepção através de estudos comportamentais (Lissman, 1951; Lissman & Machin, 1958; Machin & Lissman, 1960), sendo esta a primeira indicação convincente sobre a importância e razão da existência das descargas dos órgãos elétricos e a resposta para a origem das propriedades eletrogênicas dos peixes, embora experimentos anteriores tenham sugerido esta possibilidade (Parker & van Heusen, 1917; Kokubo, 1934 *apud* Moller, 1995). Em poucas décadas, os peixes elétricos passaram de uma curiosidade zoológica e atualmente compõem um grupo modelo no estudo de processamento e evolução sensorial dos vertebrados.

## Peixes Elétricos

Dentre os teleósteos, duas ordens de peixes desenvolveram independentemente a capacidade de gerar e detectar campos elétricos, fenômenos conhecidos respectivamente por eletrogênese e eletrorecepção (Bullock & Heiligenberg, 1986; Carr, 1990): os Mormyriiformes distribuídos ao longo do continente africano e os Gymnotiformes na América do Sul (Bullock & Heiligenberg, 1986; Finger *et al.*, 1986; Moller, 1995). Os sistemas eletrogênico e eletrosensório (S.E.E.), atuando em conjunto, permitem que os peixes localizem objetos e organismos no ambiente e comuniquem-se (Heiligenberg, 1990). Objetos e organismos próximos, assim como as Descargas dos Órgãos Elétricos (D.O.E.s) de outros peixes, distorcem a geometria do campo elétrico do indivíduo. Estas distorções são captadas pelos eletroreceptores e processadas pelo Sistema Nervoso Central, permitindo que o peixe adquira informações fundamentais sobre o meio onde se encontra (Bullock & Heiligenberg, 1986). Embora sistemas eletrosensórios incluam alguns dos circuitos mais bem compreendidos no Sistema Nervoso Central dos vertebrados, pouco se sabe sobre como os peixes eletrolocalizam objetos (Rasnow, 1994; Assad *et al.*, 1999) e constataam alterações físico-químicas no meio circundante.

A descarga total do indivíduo é a soma das descargas de cada célula do órgão elétrico, e os Gymnotiformes, em função das características temporais das D.O.E.s podem ser divididos em dois grupos: espécies onduladoras e espécies pulsadoras (Bullock, 1974; Hopkins, 1974; Alves-Gomes, 1997; Caputi, 1999). De acordo com Caputi (1999), em espécies onduladoras, o intervalo entre descargas consecutivas dos órgãos elétricos é tão curto que D.O.E.s consecutivas formam ondas contínuas como senoidais distorcidas. Ao contrário, os peixes pulsadores possuem uma D.O.E de curta duração, com um longo intervalo de silêncio entre duas descargas consecutivas (Alves-Gomes, 1997).

A ordem Gymnotiformes possui cerca de 130 espécies (Albert, 2003; de Santana, 2003; de Santana *et al.*, 2004), divididas em sete famílias (Alves-Gomes *et al.*, 1995; Alves-Gomes, 1998): Sternopygidae, Electrophoridae, Gymnotidae, Rhamphichthidae, Hypopomidae, Eigenmaniidae e Apterodontidae. Em algumas bacias hidrográficas, como na Bacia do Orinoco, os Gymnotiformes compõem cerca de 86% da fauna bentônica (Marrero & Taphorn, 1991), e estudos recentes indicam que é o grupo mais abundante da fauna bentônica em rios de águas brancas (Lundberg & Weber, 1987; Barletta, 1995; Cox Fernandes, 1995, 1998a) e pretas (Garcia, 1995) na Amazônia.

## **Apteronotídeos – osciladores biológicos altamente estáveis**

Esta dissertação examina os chamados peixes elétricos fracos, que geram campos menores ou iguais a 100 mV/cm utilizados para a comunicação e percepção do ambiente. Dentro da ordem Gymnotiformes, a família Apteronotidae é a mais diversa do ponto de vista morfológico e também a que possui o maior número de espécies, 47 (Mago-Leccia, 1994; Alves-Gomes, 1997; de Santana, 2002; Albert, 2003; de Santana, 2003; de Santana *et al.*, 2004; de Santana & Maldonado-Ocampo, 2004).

Nesta família, a parte muscular do órgão foi degenerada ao longo do processo evolutivo do grupo, e o órgão elétrico destes indivíduos é formado pelos próprios neurônios espinhais que inicialmente inervam o órgão elétrico. Em função desta peculiaridade, todas as sinapses associadas às D.O.E.s são elétricas.

Membros desta família são únicos por produzirem D.O.E.s em frequências além de 2000 Hz (Alves-Gomes, 1997), com coeficientes de variação (desvio padrão/média) da ordem de 0,0002 segundos (Mortgat *et al.*, 2000), conferindo a estes animais o status de osciladores biológicos mais estáveis atualmente conhecidos e, portanto, altamente adequados para estudos de biomonitoramento (Schwertner & Alves-Gomes, 2003).

As propriedades biofísicas das D.O.E.s estão intimamente relacionadas às características físico-químicas da água (Thomas *et al.*, 1996a, 1996b) e ao estado fisiológico do peixe. Mudanças na composição da água podem causar alterações nas D.O.E.s seja pelo aspecto puramente físico (lei de Ohm), onde o órgão elétrico atua como uma fonte de corrente e a inclusão de um novo elemento químico na água causará uma mudança na condutividade do circuito; ou seja pela ação indireta de substâncias químicas no metabolismo do peixe, que poderá alterar o ritmo das descargas ou a forma de onda.

Assim, é possível testar e determinar precisamente o efeito de diferentes tipos de poluentes, em diferentes concentrações, nos padrões de descarga das espécies. Sabendo-se esses padrões, pode-se então percorrer o caminho inverso e analisar as D.O.E.s para monitorar a presença de substâncias químicas na água onde o peixe se encontra.

### **A utilização de peixes elétricos como biomonitores**

No início de 1962, intrigados pela regularidade da mudança na taxa de D.O.E muitos pesquisadores sugeriram o uso de *Gymnotus carapo* (Linnaeus) e *Eigenmannia* sp.

como tema de bioensaios para drogas neurotrópicas (Krivoy *et al.*, 1962, 1963; Holmstedt *et al.*, 1964). Toerring (1978) estudou a influência da temperatura nas D.O.E.s do peixe elétrico africano *Marcusenius cyprinoides* (Mormyriiformes). Grove & Moller (1979) estudaram os padrões de descargas gerados por *Brienomyrus niger* (Mormyriiformes) quando submetido a diferentes concentrações dos inseticidas dieldrin e malation. Geller (1984) introduziu outro peixe elétrico africano, *Gnathonemus petersii*, como indicador de toxicidade para mercúrio, cobre, cianeto e arsênico. Subseqüentemente, outros autores estudaram a influência de vários outros fatores físico-químicos também no comportamento elétrico de *Gnathonemus*. Kunze & Wezstein (1987) testaram as drogas dopaminérgicas apomorfina e haloperidol; Lewis & Kay (1991) estudaram o efeito da temperatura e Lewis *et al.* (1992a) o efeito do pH. Seguiram-se estudos com cianeto (Lewis *et al.*, 1992b), com os pesticidas atrazina e lindane (Lewis *et al.*, 1993), com os metais pesados cádmio, cromo e cobre (Lewis *et al.*, 1994), e com óxido de tributiltina, amônia, nitrato, e fosfato (Lewis *et al.*, 1995).

Estes trabalhos mostraram que *Gnathonemus* muda a sua D.O.E perante a presença de doses muito baixas de poluentes, mas a interpretação dos resultados encontrados por estes trabalhos é problemática pela inadequação da descarga de *Gnathonemus*. Ao contrário dos apteronotídeos Sul americanos, os peixes elétricos africanos (que evolutivamente são bastante distantes dos peixes elétricos da América do Sul) descarregam seus órgãos elétricos de uma forma muito irregular, e sempre houve uma dificuldade de se estabelecer os ritmos basais do peixe, e determinar a partir de que ponto a mudança no ritmo de descarga era devido aos poluentes testados (Alves-Gomes, CTPetro). Além disso, um biosensor testando a situação da qualidade de água não deveria somente responder à presença da toxina, mas idealmente também identificá-la (isto é, ser toxina-específico). Uma vez que a taxa de D.O.E do peixe é suscetível a uma ampla gama potencial de estímulos que confundem (incluindo químicos não tóxicos), a escolha de *G. petersii* ou qualquer outro Mormyriiformes como indicador de toxina-específico torna-se ambígua (Moller, 1995).

### **Peixes elétricos Sul americanos como biomonitores**

A atenção concedida aos peixes sul americanos (Gymnotiformes) para estudos de biomonitoramento iniciou-se com Pimentel-Souza (1988) que estudou o efeito da concentração de dióxido de carbono na freqüência das D.O.E.s de *Apteronotus albifrons*

(Linnaeus) e *Eingenmannia virescens* (Valenciennes), e posteriormente sugeriu um projeto de biomonitoramento de águas doces utilizando uma espécie pulsadora, *Gymnotus carapo* (Linnaeus).

Mais recentemente, Thomas *et al.* (1996a, 1996b), testaram a influência de cianeto de potássio na D.O.E de *Apteronotus albifrons*, um apteronotídeo sul americano. Os resultados mostraram que *Apteronotus* pode detectar concentrações de cianeto de 34.6 µg/l em menos de meia hora, correspondendo aos requisitos de um indicador de poluição por cianeto em estações de monitoramento de água. *Apteronotus albifrons* foi usado pela facilidade com que estes animais são encontrados no mercado aquarista internacional.

### **Exploração Petrolífera na Amazônia**

A atividade petrolífera no Norte do Brasil, especificamente na Amazônia brasileira, teve início em 1988 às margens do rio Urucu (afluente do Solimões que fica a 650 Km de Manaus), onde foi instalada uma unidade de exploração e produção. O petróleo e o gás natural são levados por um poliduto de 280 Km até o terminal do Solimões e daí seguem em navios até a refinaria de Manaus (Ciência Hoje, 2002). Em 1998, a produção teve um aumento significativo e atinge hoje 60 mil barris diários de petróleo, oriundos de mais de 50 poços de perfuração (Val & Almeida-Val, 1999; Petrobrás, 2003), além de sete milhões de m<sup>3</sup> de gás natural e mil toneladas de gás de cozinha. Essas cifras tornam a bacia do Solimões a terceira maior produtora de petróleo do Brasil, responsável por cerca de 5% das reservas nacionais e pelo abastecimento de toda a Região Norte (Ciência Hoje, 2002).

Gerar riquezas através destes recursos naturais é necessário, contudo, a preservação do meio ambiente tornou-se nos últimos anos, palavra de ordem nos processos industriais, e o progresso econômico deve conseqüentemente, levar em conta a conservação dos sistemas naturais. Além disso, várias atividades associadas à exploração, refino e transporte do petróleo e gás natural produzem sub-produtos e efluentes que podem ser altamente nocivos ao meio ambiente. Acidentes desse tipo, como se sabe, causam grande impacto ambiental, econômico e social.

### **Sub-produto da exploração do petróleo – Água de Formação**

A água de formação, produto secundário da exploração de petróleo representa grande desafio para os organismos aquáticos da Amazônia. Estima-se que em geral, para cada barril de petróleo cru, são gerados nove barris de água de formação (APECO, 1993). A água de formação é potencialmente perigosa porque carrega altos níveis de sal e é regularmente liberada para o meio ambiente, aumentando drasticamente a quantidade de íons nas águas da Bacia Amazônica (IIAP, 1993). Em Urucu, porém, a Petrobrás reinjeta a água de formação nos poços, diminuindo consideravelmente a possibilidade de poluição ambiental por este produto. Contudo, em outros locais esta água é um problema ambiental sério e, além disso, acidentes nunca devem ser totalmente descartados.

Quimicamente, a água de formação é uma solução contendo altos níveis de sulfatos, bicarbonatos, fenóis, cloretos, sódio, cálcio, magnésio, mercúrio, cádmio, cromo, arsênico, chumbo, e também possui níveis consideráveis de cianeto e materiais não iônicos como óleos, compostos orgânicos, e anti-emulsificantes (Maco, 1996).

A liberação, acidental ou não, desta água em sistemas aquáticos, pode causar severos danos nas assembléias de organismos em geral, incluindo vertebrados, invertebrados e plantas (Jenssen, 1994). No Peru, águas de formação elevaram significativamente os níveis de cloretos em rios e lagoas (Maco, 1996), apesar de ainda não haver disponível nenhuma avaliação específica destes efeitos sobre as comunidades de organismos (Val & Almeida-Val, 1999).

### **Relevância do biomonitoramento para a Amazônia**

Apesar dos crescentes esforços no sentido de minimizar acidentes ambientais em províncias petrolíferas e de gás natural em geral, ainda não existe “risco zero”, e nem sempre procedimentos adequados são implementados em todas as etapas do processo e, ainda que em pequenas quantidades, elementos tóxicos são geralmente liberados no ambiente (Alves-Gomes, CTPetro).

O uso de sistemas de contenção de derramamentos requer uma logística que, além de complexa, não é totalmente eficaz (Ciência Hoje, 2002), e na maioria das vezes o problema é detectado tardiamente quando já houve algum comprometimento da biodiversidade. Além disso, a preservação da qualidade da água significa a preservação da integridade de uma cadeia de espécies que dependem destes recursos. Muitas dessas espécies servem como fonte de alimento e de renda para populações humanas da região

Amazônica. Um sistema de biomonitoramento ininterrupto e em tempo real da qualidade da água, pode prevenir e monitorar as prováveis fontes de risco de acidentes e conseqüentemente minimizar desastres ecológicos.

Esta dissertação é sobre um exercício de percepção numa modalidade sensorial incomum à espécie humana, e propõe uma nova alternativa ao monitoramento ambiental, fundamentada nas análises das propriedades biofísicas das D.O.E.s de peixes elétricos Amazônicos. No Capítulo 1 descrevo o caminho que seguimos na escolha das espécies, apresento a área de coleta, e o aparato metodológico que desenvolvemos para mapear as descargas elétricas dos peixes.

No Capítulo 2, busco descrever o comportamento elétrico de duas espécies da Família Apterontidae, através do estabelecimento do padrão normal de descarga dos órgãos elétricos. Baseada na estabilidade e regularidade temporal das D.O.E.s destas espécies, proponho um sistema de biomonitoramento através do campo elétrico gerado por *A. hasemani* e *A. bonapartii*.

No terceiro capítulo, o alvo específico foi investigar a influência do pH nas descargas elétricas das espécies. As análises indicaram respostas significativas para os diferentes valores de pH testados.

No Capítulo 4, testo o efeito de um produto secundário da exploração do petróleo, a água de formação, em diferentes concentrações, nas D.O.E.s de *A. hasemani*. E finalizo esboçando a possibilidade efetiva da utilização de peixes elétricos Gymnotiformes como elemento central de um sistema de biomonitoramento de qualidade de água.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, J. S. 2003. Gymnotiformes: Apterontidae – ghost knifefishes. *In: Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre, Brazil, pp. 497-502.
- ALVES-GOMES, J. A., Ort, G., Haygood, M., Heiligenberg, W., Meyer, A. 1995. Phylogenetic analysis of the South American electric fishes (order Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: a synthesis based on morphology, electrophysiology and mitochondrial sequence data. *Mol. Biol. Evol* 12, 298-318.
- ALVES-GOMES, J. A. 1997. Informações preliminares sobre a bio-ecologia de peixes elétricos (Ordem Gymnotiformes) em Roraima. *In: Barbosa R. I., Ferreira E. J. & Costellón E. G. (Eds.). Homem, ambiente e Ecologia no Estado de Roraima*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM.
- ALVES-GOMES, J.A. 1998. The Phylogenetic Position of the South American Electric Fish Genera *Sternopygus* and *Archolaemus* (Ostariophysi:Gymnotiformes) according to 12S and 16S mitochondrial DNA sequences. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Part 4 – Gymnotiformes*. Lucena & C.A.S. Lucena, (eds). Porto Alegre, Edipucrs, 630p.
- APECO. 1993. Evaluación ambiental de actividades petroleras: Lago Titicaca, Puno. Lima
- ASSAD, C., RASNOW, B., STODDARD, P. K. 1999. Electric organ discharges and electric images during electrolocation. *J. Exp. Biol.* 202, 1185-1193.
- BARLETTA, M. 1995. Estudo da comunidade de peixes bentônicos em três áreas do canal principal, próximo à confluência dos rios Negro e Solimões. *In: Projeto Piaba, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Manaus, AM.*
- BULLOCK, T.H. 1974. Specialized receptors in lower vertebrates. An essay on the discovery of sensory receptors and the assignment of their functions together with an introduction to electroreceptors. *In: Handbook of Sensory Physiology*, 3(3) New York.
- BULLOCK, T. H. & HEILIGENBERG, W. 1986. *Electroreception*. New York: John Wiley & Sons.
- CAPUTI, A.A. 1999. The electric organ discharge of pulse gymnotiforms: the transformation of a simple impulse into a complex spatio-temporal electromotor pattern. *Journal of Experimental Biology*, 202, 1229-1241.
- CARR, C. E. 1990. Neuroethology of electric fish. *Biosci.* 40, 259-267.
- Ciência Hoje, 2002. Seção especial – Petróleo e Gás. Conhecer para preservar. vol. 31, nº 183, junho 2002. p.81.
- Ciência Hoje, 2002. Seção especial – Petróleo e Gás. Oportunidade e persistência. vol. 32, nº 189, dezembro 2002. p.81.
- COX-FERNANDES, C. 1995. Diversity, distribution and community structure of electric fishes (Gymnotiformes) in the channels of the Amazon river system, Brasil. Ph.D.Thesis. Duke University, North Carolina.

COX-FERNANDES, C. 1998a. Detrended canonical correspondence analysis (DCCA) of electric fish assemblages in the Amazon. *In: Biology of Tropical Fishes*, A.L.Val and V.M.F. Almeida-Val (Eds.). INPA, Manaus, Brasil., pp. 21-39.

DARWIN, C. 1859. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*, John Murray, London.

de SANTANA, C. D. 2002. *Apteronotus sensu stricto* (Gymnotiformes:Apteronotidae) Monofiletismo, Sistemática e Diversidade Subestimada em peixes elétricos neotropicais. Dissertação apresentada ao Mestrado de Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco-CCB. Biologia Animal, 2002.

de SANTANA, C. D. 2003. *Apteronotus caudimaculosus n. sp.* (Gymnotiformes: Apteronotidae), a sexually dimorphic black ghost knifefish from the Pantanal, Western Brazil, with a note on the monophyly of the *A. albifrons* species complex. *Zootaxa*, 252: 1-11.

de SANTANA, C. D., MALDONADO-OCAMPO, J. A., SEVERI, W. & MENDES, G. N. 2004. *Apteronotus eschmeyeri*, a new species of ghost knifefish from the Magdalena Basin, Colombia (Gymnotiformes: Apteronotidae). *Zootaxa*, 410: 1-11.

de SANTANA, C. D. & MALDONADO-OCAMPO, J. A. 2004. Redescription of *Apteronotus mariae* (Eigenmann & Fisher, 1914) and the taxonomic status of *Apteronotus jurubidae* (Fowler, 1944) (Gymnotiformes - Apteronotidae). *Zootaxa*, 632: 1-14.

ELLIS, M.M. 1913. The gymnotoid eels of tropical América. *Mem Carnegia Museum*, 6, 109-195.

FINGER, T. E., BELL, C. C., CARR, C. E. 1986. Comparisons among electroreceptive teleosts. Why are electrosensory systems so similar? *In: Electroreception* (ed. T. H. Bullock and W. Heiligenberg), pp. 465-481. New York: John Wiley & Sons.

GARCIA, M. 1995. Aspectos ecológicos dos peixes das águas abertas de um lago no arquipélago das Anavilhanas, Rio Negro, AM. Dissertação de Mestrado. INPA/UFAM, Amazonas, Brasil. 95 p.

GELLER, W.1984. A toxicity warning monitor using the weakly electric fish *Gnathonemus petersii*. *Water Resources*, 18 (10): 1285-1290.

GROVE, P., MOLLER, P. 1979. Electric fish as a tool for water quality assessment. *Transactions of the American Fisheries Society* 108: 420-421.

HEILIGENBERG, W. 1990. Electrosensory systems in fish. *Synapse*, 6 (2), 196-206.

HOLMSTEDT, B., KRYVOY, W. & KROEGER, D. 1964. Electric fish (*Gymnotus carapo*) as tool for bioassay of methylphenidate and chlorpromazine. *Acta physiol. scand.* 61, 177-181.

HOPKINS, C.D. 1974. Electric communication in fish. *American Scientist*, 62, 426-437.

IIAP, 1993. Estudio de los impactos de la contaminación sobre los ecosistemas acuáticos y el hombre de la Amazonia Peruana – Alternativas de solución. IIAP, Proyecto de Investigación para la Protección del Medio Ambiente. Iquitos, Perú., 41 p.

JENSSEN, M. B. 1994. Review Article: Effects of Oil Pollution, Chemically Treated Oil, And Cleaning On The Thermal Balance Of Birds. *Environmental Pollution*, 86: 207-215.

- KRIVOY, W., LANE, M., CHILDERS, E. & GUILLEMIN, R. 1962. On the action of B-MSH on the spontaneous electric discharge of the transparent knifefish *Eigenmannia*. *Experientia* 18, 521-522.
- KRIVOY, W., LANE, M. & KROEGER, D. 1963. The effects of drugs on the electric knifefish. *Proc. Soc. Exp. Biol.* N.Y. 114, 640-644.
- KUNZE, P. & WEZSTEIN, H.U. 1987. Apomorphine and haloperidol influence electric behavior of a mormyrid fish. *Z. Naturforsch.* 43, 105-107.
- LEWIS, J.W, KAY, A N. 1991. The effect of temperature on electric organ activity in two species of *Gnathonemus* (Family Mormyridae). *Environ. Tech.* 12: 815-819.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1992a. Responses of the electric fish *Gnathonemus tamandua* (Family Mormyridae) to changes in pH. *Environ. Tech.* 13: 701-706.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1992.b. Responses of electric fish (family Mormyridae) to chemical-changes in water quality.I. Cyanide. *Environmental Technology*, 13 (12): 1169-1174.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1993. Responses of electric fish (family Mormyridae) to chemical-changes in water quality.II. Pesticides. *Environmental Technology*, 14 (12): 1171-1178.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1994. Responses of electric fish (Family Mormyridae) to chemical changes in water quality: III. Heavy Metals. *Environmental Technology*, 15: 969-978.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1995. Responses of electric fish (Family Mormyridae) to inorganic nutrients and tributyltin oxide. *Chemosphere* 31: 3753-3769.
- LISSMAN, H. W. 1951. Continuous electrical signals from the tail of a fish, *Gymnarchus niloticus* Cuv. *Nature* 167, 201-202.
- LISSMAN, H. W. & MACHIN, K. E. 1958. The mechanisms of object location in *Gymnarchus niloticus* and similar fish. *J. Exp. Biol.* 35, 451-486.
- LUNDBERG, J.G & WEBER, C. 1987. A major food web component in the Orinoco river channel – evidence from planktivorous electric fishes. *Science* 237? 81-83.
- MACHIN, K. E. & LISSMAN, H. W. 1960. The mode of operation of the electric receptors in *Gymnarchus niloticus*. *J. Exp. Biol.* 37, 801-811.
- MACO, J. T. 1996. Influência da água de formação da extração de petróleo do Rio Urucu sobre aspectos hematológicos e conteúdo iônico de *Colossoma macropomum* e *Glyptoperichthys joselimainanus*. MSc thesis. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA. Manaus.
- MAGO-LECCIA, F. 1994. Electric fishes of continental waters of America. Biblioteca de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, Venezuela. 29: 1-206.
- MARRERO, C. & TAPHORN, D.C. 1991. Notas sobre la historia natural y la distribución de los peces Gymnotiformes in la cuenca del Rio Apure y otros rios de la Orinoquia. *Biollan.* 8, 123-142.
- MOLLER, P.1995. Electric Fishes – History and behavior. Cchapman & Hall, London, UK.

MOORTGAT, K. T., BULLOCK, T. H., SEJNOWSKI, T. J. 2000. Precision of the pacemaker nucleus in a weakly electric fish: network versus cellular influences. *Journal of Neurophysiology*, 83: 971-983.

Petrobrás, 2003. Petróleo – a ciência de extrair energia da terra. *Scientific American*. Ed. Especial – Petrobrás, 50 anos de inovação. n. 3.

PIMENTEL-SOUZA, F., SIQUEIRA, A. F. 1988. Electric organ discharge frequencies from two weakly electric Gymnotiform fish exposed to carbon dioxide, conductivity and pH changes. *Brasilian J. Med. Biol. Res.*, 21: 119-121.

RASNOW, B. 1994. The electric field of a electric fish. Ph.D. Thesis, California Institute of Technology, University Microfilms.

SCHWERTNER, G. & ALVES-GOMES, J. A. 2003. Peixes elétricos da Amazônia (Gymnotiformes: Apterontidae) como potencial bioindicadores de qualidade de água. II Simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental. Itajaí, SC.

THOMAS, M., FLORION, A., CHRÉTIEN, D. & TERVER, D. 1996a. Real-time biomonitoring of water contamination by cyanide based on analyses of the continuous electrical signal emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Wat. Res.*, 30, 3083-3091.

THOMAS, M., CHRÉTIEN, D., FLORION, A. & TERVER, D. 1996b. Real-time detection of potassium cyanide pollution in surface waters using electric organ discharges wave emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Wat. Res.*, 17, 561-574.

TOERRING, M.J, SERRIER, J. 1978. Influence of water temperature on the electric organ discharge (EOD) of the weakly electric fish *Marcusenius cyprinoids* (Mormyridae). *Journal of Experimental Biology* 74 (1): 133-150.

VAL, A.L., ALMEIDA-VAL, V.M.F. 1999. Biology of Tropical Fishes. INPA – Manaus, 460p.

VOLTA, A. 1800. On the electricity excited by the mere contact of conducting substances of different kinds. *Phil. Trans. r. Soc.* 90, 403-431.

WU, C. H. 1984. Electric fish and the discovery of animal electricity. *Am. Scient.* 72, 598-606.

## CAPÍTULO 1

### Seleção das espécies, área de coleta e processamento dos sinais elétricos.

Dentre as mais de quarenta espécies de peixes elétricos Aptereronotídeos presentes na Amazônia brasileira, selecionamos duas espécies, *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*, em função de sua maior abundância relativa em esforços de campo, adaptabilidade à alimentação e cativeiro, baixa susceptibilidade a doenças e estabilidade das descargas elétricas. A figura 1.1 mostra a frequência das D.O.E.s ao longo de 24 horas e a forma de onda das espécies (figura 1.2 e figura 1.3).

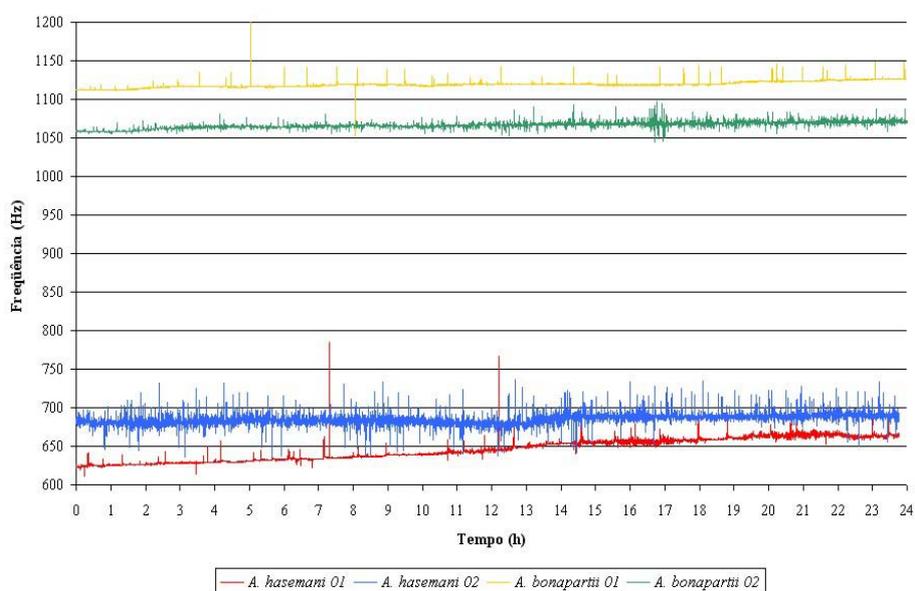


Figura 1.1 – Frequências instantâneas de *A. hasemani* e *A. bonapartii*.

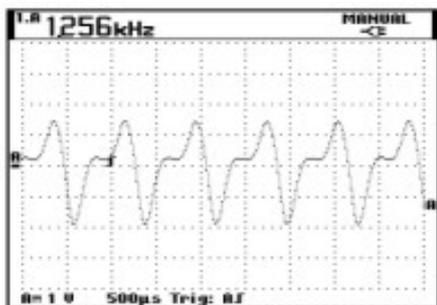


Fig 1.2 - Forma da onda *A. bonapartii*

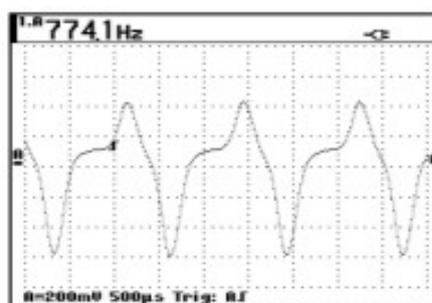
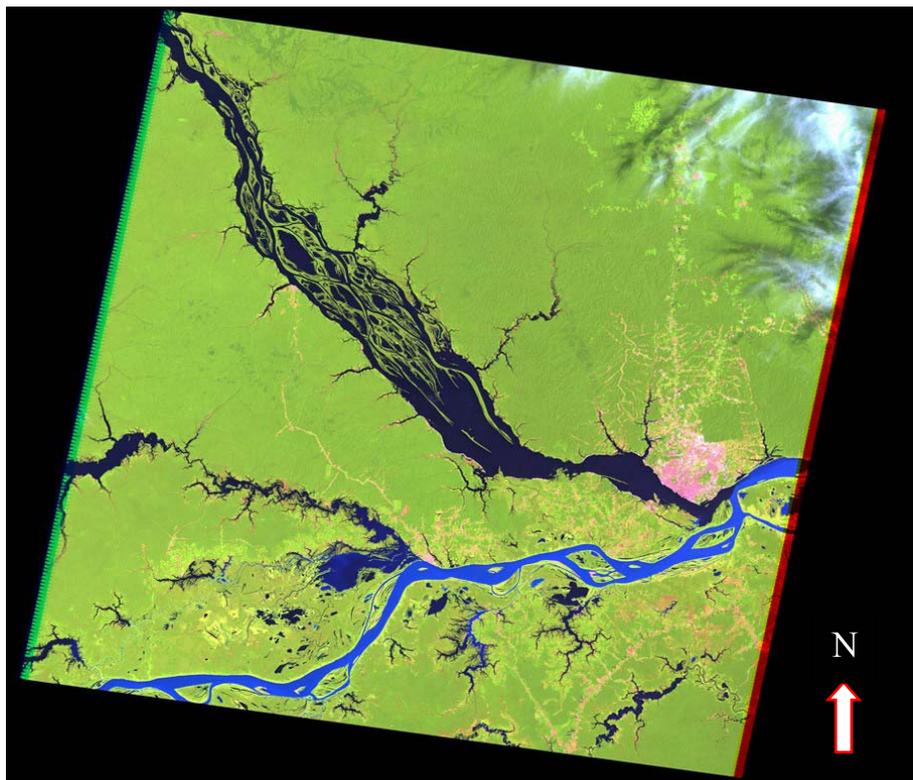


Fig 1.3 - Forma da onda *A. hasemani*

## 1.1 Área de coleta

Realizamos as coletas no Complexo de Lagos do Catalão na Ilha Xiborena, Iranduba, próximo à cidade de Manaus - AM, latitude 3° 15' S e longitude 59° 58' W (Figura 1.4).

Os peixes foram capturados com rede de cerco em diversos ambientes de águas brancas e pretas, associados a capins flutuantes e bancos de macrófitas aquáticas, dentre elas: *Eichhornia crassipes* (Martius), *Pistia stratiotes* L. e *Salvinia* sp.,. Cada espécie de peixes elétricos tem sua D.O.E própria, e em detrimento desta característica, para a localização das espécies selecionadas, utilizamos um amplificador diferencial portátil acoplado a eletrodos e alto-falantes, que promove a conversão das frequências das D.O.E.s em som.



**Figura 1.4.** – Imagem LANDSAT da área do complexo de lagos Catalão, mostrando o encontro dos rios Negro e Solimões. (Fonte SigLab – INPA, LANDSAT 231-062-030121).

## 1.2 Manutenção dos indivíduos

Os animais capturados foram conduzidos ao Laboratório de Fisiologia Comportamental – LFC/INPA e inicialmente mantidos em aquários coletivos de 200 litros. Posteriormente, foram isolados em aquários individuais de 40 litros com sistema de filtro biológico e aeradores individuais. Utilizamos água estabilizada nos tanques de manutenção e nos aquários experimentais, a partir de água do poço artesiano do INPA, cuja composição físico-química é conhecida (tabela 1).

A água oriunda do poço artesiano foi mantida por cerca de 10 dias em um sistema de circulação fechada em caixas de 1000 e 2000 litros com filtro biológico ativo. Este período no sistema de filtração proporciona uma estabilização dos parâmetros cruciais como pH, oxigênio e condutividade em torno de valores compatíveis aos encontrados na natureza e aqueles mantidos nos tanques do Laboratório de Fisiologia Comportamental onde os peixes permanecem. Estes parâmetros foram monitorados diariamente.

**Tabela 1.1** – Composição físico-química da água do poço artesiano do INPA - I

PH	4,8	Ferro dissolvido (mg/L)	<0,005
CE (uS/cm)	19,5	Ferro Total (mg/L)	<0,005
Nitrogênio de nitrato (mg/L)	0,45	Cálcio (mg/L)	0,35
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	<0,1	Sódio (mg/L)	0,9
Magnésio (mg/L)	<0,020	Potássio (mg/L)	1,1
Cloretos (mg/L)	1,77	Dureza (mg de CaCO <sub>3</sub> /L)	1,02

## 1.3 Detecção, gravação e análise dos sinais elétricos

Para evitar instabilidades no sinal elétrico, os peixes foram acondicionados em tubos de PVC perfurados, de tamanho apropriado e com as extremidades teladas. Na captação das D.O.E.s utilizamos um par de eletrodos de prata; o eletrodo positivo (+) posicionado próximo à cabeça e o negativo (-) próximo à nadadeira caudal.

Em todos os experimentos, os aquários foram acondicionados no interior de uma caixa de Faraday horizontal com água à 25°C revestida externamente de isopor para evitar a perda excessiva de calor com o meio. Esta caixa funcionou como um “banho maria” para manter a temperatura dos aquários constante e foi aterrada eletricamente para evitar a

interferência de ondas eletromagnéticas. No interior da caixa de Faraday a temperatura foi controlada por meio de canos de cobre na forma de uma serpentina, ligados a um aparelho termo-regulador. A água foi distribuída e re-circulada sincronicamente por este termo-regulador para dentro da caixa de Faraday. Os valores de pH, temperatura e condutividade foram estabelecidos em função da água comumente utilizada nos tanque de manutenção dos peixes:  $6,5 \pm 0,16$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ , e  $50 \mu\text{S}/\text{cm}$  respectivamente.

Os sinais foram amplificados entre 10 e 500 vezes com amplificador diferencial (AC/DC A-M Systems, Inc.modelo 3000); monitorados com um contador de frequência (Fluke 196 Scopemeter), e visualizados através de um osciloscópio (Tektronix TDS 220). Os sinais amplificados foram digitalizados com conversores analógico/digital (Digidata 1322A e Vetter Digital 3000A) e gravados de duas formas: VCR (fitas VHS) associadas ao sistema Vetter 3000 e no disco rígido de um computador, com o programa Axon Scope, associado ao Sistema Digidata 1322.

Com os sinais armazenados, realizamos uma série de análises sobre a forma de onda e frequência das D.O.E.s por meio de *software's* específicos (Fluke View, Systat, Dataplore e MatLab). Em cada capítulo descrevo os procedimentos metodológicos adotados para aquisição e processamento dos sinais elétricos.

## CAPÍTULO 2

### **Padrões Normais das Descargas dos Órgãos Elétricos (D.O.E.s) de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii***

#### **INTRODUÇÃO**

Os peixes da ordem Gymnotiformes, conhecidos como peixes elétricos da América do Sul, são capazes de gerar descargas elétricas por meio de um tecido especializado denominado órgão elétrico. Este órgão consiste de milhares de células, denominadas eletrócitos, dispostas em série e paralelo especializadas em gerar correntes (Rasnow, 1994). A ativação desses eletrócitos é sincronizada, e suas correntes unidas, produzem um campo elétrico macroscópico conhecido como descarga do órgão elétrico (D.O.E, Bennett, 1971).

Além da capacidade bioeletrogênica, estes peixes também possuem células sensoriais modificadas distribuídas sobre a superfície do corpo, que detectam gradientes de voltagem no ambiente. Estas células, denominadas eletroreceptores, monitoram constantemente o campo gerado a cada descarga do órgão elétrico, e qualquer alteração da geometria do campo causada por objetos, organismos, ou pela interferência da descarga de outro peixe, são codificadas pelos eletroreceptores e enviadas até o sistema nervoso central, onde são processadas (Moller, 1995).

Os sistemas eletrosensorial e eletrogênico (S.E.E), atuando em conjunto, permitem que os peixes se comuniquem e eletrolocalizem objetos e organismos no ambiente (Heiligenberg, 1990). Esta modalidade elétrica inquestionavelmente explica seu sucesso ecológico em águas Neotropicais.

#### **Perspicácia Temporal**

A diversidade da D.O.E é refletida na forma de onda individual e em seu padrão temporal (Moller, 1995). O aspecto temporal das D.O.E.s individuais pode ser extremamente variável em alguns peixes (espécies pulsadoras) e altamente regular em outros (espécies onduladoras), neste caso, ultrapassando em regularidade qualquer relógio biológico atualmente conhecido (Bullock, 1969).

Dentro da Ordem Gymnotiformes, a família Apterontidae é a mais diversa do ponto de vista morfológico e também a que possui o maior número de espécies, 47 (Mago-Leccia, 1994; Alves-Gomes, 1997; de Santana, 2002; Albert, 2003; de Santana, 2003; de Santana *et al.*, 2004; de Santana & Maldonado-Ocampo, 2004).

Nesta família, a parte muscular do órgão elétrico foi degenerada ao longo do processo evolutivo do grupo (Alves-Gomes com. pessoal), e atualmente consiste de um nervo espinhal final modificado (sendo, portanto, denominado de órgão elétrico neurogênico), enquanto o órgão elétrico de todos os outros peixes elétricos é derivado do tecido muscular (miogênico) (Rasnow, 1994). Em função desta peculiaridade, nesta família, todas as sinapses associadas às D.O.E.s são elétricas. O órgão elétrico de *Apteronotus* é o oscilador neural mais estável e veloz atualmente conhecido (a frequência fundamental de algumas espécies ultrapassa 2 KHz) (Bullock, 1970).

Ao invés de mapear o ambiente em tempos discretos (através de breves pulsos), como fazem os peixes de pulso, *Apteronotus* o mapeia continuamente com frequências discretas e constantes. Esta acuidade lhes confere vantagens adicionais para estudos de biomonitoramento. Minhas primeiras medidas de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii* confirmaram que não somente a frequência fundamental das D.O.E.s é altamente estável, mas também cada detalhe de suas formas de onda.

## 2.1 Antecedentes metodológicos e justificativas

Neste estudo, as condições experimentais foram mantidas constantes sob os seguintes aspectos:

a) a água utilizada nos tanques de gravação foi a água padrão definida anteriormente, oriunda do sistema de poço artesiano do INPA e mantida por cerca de 10 dias em um sistema de circulação fechada com filtro biológico ativo. Este período no sistema de filtração biológica proporciona uma estabilização dos parâmetros pH, oxigênio e condutividade.

b) mantivemos iluminação artificial constante ao longo do experimento. Zupanck *et al.*, (2001), em experimento com *Apteronotus leptorhynchus* observaram variações significativas nas D.O.E.s em função de variação na luminosidade.

c) a temperatura permaneceu constante a 25°C durante todo o tempo de experimento. Muitos autores têm observado a influência da temperatura da água na frequência do sinal em Gymnotiformes (Ferreira, 1953; Enger & Szabo, 1968; Pimentel-Souza *et al.*, 1976; Pimentel-Souza & Fernandes-Souza, 1985; Pimentel-Souza, 1988; Thomas *et al.*, 1998; Ardanaz *et al.*, 2001). Schwassmann (1971) e Toerring & Serrier (1978), observaram que essa relação é mais nitidamente definida para espécies que emitem sinais de frequência das D.O.E.s mais estáveis (onduladores), e menos para espécies que emitem sinais variáveis (pulsadores).

O aumento da temperatura causa um aumento da taxa metabólica dos peixes e isto deve trazer conseqüências à taxa de descarga do órgão elétrico. No caso específico das espécies estudadas, por serem peixes onduladores, que descarregam em frequências bastante elevadas e com custo metabólico provavelmente alto, é de se esperar que variações de temperatura tenham influência relevante na atividade elétrica de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*. Considerando estas premissas, controlamos esta variável.

## **2.2. MÉTODOS**

### **2.2.1 Manutenção dos indivíduos**

Sob condições experimentais definidas, e em função de uma água de propriedades físico-químicas padronizadas, realizamos gravações durante 24 horas ininterruptas das D.O.E.s de 12 indivíduos de cada espécie. Utilizamos dois tanques experimentais com capacidade de 10 litros, cada um contendo um peixe confinado nos abrigos individuais de PVC com aeração constante. A condutividade elétrica (CE) foi aproximadamente  $50 \mu\text{S}/\text{cm}$  e o pH  $6,5 \pm 0,16$ . Estes valores foram estabelecidos em função da água comumente utilizada nos tanque de manutenção das espécies.

Ao longo do experimento (a cada 24 horas) contamos com dois amplificadores similares, um para cada peixe, o que nos possibilitou adquirir o sinal elétrico de dois peixes e gravá-los por meio de dois canais simultaneamente. Visando facilitar a compreensão de nossas análises posteriores, optamos por utilizar dois grupos de seis peixes de cada espécie. Sendo assim, os grupos gravados no canal um foram considerados do grupo I e os peixes registrados no canal dois considerados do grupo II.

### **2.2.2 Hardware - Aquisição e gravação dos sinais elétricos**

Na captação dos sinais elétricos utilizamos dois pares de eletrodos de prata, com eletrodo positivo (+), próximo dois cm à cabeça e eletrodo negativo (-) próximo dois cm à cauda do peixe. O sinal das D.O.E.s foi amplificado através de amplificador diferencial (AC/DC Amplifier) com ganho de 50 vezes. O sinal amplificado foi monitorado com um contador de frequência (Fluke 196 Scopemeter) e visualizado na tela de um osciloscópio (Tektronix TDS 220). Ao mesmo tempo, os sinais foram digitalizados com conversores analógico/digital (Digidata 1322A e Vetter Digital 3000A) e em seguida gravados com sistemas de gravação de dados (AxonScope e VCR).

Os sinais das D.O.E.s de cada peixe avaliado, foram monitorados durante todo o período de 24 horas do experimento, sendo que, a cada 2 horas, por 5 minutos, as D.O.E.s foram gravadas em fita magnética (gravação de segurança), e foram adquiridos por meio do *software* AxonScope, 1500 *sweeps* com resolução de 100 KHz, com cada *sweep* de 20 ms (equivalente a 1 minuto e 15 segundos). Ao final do experimento os peixes foram sacrificados, etiquetados e conservados em álcool 70%. Realizei a sexagem de cada

indivíduo e com paquímetro digital extraí medidas morfométricas do comprimento total, comprimento padrão e comprimento da cabeça, no intuito de investigar futuramente possíveis relações destas variáveis com as D.O.E.s destas espécies.

### 2.2.3 Software's - Análises das D.O.E.s

Realizamos análises detalhadas das D.O.E.s por meio de *software's* específicos (FlukeView<sup>®</sup>, Dataplore<sup>®</sup> e MatLab<sup>®</sup>).

Através do FlukeView registramos a frequência instantânea a cada 10 segundos durante 24 horas de gravação. Posteriormente, estes dados foram convertidos em arquivos de extensão *txt*. Para se ter uma idéia mais concreta de nossas aquisições de sinais, obtivemos para cada indivíduo uma série temporal de dados dispostos em uma planilha da seguinte forma: em uma coluna, 86400 segundos referente às 24 horas de gravação e na outra, 8641 valores de frequência instantânea. Calculamos a média das frequências das D.O.E.s, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV). Obtivemos dados de minuto a minuto, 30 a 30 minutos, a cada hora e das 24 horas do monitoramento.

Dataplore foi a ferramenta utilizada para análise de sinais e dados em séries temporais. Através deste programa, avaliamos a autocorrelação dos sinais elétricos. A análise de autocorrelação fornece informações sobre a similaridade do sinal ao longo do tempo. Obtivemos também o Espectro de Densidade (Power Spectrum Density - PSD), através da transformada de Fourier. O PSD avalia o sinal no universo das frequências integrando os valores em função do tempo (Schwertner, 2005).

Matlab 5.3 (The Mathworks, Inc.) foi responsável pelo cálculo do espectro de densidade (Power Spectrum Density – PSD) em nossos processamentos de dados para avaliações das formas de ondas das D.O.E.s. Este programa é um sistema interativo, cujo elemento básico é uma matriz que não requer dimensionamento explícito e nos permitiu desenvolver, adequar e executar algoritmos específicos (*m-files*) para as análises de sinais dos peixes elétricos. Para isto, os sinais adquiridos por meio do software AxonScope foram convertidos em formatos ASCII.

Adotamos um padrão gráfico de PSD que concatena dados de espectro de densidade, para avaliarmos a estabilidade dos componentes da forma de onda das D.O.E.s.

Foi feito PSD para uma amostra aleatória de 20 ms do sinal obtido a cada duas horas (PSD com base de cálculo: transformada de Fourier com 2048 pontos, janelamento *Hanning* e frequência de amostragem de 100 KHz). O PSD é baseado nos algoritmos da FFT (Fast Fourier Transform) que atualmente é a técnica mais utilizada para análise dos espectros de frequência dos Gymnotiformes (Thomas *et al.*, 1996a, 1996b; Thomas *et al.*, 1997, 1998; Crampton, 1998b; Assad *et al.*, 1999; Kramer, 1999a; Kramer, 1999b; Thomas, 2000; Cox-Fernandes & Podos, 2004; Schwertner, 2005).

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1 Frequência das D.O.E.s - *Apteronotus hasemani*

As figuras 2.1 e 2.2 representam gráficos de frequências instantâneas de *A. hasemani* registradas a cada 10 segundos no decorrer de 24 horas para peixes do grupo I e II respectivamente.

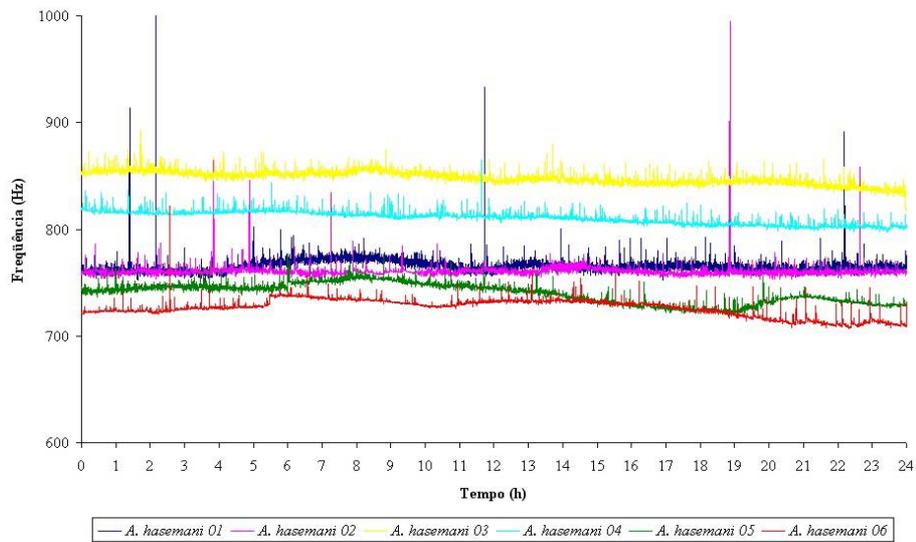


Figura 2.1 – Frequências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para *A. hasemani* (grupo I).

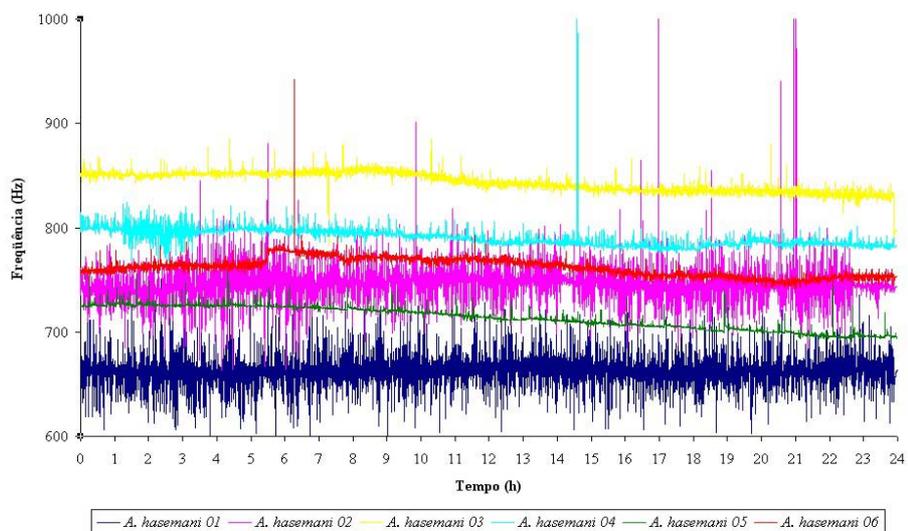


Figura 2.2 – Frequências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para *A. hasemani* (grupo II).

Apresento nas tabelas abaixo as médias, desvios padrões (DESV PAD) e coeficientes de variação (CV) das frequências de *A. hasemani*, em 24 horas de experimento, considerando indivíduos do grupo I (tabela 2.1) e grupo II (tabela 2.2).

**Tabela 2.1** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.

<b>GRUPO I - <i>A. hasemani</i></b>						
<b>Peixe N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Média</b>	765,39	760,43	848,22	810,58	740,03	726,25
<b>DESV PAD</b>	6	4,159	5,766	5,627	9,348	7,834
<b>CV</b>	$8,118 \times 10^{-03}$	$5,470 \times 10^{-03}$	$6,798 \times 10^{-03}$	$6,941 \times 10^{-03}$	$1,263 \times 10^{-02}$	$1,079 \times 10^{-02}$

Média da frequência em Hertz (n° descargas elétricas por segundo).

**Tabela 2.2** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.

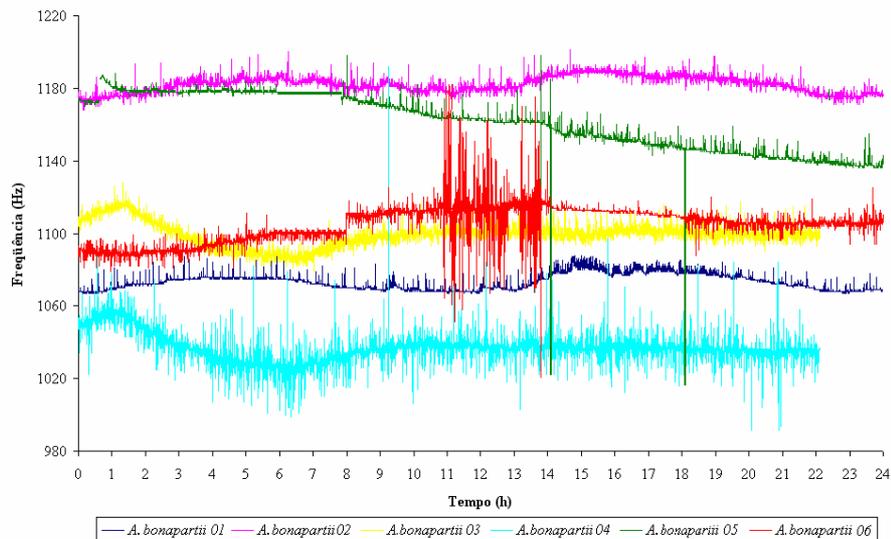
<b>GRUPO II - <i>A. hasemani</i></b>						
<b>Peixe N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Média</b>	662,56	745,82	843,71	790,08	713,66	762,04
<b>DESV PAD</b>	13,307	14,942	8,662	8,266	10,765	8,685
<b>CV</b>	$2,008 \times 10^{-02}$	$2,003 \times 10^{-02}$	$1,027 \times 10^{-02}$	$1,046 \times 10^{-02}$	$1,508 \times 10^{-02}$	$1,140 \times 10^{-02}$

Média da frequência em Hertz (n° descargas elétricas por segundo).

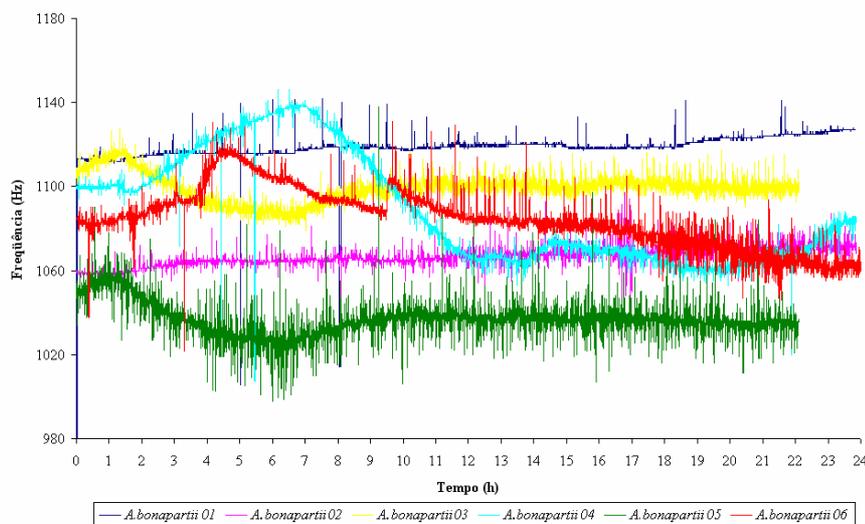
Os menores e maiores coeficientes de variação calculados para 1 minuto, 30 minutos e a cada 1 hora foram da ordem de  $10^{-02}$  e  $10^{-03}$  para peixes dos dois grupos.

### 2.3.2 Frequência das D.O.E.s - *Apteronotus bonapartii*

Os registros das frequências instantâneas de *A. bonapartii* para indivíduos do grupo I e II podem ser visualizados nas figuras 2.3 e 2.4, respectivamente.



**Figura 2.3** – Frequências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para *A. bonapartii* (grupo I).



**Figura 2.4** – Frequências das D.O.E.s (Hz) em 24 horas, para *A. bonapartii* (grupo II).

Nas tabela 2.3 e 2.4 são apresentados os valores de Média, Desvio Padrão e Coeficiente de variação, calculados a partir de 24 horas de monitoramento, para os grupos I e II. Os coeficientes médios de variação para 1 minuto, 30 minutos e a cada 1 hora estiveram entre os máximos e mínimos valores de  $10^{-02}$ ,  $10^{-03}$  e  $10^{-04}$  para os dois grupos de peixes.

**Tabela 2.3** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.

<b>GRUPO I - <i>A. bonapartii</i></b>						
<b>Peixe N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Média</b>	1073	1182	1099	1037	1161	1106
<b>DESV PAD</b>	4,366	6,19	6,55	8,318	5,50	2,69
<b>CV</b>	$4,068 \times 10^{-03}$	$5,24 \times 10^{-03}$	$5,964 \times 10^{-03}$	$8,024 \times 10^{-03}$	$1,937 \times 10^{-03}$	$2,434 \times 10^{-03}$

Média da frequência em Hertz (n° descargas elétricas por segundo).

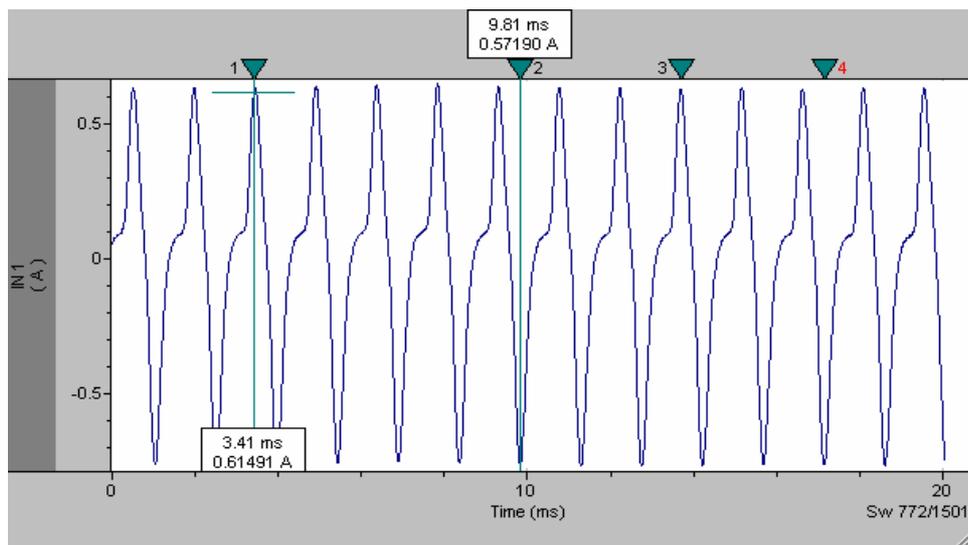
**Tabela 2.4** – Média, desvio padrão e coeficiente de variação das frequências das D.O.E.s ao longo de 24 horas.

<b>GRUPO II - <i>A. bonapartii</i></b>						
<b>Peixe N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Média</b>	1127	1066	1099	1084	1037	1085
<b>DESV PAD</b>	0,1940	3,95	6,555	1,910	11,697	13,882
<b>CV</b>	$1,722 \times 10^{-04}$	$3,713 \times 10^{-03}$	$5,964 \times 10^{-03}$	$1,763 \times 10^{-03}$	$1,128 \times 10^{-02}$	$1,279 \times 10^{-02}$

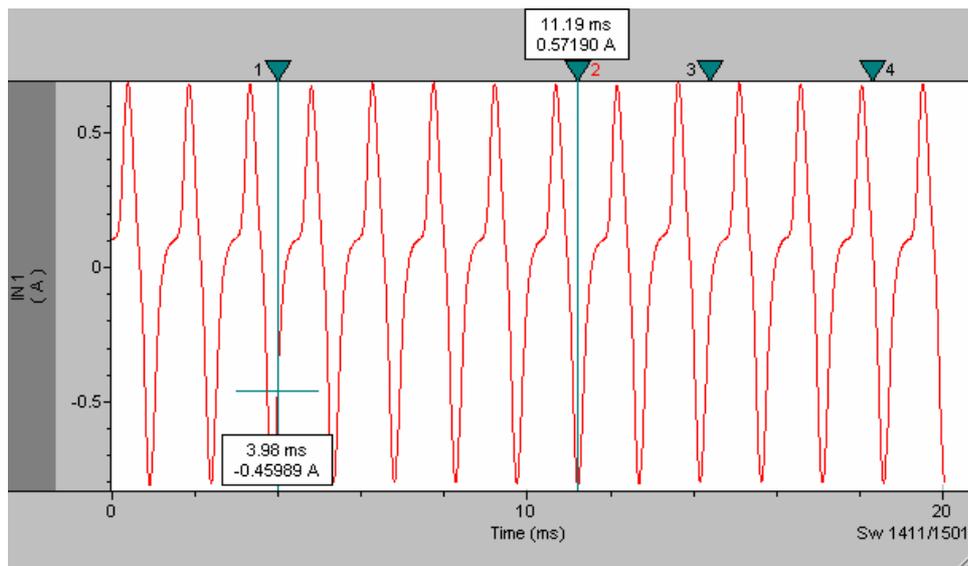
Média da frequência em Hertz (n° descargas elétricas por segundo).

### 2.3.3 As Formas de Onda de *A. hasemani* e *A. bonapartii*

As formas de onda periódicas de espécies onduladoras como os Apteronotídeos, assemelham-se em diferentes graus a uma senóide. Apresento na figura 2.5 a forma de onda de um indivíduo de *A. hasemani* no início do experimento, e após as 24 horas de gravações constantes (figura 2.6). O eixo y representa a amplitude, e o eixo x, tempo (20 milissegundos). Pode-se notar um padrão de regularidade das formas de onda entre o início e término do monitoramento. Mostro aqui, as formas de onda para tempos iniciais e finais de um indivíduo de cada espécie. Porém, as D.O.E.s de todos os peixes foram avaliadas a cada 2 horas e observei que as variações entre os padrões de forma de onda para o mesmo peixe em diferentes tempos, foram qualitativamente menores quando comparadas entre peixes diferentes.

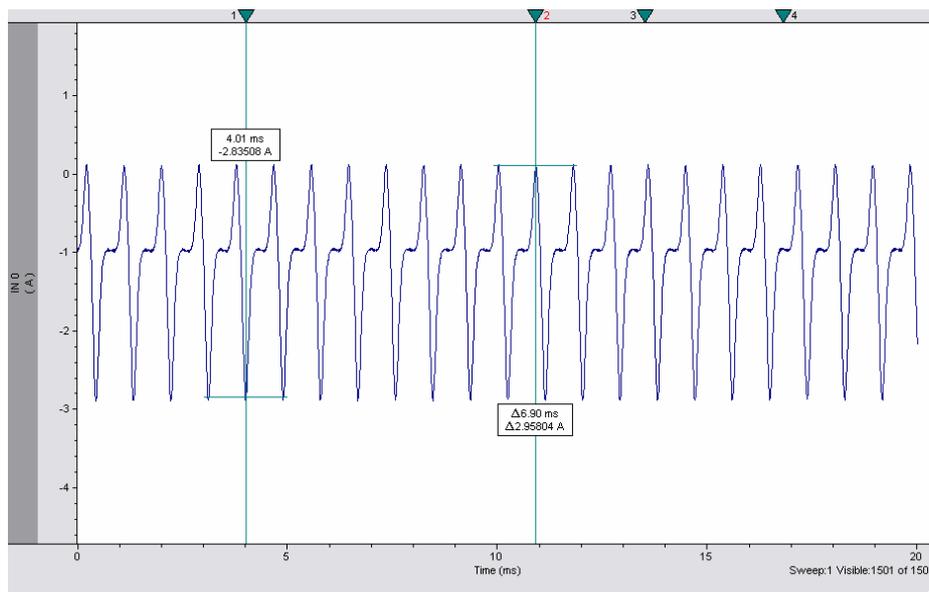


**Figura 2.5** – Forma da onda de *A. hasemani* no início do experimento.

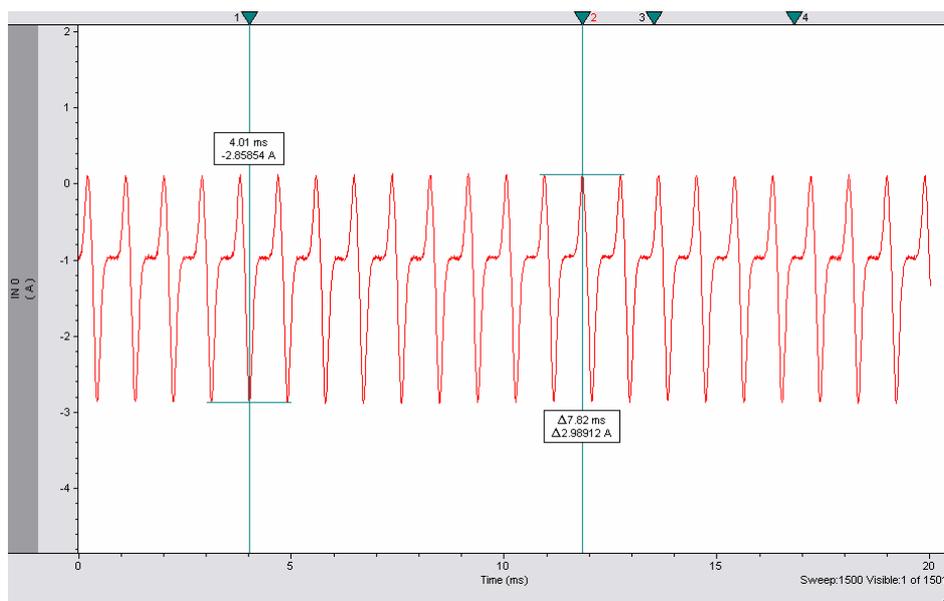


**Figura 2.6** – Forma da onda de *A. hasemani* ao final das 24 horas.

O mesmo pode ser observado para um indivíduo de *A. bonapartii*, início (figura 2.7) e término das gravações (figura 2.8).



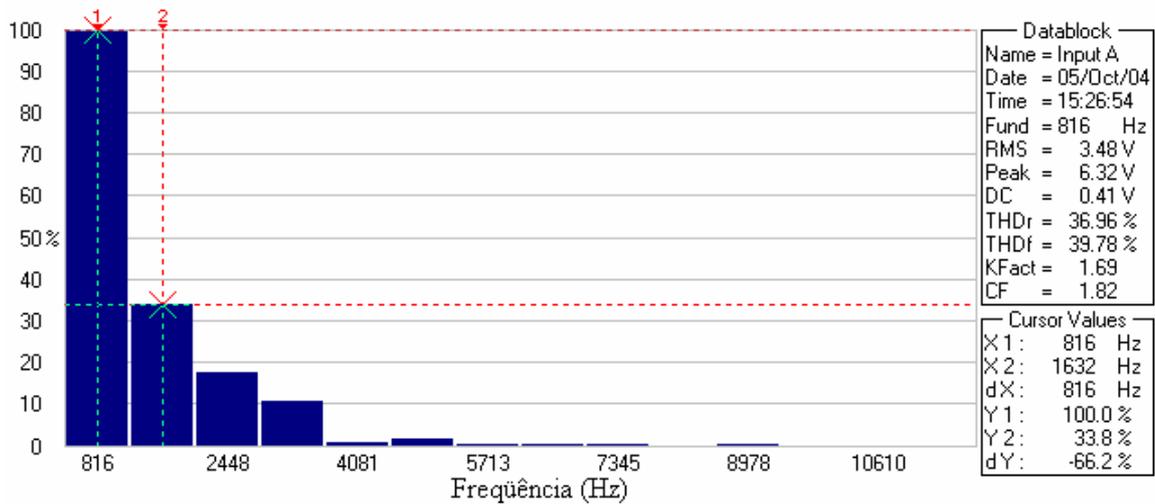
**Figura 2.7** – Forma da onda de *A. bonapartii* no início do experimento.



**Figura 2.8** – Forma da onda de *A. bonapartii* ao final das 24 horas.

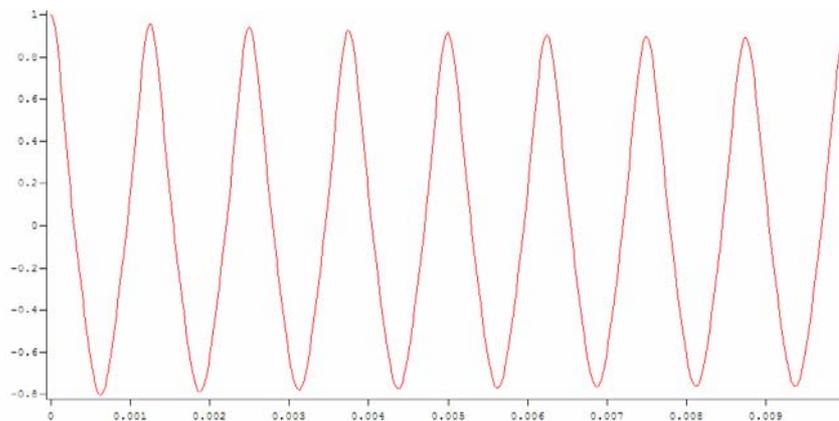
Em uma onda senoidal pura, a Transformada de Fourier abrange um único pico de energia em torno da frequência fundamental, com nenhuma harmônica. Como os sinais de *Apteronotus* não compõem uma senoidal pura, os desvios de fases observados em nossos sinais introduzem complexidade ao perfil espectral, transferindo energia para os picos seguintes que representam os intervalos harmônicos. Através do espectro de frequência

(figura 2.9) podemos observar o primeiro pico que exprime a frequência fundamental, isto é, a taxa de repetição dos ciclos de descargas elétricas, seguido das harmônicas.



**Figura 2.9** - Espectro de Frequência de *Apteronotus hasemani*, obtido através da Transformada de Fourier (FFT). O cursor 1 indica a frequência fundamental e os picos seguintes representam as harmônicas.

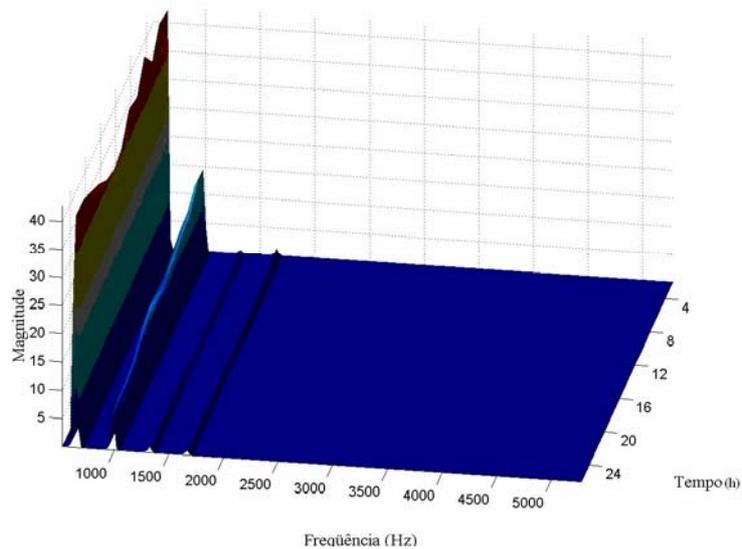
Por meio do software Dataplore realizamos análises de autocorrelação e constatamos alta similaridade dos sinais elétricos ao longo do tempo para *A. hasemani* e *A. bonapartii* (figura 2.10).



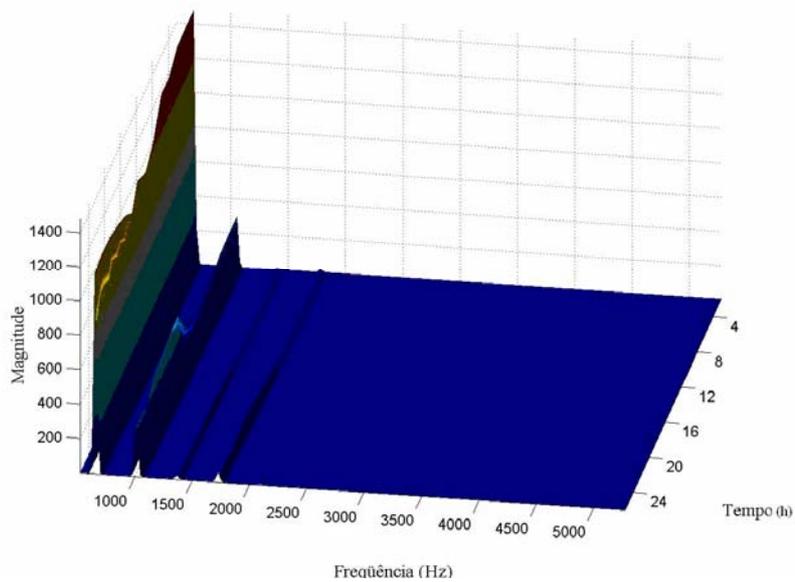
**Figura 2.10** – Autocorrelação do sinal elétrico. Observa-se alta similaridade ao longo do tempo.

Nas figuras 2.11 e 2.12 apresento o Espectro de Densidade para dois peixes do grupo I e II respectivamente, onde se observa a magnitude da frequência ao longo do tempo de gravação. Os gráficos foram compostos por dados de PSD concatenados, calculados a

partir de sinais de 20 ms e registrados a cada duas horas durante 24 horas para cada indivíduo.



**Figura 2.11** – PSD para *A. hasemani* (grupo I). O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



**Figura 2.12** – PSD para *A. hasemani* (grupo II). O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.

## 2.4 DISCUSSÃO

### 2.4.1 A Estabilidade das D.O.E.s de *A. hasemani* e *A. bonapartii*

Bullock (1970) propôs que o órgão elétrico de *Apteronotus* é o oscilador biológico mais estável atualmente conhecido, depois de relatar um coeficiente de variação da frequência da ordem de 0.00012 por alguns segundos. Usando também o coeficiente de variação (desvio padrão/média) como medida desta regularidade, nossos resultados mostram que ao longo de 30 minutos e a cada 1 hora, a variação da frequência pode chegar à ordem de 0.00017 segundos (peixe I, grupo II, *A. bonapartii*) e, além disso, as frequências e formas da onda das D.O.E.s permanecem estáveis e preservadas numa escala temporal de 24 horas. Ainda que, nas nossas condições experimentais, nossos coeficientes de variação tenham ficado entre  $10^{-2}$  e  $10^{-4}$  segundos (Tabelas 2.3 e 2.4), é possível reconhecer uma grande estabilidade temporal nas D.O.E.s das duas espécies, não só confirmando os experimentos de Bullock (1970) e Moortgart (2000), mas também atestando a adequabilidade destes organismos para biomonitoramento.

Verificamos para as duas espécies que as variações entre os padrões de forma de onda para o mesmo peixe em diferentes tempos, foram qualitativamente menores quando comparados entre indivíduos diferentes. Nos peixes que estudamos, a forma da descarga elétrica parece ser única para cada indivíduo. O mesmo foi observado por Rasnow (1993) através de um estudo de mapeamento do potencial elétrico de *Apteronotus leptorhynchus*. Se a forma da onda serve como uma “impressão digital”, que indivíduos da mesma espécie utilizam para reconhecimento individual e sexual, tal estabilidade das D.O.E.s parece ser vantajosa, tanto na habilidade de modular padrões de descargas elétricas, quanto no desempenho individual em variações dentro da comunidade (Rasnow, 1994).

As frequências e formas de onda dos peixes elétricos são moduladas numa longa escala de tempo por esteróides (Zakon, 1987). Para que o reconhecimento individual ocorra, o peixe deve ter meios de interpretar os complicados padrões de interferência resultantes das interações entre os campos elétricos. E, na tentativa de aperfeiçoar nossa compreensão, ou intuição sobre o sentido elétrico, vamos abordar um pouco sobre os princípios de operação dos órgãos elétricos.

### **2.4.2 Caminho de comando e o órgão elétrico**

Toda a atividade do órgão elétrico é controlada por um núcleo na medula cerebral que possui uma atividade endógena (é capaz de continuar disparando periodicamente mesmo se for isolado cirurgicamente da medula e colocado em uma placa de vidro com soro fisiológico) e, por isso, é denominado núcleo marcapasso. Cada D.O.E individual é gerada no marcapasso dos Gymnotiformes e transmitida através de neurônios motores da coluna vertebral até o órgão elétrico (Alves- Gomes com. pessoal) .

A estabilidade da D.O.E tem sido sobretudo atribuída a esses núcleos da medula cerebral que controlam a atividade do órgão elétrico. O núcleo marcapasso em *Apteronotus* é bastante amplo e possui muito mais neurônios quando comparado a outros Gymnotiformes (Ellis & Szabo, 1980). Pelo fato destas células estarem eletrotônicamente emparelhadas, o ruído temporal no comando de sinais pode ser reduzido em proporção à raiz quadrada do número total de células. E esta extrema estabilidade da forma de onda das D.O.E.s, sugere que todos os componentes do sistema eletromotor devem estar funcionando numa alta fidelidade (Rasnow, 1994).

O órgão elétrico de *Apteronotus* estende-se ao longo de todo o corpo até a extremidade da cauda, situando-se ventralmente à espinha cordal (Bennett, 1971). Axônios do grupo de células do núcleo marcapasso projetam-se abaixo da espinha cordal, para inervar neurônios eletromotores. Em intervalos regulares ao longo da espinha cordal, os axônios eletromotores descendem em nervos bifurcados até o órgão elétrico, onde terminais especializados funcionam como eletrócitos (Waxman, 1972 *apud* Rasnow, 1994).

### **2.4.3 Atributos do senso elétrico - Implicações Ecológicas e Comportamentais**

A perspicácia temporal do senso elétrico é excelente, porque a descarga do órgão elétrico não se propaga como uma onda, mas existe como um campo eletrostático (Hopkins, 1986). A dissipação das frequências das D.O.E.s na água é insignificante e não existem atrasos perceptíveis no tempo de chegada dos sinais de diferentes lugares. Em comparação, sinais acústicos, que se propagam no ar e na água com aproximadamente 0.3 e 1.5 microsegundo respectivamente, são deformados por difração, interferências e ecos. Enquanto a vegetação e o terreno exercem profundo efeito nas propriedades acústicas dos

cantos das aves (Richards, 1980), as propriedades temporais dos sinais elétricos serão minimamente afetadas por transmissões do ambiente circundante (Rasnow, 1994).

Visualizamos no sinal de um peixe elétrico uma composição de senóides, com muitas harmônicas, e em comparação com os sinais acústicos, as composições espectrais das D.O.E.s se projetam em uma ampla banda. Hopkins (1980) encontrou frequências dominantes de 23 espécies simpátricas numa abrangência de 150 Hz a 12 KHz, o que corresponde a sete oitavas. As frequências dominantes de espécies de aves Norte Americanas compõem três oitavas (Brenowitz, 1986).

Podemos também ir além, e estabelecer uma comparação do sentido elétrico com a visão. Neste caso, podemos inferir que o senso elétrico tem relativamente baixa resolução espacial, porém, as propriedades temporais no campo elétrico não são corrompidas por dispersão, como é a maioria dos outros sinais sensoriais. Este fato levou Hopkins (1986) a propor que as características temporais dos campos dos peixes elétricos devem ser tão importantes para a eletrolocalização, quanto características temporais o são dentro da modalidade acústica. Pensando neste caminho, podemos sugerir uma analogia, citando como exemplo a ecolocação em morcegos, a qual é componente de base na localização de objetos, alimentos e reconhecimentos individuais.

#### **2.4.4 A caminho de um sistema de biomonitoramento**

Abordamos neste capítulo o comportamento elétrico de *A. hasemani* e *A. bonapartii* em uma água de propriedades físico-químicas conhecida. Buscamos também melhorar nosso entendimento sobre o sentido elétrico, através da interpretação dos seus caminhos de funcionamento, bem como suas implicações ecológicas e comportamentais.

Nossos resultados demonstraram alta estabilidade temporal das frequências e formas de onda das D.O.E.s para as duas espécies, o que torna plausível sua utilização como elemento central de um sistema de biomonitoramento da qualidade de água. Uma vez estabelecidos os padrões normais das D.O.E.s para estas espécies, podemos investigar se estes peixes respondem às variações ambientais, e sendo isto positivo, avaliar quais as conseqüências destas variáveis nas frequências e formas de onda das D.O.E.s.

Nos capítulos seguintes, sigo testando as respostas elétricas destes peixes em diferentes valores de pH, um parâmetro que naturalmente varia em ambientes Amazônicos, e na presença de um composto tóxico, resultante da exploração do petróleo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, J. S. 2003. Gymnotiformes: Apterontidae – ghost knifefishes. *In: Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre, Brazil, pp. 497-502.
- ALVES-GOMES, J. A. 1997. Informações preliminares sobre a bio-ecologia de peixes elétricos (Ordem Gymnotiformes) em Roraima. *In: Barbosa R. I., Ferreira E. J. & Costellón E. G. (Eds.). Homem, ambiente e Ecologia no Estado de Roraima*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM.
- ARDANAZ, J. L., SILVA, A., MACADAR, O. 2001 Temperature sensitivity of the electric organ discharge waveform in *Gymnotus carapo*. *J. Comp. Physiol A.*, 187: 853-854.
- ASSAD, C., RASNOW, B., STODDARD, P. K. 1999. Electric organ discharges and electric images during electrolocation. *J. Exp. Biol.* 202, 1185-1193.
- BENETT, M.V.L. 1971. Electric Organs. *Fish Physiology*, Hoar, W.S and H.,R.D. (Eds.), pp. 347-491, Academic Press.
- BRENOWITZ, E.A. 1986. Environmental Influences on Acoustic and Electric Animal Communication. *Brain Behav. Evol.*, 28: 32-42.
- BULLOCK, T.H. 1969. Species differences in effect of electroreceptor input on electric organ pacemakers and other aspects of behavior in electric fish. *Brain. Behav. Evol.* 2, 85-118.
- BULLOCK, T.H. 1970. The Reliability of Neurons, *J. Gen. Physiol.* 55: 556-584.
- COX-FERNANDES, C., PODOS, J. 2004. Sobre a Descarga do Órgão Elétrico do sarapó *Apterontus hasemani* (Gymnotiformes:Apterontidae). 146-155. *In: Cintra, R. História Natural, Ecologia e Conservação de Algumas Espécies de Plantas e Animais da Amazônia*, Manaus: EDUA.
- CRAMPTON, W.G.R. 1998b. Electric Signal Design and Habitat Preferences in a Species Rich Assemblage of Gymnotiformes Fishes from the Upper Amazon Basin. *An. Acad. Bras. Ci.*, 70(4): 805-847.
- de SANTANA, C. D. 2002. *Apterontus sensu stricto* (Gymnotiformes:Apterontidae) Monofiletismo, Sistemática e Diversidade Subestimada em peixes elétricos neotropicais. Dissertação apresentada ao Mestrado de Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco-CCB. Biologia Animal, 2002.
- de SANTANA, C. D. 2003. *Apterontus caudimaculosus n. sp.* (Gymnotiformes: Apterontidae), a sexually dimorphic black ghost knifefish from the Pantanal, Western Brazil, with a note on the monophyly of the *A. albifrons* species complex. *Zootaxa*, 252: 1-11.
- de SANTANA, C. D., MALDONADO-OCAMPO, J. A., SEVERI, W. & MENDES, G. N. 2004. *Apterontus eschmeyeri*, a new species of ghost knifefish from the Magdalena Basin, Colombia (Gymnotiformes: Apterontidae). *Zootaxa*, 410: 1-11.
- de SANTANA, C. D. & MALDONADO-OCAMPO, J. A. 2004. Redescription of *Apterontus mariae* (Eigenmann & Fisher, 1914) and the taxonomic status of *Apterontus jurubidae* (Fowler, 1944) (Gymnotiformes - Apterontidae). *Zootaxa*, 632: 1-14.

- ELLIS, D.B., SZABO, T. 1980. Identification of Different Cell Types in the Command (Pacemaker) Nucleus of Several Gymnotiform Species by Retrograde Transport of Horseradish Peroxidase. *Neuroscience*, 5: 1917-1929.
- ENGER, P.S., SZABO, T. 1968. Effect of Temperature on the Discharge Rates of the Electric Organ of some Gymnotids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 27: 625-626.
- FERREIRA, H.M. 1953. Influência da Temperatura na Descarga Elétrica do *Electrophorus electricus* (Linnaeus). *An. da Acad. Brasileira de Ciências*. 25(3): 267-276.
- HEILIGENBERG, W. 1990. Electrosensory systems in fish. *Synapse*, 6 (2), 196-206.
- HOPKINS, C.D. 1980. Evolution of Electric Communication Channels in Mormyrids. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 7: 1-13.
- HOPKINS, C.D. 1986. Temporal Structure of Non-Propagated Electric Communication Signals. *Brain Behav. Evol.* 28: 43-59.
- KRAMER, B. 1999a. Mechanisms of signal analyses in *Eigenmannia* (Gymnotiformes): The Jamming Avoidance Response and Communication. 277-291. In: Val, A.L. and Almeida-Val, V.M.F (Eds.). *Biology of Tropical Fishes*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM.
- KRAMER, B. 1999b. Waveform discrimination, phase sensitivity and jamming avoidance in a wave-type electric fish. *J. Exp. Biol.*, 202: 1378-1398.
- MAGO-LECCIA, F. 1994. Electric fishes of continental waters of America. Biblioteca de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, Caracas, Venezuela. 29: 1-206.
- MOLLER, P. 1995. *Electric Fishes – History and behavior*. Chapman & Hall, London, UK.
- MOORTGAT, K. T., BULLOCK, T. H., SEJNOWSKI, T. J. 2000. Precision of the pacemaker nucleus in a weakly electric fish: network versus cellular influences. *Journal of Neurophysiology*, 83: 971-983.
- PIMENTEL-SOUZA, F., PEREIRA, J.B., ALVARENGA, N.P. 1976. Comportamento, termorregulação e aclimação em temperaturas elevadas do peixe elétrico gymnotus. *Ciência e Cultura*, 28 (8): 940-944.
- PIMENTEL-SOUZA, F., FERNANDES-SOUZA, N. 1985. Temperature influence and social interaction on the frequency of electric organ discharges in *Rhamphichthys rostratus*. *Acta Amazonica*, 15 (1-2): 35-46.
- PIMENTEL-SOUZA, F., SIQUEIRA, A. F. 1988. Electric organ discharge frequencies from two weakly electric Gymnotiform fish exposed to carbon dioxide, conductivity and pH changes. *Brasilian J. Med. Biol. Res.*, 21: 119-121.
- RASNOW, B., ASSAD, C., BOWER, J. 1993. Phase and Amplitude Maps of the Electric Organ Discharge of the Weakly Electric Fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *J. Comp. Physiol.* 172: 481-491.
- RASNOW, B. 1994. The electric field of a electric fish. Ph.D. Thesis, California Institute of Technology, University Microfilms.

- RICHARDS, D.G., WILEY, R.H. 1980. Reverberations and amplitude Fluctuations in the Propagation of Sound in a Forest: Implications for Animal Communication. *Am. Nat.* 115: 381-199.
- SCHWASSMAN, H.O. 1971. Circadian activity patterns in gymnotid electric fish. *In: Biochronometry* (ed. M. Menaker), Natl. Acad. Sci., Washington, D.C., pp. 186-199.
- SCHWERTNER, G. 2005. Apterontidae (Pisces:Gymnotiformes) como bioindicadores para compostos BTX. Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.
- THOMAS, M., FLORION, A., CHRÉTIEN, D. & TERVER, D. 1996a. Real-time biomonitoring of water contamination by cyanide based on analyses of the continuous electrical signal emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Wat. Res.*, 30, 3083-3091.
- THOMAS, M., CHRÉTIEN, D., FLORION, A. & TERVER, D. 1996b. Real-time detection of potassium cyanide pollution in surface waters using electric organ discharges wave emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Wat. Res.*, 17, 561-574.
- THOMAS, M., FLORION, A. & CHRÉTIEN, D. 1997. The effect of pH and conductivity on the electric behaviour of *Apteronotus albifrons* (Family Apterontidae) in a pollution monitoring system. *Environmental Technology*, 18, 1069-1083.
- THOMAS, M., FLORION, A. & CHRÉTIEN, D. 1998. A new warning biomonitor using a weakly electric fish *Apteronotus albifrons* (Gymnotiformes), and the effect of temperature on the bioelectric responses. *Environmental Monitoring and Assessment*, 51, 605-620.
- THOMAS, M. 2000. Integrating physical, chemical and biological monitoring. R.A. Deininger et al., (eds.), *Security of Public Water Supplies*, 107-114.
- TOERRING, M.J, SERRIER, J. 1978. Influence of water temperature on the electric organ discharge (EOD) of the weakly electric fish *Marcusenius cyprinoids* (Mormyridae). *Journal of Experimental Biology* 74 (1): 133-150.
- ZAKON, H.H. 1987. Hormone-Mediated Plasticity in the Electrosensory System of Weakly Electric fish. *Trend Neurosci.*, 10: 412-421.
- ZUPANC, M.M., ENGLER, G., MIDSON, A., OXBERRY, H., HURST, L.A., SYMON, M.R., ZUPANC, G.K.H. 2001. Light-dark-controlled changes in modulations of the electric organ discharge in teleost *Apteronotus leptorhynchus*. *Animal Behaviour*. 62: 1119-1128.

## CAPÍTULO 3

### Efeito do pH nas Descargas dos Órgãos Elétricos de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*

#### INTRODUÇÃO

Os peixes elétricos neotropicais, Ordem Gymnotiformes, são conhecidos por sua conspícua habilidade de gerar e detectar correntes elétricas. Peixes da família Apterodontidae geram um campo elétrico fraco, porém de alta frequência e, em uma água de propriedades físico-químicas estabilizadas, as descargas dos órgãos elétricos (D.O.E.s) destes peixes permanecem altamente conservadas ao longo do tempo.

Antes de estudar o efeito direto de poluentes associados à indústria do petróleo nas D.O.E.s de Apterontídeos, é interessante conhecer como eles respondem a parâmetros que variam naturalmente no ambiente, e quão sensíveis são a estas alterações. Sabe-se que a temperatura da água influencia as frequências das descargas elétricas emitidas por Gymnotiformes. Um estudo recente demonstrou uma perfeita relação linear entre oscilações da temperatura da água e a frequência das D.O.E.s de *Apteronotus albifrons* (Thomas *et al.*, 1998).

Em atenção à integridade de um sistema de biomonitoramento, surge a questão sobre a influência de outras variáveis físico-químicas, como o pH do meio circundante, no comportamento elétrico destes peixes. Em ambientes naturais, o pH sofre variações diárias e periódicas, sendo necessário distinguir as respostas biológicas causadas por variações de parâmetros ambientais, daquelas causadas pela presença de substâncias tóxicas.

Este capítulo tem como objetivo, investigar o efeito do pH da água nas D.O.E.s de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii*, e estabelecer as condições ótimas de pH para as duas espécies. Com isso, espero contribuir com informações adicionais para a modelagem de um sistema de biomonitoramento através das análises das descargas elétricas geradas por esses peixes.

### 3.1. MÉTODOS

A manutenção dos indivíduos, bem como a aquisição, gravação e análise dos sinais elétricos foram similares às aquelas descritas no Capítulo 2. Apresento aqui somente as diferenças.

#### 3.1.1 Manutenção dos indivíduos e obtenção dos valores de pH

Utilizamos tanques experimentais contendo 10 litros de água estabilizada, à temperatura constante de 25°C, CE 50  $\mu$ S/cm e pH inicial  $6.8 \pm 0.11$ , iluminação e aeração constantes. Nestas condições, os indivíduos permaneceram 60 minutos para aclimação ao espaço, cada um em seu aquário independente.

As D.O.E.s de *A. hasemani* e *A. bonapartii* foram monitoradas com pH variando em uma escala de 3.0 a 9.0. Na primeira hora os peixes permaneceram em água estabilizada, que foi avaliada como um padrão normal para cada indivíduo. Nas duas horas seguintes, foram submetidos aos valores de pH selecionados. Para cada valor de pH, utilizamos oito indivíduos de cada espécie, totalizando 56 peixes para cada uma delas. Na obtenção de pHs ácidos e básicos utilizei ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) e hidróxido de sódio (NaOH), respectivamente. Estes compostos são comumente comercializados em mercados aquaristas visando o controle do pH da água.

#### 3.1.2 Aquisição e gravação do sinal elétrico

Os sinais elétricos dos peixes foram captados com amplificadores, digitalizados, gravados e armazenados por meio de programas e equipamentos adequados. Após uma hora de aclimação, estipulamos o tempo zero (T0) como inicial. A partir do trigésimo minuto após o T0 para cada indivíduo, foram amostrados 20 ms (equivalente a 1 min e 15 segundos) das formas de onda das D.O.E.s, a cada 10 minutos, até o minuto 120. Outras duas gravações aos 150 e 180 minutos completaram as mensurações.

Ao final da primeira hora, os tubos contendo os peixes foram transferidos para aquários com as mesmas dimensões daqueles contendo água estabilizada, porém com os pH's modificados. Desta forma, obtivemos três medidas das D.O.E.s antes do início do teste com pH (em água estabilizada) para os tempos (30, 40 e 50 minutos) e mais oito

medidas após a mudança do pH, nos tempos (70, 80, 90, 100, 110, 120, 150 e 180 minutos), para cada indivíduo.

Registramos os dados em fitas magnéticas (VHS) através de VCR, um minuto por peixe para cada tempo estabelecido e captamos as freqüências instantâneas das D.O.E.s continuamente ao longo das 3 horas (180 minutos) por meio do freqüencímetro Fluke Scopemeter 196.

### **3.1.3 Software's - Análises das D.O.E.s**

Realizamos análises detalhadas das D.O.E.s por meio de *software's* específicos (FlukeView<sup>©</sup>, Systat<sup>®</sup> e MatLab<sup>©</sup>).

Através do *software* FlukeView 4.1, registrei a freqüência instantânea a cada 10 segundos durante 3 horas de gravação (180 minutos). Obtive uma série temporal de 10800 valores de freqüência ao longo de três horas (10800 segundos). A princípio, fiz regressões lineares simples para cada indivíduo dentro dos pH's testados, considerando toda a série temporal (10800 valores). Posteriormente, fiz a média de seis valores (1 minuto) de freqüência para cada um dos 11 tempos padronizados. Para minimizar os efeitos das variações individuais de freqüência nas D.O.E.s, normalizei as freqüências absolutas em termos percentuais. A média das três medidas, feitas imediatamente antes de submeter o peixe ao pH a ser testado (30, 40 e 50 minutos), foi considerada como 100% do valor das D.O.E.s. Os valores obtidos subsequentemente para cada ponto foram calculados em função deste valor normalizado.

SYSTAT 9.0 (Wilkinson, 1998) foi o programa estatístico utilizado para avaliar o efeito do pH ao longo do tempo nas freqüências das D.O.E.s de *A. hasemani* e *A. bonapartii*. Relacionei a variável dependente (% freqüência) ao longo do tempo para cada valor de pH, através de análise de regressão linear simples. O efeito das variáveis independentes, tempo e pH, foi avaliado através de regressões lineares neste programa, utilizando o modelo geral linear (GLM). Investiguei o efeito isolado do tempo e do pH, bem como as interações destas duas variáveis no modelo. Para o último tempo (T180) relacionei a variável dependente (% de freqüência) com o pH, no intuito de testar, o modelo matemático que melhor se adequou nos testes realizados por Thomas (1997).

Matlab 5.7 (The Mathworks, Inc.) foi responsável pelo cálculo do espectro de densidade (Power Spectrum Density – PSD) em nossos processamentos de dados para

avaliações das formas de ondas das D.O.E.s. Os sinais adquiridos por meio do software AxonScope foram convertidos em formatos ASCII. Foi feito PSD para uma amostra aleatória de 20 ms do sinal obtido para os 11 tempos estabelecidos. No processo de captação e registro das D.O.E.s, a frequência de amostragem foi de 100 kHz e a base dos tamanhos do sinal para o cálculo da Transformada de Fourier - FFT foi 1024 pontos. Os algoritmos (*m-files*) que desenvolvemos para estas análises encontram-se anexados no final deste capítulo.

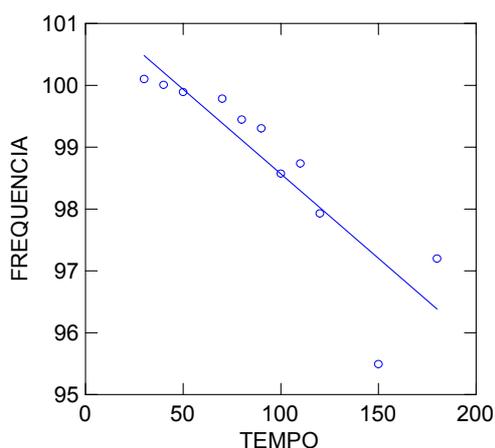
## 3.2. RESULTADOS

Os resultados dessa investigação mostram claramente que as variações de pH da água afetam significativamente a estabilidade temporal das frequências das descargas dos órgãos elétricos de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii* em função do tempo.

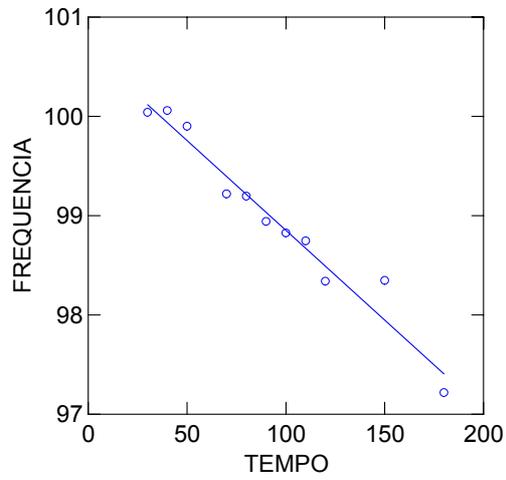
### 3.2.1 Frequência das D.O.E.s - *Apteronotus hasemani*

Nas figuras 3.1 a 3.7 apresento os resultados das análises de regressão linear, plotando os valores percentuais de frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo para os sete valores de pH testados (3.0 a 9.0). Os três primeiros valores referem-se ao período em que o peixe permaneceu em água estabilizada. Nos oito valores seguintes, foi exposto ao pH testado.

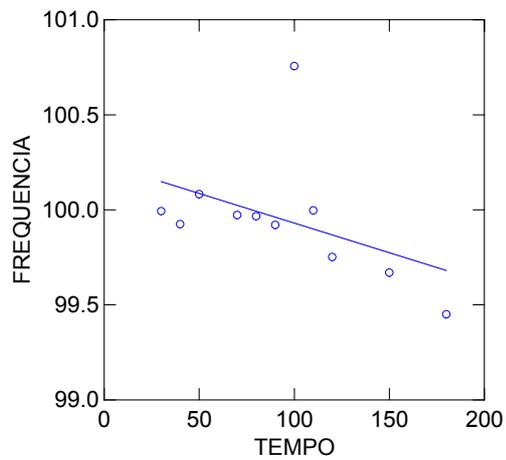
Observamos que, extremos de pH, ácido e básico, causaram uma queda da frequência das D.O.E.s e um aumento significativo dos desvios padrões ao longo do tempo (figuras 3.1, 3.2 e 3.7). Contrariamente, tanto a frequência quanto os desvios padrões se mantiveram dentro de limites normais nos pH's 5.0 e 7.0 (figuras 3.3 e 3.5, respectivamente). Uma relativa estabilidade da resposta elétrica é novamente observada no pH 8.0 (figura 3.6). No momento em que o meio torna-se alcalino, a frequência estabiliza até aproximadamente o tempo 120 e sofre um acréscimo até o tempo final da gravação.



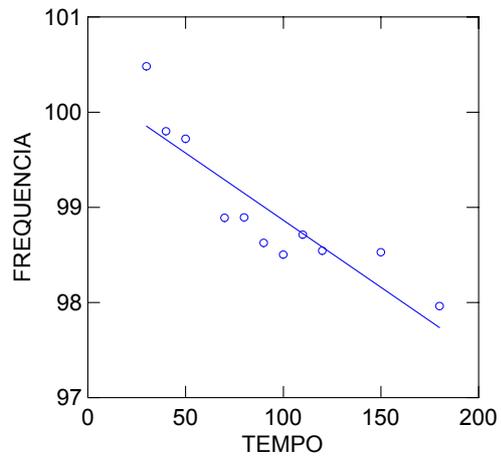
**Figura 3.1** – % de Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 3.0. ( $R^2 = 0.780$ ;  $p = 0.000$ )



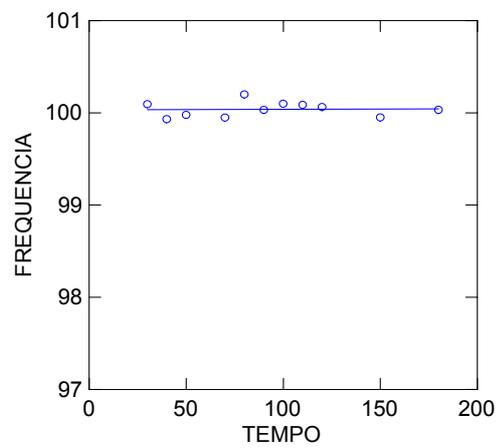
**Figura 3.2** – % de Freqüência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 4.0. ( $R^2 = 0.958$ ;  $p = 0.000$ )



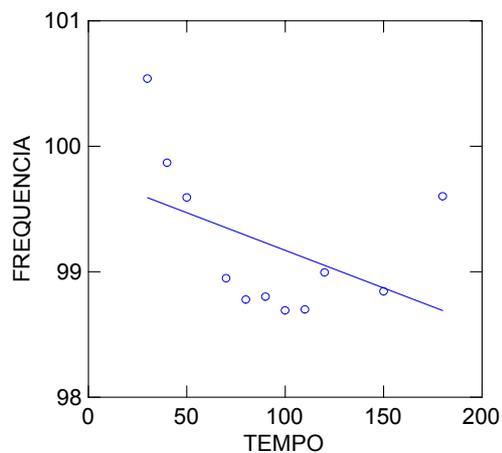
**Figura 3.3** – % de Freqüência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 5.0. ( $R^2 = 0.198$ ;  $p = 0.170$ )



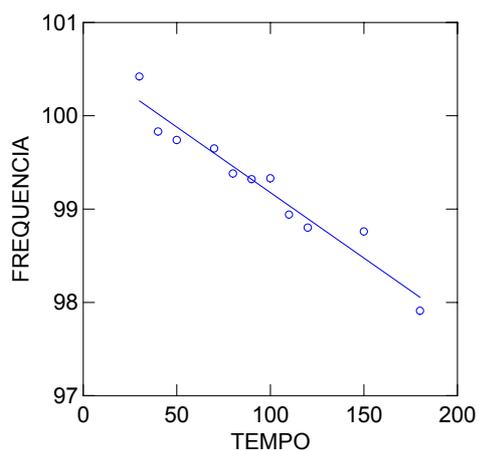
**Figura 3.4** – % de Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 6.0. ( $R^2 = 0.792$ ;  $p = 0.000$ )



**Figura 3.5** – % de Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 7.0. ( $R^2 = 0.001$ ;  $p = 0.927$ )



**Figura 3.6** – % de Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 8.0. ( $R^2 = 0.210$ ;  $p = 0.156$ )



**Figura 3.7** – % de Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo no pH 9.0. ( $R^2 = 0.938$ ;  $p = 0.000$ )

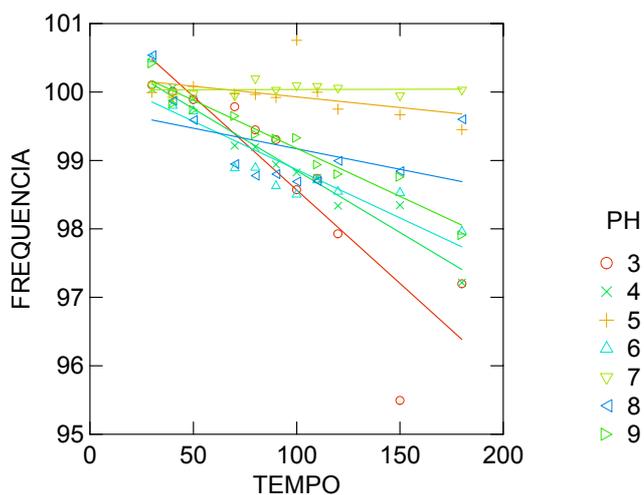
Os resultados de análise de variância estão na tabela 3.1. Na tabela 3.2 apresento os resultados obtidos através do modelo geral linear (GLM), utilizado para testar o efeito de todos os coeficientes no modelo. Podemos observar os efeitos isolados do pH e do tempo, bem como as interações destas duas variáveis na frequência das descargas dos órgãos elétricos de *A. hasemani*. Na figura 3.8 apresento o comportamento elétrico das D.O.E.s de *A. hasemani* ao longo do tempo incluindo todos os valores de pH testados.

**Tabela 3.1** - Análise de Variância – *Apteronotus hasemani*

Var. Dep: FREQUÊNCIA N: 77 r2: 0.633					
	Soma-Quadrados	GL	Média-Quadrados	F-razão	P
TEMPO	20.692	1	20.692	66.752	0.000
pH	16.135	6	2.689	8.675	0.000

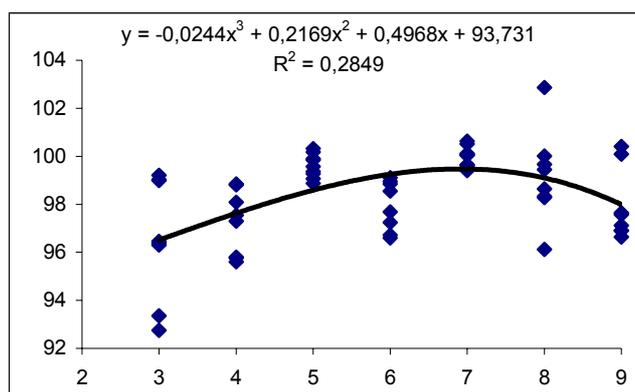
**Tabela 3.2** - Modelo Geral Linear – *Apteronotus hasemani*

Var. Dep: FREQUÊNCIA N: 77 r2: 0.830					
	Soma-Quadrados	GL	Média-Quadrados	F-razão	P
TEMPO	20.692	1	20.692	131.377	0.000
pH	2.997	6	0.499	3.171	0.009
pH*TEMPO	11.466	6	1.911	12.134	0.000



**Figura 3.8** – % de Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo para todos os valores de pH.

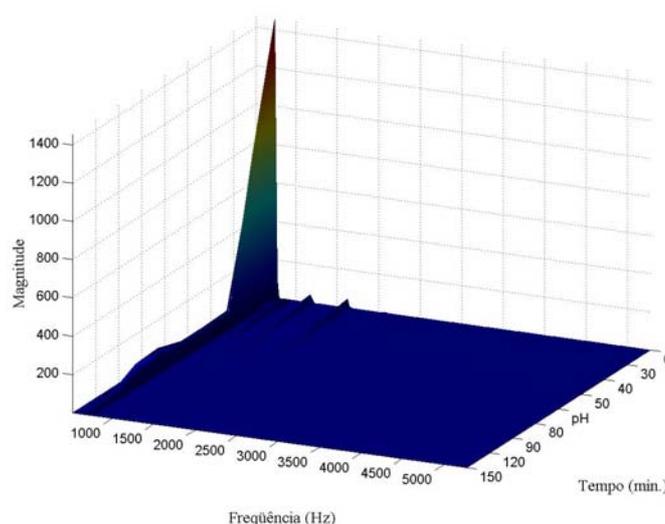
Testamos o modelo matemático utilizado por Thomas (1997) para descrever a variação da frequência das D.O.E.s em relação ao pH da água. Na figura 3.9 apresento o gráfico obtido através de análise de regressão polinomial para o último tempo (180), em que cada ponto representa os indivíduos testados para cada valor de pH. Observa-se grande distância entre os pontos para pH's extremos ácidos e básicos e menor variância entre os pontos para os pH 5.0 e 7.0. A maior taxa de letalidade (6 peixes) no decorrer dos experimentos foi registrada para o pH 3.0.



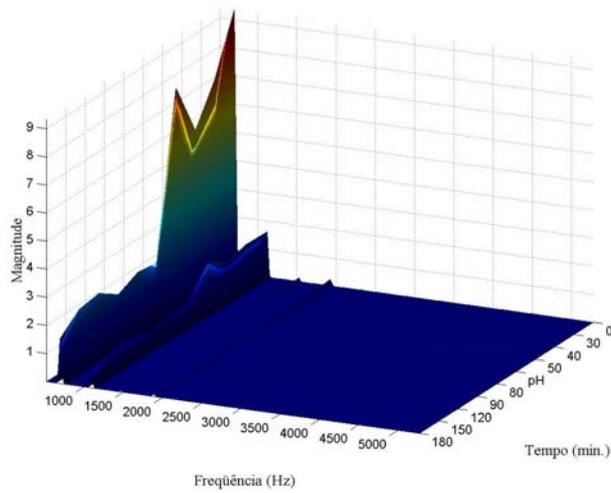
**Figura 3.9** - % de frequência (eixo y) das D.O.E.s de *A. hasemani* em função do pH da água (eixo x).

### 3.2.2 Formas de Onda - *Apteronotus hasemani*

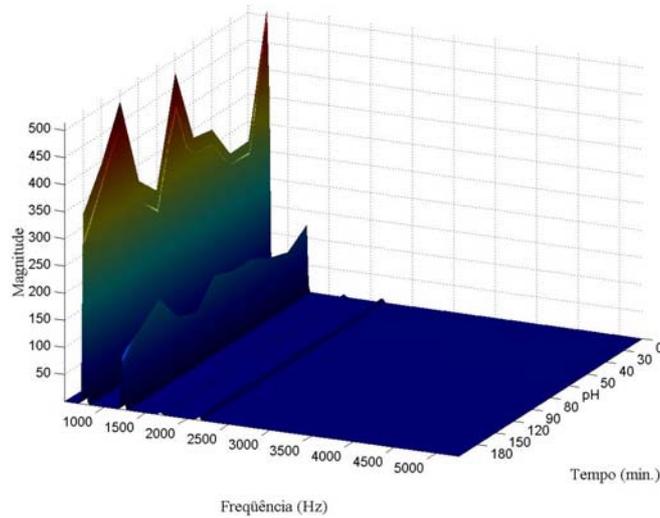
Nas figuras 3.10, 3.11, 3.12 e 3.13 apresento o Espectro de Densidade para os valores de pH 3.0, 4.0, 8.0 e 9.0, respectivamente. Observamos diminuição da magnitude da frequência a partir do tempo em que o peixe é exposto ao pH testado (60 minutos). Os gráficos de PSD realizados para os pH's 5.0 e 7.0 assemelham-se àqueles gerados no estabelecimento do padrão normal de descargas (Capítulo 2). Os gráficos foram compostos por dados de PSD concatenados, calculados a partir de sinais de 20 ms e registrados a cada tempo estabelecido durante as três horas de gravação.



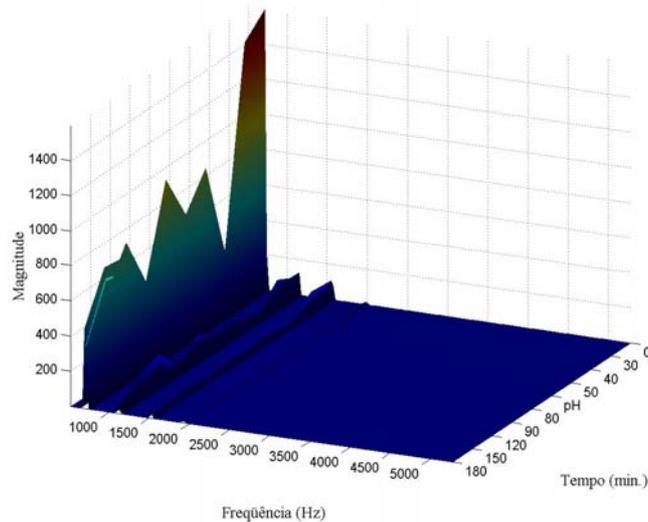
**Figura 3.10** – PSD para *A. hasemani* em pH 3.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



**Figura 3.11** – PSD para *A. hasemani* em pH 4.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas



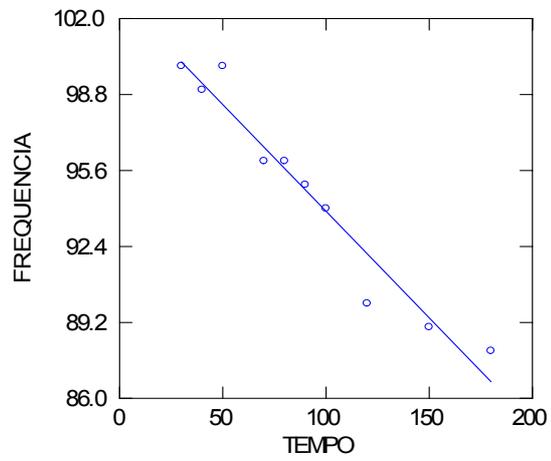
**Figura 3.12** – PSD para *A. hasemani* em pH 8.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



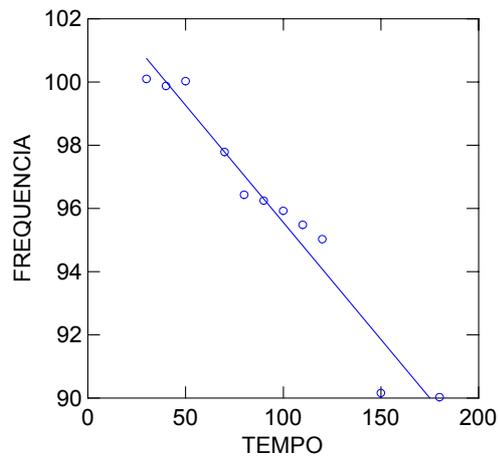
**Figura 3.13** – PSD para *A. hasemani* em pH 9.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.

### 3.2.3 Frequência das D.O.E.s - *Apteronotus bonapartii*

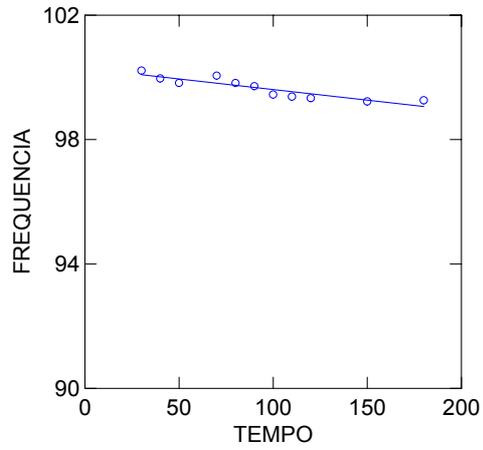
As frequências das D.O.E.s de *A. bonapartii* também variaram significativamente ao longo do tempo para alguns valores de pH que testamos. Apresento nas figuras 3.14 a 3.20 os resultados das análises de regressão linear, onde os valores percentuais de frequência (variável dependente) estão plotados ao longo do tempo para os sete valores de pH. Mais uma vez observamos que, extremos de pH, ácido e básico, causaram decréscimo significativo da frequência das D.O.E.s. Porém, observa-se que para esta espécie, o pH 5.0 causou influência significativa na frequência (figura 3.16), e a exposição ao pH 6.0 aumentou de forma significativa as descargas elétricas de *A. bonapartii* (figura 3.17). Similarmente ao observado para *A. hasemani* tanto a frequência quanto os desvios padrões mantiveram-se dentro de limites normais para o pH 7.0 (figuras 3.18).



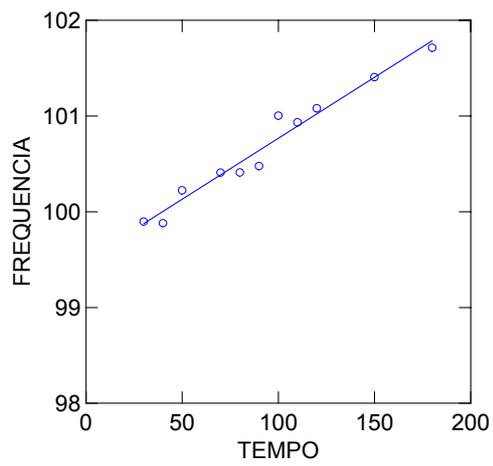
**Figura 3.14** – % Freqüência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 3.0. ( $r^2 = 0.947$   $p = 0.000$ )



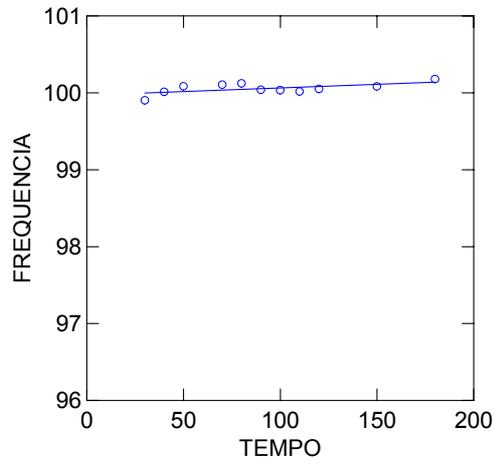
**Figura 3.15** – % Freqüência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 4.0. ( $r^2 = 0.952$   $p = 0.000$ )



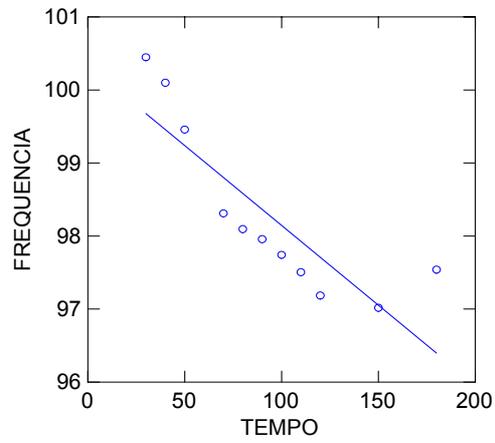
**Figura 3.16** – % Frequência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 5.0. ( $r^2 = 0.820$   $p = 0.000$ )



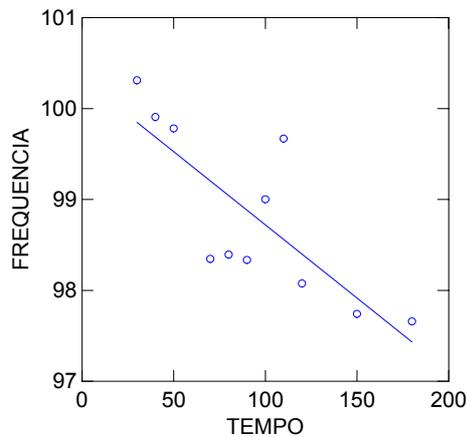
**Figura 3.17** – % Frequência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 6.0. ( $r^2 = 0.964$   $p = 0.000$ )



**Figura 3.18** – % Freqüência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 7.0. ( $r^2 = 0.368$   $p = 0.048$ )



**Figura 3.19** – % Freqüência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 8.0. ( $r^2 = 0.737$   $p = 0.001$ )



**Figura 3.20** – % Frequência de *A. bonapartii* ao longo do tempo no pH 9.0. ( $r^2 = 0.627$   $p = 0.004$ )

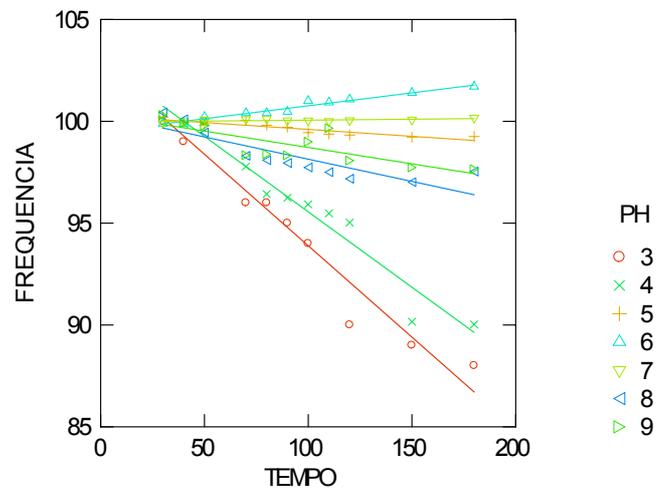
Nas tabelas 3.3 e 3.4 respectivamente, apresento os resultados da análise de variância e aqueles obtidos através do modelo geral linear (GLM). Na figura 3.21 estão representadas as respostas das frequências das D.O.E.s de *Apteronotus bonapartii* ao longo de três horas, para cada valor de pH testado.

**Tabela 3.3** – Análise de Variância – *Apteronotus bonapartii*

Var. Dep: FREQUÊNCIA N: 77 $r^2$ : 0.660					
	Soma-Quadrados	GL	Média-Quadrados	F-razão	P
TEMPO	113.908	1	113.908	36.203	0.000
pH	305.430	6	50.905	16.179	0.000

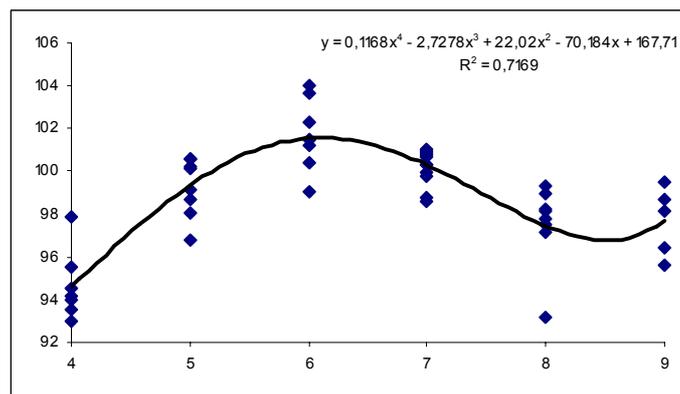
**Tabela 3.4** - Modelo Geral Linear – *Apteronotus bonapartii*

Var. Dep: FREQUÊNCIA N: 77 $r^2$ : 0.964					
	Soma-Quadrados	GL	Média-Quadrados	F-razão	P
TEMPO	115.035	1	115.035	315.089	0.000
pH	24.282	6	4.047	11.085	0.000
pH*TEMPO	191.315	6	31.886	87.337	0.000



**Figura 3.21** – % de Frequência de *A. bonapartii* ao longo do tempo para todos os valores de pH.

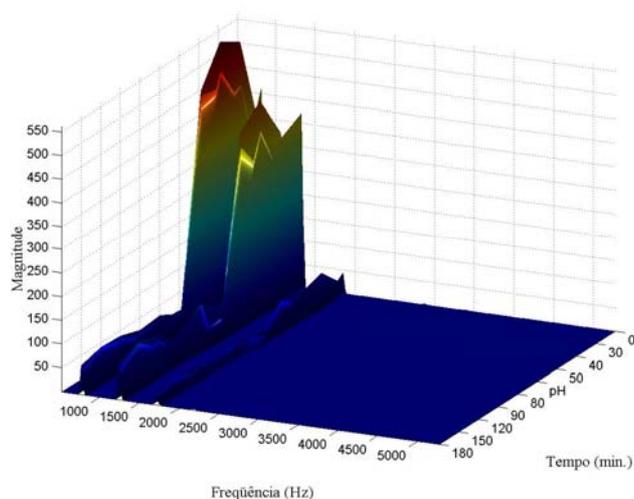
Na figura 3.22 apresento o gráfico obtido através de análise de regressão polinomial para o último tempo (180). Em *A. bonapartii* a maior taxa de mortalidade (4 indivíduos) foi registrada para o pH 3.0.



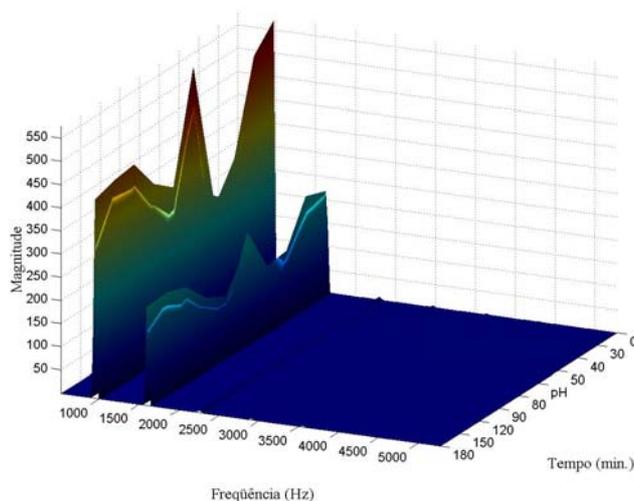
**Figura 3.22** - % de frequência (eixo y) das D.O.E.s de *A. bonapartii* em função do pH da água (eixo x).

### 3.2.4 Formas de Onda - *Apteronotus bonapartii*

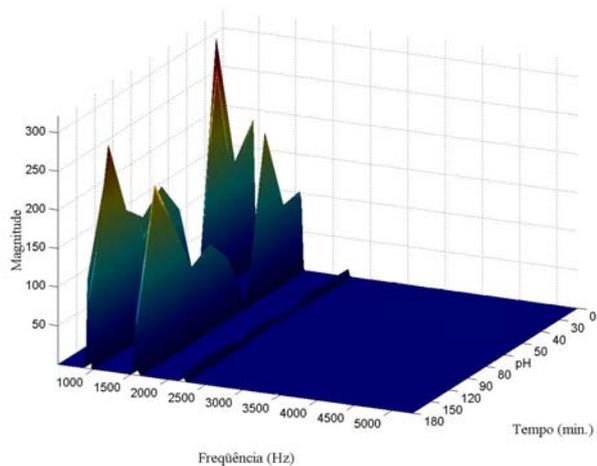
Nas figuras 3.23, 3.24, 3.25, 3.26 e 3.27 apresento o Espectro de Densidade para os valores de pH 3.0, 5.0, 6.0, 8.0 e 9.0, respectivamente. Observamos diminuição da magnitude da frequência a partir do tempo em que o peixe é exposto ao pH 3.0 e 9.0. Verificamos uma diminuição brusca na magnitude de frequência seguida de aumento no teste com pH 6.0. Os gráficos de PSD realizados para os pH's 7.0 e 8.0 assemelham-se àqueles gerados no estabelecimento do padrão normal de descargas (Capítulo 2).



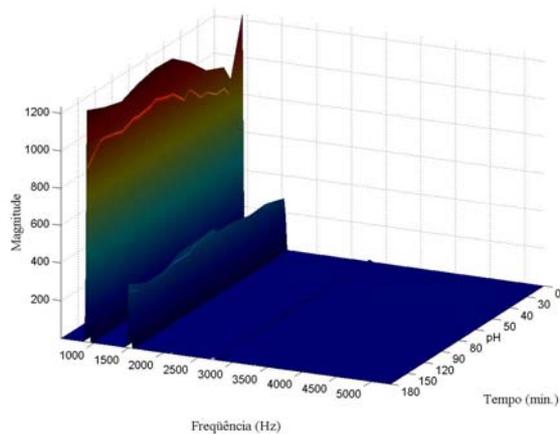
**Figura 3.23** – PSD para *A. bonapartii* em pH 3.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



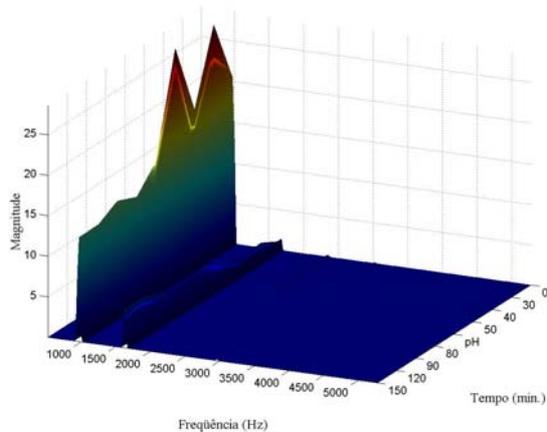
**Figura 3.24** – PSD para *A. bonapartii* em pH 5.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



**Figura 3.25** – PSD para *A. bonapartii* em pH 6.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



**Figura 3.26** – PSD para *A. bonapartii* em pH 8.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.



**Figura 3.27** – PSD para *A. bonapartii* em pH 9.0. O primeiro pico indica a frequência fundamental, seguida das harmônicas.

### 3.3. DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Variáveis ambientais e a biologia das espécies

A temperatura é a variável ambiental que mais influencia os sistemas biológicos, podendo limitar a distribuição geográfica e a atividade das espécies, bem como influenciar o ciclo reprodutivo, particularmente em zonas temperadas.

A periodicidade reprodutiva de peixes elétricos neotropicais está relacionada às estações secas e chuvosas e é controlada por fatores ambientais que regulam o crescimento das gônadas. Como a maioria dos peixes elétricos Africanos, os Gymnotiformes se reproduzem durante as estações chuvosas (Black-Cleworth, 1970; Bass & Hopkins, 1985), em que o aumento dos níveis de água diminui a condutividade (Hopkins, 1974; Hopkins, 1974; Kirschbaum, 1979; Kirschbaum, 1995; Kirschbaum, 2000). A temperatura da água provavelmente atua através do sistema neuroendócrino, influenciando a atividade elétrica dos Gymnotiformes através de interações com hormônios esteróides.

Alguns pesquisadores coletaram dados ecológicos e comportamentais dos padrões reprodutivos de algumas espécies de Gymnotiformes em diferentes latitudes geográficas (Hagedorn, 1988; Hopkins, 1974; Hopkins, 1974; Provenzano, 1984; Schwassmann, 1976; Silva, *et al.*, 1999). Esses estudos foram conduzidos em regiões tropicais onde a temperatura é bastante constante ao longo dos anos. Kirshbaum (1979, 1995, 2000) estudou a reprodução em cativeiro de diversas espécies de peixes elétricos, manipulando três fatores ambientais, que são fortemente afetados por mudanças sazonais nas regiões tropicais: altos níveis de água, baixa condutividade e pH, e o barulho acústico produzido pela chuva. O aumento dos níveis de água durante as estações chuvosas conduz a diluição substancial do meio, e conseqüentemente diminui o pH. A combinação dessas variáveis ambientais induz o crescimento das gônadas em Gymnotiformes.

#### 3.3.2 pH's ácidos e básicos nas freqüências de *A. hasemani* e *A. bonapartii*

Ainda que na Amazônia, várias espécies de Apterontídeos possam ser encontradas em ambientes abaixo de 4.0, como na região do alto rio Negro, as espécies que testamos neste experimento, apresentaram maior susceptibilidade a pH's ácidos, se

considerarmos a variação nas taxa de descargas elétricas, os desvios e as taxas de mortalidade.

Alguns trabalhos mostraram uma relação direta entre a frequência das D.O.E.s e o pH do meio circundante, e revelaram um aumento significativo da frequência sob condições alcalinas e uma diminuição desta sob condições ácidas nas espécies *Gnathonemus tamandua*, pertencente à Ordem Mormyriiformes (Lewis, *et al.*, 1992) e *Apteronotus albifrons*, Gymnotiformes (Thomas, 1997).

Nossos resultados, comparados aos encontrados em investigações similares mostram que as frequências das D.O.E.s de *Apteronotus hasemani* e *Apteronotus bonapartii* são influenciadas pelo pH da água. Porém, ao longo de três horas, verificamos diminuição das frequências das D.O.E.s desses peixes tanto em pH's ácidos quanto alcalinos.

Pimentel-Souza (1988) também observou que as frequências das D.O.E.s emitidas por *Apteronotus albifrons* e *Eigenmania virescens* (Gymnotiformes) diminuem com a gradual acidificação do ambiente, utilizando em seu experimento dióxido de carbono difundido em água, para promover acidificação do meio. Esta queda gradual da frequência das D.O.E.s pode ser atribuída a um efeito direto do aumento do CO<sub>2</sub> ou de íons hidrogênio na corrente sanguínea dos peixes, através da ação em quimiorreceptores periféricos.

Ainda considerando os experimentos realizados por Pimentel-Souza (1988), condições alcalinas do meio circundante resultaram em aumento de atividade das D.O.E.s de *A. albifrons* e *E. virescens*, o que difere dos resultados por nós obtidos através de análises das frequências de *A. hasemani* e *A. bonapartii*. Diferentemente dos dados encontrados por Thomas (1997) e Pimentel-Souza (1988), nossos resultados mostram diminuição da frequência em condições alcalinas. Nesse sentido, devemos considerar que diferenças no desenho experimental para os três estudos parecem contabilizar para a disparidade nos níveis de resposta.

Os autores citados estudaram as variações de pH nas frequências das D.O.E.s de *Apteronotus albifrons* em uma escala de 3.0 a 10.0, e submeteram o mesmo indivíduo a variações graduais de pH de aproximadamente uma unidade por hora: iniciaram os experimentos com pH 7.0 e decresceram a 3.0, e em seguida aumentaram gradativamente o pH até 10.0. A análise desses desenhos experimentais sugere a existência de mecanismos que serão abordados abaixo.

Podemos considerar que, inicialmente houve uma diminuição gradual do pH (7.0 até 3.0), o que gera um desbalanço no equilíbrio ácido/básico do sangue levando,

conseqüentemente, à queda na freqüência das D.O.E.s de *A. albifrons*. O aumento das freqüências das D.O.E.s em condições alcalinas, observado por Pimentel-Souza (1988) e Thomas (1997), pode ser avaliado como uma retomada de pH, no sentido de regularizar o equilíbrio metabólico, após o desbalanço provocado pelo composto ácido. Além disso, estatisticamente, a utilização do mesmo indivíduo para os diferentes valores de pH testados, não pode ser considerada uma réplica, e a resposta individual num determinado tempo pode refletir um efeito acumulativo do ácido ou da base testada.

No intuito de propor um sistema de biomonitoramento, devemos considerar que em casos de acidentes ambientais, muitas vezes as alterações das características físico-químicas locais ocorrem de forma brusca. Nesse sentido, investigamos as respostas das D.O.E.s de *A. hasemani* e *A. bonapartii* frente a variações extremas de pH do meio circundante e obtivemos respostas significativas dentro da escala temporal estabelecida.

### **3.3.3 O valor ótimo de pH para *A. hasemani* e *A. bonapartii***

Podemos seguir uma linha de raciocínio e considerar o pH como um parâmetro químico que está naturalmente sujeito a variações diárias e sazonais do ambiente aquático. Em outras palavras, a variação do pH não necessariamente significa a deterioração da qualidade de água. Visto desse ângulo, detectar as mudanças de pH apresentam pouco interesse, e um biomonitor que é sensível ao pH pode provocar falsos alarmes.

Nossas investigações revelaram estabilidade das freqüências das D.O.E.s ao longo do tempo em pH 7.0 para as duas espécies estudadas, corroborando com os resultados encontrados por Lewis (1992). Este achado é significativo em estudos laboratoriais, onde podemos considerar o valor de pH 7.0 como sendo ótimo para as duas espécies. Quando em condições de aclimação, antes dos testes com poluentes, controlando o pH em torno desse valor, pode-se assumir que nenhuma resposta do peixe é devido a mudanças químicas de pH da água.

Mantendo o pH em torno do valor ótimo para as duas espécies, podemos isolar o efeito desta variável em nossos experimentos. Sabemos que esta fase do desenho analisa o pH da água como uma variável isolada atuando nas D.O.E.s dos peixes elétricos e não considera a sinergia das variações. De qualquer forma, é necessário o monitoramento constante do pH, já que esta variável pode afetar a ionização de substâncias poluidoras, podendo conseqüentemente influenciar as mensurações (Sprague, 1985).

#### **3.3.4 As formas de onda de *A. hasemani* e *A. bonapartii***

Thomas (1997) investigou o efeito do pH nas formas de onda das D.O.E.s de *Apteronotus albifrons* e não observou mudança significativa para essa variável, quando submetido a mudanças graduais nos valores de pH. Diferentemente, observamos que qualitativamente, a frequência fundamental e as harmônicas sofrem variações passíveis de serem verificadas quando o peixe é transferido para os valores de pH testados. Em pH neutro, 7.0, não detectamos variações das formas de onda, e observamos que as frequências das D.O.E.s permanecem estáveis ao longo do tempo, sugerindo este valor como sendo ideal para estudos em laboratório.

Os dados obtidos das relações entre as frequências das D.O.E.s e variáveis ambientais serão utilizados para contribuir no desenvolvimento de um modelo de biomonitoramento em tempo real para ambientes aquáticos expostos a efluentes potencialmente tóxicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASS, A.H., Hopkins, C.D. 1985. Hormonal control of sex differences in the electric organ discharge (EOD) of mormyrid fishes. *J. Comp. Physiol. A* 156, 587-604.
- BLACK-CLEWORTH, P. 1970. The role of electrical discharges in the non-reproductive social behavior of *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Pisces). *Anim. Behav. Monogr* 3, 1-77.
- HAGEDORN, M. 1988. Ecology and behavior of a pulse-type electric fish *Hypopomus occidentalis* (Gymnotiformes, Hypopomidae) in a fresh-water stream in Panama. *Copeia* 2, 324-335.
- HOPKINS, C.D. 1974. Electric communication: functions in the social behavior of *Eigenmannia virescens*. *Behaviour*, 50, 270-305.
- HOPKINS, C.D. 1974. Electric communication in the reproductive behavior of *Sternopygus macrurus* (Gymnotoidei). *Z Tierpsychol* 35, 518-535.
- KIRSCHBAUM, F. 1979. Reproduction of the weakly electric fish *Eigenmannia virescens* (Rhamphichthyidae, Teleostei) in captivity. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 4, 331-355.
- KIRSCHBAUM, F. 1995. Taxonomy, zoogeography and general ecology of South American knifefishes (Gymnotiformes) in: P. Moller (Ed.), *Electric Fishes. History and Behavior*, Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series 17, London, 1995, pp. 446-464.
- KIRSCHBAUM, F. 2000. The breeding of tropical freshwater fishes through experimental variation of exogenous parameters. *Aqua Geographia* 20, 95-101.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1992a. Responses of the electric fish *Gnathonemus tamandua* (Family Mormyridae) to changes in pH. *Environ. Tech.* 13: 701-706.
- PIMENTEL-SOUZA, F., SIQUEIRA, A. F. 1988. Electric organ discharge frequencies from two weakly electric Gymnotiform fish exposed to carbon dioxide, conductivity and pH changes. *Brasilian J. Med. Biol. Res.*, 21: 119-121.
- PROVENZANO, R.F. 1984. Aspectos de la reproducción em peces Gymnotiformes Del Bajo Llano de Venezuela. Tesis, Univ. Central de Venezuela, 1984.
- SCHWASSMANN, H.O. 1976. Ecology and taxonomic status of different geographic populations of *Gymnorhamphichthys hypostomus*, Ellis (Pisces, Cypriniformes, Gymnooidei, Biotropica 8, 25-40.
- SILVA, A., QUINTANA, L., GALEANO, M., ERRANDONEA, P., MACADAR, O. 1999. Water temperature sensitivity of the EOD waveform in *Brachyhypopomus pinnicaudatus*, *J. Comp. Physiol. A* 185, 187-197.
- SPRAGUE, J.B.1985. Factors that modify toxicity. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology. Methods and Applications*, Rand G. M. and Petrocelli S.R., (ed.), Hemisphere Publishing Corporation, Washington.
- THOMAS, M., FLORION, A. & CHRÉTIEN, D. 1997. The effect of pH and conductivity on the electric behaviour of *Apteronotus albifrons* (Family Apteronotidae) in a pollution monitoring system. *Environmental Technology*, 18, 1069-1083.

THOMAS, M., FLORION, A. & CHRÉTIEN, D. 1998. A new warning biomonitor using a weakly electric fish *Apteronotus albifrons* (Gymnotiformes), and the effect of temperature on the bioelectric responses. *Environmental Monitoring and Assessment*, 51, 605-620.

## ANEXOS

### Algoritmos desenvolvidos para análise das descargas dos órgãos elétricos de *A. hasemani* e *A. bonapartii*

```
function LFCPH
```

```
%*****AMAZONASBRASIL*****  
% INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA  
% LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA COMPORTAMENTAL - LFC  
% ANO - 2005  
  
% Converte extensões *.atf em arquivo *.mat.  
% Calcula PS. Concatena PS para gráficos.  
% PS = power spectrum de densidade para a forma onda.  
% p/ Normal (fs=100KHz - 2048 pontos) e ...  
% [ ] Água de Formação = 1mL 2mL 4mL 0mL fs=50KHz - 1024 pontos), ...  
% 'Hanning' (=~20ms).  
%*****AMAZONASBRASIL*****
```

```
clear all;clc;colordef white;
```

```
co=input('Entre com valor do pH: ');  
pn=input('Entre com n° do peixe: ');  
ti=input('Entre com o tempo inicial: ');  
tf=input('Entre com o tempo final: ');
```

```
fs=50000;  
nf=1024;  
tx=10000;  
xx=1;
```

```
ext='.atf';
```

```
[arq, caminho]=uigetfile('*.atf', 'Arquivo *.atf');  
cd(caminho);
```

```
PSG=[];  
HzG=[];  
cont=ti;
```

```
while cont <= tf  
arq=[num2str(pn) '_' num2str(cont) '_' num2str(co) ext];  
ca=['A11..A' num2str(tx)];  
cb=['B11..B' num2str(tx)];
```

```
tempo=1000*(dlmread (arq,'\t',ca));  
onda=dlmread (arq,'\t',cb);
```

```
[PS,f]=psd(onda,nf,fs);  
[M,I]=max(PS(3:300));  
Hz=(double(f(I)));
```

```
datafile=[arq(1:size(arq,2)-4) '.mat'];  
save (datafile,'onda','tempo','PS','f','Hz');
```

```
PSG=[PSG PS];
```

```

        HzG=[HzG;Hz];
        cont=cont+xx;

    end;

        afile=[arq(1:size(arq,2)-8) 'hzg.xls'];
        dlmwrite(afile,HzG,'\t');

        datafile=[arq(1:size(arq,2)-8) 'c.mat'];
        save (datafile,'PSG','HzG');

        *****

function LFCG3DPH

%*****AMAZONASBRASIL*****
% INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
% LABORATÓRIO DE FISILOGIA COMPORTAMENTAL - LFC
% ANO - 2005

%% LFCG3D.m faz parte de um grupo de algoritmos desenvolvidos ...
% para analisar as Descargas dos Órgãos Elétricos (D.O.E.s) ...
% de peixes elétricos da família Apterontidae (Gymnotiformes).
%
% Cria gráficos 3D de PSD - Power Spectrum Density - Espectro de
Densidade
% p/ Normal (fs=100KHz - 2048 pontos) e ...
% [ ] Água de Formação = 1mL 2mL 4mL 0mL fs=50KHz - 1024 pontos), ...
% 'Hanning' (=~20ms).
%
%*****AMAZONASBRASIL*****

clear all;clc;colordef white;

[arq,caminho]=uigetfile('*.mat', 'Arquivo *.mat');
    cd (caminho);
    load (arq);

    Fig=figure;
        set(Fig,'Position',[100 50 650 500]);
        set(Fig,'Name',[arq]);
    surf(PSG(10:200,:), 'FaceColor','interp', ...
        'EdgeColor','none','FaceLighting','phong');
        axis tight;
        view([115 25]);
        camlight left;
    grid on;
    colormap(jet);
    xlabel('Tempo (min.)','FontSize',12,'FontName','times');
    set(gca,'XTick',[1 2 3 4 5 6 7 8 9 10]);
    set(gca,'XTickLabel','0|30|40|50|pH|80|90|120|150|180');
    ylabel('Frequência (Hz)','FontSize',12,'FontName','times');

set(gca,'YTickLabel','1000|1500|2000|2500|3000|3500|4000|4500|5000');
    zlabel('Magnitude','FontSize',12,'FontName','times');

        *****

```

## CAPÍTULO 4

### Efeito da Água de Formação nas Descargas dos Órgãos Elétricos de *Aptereronotus hasemani*

#### INTRODUÇÃO

As indústrias petrolíferas se deparam diariamente com problemas decorrentes de vazamentos, derramamentos e acidentes ambientais durante a exploração, refino, transporte e operações de armazenamento de petróleo e seus derivados. Além disso, estas atividades produzem sub-produtos e efluentes que podem ser altamente nocivos ao meio ambiente. Estima-se que para cada barril de petróleo cru são gerados nove barris de água de formação (APECO, 1993).

A água de formação é um produto secundário da exploração do petróleo e hoje representa grande desafio para os organismos aquáticos Amazônicos, porque carrega altos níveis de sais, possui metais pesados em sua composição e, apesar de ter uma constituição que varia de local para local, ainda pode superar 30.000 ppm de dureza total, 8.000 ppm de cálcio, 3.000 ppm de magnésio, 45.000 ppm de sódio, 50-100 ppm de óleos, e ultrapassar 150.000 ppm de cloretos (Maco, 1996). Esta água é regularmente liberada para o meio ambiente, aumentando drasticamente a quantidade de íons nas águas da Bacia Amazônica (IIAP, 1993).

Levando em conta este panorama, o acúmulo de químicos nos ecossistemas aquáticos vem crescendo rapidamente, sem que medidas definidas de monitoramento, regulamentação e legislação sejam postas em prática. Os sistemas atuais de monitoramento, baseados em métodos tradicionais de análises físico-químicas deixam a desejar quanto a sua eficiência, porque dependem da presença humana permanente, de elaborados testes químico-analíticos, além de conduzirem amostragens temporalmente pontuais, o que pode permitir que acidentes com poluentes passem despercebidos. Este sistema tradicional também não leva em conta possíveis ações sinérgicas e antagônicas de poluentes, e conseqüentemente se torna economicamente inviável para ser adotado em locais que possuem recursos financeiros limitados.

Ao longo da história, técnicas biológicas de monitoramento da qualidade de água vêm sendo amplamente utilizadas devido à capacidade de fornecer informações sobre mudanças no ambiente (Thomas, 1997) e prover mensurações diretas de toxicidade.

Neste capítulo avaliamos o efeito da água de formação nas propriedades biofísicas do campo elétrico gerado por *Apteronotus hasemani*, um peixe elétrico endêmico da América do Sul e que possui, como característica principal, um tecido especializado, denominado órgão elétrico. As descargas dos órgãos elétricos de *A. hasemani* nunca foram utilizadas em estudos toxicológicos e, além disso, estes peixes apresentam grande vantagem: a acuidade temporal do senso elétrico é excelente. Em uma água de propriedades físico-químicas conhecida as frequências e formas de onda das D.O.E.s mostram notável estabilidade temporal. Assim, alterações mínimas nos ritmos das D.O.E.s causadas por poluentes podem ser facilmente captadas.

## 4.1. MÉTODOS

A manutenção dos indivíduos, bem como a aquisição, gravação e análise dos sinais elétricos foram similares àquelas descritas no Capítulo 2 e 3. Apresento aqui somente as diferenças.

### 4.1.1 Manutenção dos indivíduos e testes com toxicidade

A água de formação utilizada foi obtida por meio da Petrobrás, proveniente da Província de Urucu (tabela 4.1 e 4.2). Neste experimento, avaliamos os efeitos sinérgicos dos poluentes presentes na água de formação.

**Tabela 4.1** – Análise físico-química da água de formação de Urucu.

Parâmetros	Resultados	Unidade
pH	7,0	
Oxigênio	60	ppb
Eredox (mV)	-114	mV
Bicarbonato (mg/l)	29	mg/l
Acetato (mg/l)	170	mg/l
Cloreto (%)	13,5	%
Cálcio (g/l)	20,3	g/l
Magnésio (mg/l)	2300	mg/l
Bário (mg/l)	11	mg/l
Estrôncio (mg/l)	890	mg/l
Ferro Total (mg/l)	54	mg/l
Sulfato (mg/l)	260	mg/l
Dióxido de Carbono (mg/l)	600	mg/l
Sól. Suspensos (mg/l)	1,4	mg/l

Análises realizadas pela Petrobrás / Dados cedidos pelo LEEM – INPA

**Tabela 4.2** – Análise química da água de formação de Urucu.

Parâmetros	Resultado	Unidade	Expresso
Alumínio total	<0,06	mg/L	Al
Bário Total	5,82	mg/L	Ba
Cádmio Total	0,01	mg/L	Cd
Cálcio Total	13400	mg/L	Ca
Chumbo Total	1,25	mg/L	Pb
Cobre Total	0,24	mg/L	Cu
Cromo Total	0,14	mg/L	Cr
Estanho Total	<0,32	mg/L	Sn

Ferro Total	20,5	mg/L	Fe
Magnésio Total	1520	mg/L	Mg
Manganês Total	6,44	mg/L	Mn
Zinco Total	0,25	mg/L	Zn
Cobalto Total	<0,03	mg/L	Co

Análises realizadas pelo INMETRO / Dados cedidos pelo LEEM - INPA

Utilizamos tanques experimentais contendo 10 litros de água estabilizada à temperatura constante de 25°C, CE inicial 50 µS/cm e pH 6.8 ±0.11. Nestas condições, os indivíduos permaneceram 60 minutos para aclimatação ao espaço, cada um em seu aquário independente.

Na primeira hora os peixes permaneceram em água estabilizada, e nas duas horas seguintes, foram submetidos às concentrações de água de formação estabelecidas. Iniciei os experimentos com uma concentração de 4:10000, desta forma, em cada aquário de 10 litros foi introduzido 4mL de água de formação. As concentrações seguintes foram 2:10000, 1:10000 e ausência de água de formação (controle). Utilizei oito indivíduos da espécie *Apteronotus hasemani* para cada concentração a partir da concentração inicial, e as frequências das D.O.E.s de cada peixe foram ininterruptamente gravadas durante três horas para verificar a ocorrência ou não de alterações nas atividades elétricas por meio do poluente. Não verificamos o efeito da água de formação nas D.O.E.s de *Apteronotus bonapartii*, pois não obtivemos sucesso de captura suficiente para testes com esta espécie.

Ao final da primeira hora, os tubos contendo os peixes foram transferidos para aquários com as mesmas dimensões daquele contendo água estabilizada, porém com as concentrações de água de formação definidas. Estabelecemos duas horas como limite máximo para detecção do contaminante, fundamentados nos critérios descritos abaixo.

Os sistemas convencionais para diagnósticos de poluição ambiental, além de exigirem tempo para coleta de amostras, complementam-se com extensos exames laboratoriais. Estes programas não geram resultados em tempo real e acabam sendo muitas vezes dispendiosos e ineficientes na detecção de efeitos adversos, muitas vezes devido ao espaçamento entre as amostragens. O fato de monitorar matrizes aquáticas em tempo real prediz três horas como limite máximo para detecção do contaminante. Thomas *et al.*, (1996a, 1996b) adotaram o tempo máximo de duas horas como limite de detecção de cianeto para *Apteronotus albifrons*, uma espécie de peixe elétrico da Família Apteronotidae.

Acreditamos que o equacionamento do problema ambiental necessita de uma complementação de métodos mais ágeis, desta forma, nos interessa que os indivíduos respondam positivamente dentro de um período máximo de duas horas para que providências emergenciais possam ser tomadas em situações de derramamentos em ambientes naturais.

A metodologia de aquisição e gravação dos sinais elétricos, bem como as análises dos sinais (frequência e formas de onda) por meio de softwares específicos, foi a mesma descrita no capítulo anterior.

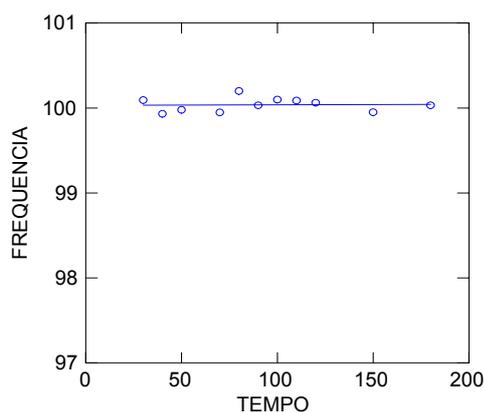
## 4.2. RESULTADOS

Os compostos presentes na água de formação, nas concentrações estudadas, causaram alteração dos valores da frequência das D.O.E.s passíveis de serem detectadas no período máximo de três horas. Nos peixes submetidos às diferentes concentrações do contaminante avaliado, a média dos valores de frequência no período de pré-contaminação foi menor quando comparada aos valores pós-contaminação.

Quando avaliamos o desvio padrão da frequência das D.O.E.s de cada minuto para os tempos estabelecidos, o desvio padrão do minuto imediatamente após a veiculação da água de formação apresentou o dobro do desvio padrão do minuto anterior. Observando o comportamento elétrico das D.O.E.s dos indivíduos controle, na ausência do contaminante, podemos dizer que os peixes submetidos às diferentes concentrações do contaminante testado tiveram uma percepção imediata da alteração da qualidade da água.

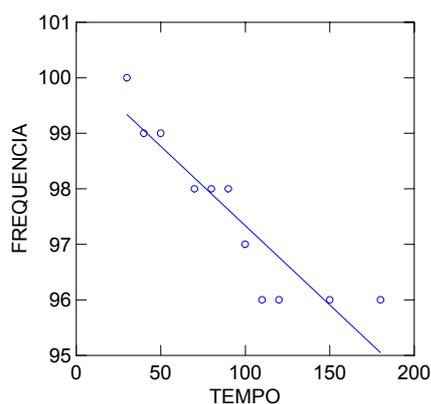
### 4.2.1 Frequências das D.O.E.s

Apresento na figura 4.1 o gráfico referente à análise de regressão linear para o grupo de indivíduos controle. Neste caso observamos que a frequência permanece estável e conservada ao longo das três horas de experimento.



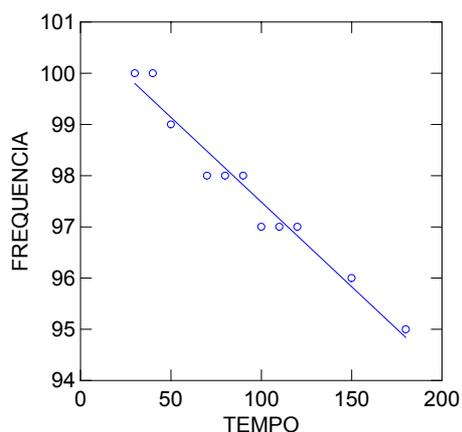
**Figura 4.1** – % Frequência de *A. hasemani* ao longo do tempo na ausência de contaminante ( $R^2 = 0.001$ ;  $p = 0.927$ ).

No gráfico abaixo (figura 4.2) visualizamos a resposta das frequências das D.O.E.s dos indivíduos que a partir dos 60 minutos foram expostos à concentração de 1mL de água de formação. Os três primeiros pontos representam as três medidas em água estabilizada, e os oito pontos seguintes fazem menção às duas horas de contato com o poluente. Notamos uma resposta imediata, associada à queda na frequência a partir do tempo inicial de exposição.



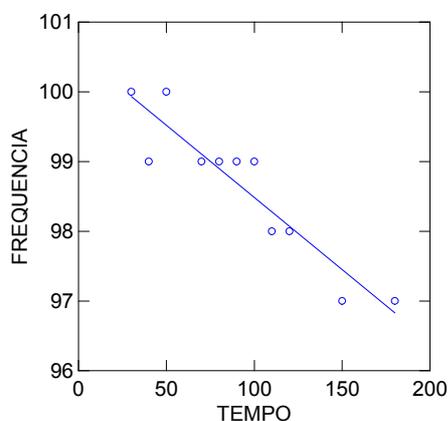
**Figura 4.2** – % Frequência de *A. hasemani* ao longo de três horas. Aos 60 minutos os peixes foram submetidos à concentração de 1mL (1:10000) de água de formação ( $R^2 = 0.836$ ;  $p = 0.000$ ).

Quando expostos a 2mL do poluente testado, também observamos um gradual decréscimo da frequência ao longo do tempo (figura 4.3).



**Figura 4.3** – % Frequência de *A. hasemani* ao longo de três horas. Aos 60 minutos os peixes foram submetidos à concentração de 2mL (2:10000) de água de formação ( $R^2 = 0.960$ ;  $p = 0.000$ ).

Na figura 4.4 observamos a resposta de *A. hasemani* à exposição de 4mL de água de formação.



**Figura 4.4** – % Frequência de *A. hasemani* ao longo de três horas. Aos 60 minutos os peixes foram submetidos à concentração de 4mL (4:10000) de água de formação ( $R^2 = 0.862$ ;  $p = 0.000$ ).

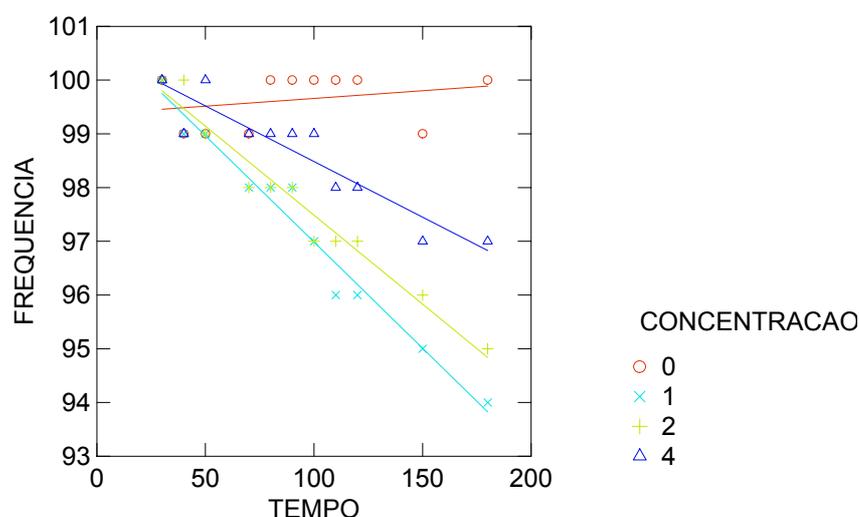
Na tabela 4.3 apresento os resultados obtidos através de análise de variância incluindo todos os indivíduos e concentrações testadas. Pode-se observar o efeito isolado das concentrações e do tempo. Através do modelo geral linear, investigamos todos os coeficientes no modelo (tabela 4.4). Visualizamos os efeitos isolados da concentração de água de formação e do tempo, bem como as interações destas duas variáveis na frequência das descargas dos órgãos elétricos de *Apteronotus hasemani*. E na figura 4.5 apresento o gráfico das % de frequência das D.O.E.s ao longo de três horas para cada concentração de água de formação testada.

**Tabela 4.3** - Análise de Variância – *Apteronotus hasemani*

Var. Dep: FREQUÊNCIA N:44 r2: 0.739					
	Soma-Quadrados	GL	Média-Quadrados	F-razão	P
TEMPO	43.352	1	43.352	60.164	0.000
CONCENTRAÇÃO	36.091	3	12.030	16.695	0.000

**Tabela 4.4 - Modelo Geral Linear – *Apteronotus hasemani***

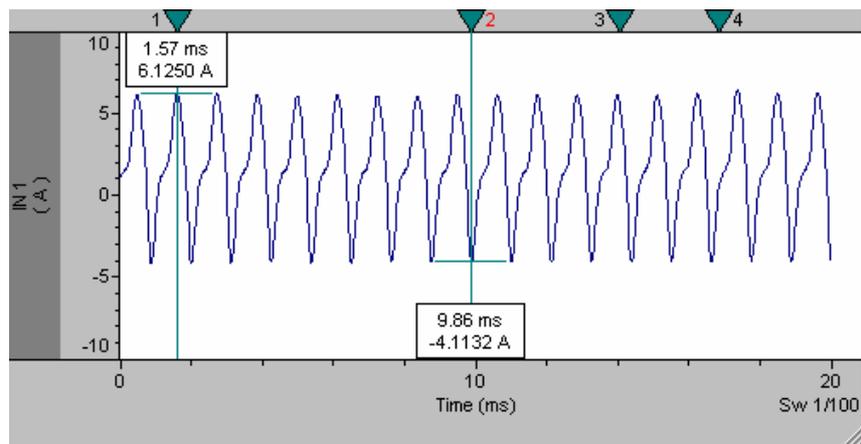
Var. Dep: FREQUÊNCIA N: 44 r2: 0.945					
	Soma-Quadrados	GL	Média-Quadrados	F-razão	P
TEMPO	43.352	1	43.352	265.924	0.000
CONCENTRAÇÃO	3.076	3	1.025	6.290	0.002
CONCENTRAÇÃO*TEMPO	22.233	3	7.411	45.460	0.000



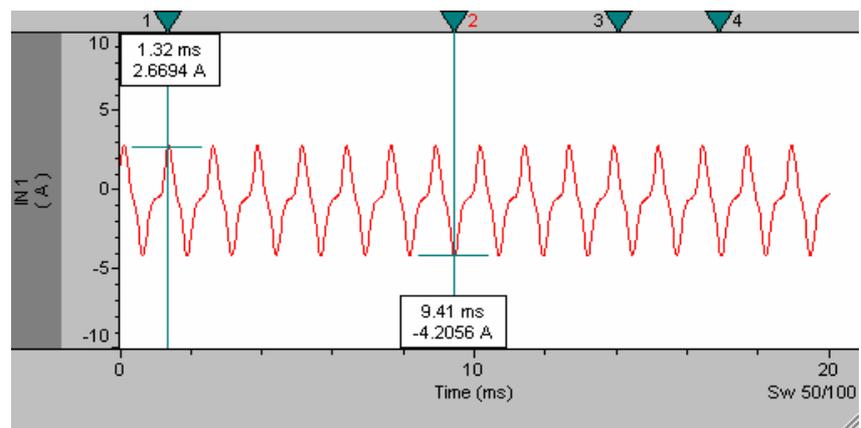
**Figura 4.5 – % Frequência de *A. hasemani* ao longo de três horas. Aos 60 minutos os peixes foram submetidos às diferentes concentrações de água de formação.**

#### 4.2.2 Formas de Onda das D.O.E.s

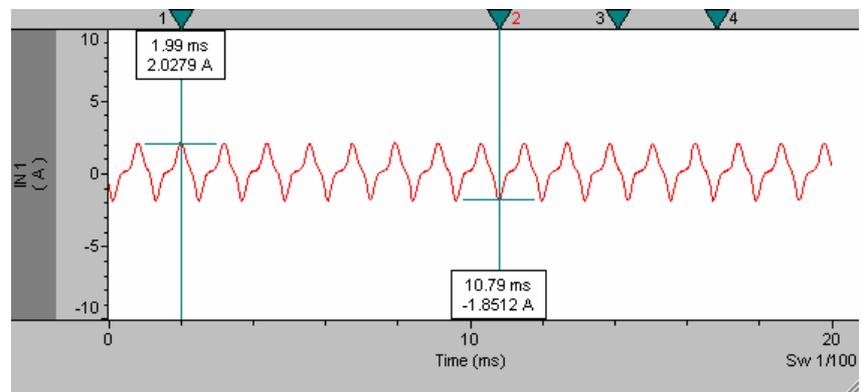
A introdução da água de formação nos tanques experimentais causou variações na condutividade da água padrão. Como mencionado nos métodos deste trabalho, a condutividade inicial foi de 50  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Com a introdução de 4ml de água de formação, a condutividade passou para 212  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , e com as concentrações de 2 e 1 mL, os valores de condutividade foram 110 e 59  $\mu\text{S}/\text{cm}$  respectivamente. Apresento a seguir, as formas de onda registradas para o início do tratamento, sem o contaminante (figura 4.6) e com exposição a 1 (figura 4.7), 2 (figura 4.8) e 4 mL (figura 4.9) respectivamente. Observamos uma diminuição da amplitude do sinal elétrico com o gradual aumento da condutividade da água. O eixo x representa o tempo e o eixo y a amplitude do sinal elétrico.



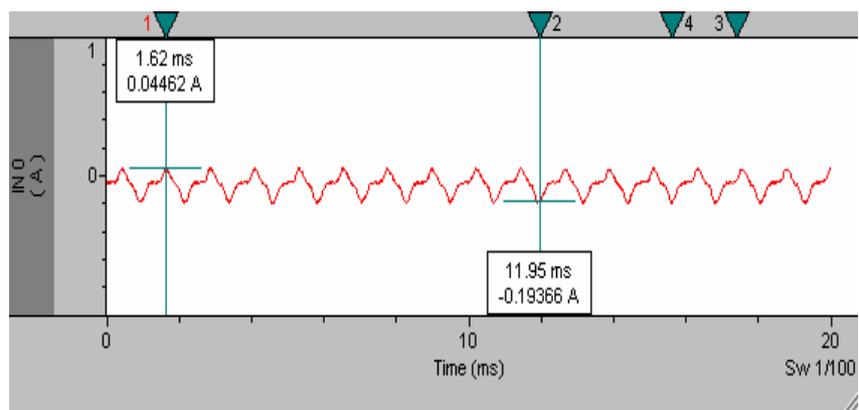
**Figura 4.6** – Forma da onda de *A. hasemani* no início do experimento (ausência de água de formação).



**Figura 4.7** – Forma da onda de *A. hasemani* ao final do experimento, 1mL de água de formação.



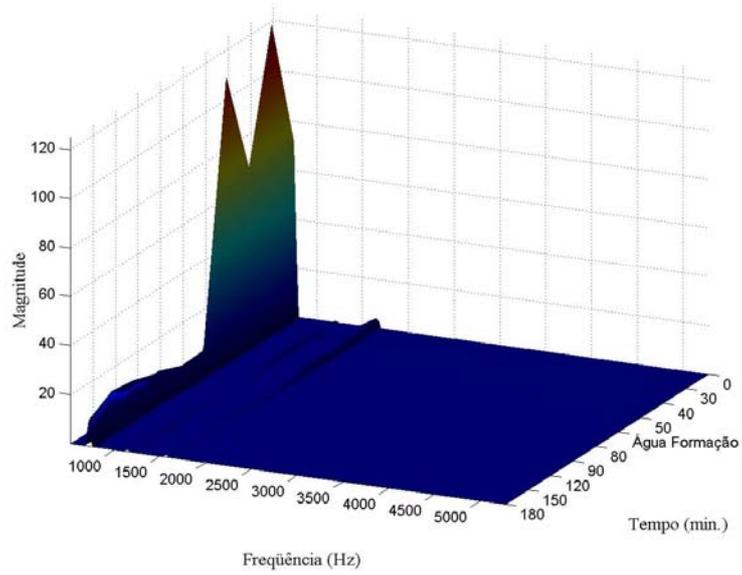
**Figura 4.8** – Forma da onda de *A. hasemani* ao final do experimento, 2mL de água de formação.



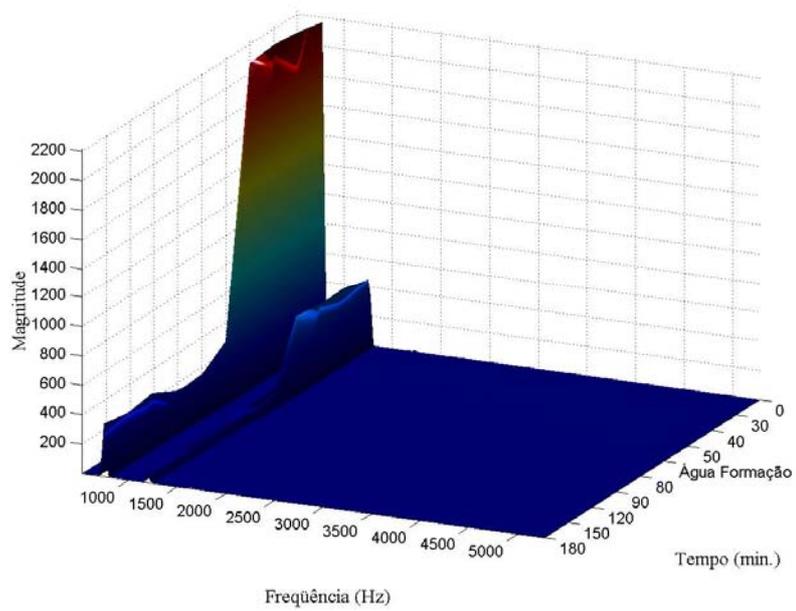
**Figura 4.9** – Forma da onda de *A. hasemani* ao final do experimento, 4mL de água de formação.

Nas figuras abaixo estão os gráficos de PSD para as diferentes concentrações de água de formação estudadas, e para o controle. Estes gráficos em três dimensões indicam dados qualitativos de variações discretas no tempo, concatenando matrizes de dados que representam os valores das frequências e as harmônicas que compõem o sinal elétrico dos peixes.

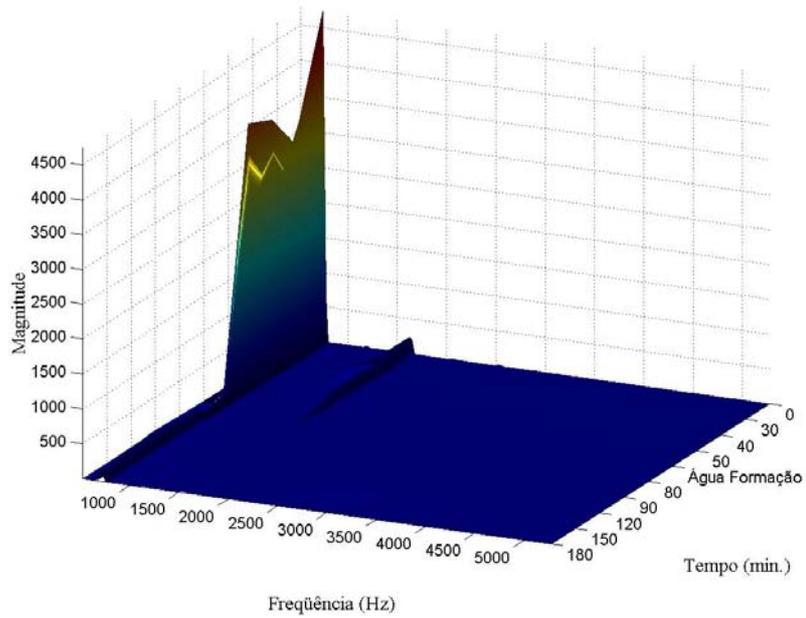
Logo após a introdução do peixe à concentração de 1mL de água de formação observa-se um decaimento súbito da frequência fundamental (figura 4.10). Uma forte variação negativa dos valores da frequência fundamental também pode ser observada para os testes com 2mL (figura 4.11) e 4mL (figura 4.12) de água de formação. E por fim, o gráfico de PSD resultante do experimento controle, na ausência do contaminante (figura 4.13), onde podemos observar estabilidade da frequência fundamental e das harmônicas ao longo do tempo.



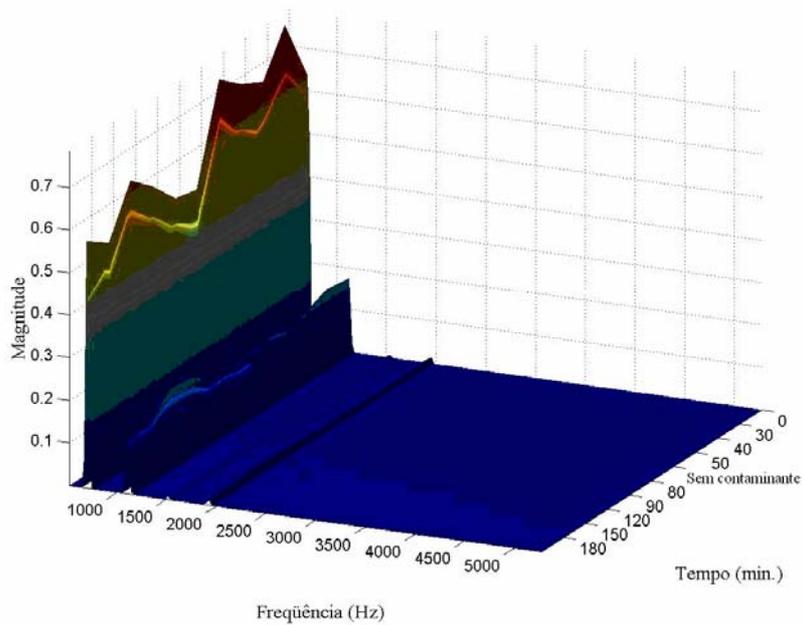
**Figura 4.10** – PSD para *A. hasemani*, submetido aos 60 minutos à 1mL de água de formação.



**Figura 4.11** – PSD para *A. hasemani*, submetido aos 60 minutos à 2mL de água de formação.



**Figura 4.12** – PSD para *A. hasemani*, submetido aos 60 minutos à 4mL de água de formação.



**Figura 4.13** – PSD para *A. hasemani*, na ausência de água de formação.

### 4.3. DISCUSSÃO

A idéia da utilização de peixes elétricos para detecção de substâncias químicas na água não é nova. Grove & Moller (1979) investigaram o efeito de inseticidas nas D.O.E.s de *Brienomyrus niger* (Mormyriiformes), e Geller (1984) introduziu outro peixe elétrico africano, *Gnathonemus petersii*, como indicador de toxicidade para mercúrio, cobre, cianeto e arsênico. Estes cientistas foram precursores ao sugerir a possibilidade do uso de peixes elétricos como indicadores biológicos em sistemas aquáticos. Subseqüentemente, diversos estudos demonstraram uma correlação direta entre a taxa de pulso de *Gnathonemus* e a qualidade da água (Kunze & Wezstein, 1987; Lewis *et al.*, 1992b; Lewis *et al.*, 1993; Lewis *et al.*, 1994; Lewis *et al.*, 1995).

Porém existe uma inconstância natural das freqüências das D.O.E.s ao longo do tempo em Mormyriiformes (Mandriota *et al.*, 1965), podendo ocorrer variações mesmo sob condições padrões (Scheich & Bullock, 1974). Além disso, uma diversidade de fatores exógenos, como a presença de alimentos, distúrbios visuais e stress a ruídos influenciam as descargas elétricas destes peixes (Lewis & Kay, 1993). Estas limitações combinadas à distribuição temporal irregular das descargas dos órgãos elétricos, mesmo na ausência de substância tóxicas, enfraqueceram sua viabilidade como sensor biológico.

Mais recentemente, Thomas *et al.*, (1996a, 1996b), testaram a influência de cianeto de potássio no comportamento elétrico de *Apteronotus albifrons*, um apteronotídeo sul americano e propuseram um sistema de biomonitoramento da qualidade da água em tempo real, por meio de análises das freqüências das D.O.E.s (Thomas, 2000). Os resultados mostraram que *Apteronotus* pode detectar concentrações do poluente, correspondendo aos requisitos de um indicador de poluição por cianeto em estações de monitoramento de água.

No presente trabalho, verificamos que as propriedades biofísicas das D.O.E.s de *Apteronotus hasemani* dependem da qualidade do ambiente aquático, e na presença de diferentes concentrações de água de formação, o ritmo de descarga decresce significativamente ao longo do tempo. Estes dados indicam que as D.O.E.s podem refletir estados comportamentais e fisiológicos, sugerindo perspectivas positivas de modelagem de um sistema de biomonitoramento com as descargas elétricas de *A. hasemani*.

#### 4.3.1 A modulação das D.O.E.s – aspectos comportamentais

A modulação das D.O.E.s nos Gymnotiformes é de fundamental importância dentro do contexto comportamental. Durante o acasalamento, e em comportamentos agonísticos podem ocorrer variações abruptas no ritmo das descargas dos órgãos elétricos (Corrêa & Hoffmann, 1998), e estes fenômenos são denominados “chirps” (Bullock, 1969; Black-Cleworth, 1970; Hopkins, 1974; Hagedorn & Heiligenberg, 1985). Mudanças graduais nas frequências das descargas dos órgãos elétricos também ocorrem durante interações sociais (Heiligenberg, 1986).

Em muitos casos, perturbações ambientais são as maiores causas da variabilidade observada nos comportamentos, e os peixes normalmente reagem a estímulos ambientais através de alterações motoras e neurovegetativas (Laming, 1981). Peixes elétricos, por sua vez, podem ainda responder a um estímulo por meio de alterações das frequências das D.O.E.s. Estudos recentes demonstraram que o núcleo eletrosensorial (Keller *et al.*, 1990) e os núcleos marcapassos (Kawasaki *et al.*, 1988) juntos, formam uma interface sensorial e motora no controle da modulação das taxas das D.O.E.s. Esta interface é utilizada em comportamentos que requerem rápido processamento de informações eletrosensoriais (Heiligenberg *et al.*, 1991).

As variabilidades observadas nas D.O.E.s dos peixes sul americanos são excelentes indicadores de flutuação no ambiente aquático e devem ser consideradas como principal exemplo de plasticidade e expressão da variação individual em um comportamento. Basicamente, estes peixes dependem das D.O.E.s para sua sobrevivência, e as propriedades do campo elétrico estão intimamente relacionadas às características físico-químicas da água onde o peixe se encontra. Deparando-se ao fato das descargas dos órgãos elétricos desempenharem um relevante papel em interações sociais, mudanças induzidas por substâncias químicas no ambiente podem influenciar o comportamento e a sobrevivência destes peixes. Sabemos que a presença de elementos tóxicos na água pode alterar as D.O.E.s, tanto pela variação da condutividade da água, através da lei de Ohm, quanto pela ação indireta de substâncias químicas no metabolismo do peixe.

#### **4.3.2 A Lei de Ohm e as D.O.E.s de *A. hasemani***

Através das D.O.E.s, os peixes elétricos produzem corrente alternada no meio circundante, e estas descargas são geradas constantemente ao longo de toda a vida dos indivíduos. Estes peixes são altamente sensíveis às perturbações próximas de seus campos elétricos, cuja impedância (valor da resistência total à passagem do fluxo elétrico numa corrente alternada) é diferente da água ao redor. O vetor do campo elétrico,  $E$ , está relacionado à corrente de densidade do vetor,  $J$ , pela lei de Ohm:  $E = pJ$ , onde  $p$  é a resistividade local. Na água ao redor do peixe, a resistividade é constante, deste modo, o campo elétrico e a corrente são diretamente proporcionais e em fase uma em relação à outra (Rasnow, 1994).

O órgão elétrico do peixe atua como uma fonte de corrente e a inclusão de um novo elemento químico na água poderá causar uma mudança na condutividade do circuito, causando assim uma alteração na amplitude do sinal. Mudanças de fase da ordem de microssegundos ou até menos, são induzidas por propriedades ôhmicas. O animal pode detectar mudanças locais comparando as fases das D.O.E.s em diferentes áreas da superfície do corpo (Heiligenberg, 1987) e, a precisão temporal das D.O.E.s de espécies onduladoras condiz à resolução temporal de percepção do animal ao estímulo externo.

#### **4.3.3 Substâncias químicas no metabolismo de *A. hasemani***

Observamos que com a mudança do peixe ao tanque contendo poluente, as frequências começaram a decrescer de forma significativa em todos os indivíduos. Uma vez que o controle do órgão elétrico se dá núcleo marcapasso, na medula espinhal, podemos sugerir uma possível ação inibidora do sistema nervoso central, causada pelo efeito sinérgico da água de formação.

O cianeto, composto estudado por Thomas (1996) e também presente em níveis consideráveis na água de formação, induz hipoxia citotóxica e acidose de lactato (Eisler, 1991), e a combinação destes fenômenos debilita o sistema nervoso central. Em consequência, o centro de comando das D.O.E.s (núcleos marcapassos) podem ser afetados. É também possível que a ação destas substâncias tóxicas modifique a atividade endócrina do hipotálamo (Thomas, 1996), o que pode por sua vez, afetar a permeabilidade das

membranas celulares elétricas e, portanto, explicar as variações nos níveis de frequências das D.O.E.s sob condições tóxicas.

#### **4.3.4 A condutividade e a amplitude das D.O.E.s**

Pimentel-Souza (1988) e Thomas (1997) investigaram o efeito isolado da condutividade nas D.O.E.s de *A. albifrons*, e observaram que as cargas iônicas na água não influenciaram as frequências fundamentais e as harmônicas das D.O.E.s. Estes trabalhos mostraram que somente a amplitude do sinal elétrico é afetada, decrescendo com o aumento da condutividade da água. Este padrão de resposta também foi observado em nosso estudo.

A água de formação possui níveis elevados de sais e, com o aumento das concentrações testadas verificamos aumento de condutividade e decréscimo da amplitude do sinal elétrico, provavelmente ocasionado pela maior presença de cargas iônicas no meio.

O fato da amplitude do sinal diminuir com o aumento da condutividade da água é bastante conhecido em Mormyriiformes (Squire & Moller, 1982; Von Der Emde, 1993). Porém, os mecanismos fisiológicos que governam o efeito de cargas iônicas na amplitude do sinal ainda não são conhecidos. Segundo Kramer & Kuhn (1993) *apud* Thomas (1997), a mudança repentina da condutividade da água, induz stress osmótico no peixe, o qual inicia, em resposta, um mecanismo hormonal e o desencadeamento de respostas bioquímicas. O efeito da condutividade na amplitude do sinal também pode ser atribuído a um fenômeno elétrico, em que o aumento da condutividade da água, pode causar um curto circuito da fonte geradora (o órgão elétrico), deixando a voltagem cair quanto mais energia é bombeada (Thomas, 1997).

#### **4.3.5 A água de formação nas D.O.E.s de *A. hasemani***

A água de formação é um composto complexo de potenciais poluentes, sendo testada pela primeira vez nas D.O.E.s de Gymnotiformes. Pelo fato da água de formação ser composta por um grande número de elementos e substâncias químicas diferentes, não se pode precisar o efeito específico das diferentes substâncias e elementos químicos como poluentes. Buscamos justamente, o efeito conjunto (sinérgico) deste poluente nas descargas elétricas de *A. hasemani*, já que o produto oriundo da atividade de exploração e refino do petróleo são substâncias quimicamente complexas.

Thomas (1997) estudou o efeito da condutividade nas D.O.E.s de *A. albifrons* como uma variável isolada, e atribuiu um resultado positivo à ausência de efeito perceptível deste parâmetro, já que a mudança deste fator abiótico não necessariamente é um indicador representativo da deterioração da qualidade da água. Porém, não podemos descartar a hipótese de que uma descarga acidental de substâncias químicas na água pode conduzir mudanças na condutividade do meio. Sabemos por exemplo que no Peru, águas de formação derivadas da exploração de petróleo, elevaram significativamente os níveis de cloretos em rios e lagoas (Maco, 1996), e ainda não se sabe avaliar precisamente o efeito disto nas comunidades de organismos aquáticos.

Neste caso, se pensarmos em um ambiente natural, quais seriam as conseqüências geradas por um possível aumento drástico dos níveis de sais nas D.O.E.s de peixes elétricos? Além de afetar a sobrevivência dos peixes, podemos seguir a linha de raciocínio de que o aumento nos níveis de íons causariam aumento da condutividade da água.

#### **4.3.6 A condutividade e a distribuição das espécies**

A condutividade, como medida da concentração de nutrientes (sal), está muitas vezes correlacionada à distribuição dos peixes, devido a sua influência na produtividade primária, e sua correlação com outra variável importante da qualidade da água, o pH (Crampton & Albert, 2005).

A condutividade é também uma medida da resistência externa através da qual peixes elétricos conduzem suas correntes elétricas. Desta forma, isso poderá impor efeito direto na biologia dos peixes elétricos - bem como também na fisiologia dos seus órgãos elétricos e eletroreceptores, ou na distribuição biogeográfica. A impedância do órgão elétrico à condutividade externa pode criar barreiras para a dispersão dos peixes elétricos – talvez acelerando a especiação via isolamento alopátrico (Crampton & Albert, 2005).

Podemos sugerir também que mudanças nas composições físico-químicas da água podem atuar como uma barreira acústica para os peixes elétricos, baseada na propagação do sinal elétrico. Hopkins (1999) mostrou uma correlação direta entre a anatomia do órgão elétrico e as propriedades físico-químicas da água. Os órgãos elétricos das diferentes espécies parecem estar adaptados para produzir D.O.E.s condizentes com a impedância da água em que os peixes vivem. Dentro desta circunstância, uma vez que o órgão elétrico esteja bem adaptado a determinados ambientes, com um tipo particular de água, a

exploração ou adequação a um novo ambiente poderá implicar numa menor eficiência (Alves-Gomes, 2001). Portanto, a condutividade da água pode atuar como uma barreira “invisível” para diferentes espécies (Hopkins, 1999).

#### **4.3.7 O Sistema de Biomonitoramento – Perspectivas e Aplicabilidade**

Acreditamos que a possibilidade da utilização de peixes elétricos sul americanos (Gymnotiformes) como elemento central de um sistema de biomonitoramento de qualidade de água é perfeitamente plausível, tanto em função dos resultados obtidos nos nossos estudos, assim como os de outros autores previamente citados. Estudos futuros poderão ampliar a gama de substâncias testadas. E na medida em que tivermos uma idéia mais abrangente dos tipos de alterações causadas pelos diferentes compostos nas D.O.E.s de Apterontídeos partiremos para a concepção de um sistema automatizado, concebido em função de algoritmos computacionais e que façam, em tempo real, as comparações dos parâmetros das descargas elétricas.

O princípio fundamental do sistema é que mudanças nas características da água alteram os padrões de descargas elétricas dos peixes, e estas variações podem ser quantificadas e detectadas por meio de programas especialmente concebidos para esta finalidade. Este componente automatizado permitirá que o sistema funcione continuamente, com a mínima necessidade de acompanhamento humano e deverá monitorar permanentemente a taxa de repetição de peixes dispostos individualmente numa bateria de aquários. Esta bateria de aquários estará conectada, via sistema de encanamento e bomba d’água ao local (habitat aquático) a ser monitorado.

Toda vez que o padrão das D.O.E.s for alterado pela presença de um elemento estranho na água, o sistema poderá acionar um dispositivo de alarme que indicará a anormalidade físico-química da água. Este sistema possui algumas vantagens sobre os sistemas tradicionais de monitoramento porque além de requerer a mínima participação humana, permite um monitoramento ininterrupto (minimizando o efeito de acidentes) e dispensa análises laboratoriais caras e demoradas para a detecção de elementos tóxicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES-GOMES, J. A. 2001. The evolution of electroreception and bioelectrogenesis in teleost fish: a phylogenetic perspective. *Journal of Fish Biology*. 58: 1489 – 1511.
- APECO. 1993. Evaluación ambiental de actividades petroleras: Lago Titicaca, Puno. Lima
- RASNOW, B. 1994. The electric field of a electric fish. Ph.D. Thesis, California Institute of Technology, University Microfilms.
- BULLOCK, T.H. 1969. Species differences in effect of electroreceptor input on electric organ pacemaker and other aspects of behavior in electric fish. *Brain Behav. Evol.* 2, 85-118.
- BLACK-CLEWORTH, P.1970. The role of electrical discharges in the nonreproductive social behavior of *Gymnotus carapo*. *Anim. Behav. Monogr.* 31, 1-31.
- CRAMPTON, W.G.R., ALBERT, J.S. 2005. Evolution of electric signal diversity in Gymnotiform fishes. in: P. Moller (Ed.), *Electric Fishes. History and Behavior*, Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series 17, London.
- EISLER, R. 1991. Cyanide hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *Biol. Rep. US, Fish Wildlife Serv.* 85, 1-55.
- GELLER, W.1984. A toxicity warning monitor using the weakly electric fish *Gnathonemus petersii*. *Water Resources*, 18 (10): 1285-1290.
- GROVE, P., MOLLER, P. 1979. Electric fish as a tool for water quality assessment. *Transactions of the American Fisheries Society* 108: 420-421.
- HEILIGENBERG, W. 1986. Jamming avoidance response. In: T. Bullock and W. Heiligenberg Editors, *Electroreception* Wiley, New York, 613-649.
- HEILIGENBERG, W.1987. Behavioral and ecological aspects of electroreception in fish. Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, California, USA. Proc. V Congr. Europ. Ichtyol., Stockholm, 239-245.
- HEILIGENBERG, W., KELLER, C.H., METZNER, W., KAWASAKI, M. 1991. Structure and function of neurons in the complex of the nucleus electrosensorius of the gymnotiform fish *Eigenmannia*: Detection and processing of electric signals in social communication. *J. Comp. Physiol.* A169, 151-164.
- HAGEDORN, M., HEILIGENBERG, W. 1985. Court and spark: Electric signals in the courtship and mating of gymnotoid electric fish. *Anim. Behav.* 33, 254-265.
- HOPKINS, C.D. 1974. Electric communication: functions in the social behavior of *Eigenmannia virescens*. *Behaviour*, 50, 270-305.
- HOPKINS, C.D. 1999. Design features for electric communication. *Journal of Experimental Biology* 202,1217-1228.
- IIAP, 1993. Estudio de los impactos de la contaminación sobre los ecosistemas acuáticos y el hombre de la Amazonia Peruana – Alternativas de solución. IIAP, Proyecto de Investigación para la Protección del Medio Ambiente. Iquitos, Perú., 41 p.

- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1993. Responses of electric fish (family Mormyridae) to chemical-changes in water quality.II. Pesticides. *Environmental Technology*, 14 (12): 1171-1178.
- KAWASAKI, M., MALER, L., ROSE, G.J., HEILIGENBERG, W. 1988. Anatomical and functional organization of the pacemaker nucleus in gymnotiform electric fish: The accommodation of two behaviors in one nucleus. *J. Comp. Neurol.* 276, 113-131.
- KELLER, C.H., MALER, L., HEILIGENBERG, W. 1990. Structural and functional organization of a diencephalic sensory-motor interface in Gymnotiform fish, *Eigenmannia*. *J. Comp. Neurol.* 293, 347-376.
- KUNZE, P. & WEZSTEIN, H.U. 1987. Apomorphine and haloperidol influence electric behaviour of a mormyrid fish. *Z. Naturforsch.* 43, 105-107.
- LAMING, P.R. 1981. The physiological basis of alert behaviour in fish. In: L.R. Laming Editor, *Brain mechanisms of behaviour in lower vertebrate*. Cambridge University Press, Cambridge, 203-224.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1992.b. Responses of electric fish (family Mormyridae) to chemical-changes in water quality.I. Cyanide. *Environmental Technology*, 13 (12): 1169-1174.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1993. Responses of electric fish (family Mormyridae) to chemical-changes in water quality.II. Pesticides. *Environmental Technology*, 14 (12): 1171-1178.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1994. Responses of electric fish (Family Mormyridae) to chemical changes in water quality: III. Heavy Metals. *Environmental Technology*, 15: 969-978.
- LEWIS, J.W, KAY, A N., HANNA, N. S. 1995. Responses of electric fish (Family Mormyridae) to inorganic nutrients and tributyltin oxide. *Chemosphere* 31: 3753-3769.
- MACO, J. T. 1996. Influência da água de formação da extração de petróleo do Rio Urucu sobre aspectos hematológicos e conteúdo iônico de *Colossoma macropomum* e *Glyptoperichthys joselimainanus*. MSc thesis. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA. Manaus.
- MANDRIOTA, F.T., THOMPSON R.L., BENNET, M.V.L. 1965. Classical conditioning of electric organ discharge rate in Mormyrids. *Science* 150, 1740-1742.
- PIMENTEL-SOUZA, F., SIQUEIRA, A. F. 1988. Electric organ discharge frequencies from two weakly electric Gymnotiform fish exposed to carbon dioxide, conductivity and pH changes. *Brasilian J. Med. Biol. Res.*, 21: 119-121.
- SCHEICH, H., BULLOCK, T.H. 1974. The role of electroreceptors in the animal's life. II. The detection of electric fields from electric organs. IN: Fessard, A. (ed.), *Handbook of sensory physiology*, Berlin-Heidelberg – New York, vol. III/3, 201-256.
- SQUIRE, A., MOLLER, P. 1982. Effects of water conductivity on electro-communication in the weak-electric fish *Brienomyrus niger* (Mormiriformes). *Anim. Behav.*, 30, 375-382.
- THOMAS, M., FLORION, A., CHRÉTIEN, D. & TERVER, D. 1996a. Real-time biomonitoring of water contamination by cyanide based on analyses of the continuous electrical signal emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Wat. Res.*, 30, 3083-3091.

THOMAS, M., CHRÉTIEN, D., FLORION, A. & TERVER, D. 1996b. Real-time detection of potassium cyanide pollution in surface waters using electric organ discharges wave emitted by the tropical fish, *Apteronotus albifrons*. *Wat. Res.*, 17, 561-574.

THOMAS, M., FLORION, A. & CHRÉTIEN, D. 1997. The effect of pH and conductivity on the electric behaviour of *Apteronotus albifrons* (Family Apterontidae) in a pollution monitoring system. *Environmental Technology*, 18, 1069-1083.

THOMAS, M. 2000. Integrating physical, chemical and biological monitoring. R.A. Deininger et al., (eds.), *Security of Public Water Supplies*, 107-114.

VON DER EMDE, G. 1993. The sensing of electrical capacitances by weakly electric Mormyrid fish: effects of water conductivity. *J. Exp. Biol.*, 181, 157-173.

## ANEXOS

### Algoritmos desenvolvidos para análise das descargas dos órgãos elétricos de *A.*

*hasemani*

#### function LFCFORM

```
%*****AMAZONASBRASIL*****
% INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
% LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA COMPORTAMENTAL - LFC
% ANO 2005

% Converte *.atf em arquivo *.mat.
% Calcula PS. Concatena PS para gráficos.
% PS = power spectrum de densidade para forma de onda.
% p/ Normal (fs=100KHz - 2048 pontos) e ...
% [ ] Água de Formação = 1mL 2mL 4mL 0mL (fs=50KHz - 1024 pontos), ...
% 'Hanning' (=~20ms).
%*****AMAZONASBRASIL*****

clear all;clc;colordef white;

co=input('Entre com valor da concentração: ');
pn=input('Entre com n° do peixe: ');
ti=input('Entre com o tempo inicial: ');
tf=input('Entre com o tempo final: ');

fs=50000;
nf=1024;
tx=10000;
xx=1;

ext='.atf';

[arq, caminho]=uigetfile('*.atf', 'Arquivo *.atf');
cd(caminho);

PSG=[];
HzG=[];
cont=ti;

while cont <= tf
arq=[num2str(pn) '_' num2str(cont) '_' num2str(co) ext];
ca=['A11..A' num2str(tx)];
cb=['B11..B' num2str(tx)];

tempo=1000*(dlmread (arq,'\t',ca));
onda=dlmread (arq,'\t',cb);

[PS,f]=psd(onda,nf,fs);
[M,I]=max(PS(3:300));
Hz=(double(f(I)));

datafile=[arq(1:size(arq,2)-4) '.mat'];
save (datafile,'onda','tempo','PS','f','Hz');

PSG=[PSG PS];
HzG=[HzG;Hz];
```

```

        cont=cont+xx;

    end;

        afile=[arq(1:size(arq,2)-8) 'hzg.xls'];
        dlmwrite(afile,HZG,'\t');

        datafile=[arq(1:size(arq,2)-8) 'c.mat'];
        save (datafile,'PSG','HzG');

        *****

function LFCG3DFORM

%*****AMAZONASBRASIL*****
% INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
% LABORATÓRIO DE FISILOGIA COMPORTAMENTAL - LFC
% ANO 2005

% LFCG3DFORM.m faz parte de um grupo de algoritmos desenvolvidos ...
% para analisar as Descargas dos Órgãos Elétricos (D.O.E.s) ...
% de peixes elétricos da família Apteronotidae (Gymnotiformes).
%
% Cria gráficos 3D de PSD - Power Spectrum Density - Espectro de
Densidade
% p/ Normal (fs=100KHz - 2048 pontos) e ...
% [ ] Água de Formação = 1mL 2mL 4mL 0mL (fs=50KHz - 1024 pontos), ...
% 'Hanning' (~20ms).
%
%*****AMAZONASBRASIL*****

clear all;clc;colordef white;
[arq,caminho]=uigetfile('*.mat', 'Arquivo *.mat');
cd (caminho);

load (arq);

Fig=figure;
        set(Fig,'Position',[100 50 650 500]);
        set(Fig,'Name',[arq]);
surf(PSG(10:200,:), 'FaceColor','interp', ...
'EdgeColor','none','FaceLighting','phong');
axis tight;
view([115 25]);
camlight left;
grid on;
colormap(jet);
xlabel('Tempo (min.)','FontSize',12,'FontName','times');
set(gca,'XTick',[1 2 3 4 5 6 7 8 9 10]);
set(gca,'XTickLabel','0|30|40|50|Água
Form. |80|90|120|150|180');
ylabel('Frequência (Hz)','FontSize',12,'FontName','times');
set(gca,'YTickLabel','1000|1500|2000|2500|3000|3500|4000|4500|5000');
zlabel('Magnitude','FontSize',12,'FontName','times');

        *****

```