

PATRÍCIA KELLY ALVES PEREIRA

**ALOMETRIA DA PRODUÇÃO DE SONS EM HIPPOCAMPUS REIDI
(TELEOSTEI: SYNGNATHIDAE)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JOÃO PESSOA

2014

PATRÍCIA KELLY ALVES PEREIRA

**ONTOGENIA DA PRODUÇÃO DE SONS EM HIPPOCAMPUS REIDI
(TELEOSTEI: SYNGNATHIDAE)**

Trabalho - Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Orientador(a):

Prof.^a Dr.^a Ierecê Maria de Lucena Rosa

Co-orientador(a):

Prof.^a Dr.^a Tacyana Pereira Ribeiro de Oliveira

JOÃO PESSOA

2014

PATRÍCIA KELLY ALVES PEREIRA

**ONTOGENIA DA PRODUÇÃO DE SONS EM HIPPOCAMPUS REIDI
(TELEOSTEI: SYNGNATHIDAE)**

Trabalho - Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA:

Tacyana Ribeiro Pereira de Oliveira, Prof.^a Dr.^a, UEPB

Thelma Lúcia Pereira Dias, Prof.^a Dr.^a, UEPB

Carlos Barros de Araújo, Dr., UFPB

*À meus pais: Paulo e Edilza, por todo o amor,
incentivo e apoio incondicional.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família. Aos meus pais – Paulo e Edilza – obrigada por sempre fazerem dos meus estudos uma prioridade. Mãe, muito obrigada por todo o apoio que foi me dado desde quando falei que iria prestar o vestibular para Ciências Biológicas. A meus irmãos – Luis e Priscilla – vocês também fazem parte da minha formação, sempre me espelhei em vocês. Obrigada também por todos os momentos de descontração em família, amo vocês incondicionalmente. Essa vitória é de todos nós!

À minha orientadora – Prof. Dr^a. Ierecê – por ter acreditado em mim desde o comecinho dessa minha jornada na Biologia e por todos os “puxões de orelha”. À minha co-orientadora – Tacy – que também esteve presente em toda minha jornada da graduação, sempre disposta a ajudar. Agradeço ambas não apenas pela orientação e ajuda fundamental na elaboração desse trabalho, mas por todos os ensinamentos ao longo desses anos.

Aos membros da banca examinadora – Carlos e Thelma – por aceitarem o convite e pelas contribuições que serão dadas a este trabalho durante a arguição. Carlos, também agradeço imensamente todas as contribuições para a realização deste trabalho.

Aos grandes amigos que fiz nessa jornada, em especial Neto e Aline. Agradeço não apenas pela ajuda na elaboração deste trabalho, mas, principalmente, pela amizade que construímos que vai muito além dos portões da UFPB. Agradeço também aos “Ozamigo”, também presentes que a Biologia me deu: Diogenes, Anielly, Kassiano, Larissa, Luana, Geadelande, Aércia, Aiara, Lívia, Thamara e Renata. Pelos cafés na Pioneira, por todos os “momentos inferno” e pelos rocks. O que teria sido desses anos sem vocês?

A todos os LAPEQUEIROS – Josias, Aline 1, Gabi Tenório, Gabi Defavari, Rodrigo, Gitá, Shaka – vocês foram mais do que colegas de laboratório. Em especial à Camilla, Jessyca e Juliana, vocês sabem que nosso companheirismo vai além das portas do LAPEC. Obrigada a todos!

À aqueles que já cruzaram oceanos pra estar perto de mim: minha amiga-irmã de outras vidas - Raisa – e à Mark. Perto ou distante, vocês sempre se fazem presente. Obrigada por tudo, amo vocês.

RESUMO

O presente estudo avaliou o desenvolvimento do comportamento acústico do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* através da análise da produção de sons em dois contextos comportamentais: alimentação e estresse por manuseio. Os dados foram obtidos através de gravações *ex-situ*, utilizando 50 exemplares jovens e adultos de *H. reidi* distribuídos em cinco diferentes classes de tamanho (T1: 3-5cm; T2: 6-8 cm; T3: 9-11 cm; T4: 12-14 cm e T5: ≥ 15 cm). Os parâmetros sonoros analisados para os cliques foram duração (ms) e frequência dominante (Hz), enquanto que para os rufos analisaram-se, também, período do pulso (ms) e taxa de repetição (nos pulsos, seg^{-1}). Os cliques apresentaram energia distribuída em várias frequências (78,2 Hz a 1150,9 Hz) e os rufos constituíram sons de baixas frequências (79,2 Hz a 143,7 Hz). Os parâmetros analisados para os cliques variaram significativamente entre as classes de tamanho ($p < 0,01$; maiores frequências e menor duração em T1), sugerindo uma mudança nos parâmetros sonoros dos cliques dos indivíduos ao longo do seu desenvolvimento. Observou-se também uma correlação negativa entre a frequência dominante dos cliques alimentares e o tamanho dos indivíduos ($p < 0,05$), onde os menores indivíduos apresentaram as maiores frequências dominantes, padrão presente em outras espécies de peixes. A análise de correlação cruzada indicou uma possível individualização deste tipo de som, sugerindo uma relação entre os cliques e diferentes contextos comportamentais (e.g. comportamento de corte). Os rufos produzidos durante o estresse por manuseio foram registrados, principalmente, a partir da classe T2. Não foram registradas variações para nenhum dos parâmetros analisados entre as classes de tamanho ($p > 0,05$ em todos os casos), o que sugere que os rufos não são usados para comunicação acústica da espécie. Como todos os rufos foram acompanhados por vibrações no corpo dos indivíduos, este som pode constituir um mecanismo alternativo de escape contra predadores.

Palavras-chave: Cliques. Rufos. Cavalos-marinhos.

ABSTRACT

This study evaluated the development of the acoustic behavior in the seahorse *Hippocampus reidi* through the analysis of sound production in two behavioral contexts: feeding and handling. Data was obtained through *ex-situ* recordings, utilizing 50 juvenile and adult specimens distributed in five different size groups (T1: 3-5cm; T2: 6-8 cm; T3: 9-11 cm; T4: 12-14 cm and T5: ≥ 15 cm). Sound parameters analyzed for the clicks were duration (ms) and dominant frequency (Hz) whereas for the growls pulse period (ms) and repetition rate (for the pulses, seg^{-1}) were also analyzed. Main energies of clicks were distributed in various frequencies (78.2 Hz – 1150.9 Hz), whereas main energy of growls were distributed at low frequencies (79.2 Hz – 143.7 Hz). Sound parameters analyzed for the clicks varied significantly between the size groups ($p < 0.01$; higher frequencies and lower durations in T1), suggesting a change in clicks sound parameters over the individuals development. There was also a negative correlation between dominant frequency of the feeding clicks and individuals size ($p < 0.05$), where the smallest individuals presented the higher dominant frequencies, pattern observed in other fish species. The crossed correlation analysis indicates a potential individualization of these sounds, suggesting a relation between clicks and different behavioral contexts (e.g. courtship behavior). Growls produced during handling distress were recorded mainly starting at group size T2. Variations between sound parameters and group sizes were not registered ($p > 0.05$ in all cases), suggesting that growls are not used for acoustic communication of the species. As all growls were accompanied by vibrations of the seahorse's body, this sound may constitute an alternative escape mechanism against predators.

Key Words: Clicks. Growls. Seahorses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ossos do crânio de *Hippocampus zosterae*, com ênfase nos ossos envolvidos com a produção de cliques (SOC – supraoccipital; C – coroa). Fonte: Modificado de Colson *et al*, 1998.

Figura 2. Exemplar de *H. reidi* (macho) em ambiente natural, permitindo a visualização de características específicas ao gênero. Fonte: Acervo LAPEC/UFPB.

Figura 3. Aquário experimental utilizado nos experimentos de produção de som por *Hippocampus reidi* durante a alimentação e manuseio dos animais, com o hidrofone para a captação do som posicionado. Foto: P.K.A. Pereira.

Figura 4. Critério de diferenciação sexual para *Hippocampus reidi* no presente estudo. À esquerda, espécime de *H. reidi* de sexo indeterminado (IND), com ausência de bolsa incubadora e ovipositor. Ao centro, espécime macho (M) de *H. reidi*, com bolsa incubadora presente. À direita, espécime fêmea (F) de *H. reidi* com presença de ovipositor.

Figura 5. Exemplo de espectrograma (A), oscilograma (B) e espectro de energia de cepstrum (C) de um clique produzido por *H. reidi* no contexto da alimentação. Em (B) há a indicação do parâmetro de duração do pulso (ms), enquanto que no espectro de energia (C), a frequência dominante (Hz), obtida a partir do cepstrum, está indicada pela seta vermelha. Frequência de amostragem 44.1 Hz, bandwidth de 150 Hz, 75% overlap, Hanning window.

Figura 6. Exemplo de oscilograma (A), sonograma (B) e de espectro de energia de cepstrum (C) de trecho de sequência de rufos produzidos por exemplar fêmea de *Hippocampus reidi* pertencente à classe de tamanho T5 durante manuseio. Em (A) há a indicação do parâmetro de duração do pulso (ms) e de período do pulso (ms), enquanto que no espectro de energia (C), a frequência dominante (Hz), obtida a partir do cepstrum, está indicada pela seta vermelha. Frequência de amostragem 44.1 Hz, bandwidth de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (cepstrum), 75% overlap, Hanning window.

Figura 7. Exemplo de sonogramas (A) e oscilogramas (B) de cliques alimentares de indivíduos de *Hippocampus reidi* pertencentes à classe de tamanho T1 (Sexo Indeterminado) e T5 (Macho), respectivamente. Frequência de amostragem de 44,1 kHz, *filter bandwidth* de 100 Hz, 75% *overlap*, *Hanning window*.

Figura 8. Relação entre a altura (cm) dos indivíduos de *Hippocampus reidi* e os parâmetros sonoros dos cliques alimentares: duração (A) e frequência dominante (B). Todos os parâmetros representados em Log_{10} . Equação de regressão e r^2 dados nos próprios gráficos.

Figura 9. Relação entre o sexo (IND = indeterminado; M = macho; F = fêmea) dos indivíduos de *H. reidi* e os parâmetros sonoros dos cliques alimentares: duração (A) e frequência dominante (B).

Figura 10. Exemplo de oscilograma (A) e sonograma (B) de trecho de sequência de rufos de pulsos longos produzidos por exemplar fêmea de *Hippocampus reidi* pertencente à classe de tamanho T5 durante manuseio. Frequência de amostragem 44.1 Hz, *bandwidth* de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (*cepstrum*), 75% *overlap*, *Hanning window*.

Figura 11. Exemplo de oscilograma (A) e sonograma (B) de trecho de sequência de rufos de pulsos curtos produzidos por exemplar fêmea de *Hippocampus reidi* pertencente à classe de tamanho T4 durante manuseio. Frequência de amostragem 44.1 Hz, *bandwidth* de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (*cepstrum*), 75% *overlap*, *Hanning window*.

Figura 12. Relação entre a altura (cm) dos indivíduos de *Hippocampus reidi* e os parâmetros sonoros dos rufos: duração do pulso (A), período do pulso (B), frequência dominante (C) e taxa de repetição (D). Todos os parâmetros representados em Log_{10} . Equação de regressão e r^2 dados nos próprios gráficos.

Figura 13. Relação entre o sexo (IND = indeterminado; M = macho; F = fêmea) dos indivíduos de *H. reidi* e os parâmetros sonoros dos rufos: duração do pulso (A), período do pulso (B), frequência dominante (C) e taxa de repetição (D).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros dos sons produzidos por *Hippocampus reidi* durante os seguintes contextos comportamentais: alimentação (cliques) e estresse por manuseio (rufos). Dados apresentados como média±EP (mínimo – máximo). N = número de cavalos marinhos. GERAL = todos os indivíduos de uma mesma classe; M = machos; F = fêmeas; IND = indivíduos de sexo indeterminado.

Tabela 2. Variação dos espectrogramas da correlação cruzada inter e intraindividual nas diferentes classes de tamanho para os sons produzidos durante a alimentação. (n = número de indivíduos; N = número de correlações cruzadas entre os cliques).

Tabela 3. Variação dos espectrogramas da correlação cruzada inter e intraindividual nas diferentes classes de tamanho para os sons produzidos durante o manuseio. (n = número de indivíduos; N = número de correlações cruzadas entre os cliques).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 MONTAGEM E MANUTENÇÃO DO AQUÁRIO EXPERIMENTAL.....	18
3.2 REGISTRO E ANÁLISE DOS SONS.....	19
3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	22
4 RESULTADOS.....	26
4.1 CLIQUES.....	26
4.2 RUFOS.....	32
5 DISCUSSÃO.....	38
6 CONCLUSÃO.....	43
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
8 REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

O comportamento acústico das espécies animais constitui uma proporção substancial de seus repertórios comportamentais, afetando diversos aspectos da biologia destes indivíduos (LAILOLO, 2010). Vários vertebrados utilizam-se da emissão de sons em diferentes contextos sociais, principalmente em comportamentos agonísticos e de corte (HAUSER, 1997; OWINGS *et al.*, 1998).

A bioacústica é o foco de diversos estudos acerca da evolução das espécies, auxiliando na compreensão de fenômenos como a seleção sexual e seleção natural (KROODSMA & MILLER, 1996). Porém, apenas recentemente, este ramo da biologia vem sendo utilizado no âmbito na ecologia e conservação, podendo ser usada, por exemplo, para estimar a ocorrência e riqueza de espécies caracterizadas por sinalizações acústicas espécie-específicas (ver CARO, 1998; VAUGHAN *et al.*, 1997). Os peixes constituem um grupo em que a comunicação acústica desempenha um papel importante em vários contextos comportamentais, como por exemplo, em comportamentos de natureza agonística (LADICH, 1997; AMORIM & HAWKINGS, 2005) e de corte (LADICH, 2007; ANDERSON, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2014). Entretanto, a diversidade de sons produzidos pelos peixes não é tão notável quando comparada a outros grupos animais, tais como as aves (AMORIM, 2006). Embora apresentem um repertório acústico limitado, consistindo, em geral, de um ou dois tipos distintos de sons (BROWN & MARSHALL, 1978; DOS SANTOS *et al.*, 2000; OLIVEIRA, 2011), os peixes apresentam a maior diversidade de mecanismos de produção de sons entre os vertebrados (LADICH, 2004; LADICH & FINE, 2006; BASS & LADICH, 2008).

Reconhecem-se dois mecanismos básicos para a produção de sons em peixes: (1) a estridulação, que consiste no atrito entre elementos ósseos e (2) a produção de som pela vibração da bexiga natatória, através da contração de músculos especializados (DEMSKI *et al.*, 1973; FINE *et al.*, 1977; LADICH & BASS 2003; TAVOLGA, 1971). As características do som (e.g. duração dos pulso, período do pulso, frequência dominante) dependem do

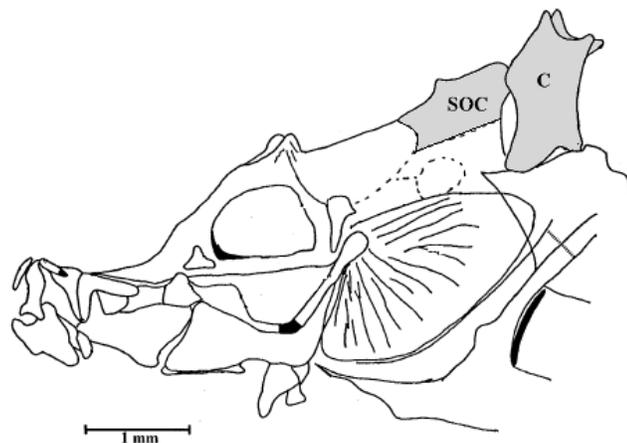
mecanismo de produção de som utilizado (AMORIM, 2006). Outros mecanismos descritos para a produção de sons em peixes são: “estalos” dos tendões das nadadeiras peitorais ou vibração da cintura peitoral (LADICH & BASS, 2003), expulsão de água pelo opérculo (STADLER, 2002); além da produção de sons durante a alimentação ou natação, denominados como sons não-intencionais (LADICH & BASS, 2003).

Sinalizações acústicas em diferentes contextos podem fornecer dados importantes acerca da ecologia comportamental de espécies. Variações na frequência dominante, por exemplo, podem ser indicativos da massa corporal em peixes e em outros animais (DAVIES & HALLIDAY, 1978; MYRBERG *et al.*, 2003; AMORIM & HAWKINGS, 2005). Nesse contexto, estudos acerca da ontogenia da produção de sons em peixes, desde o nascimento até a maturação, ainda são escassos, sendo documentado apenas para *Trichopsis vittata* (HENGLMULLER & LADICH, 1999; WYSOCKI & LADICH, 2001) e para o ciclídeo *Tramitichromis intermedius* (RIPLEY & LOBEL, 2004). Em ambos os casos, foram registradas distinções ontogenéticas dos parâmetros sonoros. Especificamente para os cavalos-marinhos, estudos a respeito de seu comportamento acústico se restringem a Dufossé (1874), Fish (1953), Colson *et al* (1998), Anderson (2009), Chakraborty (2014) e Oliveira (2014), sendo estudos voltados para a ontogenética da produção de sons pelos mesmos ainda inexistentes.

Os cavalos-marinhos (gênero *Hippocampus*) constituem um dos grupos de peixes com reconhecida capacidade de produzir sons. Os cliques são o tipo mais frequentemente registrado, principalmente durante a alimentação (e.g. ANDERSON, 2009; COLSON *et al*, 1998; OLIVEIRA *et al*, 2014). Neste caso a produção de som trata-se de um mecanismo estridulatório, através da fricção entre ossos do crânio: o supraoccipital e a coroa (COLSON *et al.*, 1998; FISH, 1953; Figura 1), resultando em um clique que se assemelha a um estalar de dedos, caracterizados por apresentarem energia distribuída em várias frequências (*broadband sounds*) (DEMSKI *et al.* 1973; LADICH 1997). Além de serem produzidos no contexto alimentar, os cliques também foram registrados durante o comportamento de corte (ANDERSON, 2009; OLIVEIRA *et al*, 2014) e em situações de estresse (ANDERSON, 2009).

Os cavalos-marinhos produzem um segundo tipo de som, denominado rufos, os quais foram descritos recentemente por Oliveira et al. (2014). Estes sons, antes mencionados como vibrações de baixa frequência em *H. hippocampus* (DUFOSSE, 1874) e *H. erectus* (ANDERSON, 2009), apresentam características que levaram à inferência de que são produzidos por um mecanismo distinto da estridulação, porém ainda desconhecido (Oliveira et al., 2014).

Figura 1. Ossos do crânio de *Hippocampus zosterae*, com ênfase nos ossos envolvidos com a produção de cliques (SOC – supraoccipital; C – coroa). Fonte: Modificado de Colson et al., 1998.



Além da produção de sons, os cavalos-marinhos apresentam comportamentos únicos, como corte altamente ritualizada e cuidado parental exercido exclusivamente pelos machos (LOURIE et al., 1999, 2004; FOSTER & VINCENT, 2004), como também características morfológicas peculiares, tais como: um corpo formado por uma série de anéis ósseos e a boca localizada na extremidade de um focinho tubular (THOMSOM et al., 2000; MICHAEL, 2001; NELSON, 2006; KUITER, 2000). Todas as espécies de cavalos-marinhos estão compreendidas em um único gênero, *Hippocampus*, que se caracterizam

pela posição da cabeça formando um ângulo reto em relação ao eixo do corpo, uma cauda preênsil, utilizada geralmente para se prender a substratos de apoio como algas, corais e plantas de mangue (ROBINS & RAY, 1986; SMITH, 1997; LOURIE et al., 2004; KUITER, 2009), e pela presença de uma bolsa incubadora nos machos (LOURIE et al., 1999, 2004; FOSTER & VINCENT, 2004) (Figura 2). O grupo tem distribuição mundial e, juntamente com gêneros de dragões-marinhos, cavalos-cachimbo e peixes-cachimbo, constituem a família Syngnathidae (KUITER, 2000; LOURIE et al., 1999; 2004).

Figura 2. Exemplar de *H. reidi* (macho) em ambiente natural, permitindo a visualização de características específicas ao gênero. Fonte: Acervo LAPEC/UFPB.



Os cavalos-marinhos também se destacam no contexto conservacionista, uma vez que se encontram ameaçados em âmbito mundial devido à degradação de seus habitats naturais, ao comércio internacional e a capturas diretas e incidentais (LOURIE et al., 2004; MAI & ROSA, 2009; ROSA et al., 2005), logo, 37 das 54 espécies de *Hippocampus* foram incluídas na lista vermelha da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN, 2014), sendo classificadas como vulneráveis à extinção e sua grande maioria na categoria

Deficiente de Dados. O comércio internacional destes animais, que envolve pelo menos 77 países, retira milhões de indivíduos da natureza (Project Seahorse, 2014), adicionando aos problemas já encontrados no grupo, devido a aspectos de seu comportamento e história de vida (LOURIE *et al.*, 1999). No contexto nacional, ambas as espécies que ocorrem no Brasil (*Hippocampus erectus* Perry, 1810 e *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933) estão ameaçadas em seu ambiente natural, levando a sua inclusão na Lista Nacional de Espécies de Invertebrados Aquáticos e Peixes Sobre-Exploradas ou Ameaçadas de Sobre-Exploração.

Tendo em vista o status de espécies ameaçadas no gênero *Hippocampus*, estudos com foco na bioacústica tornam-se particularmente relevantes (LAILOLO, 2010), podendo agregar ao conhecimento acerca dos cavalos-marinhos e às ações voltadas para a sua conservação, contribuindo para a elaboração e implantação de um plano de gestão exequível.

A capacidade de produção de sons em cavalos-marinhos ainda é pouco estudada, carecendo de dados voltados especificamente para o seu comportamento acústico (ver ANDERSON 2009; ANDERSON *et al.* 2011; COLSON *et al.* 1998; FISH 1953). Os sons produzidos pela espécie foco deste estudo, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1993 foram apenas recentemente descritos por Oliveira *et al.*, 2014 nos contextos comportamentais de corte, estresse e durante a alimentação, documentando a produção de dois tipos distintos de sons pela espécie (i.e. rufos e cliques). Logo, juntamente com Oliveira *et al.* (2014), este trabalho representa um estudo pioneiro acerca da bioacústica de *H. reidi*.

Tendo em vista as contribuições que a bioacústica pode acrescentar ao conhecimento acerca dos cavalos-marinhos e ações voltadas para sua conservação, especialmente em relação à sua ecologia comportamental e interações sociais, este trabalho foi norteado pelas seguintes perguntas: (1) os parâmetros sonoros dos sons produzidos por *H. reidi* variam ontogeneticamente? (2) há variações inter e/ou intraindividuais para os tipos de som produzidos pela espécie?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo objetivou fornecer dados acerca do desenvolvimento ontogenético da produção de som pelo cavalo-marinho *Hippocampus reidi*, em dois contextos comportamentais (alimentação e estresse por manuseio).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o comportamento da espécie durante a alimentação e estresse por manuseio;
- Caracterizar os sons produzidos por jovens e adultos da espécie;
- Determinar o início da produção de sons em jovens da espécie;
- Verificar e analisar mudanças nas características temporais e espectrais dos sons produzidos pelos indivíduos nas diferentes classes de tamanho, em ambos os contextos comportamentais.

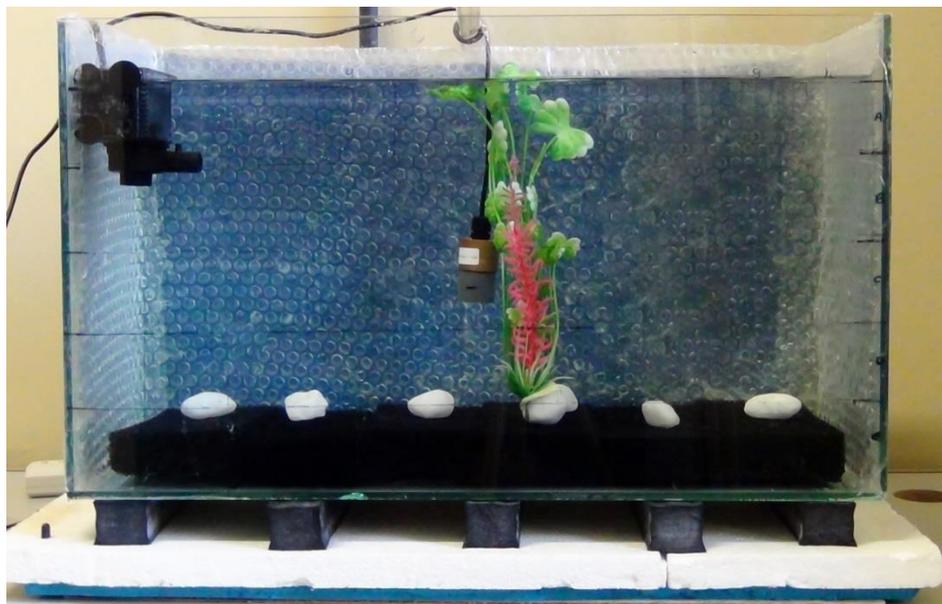
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MONTAGEM E MANUTENÇÃO DO AQUÁRIO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Peixes - Ecologia e Conservação (UFPB), onde é mantida uma população estoque de *H. reidi*. Esta população estoque é distribuída e mantida em sistemas de recirculação de água, os quais contém substrato de apoio para os animais e filtração química, biológica e ultravioleta para manter os parâmetros físico-químicos da água. Os animais são alimentados duas vezes ao dia e em seguida são realizadas trocas de água em todos os tanques. É estabelecido um fotoperíodo de 10L : 14E, usando luz branca fria acima dos tanques, com intensidade luminosa de cerca de 500lx na superfície da água.

As gravações foram realizadas em um aquário experimental de 52,5L (60x25x35cm[altura]), cujo fundo foi coberto com espuma de poliuretano (22,5x8,5x4cm[altura]) e as paredes internas (à exceção do vidro frontal), foram revestidas com plástico-bolha, de modo a reduzir ressonâncias e reflexões dos sons. O aquário foi disposto sobre uma plataforma de espuma e borracha de 10 cm, para isolamento acústico e de vibrações, e uma planta artificial foi colocada para servir de substrato de apoio para os espécimes (Figura 3). Os parâmetros químicos da água - NH₃, NO₂, pH - foram monitorados antes de cada sessão de gravação e não excederam os limites adequados para cavalos-marinhos, variando entre: 0 – 0,3 ; 0 – 0,25 ; 8 – 8,4, respectivamente. As variáveis de temperatura e salinidade também foram controladas sendo mantidas entre 24 – 25°C e 26 – 28, respectivamente.

Figura 3. Aquário experimental utilizado nos experimentos de produção de som por *Hippocampus reidi* durante a alimentação e manuseio dos animais, com o hidrofone para a captação do som posicionado. Foto: P.K.A. Pereira.



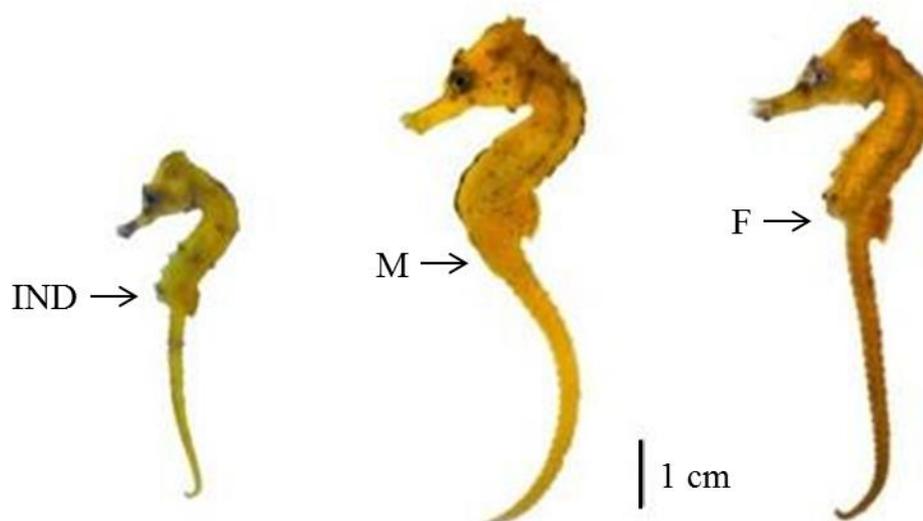
3.2 REGISTRO E ANÁLISE DOS SONS

Foram utilizados 50 exemplares jovens e adultos de *H. reidi* distribuídos em cinco diferentes classes de tamanho (i.e. altura; medições seguindo LOURIE *et al.*, 2004) para a realização das gravações – T1: 3-5cm; T2: 6-8 cm; T3: 9-11 cm; T4: 12-14 cm e T5: ≥ 15 cm. Exemplares menores não foram utilizados por se alimentarem apenas de náuplios de *Artemia sp.*, visto que no presente estudo os cavalos-marinhos foram alimentados com pós-larva de camarão (*Litopenaeus*) para a análise dos parâmetros sonoros no contexto da alimentação. De forma que cada indivíduo fosse gravado apenas uma vez, todos os exemplares foram fotografados e identificados individualmente através de marcas naturais (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Para cada classe de tamanho, foram realizadas gravações com 10 espécimes (cinco fêmeas e cinco machos), exceto nas classes T1 e T2, uma vez que a maioria dos indivíduos

ainda não havia atingido a maturidade sexual (Figura 4) sendo, portanto, categorizados como de “sexo indeterminado”. Todos os experimentos foram filmados em sincronia com as gravações de som, as quais foram realizadas através de um hidrofone modelo SQ26-08 (frequência de captação de 0,030 a 30 KHz; sensibilidade: -193 dBV re 1V/ μ Pa; *Cetacean Research Technology*) conectado a um gravador digital portátil (M-Audio Microtrack II). Antes do início de cada sessão de gravação, permitiu-se o período de uma hora para a aclimação dos cavalos-marinhos após a transferência para o aquário experimental.

Figura 4. Critério de diferenciação sexual para *Hippocampus reidi* no presente estudo. À esquerda, espécime de *H. reidi* de sexo indeterminado (IND), com ausência de bolsa incubadora e ovipositor. Ao centro, espécime macho (M) de *H. reidi*, com bolsa incubadora presente. À direita, espécime fêmea (F) de *H. reidi* com presença de ovopositor. Fotos: Souto Neto – LAPEC/UFPB.



A produção de som foi analisada em dois contextos comportamentais: alimentação e estresse por manuseio. Para se determinar a produção de sons por *H. reidi* no primeiro

contexto, foram oferecidas pós-larvas de camarão (*Litopenaeus*) *ad libitum* aos cavalos-marinhos e os sons produzidos durante a captura do alimento foram gravados e a posição do animal registrada. As gravações duraram até que o animal cessasse completamente a alimentação (13 – 30min). Após cada sessão de gravação, o alimento não consumido foi retirado. Apenas os sons associados à captura efetiva do alimento, ou seja, quando da ingestão completa do item alimentar, foram considerados, seguindo Anderson (2009).

Em seguida, após o animal cessar a alimentação, foi avaliada a produção de sons por *H. reidi* durante situação de estresse por manuseio, que consistiu em manter os animais imóveis seguros pela pesquisadora, a dois cm do hidrofone (segundo OLIVEIRA *et al* 2014). Após cada sessão de gravação, os cavalos-marinhos foram devolvidos ao sistema de manutenção no LAPEC. Para cada indivíduo amostrado, foram analisados de 4 a 10 cliques produzidos no contexto da alimentação; e 20 pulsos durante o manuseio. Todos os sons produzidos por *H. reidi* foram analisados através de oscilogramas (quanto à duração), utilizando-se o programa *Cool Edit 2000* (*Syntrillium Software Corporation*), e através de espectrogramas e de *cepstrum-smoothed sound spectra* (NOLL, 1967), a partir dos quais foi determinada a frequência dominante, utilizando-se o programa *S_TOOLS-STx 4.0* (*Acoustics Research Institute, Austrian Academy of Sciences*) (Figura 5). Seguindo Ladich (1998), o maior pico da curva do *cepstrum-smoothed spectrum* é considerado a melhor representação da distribuição da energia do som. No caso dos sons produzidos durante o manuseio, foram analisados, adicionalmente, o período dos pulsos (média do intervalo entre amplitudes máximas de pulsos consecutivos) (Figura 6) e a taxa de repetição dos pulsos (seg^{-1} ; calculada para um trecho de 21 pulsos selecionados para cada indivíduo). Apenas os sons que apresentaram pulsos de estrutura clara foram analisados.

De modo a atenuar o efeito de ressonâncias do aquário sobre os cliques gravados, foi utilizado um filtro passa-baixa (3000 Hz), de acordo com recomendações descritas em Akamatsu *et al.* (2002) e, em seguida, os sons foram normalizados seguindo Oliveira *et al* 2014.

No total, foram analisados 313 cliques (produzidos por 44 cavalos-marinhos), dos quais 98 foram produzidos por machos ($N = 14$), 111 por fêmeas ($N = 15$) e 104 por indivíduos de sexo indeterminado ($N = 15$). Destes 44 indivíduos utilizados, 8 pertenciam a classe T1, 9 à classe T2, 9 à classe T3, 10 à classe T4 e, por fim, 8 à classe T5. Dos 50 indivíduos utilizados, 6 não se alimentaram, logo não produziram sons e foram excluídos das análises. Para a análise de correlação cruzada, utilizou-se um N de 4 cliques por indivíduo para padronizar as análises, visto que esse foi o mínimo de cliques emitidos por um espécime no contexto da alimentação.

No contexto dos sons produzidos durante o estresse por manuseio, foram analisados 580 rufos (produzidos por 29 cavalos marinhos) dos quais 200 foram produzidos por machos ($N = 10$), 240 por fêmeas ($N = 12$) e 140 por indivíduos de sexo indeterminado ($N = 7$). Destes 29 indivíduos utilizados, 1 pertencia a classe T1, 6 à classe T2, 7 à classe T3, 6 à classe T4 e, por fim, 9 à classe T5. Consideraram-se apenas rufos com uma sequência mínima de 21 pulsos, descartando-se os demais. Para a análise de correlação cruzada, utilizou-se um N de 10 pulsos por indivíduo para padronizar as análises.

3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os resultados estão apresentados como médias \pm EP (erro padrão). As médias das características dos sons foram calculadas para cada indivíduo e foram analisadas por meio da Análise de Variância (ANOVA). As médias das frequências dominantes, duração, períodos e taxas de repetição dos pulsos (quando aplicáveis) foram comparadas ao sexo dos cavalos-marinhos, através do teste de *Kruskal Wallis*. Para verificar a existência de correlação entre os parâmetros dos sons analisados e a altura dos indivíduos, foram realizadas correlações de *Spearman* utilizando as médias dos parâmetros em Log_{10} para identificação de relações alométricas entre os mesmos.

Para analisar a similaridade dos sons em cada classe de tamanho foi feita uma análise de correlação cruzada utilizando o software SoundRuler® (GRIDI-PAPP, 2007). A

partir da matriz de similaridade gerada por este, foi feita uma análise de cluster, utilizando o software PRIMER 6, de forma a verificar se os sons produzidos apresentavam características específicas aos indivíduos. Em seguida, seguindo Marques *et al.*, 2011, utilizou-se uma ANOVA para investigar a variação interindividual dos sons com relação ao tamanho.

Os testes foram realizados através do programa *Statistica* 12.0 para Windows e BioStat 5.0, adotando-se o nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 5. Exemplo de espectrograma (A), oscilograma (B) e espectro de energia de cepstrum (C) de um clique produzido por *H. reidi* no contexto da alimentação. Em (A) há a indicação do parâmetro de duração do pulso (ms), enquanto que no espectro de energia (C), a frequência dominante (Hz), obtida a partir do cepstrum, está indicada pela seta vermelha. Frequência de amostragem 44.1 Hz, bandwidth de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (cepstrum), 75% overlap, Hanning window.

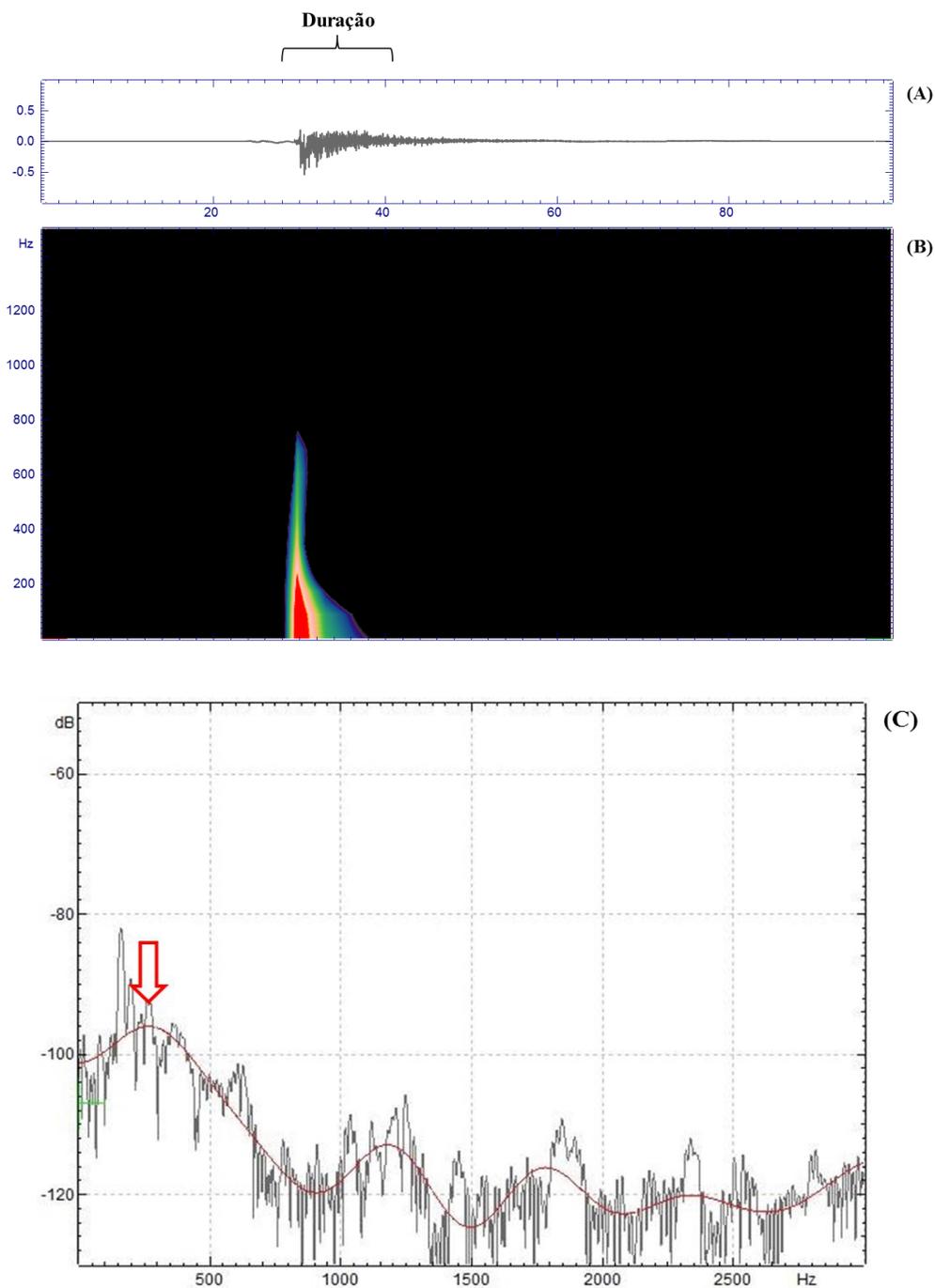
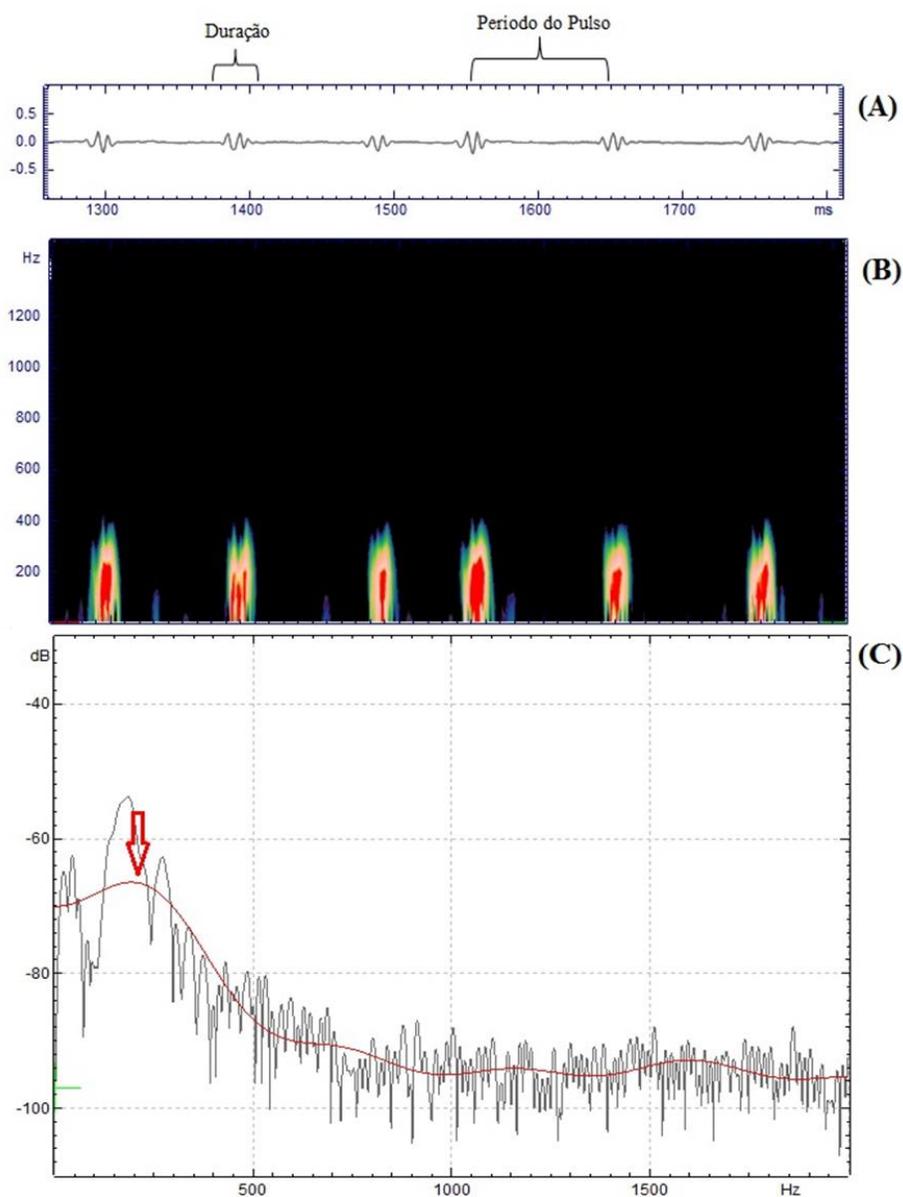


Figura 6. Exemplo de oscilograma (A), sonograma (B) e de espectro de energia de *cepstrum* (C) de trecho de sequência de rufos produzidos por exemplar fêmea de *Hippocampus reidi* pertencente à classe de tamanho T5 durante manuseio. Em (A) há a indicação do parâmetro de duração do pulso (ms) e de período do pulso (ms), enquanto que no espectro de energia (C), a frequência dominante (Hz), obtida a partir do *cepstrum*, está indicada pela seta vermelha. Frequência de amostragem 44.1 Hz, bandwidth de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (*cepstrum*), 75% *overlap*, *Hanning window*.



4 RESULTADOS

4.1 CLIQUES

Os cliques foram registrados em 100% das capturas das presas pelos cavalos-marinhos. Estes sons apresentaram duração média de $12,5 \pm 1,9$ ms (8,8 - 15,8 ms) e energia distribuída em diversas frequências (*broadband sound*), de 78,2 a 1150,9 Hz ($390,5 \pm 58,9$ Hz). A figura 7 exemplifica cliques alimentares de *H. reidi*. Os resultados da análise dos parâmetros sonoros para cada sexo e classe de tamanho em cada contexto comportamental encontram-se sistematizados na Tabela 1.

Comparando-se a altura dos exemplares analisados e os cliques produzidos, foi verificado que a classe T1 apresentou maior frequência dominante ($F(4, 39) = 4,61$, $p = 0,004$) e menor duração ($F(4, 39) = 2,79$, $p = 0,04$). Foi verificada correlação para ambos os parâmetros analisados: correlação positiva entre a altura dos exemplares de cavalos-marinhos e a duração dos cliques (correlação de *Spearman*: $r = 0,32$, $p = 0,03$; Figura 6A); e correlação negativa entre a altura dos indivíduos e a frequência dominante (correlação de *Spearman*: $r = -0,42$, $p = 0,004$; Figura 6B). Por outro lado, levando em consideração o sexo dos cavalos-marinhos (Figura 7), a frequência dominante dos indivíduos de sexo indeterminado foi maior (teste de *Kruskal-Wallis* – $KW-H(2, 44) = 9,49$, $p = 0,008$), enquanto que a duração dos cliques não diferiu (teste de *Kruskal-Wallis* – $KW-H(2, 44) = 4,94$, $p = 0,08$).

Tabela 1. Parâmetros dos sons produzidos por *Hippocampus reidi* durante os seguintes contextos comportamentais: alimentação (cliques) e estresse por manuseio (rufos). Dados apresentados como média \pm EP (mínimo – máximo). N = número de cavalos marinhos. GERAL = todos os indivíduos de uma mesma classe; M = machos; F = fêmeas; IND = indivíduos de sexo indeterminado.

CLIQUES					RUFOS				
Classe de Tamanho	Sexo	N	Duração do Pulso (ms)	Frequência Dominante (Hz)	N	Duração do Pulso (ms)	Período do Pulso (ms)	Taxa de Repetição (seg ⁻¹)	Frequência Dominante (Hz)
T1 (3 – 5 cm)	IND	N = 8	10,8±1,4 (8,8 – 13,5)	626,5±221,5 (214,7 – 1149,2)	N = 1	28,4	89,2	11,2	124,1
T2 (6 – 8 cm)	GERAL	N = 9	13,1±2,0 (10,7 – 15,8)	525,1±175,0 (125,8 – 865,1)	-	-	-	-	-
	M	N = 1	14,8	816,7	-	-	-	-	-
	F	N = 1	13,4	345,4	-	-	-	-	-
	IND	N = 7	12,8±2,2 (10,4 – 15,4)	509,1±192,4 (125,8 – 865,1)	N = 6	30,0±2,8 (25,8 – 33,9)	105,6±43,4 (64,1 – 178,8)	10,9±3,9 (5,7 – 16,0)	116,3±47,5 (107,0 – 123,9)
T3 (9 – 11 cm)	GERAL	N = 9	13±2,1 (9,4 – 15,5)	191,9±64,0 (78,1 – 359,5)	N = 7	31,3±3,3 (23,1 – 35,6)	122,2±46,2 (72,8 – 175,2)	9,7±3,0 (8,1 – 14,0)	117,9±44,5 (107,0 – 129,7)
	M	N = 4	12,3±2,3 (9,4 – 14,2)	224,0±112,0 (97,2 – 359,5)	N = 2	30,1±3,1 (27,7 – 32,3)	100,2±38,7 (72,8 – 127,6)	11,1±4,2 (8,1 – 14,0)	118,1±5,0 (114,5 – 121,7)
	F	N = 5	13,5±2,0 (10,6 – 15,5)	166,3±74,4 (78,2 – 342,6)	N = 5	31,8±3,5 (23,1 – 35,6)	122,2±36,6 (78,2 – 175,2)	9,1±2,8 (5,5 – 19,9)	117,8±9,8 (107,0 – 129,7)
T4 (12 – 14 cm)	GERAL	N = 10	12,1±1,3 (10,0 – 13,8)	227,6±72,0 (109,7 – 409,3)	N = 6	27,4±11,2 (16,1 – 31,0)	70,8±23,6 (25,0 – 88,3)	17,1±7,0 (10,9 – 40,8)	120,3±11,8 (112,8 – 143,7)
	M	N = 5	13,0±1,0 (11,3 – 13,8)	195,1±87,3 (128,7 – 409,3)	N = 4	30,0±1,8 (27,3 – 31,0)	77,9±7,5 (68,6 – 86,4)	12,8±1,5 (10,9 – 14,4)	122,5±14,3 (112,8 – 143,7)
	F	N = 5	11,2±1,0 (10,0 – 12,6)	260,1±160,3 (109,7 – 294,9)	N = 2	22,4±8,9 (16,1 – 28,7)	56,6±40,0 (25 – 88,3)	25,9±18,2 (10,9 – 40,8)	116,2±5,2 (112,5 – 119,8)
T5 (≥ 15 cm)	GERAL	N = 8	12,9±1,6 (10,5 – 14,8)	444,2±157,0 (98,1 – 1150,9)	N = 9	33,2±4,4 (28,2 – 43,7)	92,3±26,8 (52,1 – 132,5)	12,1±4,0 (7,7 – 20,4)	112,8±16,4 (79,2 – 141,0)
	M	N = 4	14,1±0,6 (10,5 – 14,8)	263,6±131,8 (98,1 – 607,6)	N = 4	31,8±2,8 (28,2 – 34,7)	75,6±26,3 (52,1 – 110,2)	14,9±5,1 (8,8 – 20,4)	110,7±5,1 (105,9 – 116,6)
	F	N = 4	12,2±1,8 (13,3 – 15,5)	624,8±312,4 (162,1 – 1150,9)	N = 5	34,4±5,4 (30,3 – 43,7)	105,8±20,2 (85,5 – 135,5)	9,8±1,9 (7,7 – 12,0)	114,5±22,6 (79,2 – 141,0)

Figura 7. Exemplo de sonogramas (A) e oscilogramas (B) de cliques alimentares de indivíduos de *Hippocampus reidi* pertencentes à classe de tamanho T1 (Sexo Indeterminado) e T5 (Macho), respectivamente. Frequência de amostragem de 44,1 kHz, *filter bandwidth* de 100 Hz, 75% *overlap*, *Hanning window*.

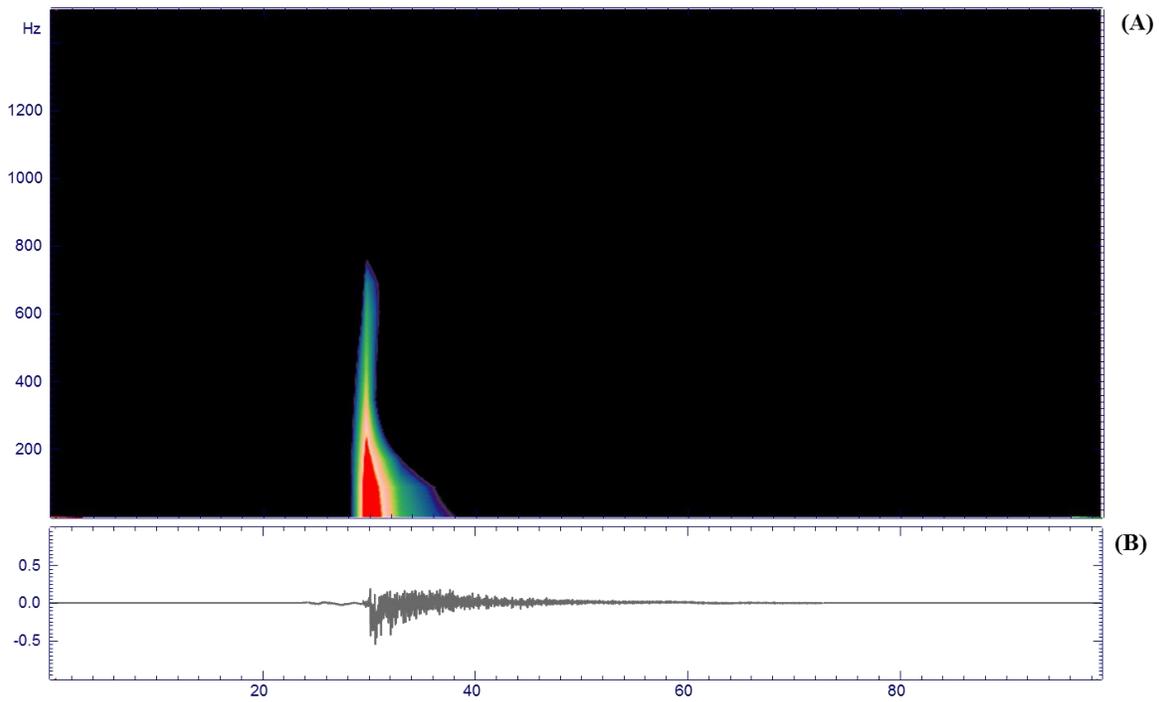
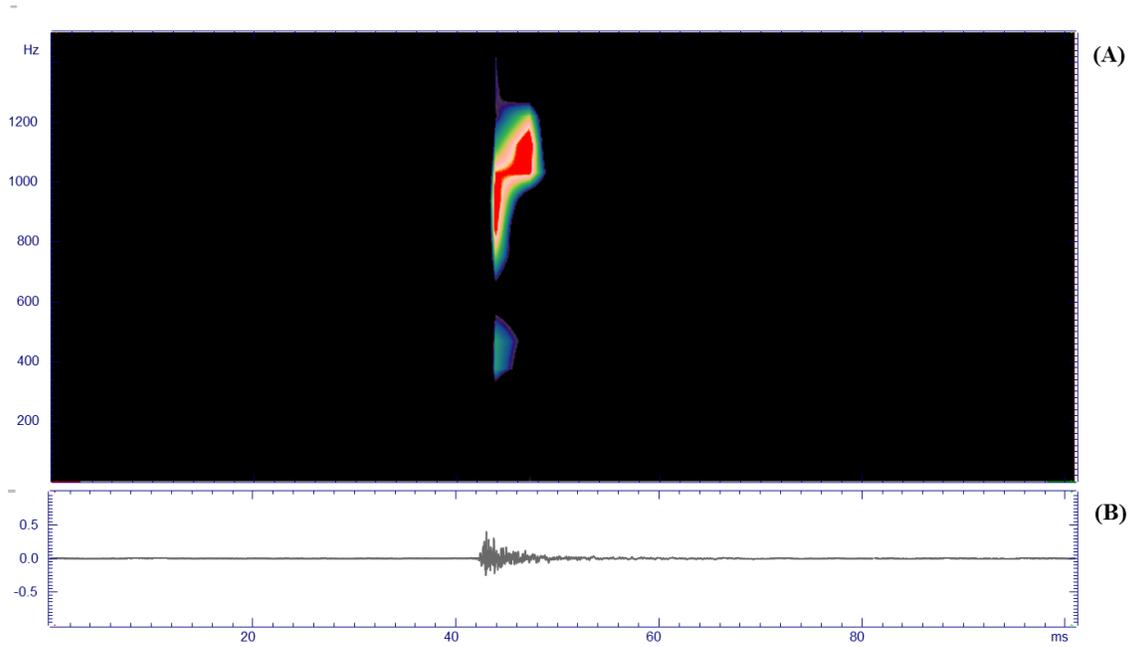


Figura 8. Relação entre a altura (cm) dos indivíduos de *Hippocampus reidi* e os parâmetros sonoros dos cliques alimentares: duração (A) e frequência dominante (B). Todos os parâmetros representados em Log_{10} . Equação de regressão e r^2 dados nos próprios gráficos.

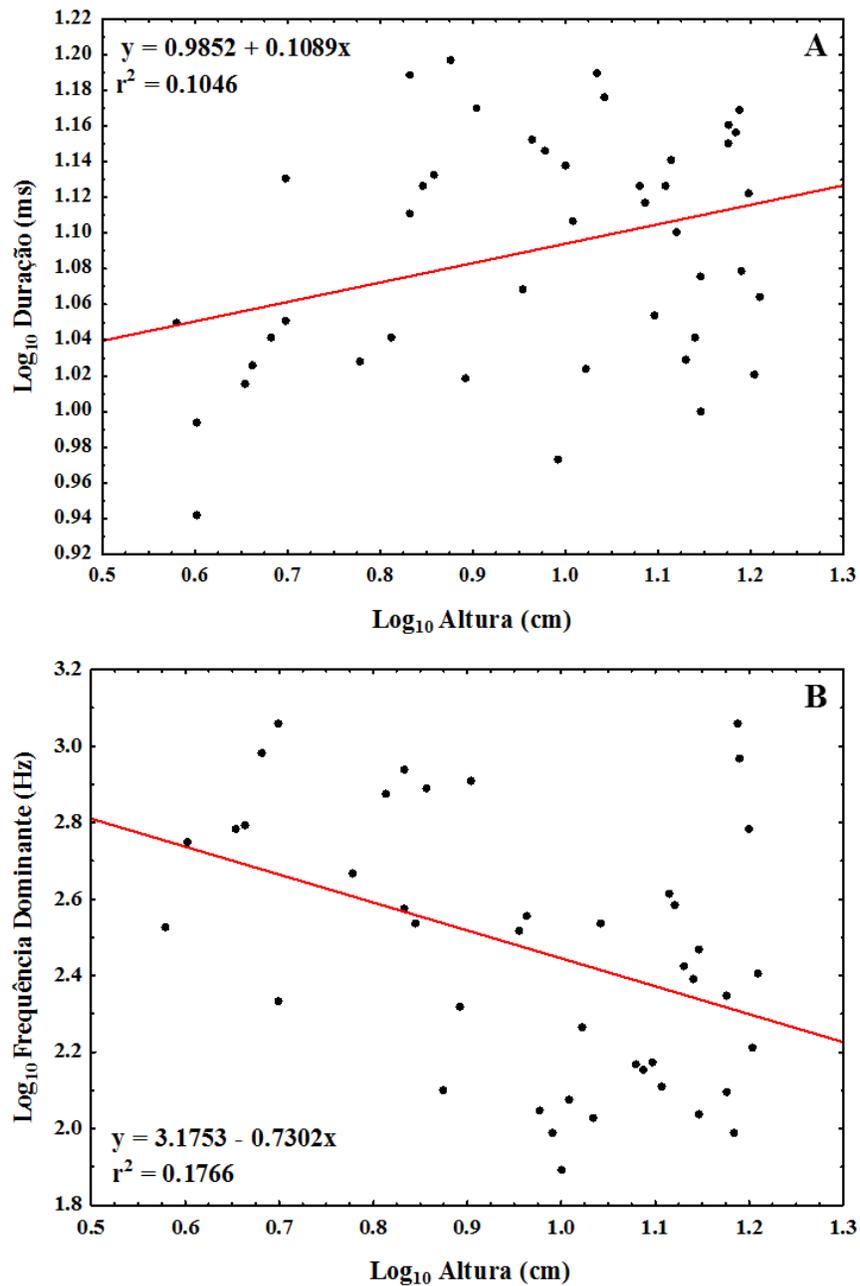
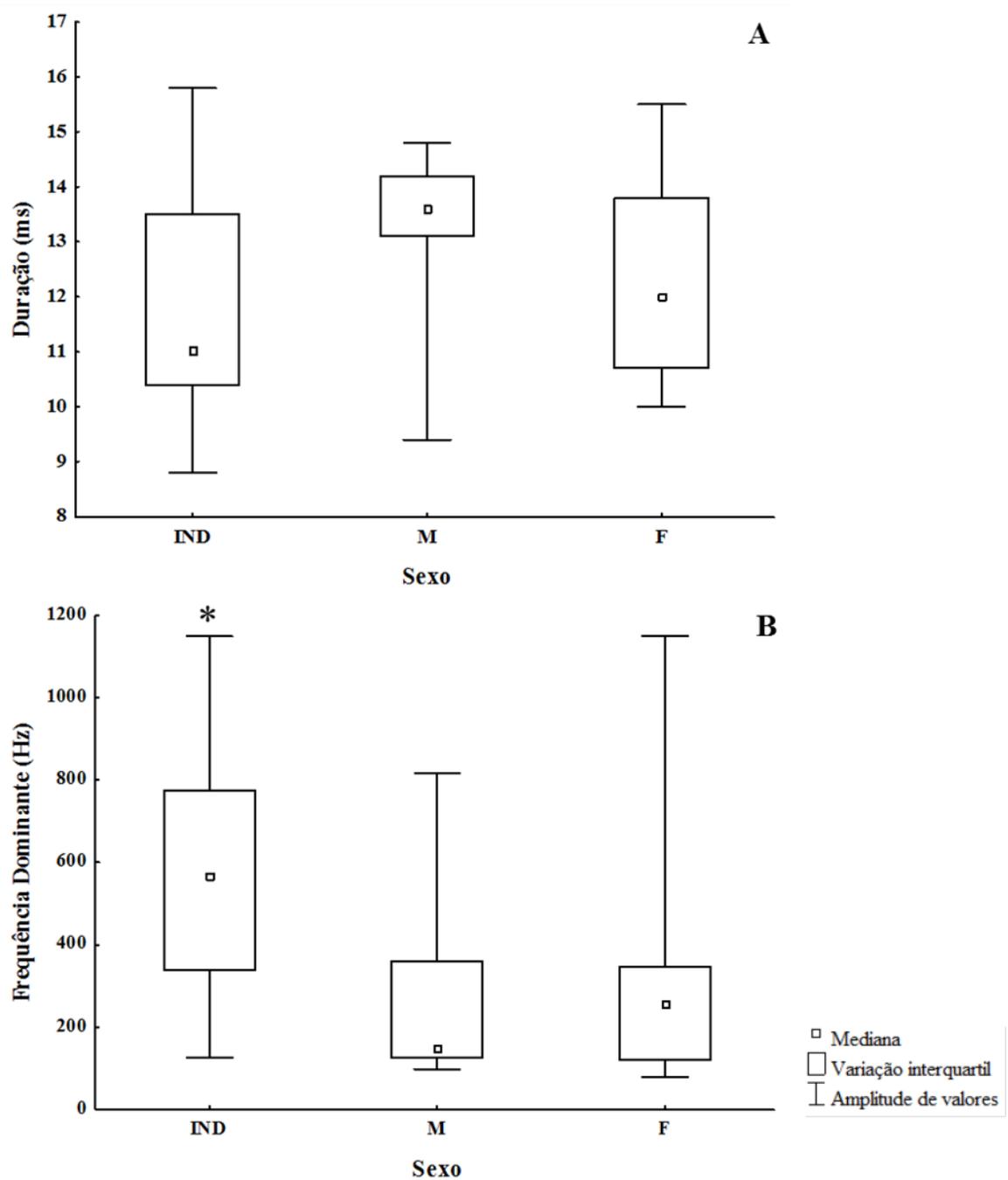


Figura 9. Relação entre o sexo (IND = indeterminado; M = macho; F = fêmea) dos indivíduos de *H. reidi* e os parâmetros sonoros dos cliques alimentares: duração (A) e frequência dominante (B).



Para a análise de correlação cruzada, utilizou-se um N de 4 cliques por indivíduo para padronizar as análises, visto que esse foi o mínimo de cliques emitidos por um espécime no contexto da alimentação. A classe T2 apresentou o maior índice de similaridade tanto intra quanto interindividualmente ($0,79\pm 0,02$ e $0,70\pm 0,01$, respectivamente), enquanto que T5 apresentou o menor índice dentre as classes também em ambas as correlações ($0,63\pm 0,04$ e $0,60\pm 0,02$, respectivamente) (Tabela 2). Em ambos os casos, a Análise de Variância mostrou-se significativa (correlação intraindividual: $F(4, 39) = 5,22$, $p = 0,002$; correlação interindividual: $F(4, 39) = 3,85$, $p = 0,01$), sugerindo uma possível individualização deste tipo de som.

Tabela 2. Variação dos espectrogramas da correlação cruzada inter e intraindividual nas diferentes classes de tamanho para os sons produzidos durante a alimentação. (n = número de indivíduos; N = número de correlações cruzadas entre os cliques).

Classe	Correlação Intraindividual Média±EP (n;N)	Correlação Interindividual Média±EP (n;N)
T1	$0,76\pm 0,01$ (8; 128)	$0,62\pm 0,03$ (8; 1024)
T2	$0,79\pm 0,02$ (9; 144)	$0,70\pm 0,01$ (9; 1296)
T3	$0,77\pm 0,02$ (9; 144)	$0,68\pm 0,02$ (9; 1296)
T4	$0,73\pm 0,02$ (10; 160)	$0,65\pm 0,02$ (10; 1600)
T5	$0,63\pm 0,04$ (8; 128)	$0,60\pm 0,02$ (8; 1024)

4.2 RUFOS

Os rufos produzidos durante o estresse por manuseio consistiram de sequências com até 2min50seg de pulsos curtos e ritmados, com duração média de $30,8 \pm 5,6$ ms; o período dos pulsos (médio) foi de $96,2 \pm 17,9$ ms; a taxa de repetição média foi de $12,3 \pm 2,3$ pulsos seg^{-1} . Diferentemente dos cliques, os rufos apresentaram baixas frequências dominantes, com média de $116,7 \pm 21,7$ Hz (ver Tabela 1). É importante observar que apenas um indivíduo da classe T1 produziu rufos, entretanto todos eles produziram cliques quando manuseados. Embora inaudíveis ao ouvido humano, é possível perceber facilmente quando os rufos são produzidos durante o manuseio, visto que o corpo dos cavalos-marinhos vibra em sincronia com a emissão deste tipo de som.

Uma das fêmeas, pertencente à classe de tamanho T4, apresentou sequência de rufos caracterizada como “pulsos curtos” (duração do pulso = 16,1 ms; período do pulso = 30,0 ms; taxa de repetição = $40,8 \text{ seg}^{-1}$; frequência dominante = 112,5 Hz), exemplificados na Figura 8. Já a Figura 9 exemplifica uma sequência de rufos caracterizados como “pulsos longos”.

A Análise de Variância não se mostrou significativa dentro das classes de tamanho em nenhum dos casos (duração do pulso: $F(4, 24) = 1,87$, $p = 0,15$; período do pulso: $F(4, 24) = 1,69$, $p = 0,19$; taxa de repetição: $F(4, 24) = 1,24$, $p = 0,32$; frequência dominante: $F(4, 24) = 0,49$, $p = 0,74$). Diferentemente dos cliques analisados, os parâmetros acústicos dos rufos não se mostraram correlacionados com a altura do corpo dos indivíduos (Figura 10; correlação de *Spearman*; duração do pulso: $r = 0,21$, $p = 0,26$; período do pulso: $r = -0,13$, $p = 0,5$; taxa de repetição: $r = 0,12$, $p = 0,52$; frequência dominante: $r = -0,09$, $p = 0,62$) nem com o sexo (Figura 11; teste de *Kruskal-Wallis*; duração do pulso: $H(2,29) = 1,94$, $p = 0,38$; período do pulso: $H(2,29) = 4,74$, $p = 0,09$; taxa de repetição: $H(2,29) = 3,94$, $p = 0,14$; frequência dominante: $H(2,29) = 0,3$, $p = 0,86$)

Figura 10. Exemplo de oscilograma (A) e sonograma (B) de trecho de sequência de rufos de pulsos longos produzidos por exemplar fêmea de *Hippocampus reidi* pertencente à classe de tamanho T5 durante manuseio. Frequência de amostragem 44.1 Hz, bandwidth de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (*cepstrum*), 75% *overlap*, Hanning window.

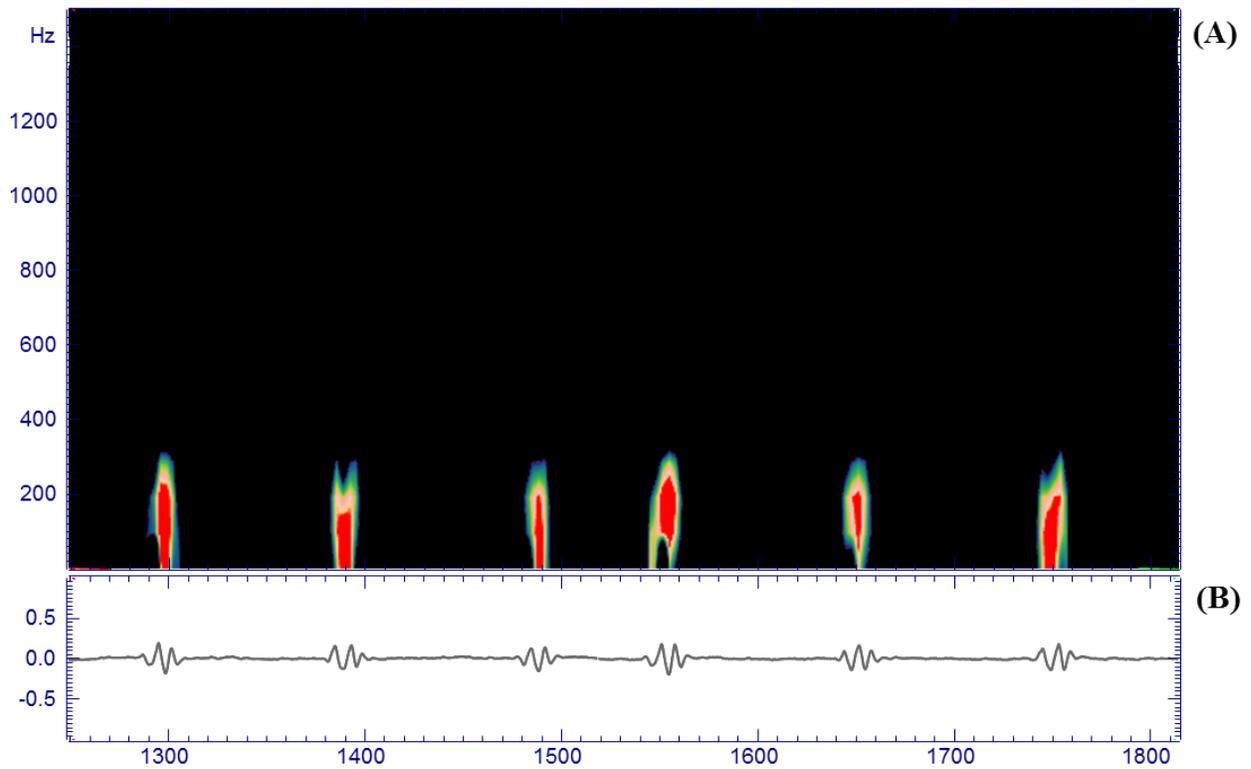


Figura 11. Exemplo de oscilograma (A) e sonograma (B) de trecho de sequência de rufos de pulsos curtos produzidos por exemplar fêmea de *Hippocampus reidi* pertencente à classe de tamanho T4 durante manuseio. Frequência de amostragem 44.1 Hz, bandwidth de 150 Hz (sonograma) e 1 Hz (*cepstrum*), 75% *overlap*, Hanning window.

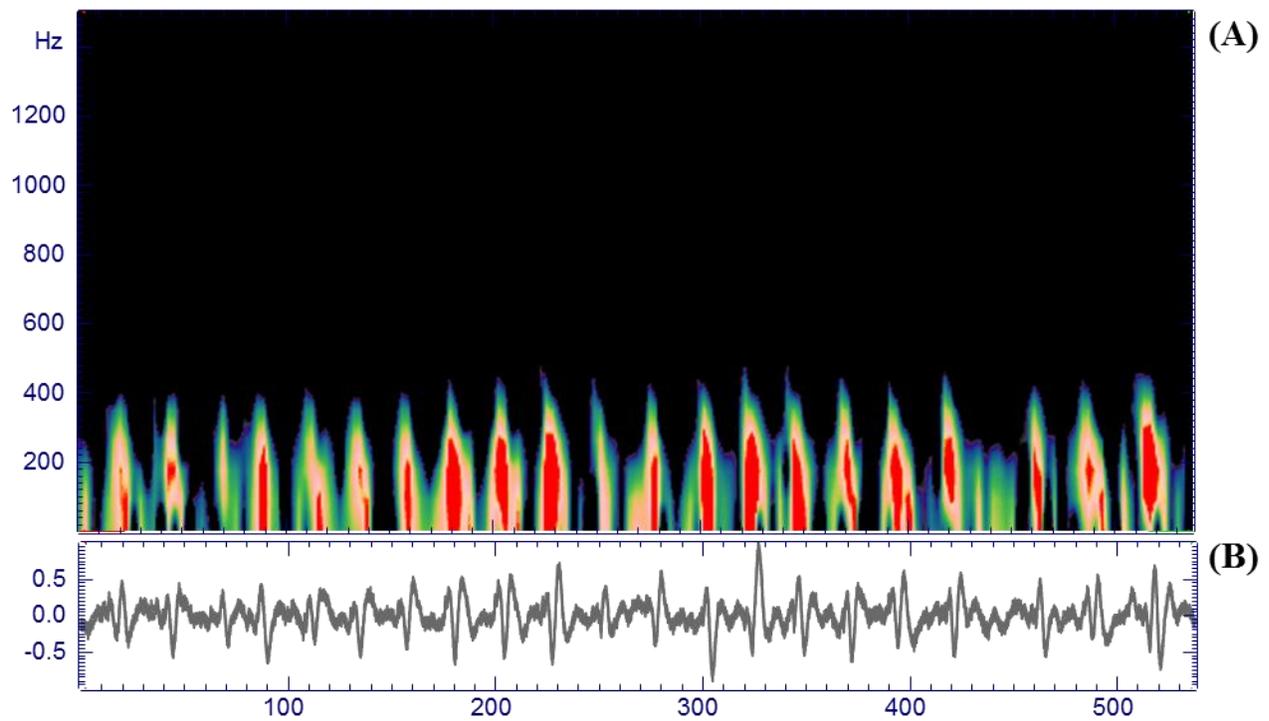


Figura 12. Relação entre a altura (cm) dos indivíduos de *Hippocampus reidi* e os parâmetros sonoros dos rufos: duração do pulso (A), período do pulso (B), frequência dominante (C) e taxa de repetição (D). Todos os parâmetros representados em Log_{10} . Equação de regressão e r^2 dados nos próprios gráficos.

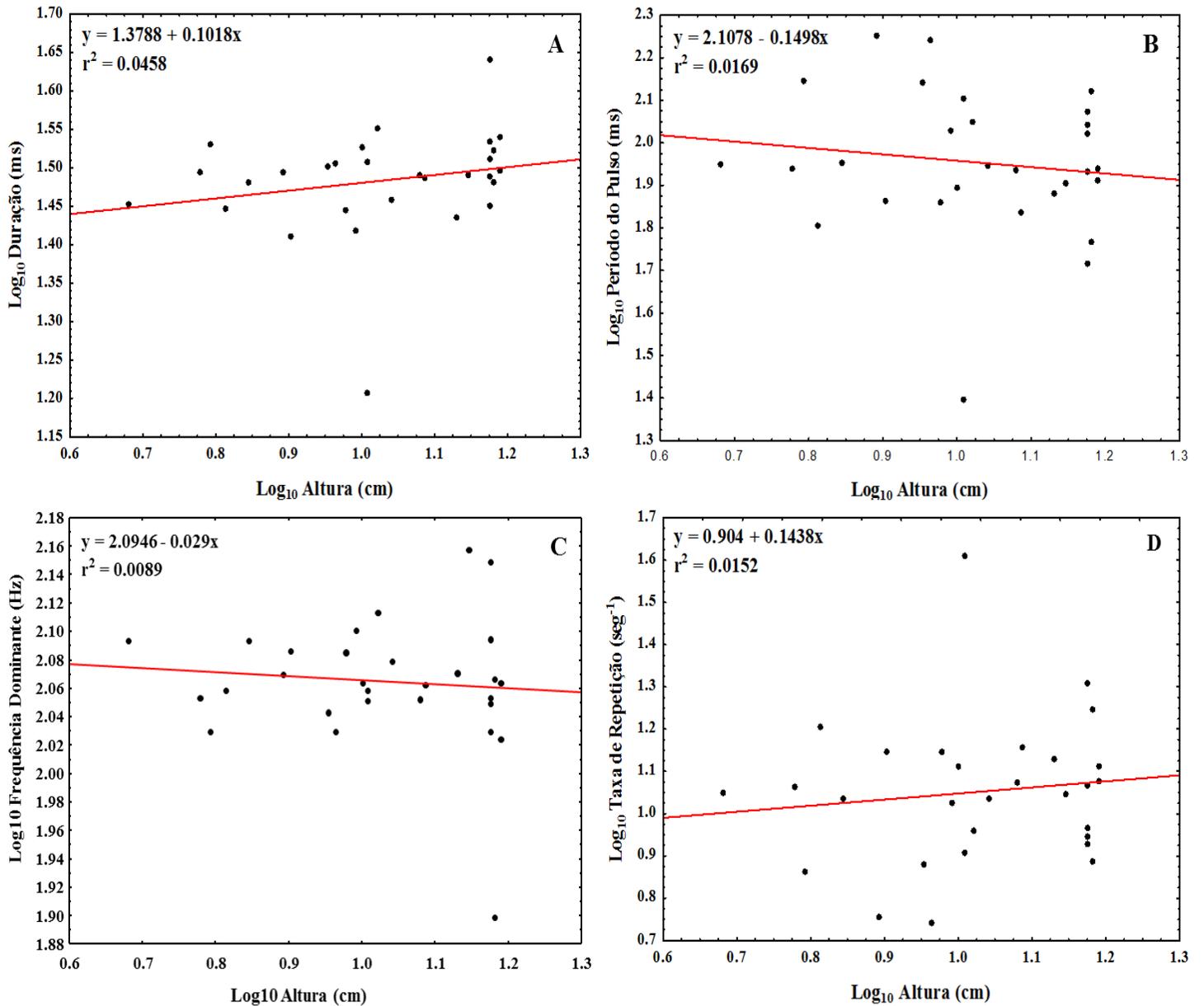
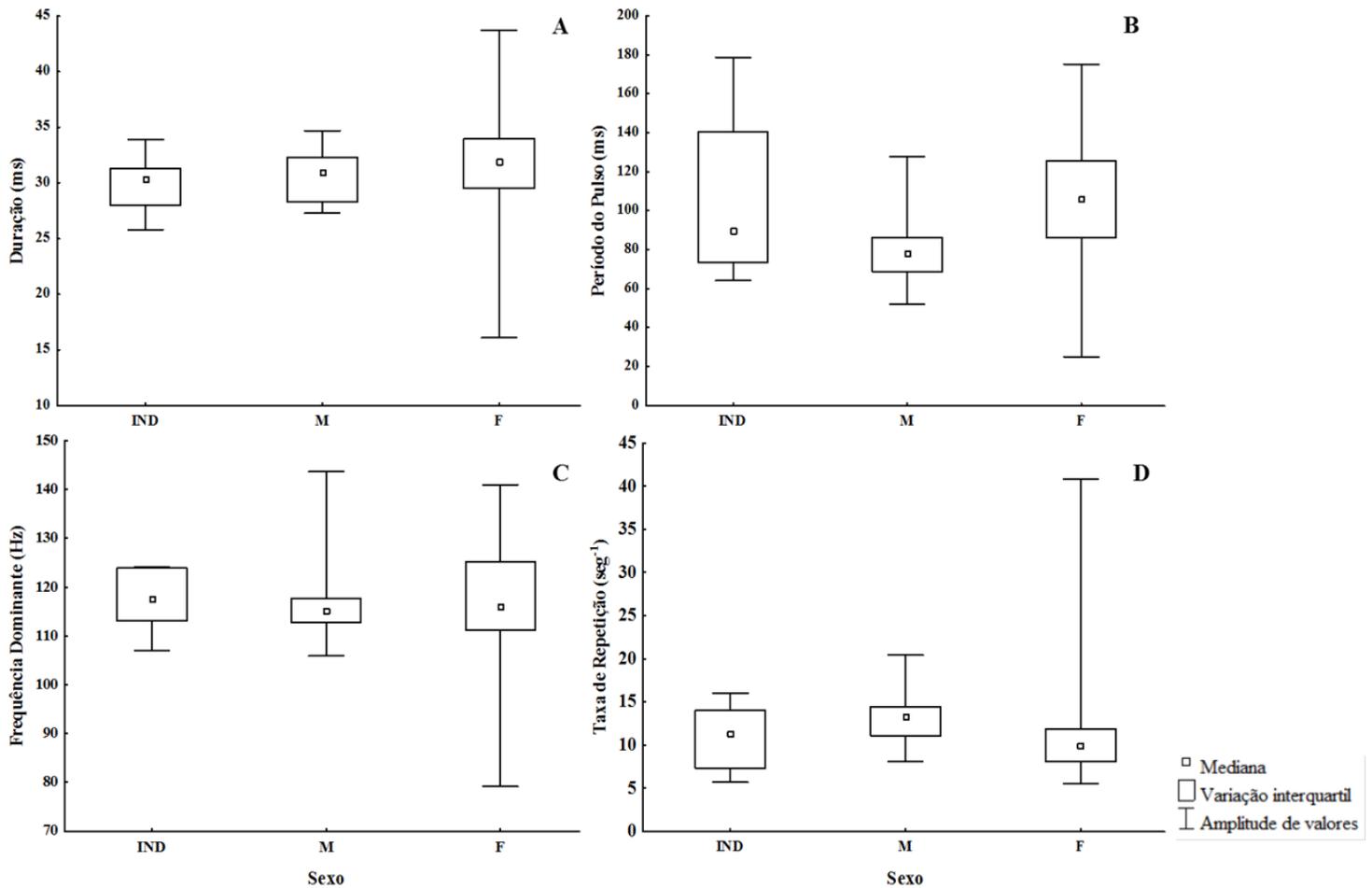


Figura 13. Relação entre o sexo (IND = indeterminado; M = macho; F = fêmea) dos indivíduos de *H. reidi* e os parâmetros sonoros dos rufos: duração do pulso (A), período do pulso (B), frequência dominante (C) e taxa de repetição (D).



As médias geradas para cada classe encontram-se esquematizadas na Tabela 3. Na classe T1 (3 – 5 cm), apenas um dos indivíduos produziu sons do tipo rufo, logo, não foi incluso nas análises de correlação cruzada. Em ambos os casos, a Análise de Variância não se mostrou significativa (correlação intraindividual: $F(3, 24) = 2,62$, $p = 0,07$; correlação interindividual: $F(3, 24) = 1,19$, $p = 0,34$), sugerindo que este tipo de som não se altera com o desenvolvimento de indivíduos de *Hippocampus reidi* e que não há individualização do mesmo.

Tabela 3. Variação dos espectrogramas da correlação cruzada inter e intraindividual nas diferentes classes de tamanho para os sons produzidos durante o manuseio. (n = número de indivíduos; N = número de correlações cruzadas entre os cliques).

Classe	Correlação Intraindividual Média±EP (n;N)	Correlação Interindividual Média±EP (n;N)
T2	1±0,0 (6; 600)	0,84±0,03 (6; 3600)
T3	1±0,0 (7; 700)	0,86±0,03 (7; 4900)
T4	0,99±0,01 (6; 600)	0,92±0,02 (6; 3600)
T5	1±0,0 (9; 900)	0,87±0,02 (9; 8100)

5 DISCUSSÃO

Apesar dos primeiros registros acerca da produção de sons em cavalos marinhos datarem do século XIX (DUFOSSÉ, 1874), estudos específicos sobre o comportamento acústico destes animais ainda são escassos, resumindo-se a Colson et al (1998), Anderson (2009), Anderson *et al* (2011) e Anderson & Mann (2011), todos relativos a *H. erectus*, e Chakraborty *et al* (2014), relativo a *H. kuda*. Estudos referentes à *H. reidi* se resumem a Oliveira (2011) e Oliveira *et al* (2014). Logo, o presente trabalho, juntamente com aqueles, representa um dos estudos pioneiros acerca da bioacústica em singnatídeos. Adicionalmente, este é o primeiro a abordar a produção de sons no contexto ontogenético nesta família, e um dos poucos no grupo dos peixes (AMORIM & HAWKINGS, 2005; HENGLMULLER & LADICH, 1999; WYSOCKI & LADICH, 2001).

A correlação negativa registrada entre frequência dominante e altura de *H. reidi* já foi documentada no gênero *Hippocampus* para o cavalo-marinho *H. zosterae* por Colson et al. (1998) e também já foi observado em diversas outras espécies de peixes (e.g. *Pomacentrus partitus*, MYRBERG *et al.* 1993; *Oreochromis mossambicus*, AMORIM *et al.* 2003; *Halobatrachus didactylus*, LADICH & BASS, 2003). Podemos, então, inferir que a frequência dominante está ontogeneticamente relacionada ao aumento do tamanho corporal podendo ser um indicativo do tamanho do corpo, como registrado em outras espécies de peixes (MYRBERG *et al.* 1993). Esta correlação pode cumprir papel importante durante o processo de escolha de parceiro, visto que menores frequências dominantes denotam tamanhos maiores dos machos, o que permite às fêmeas utilizá-las como pistas sobre a qualidade do parceiro (CONNAUGHTON *et al.*, 2002; MYRBERG *et al.*, 1993). Devido à história de vida deste grupo, é importante que haja estes sinais acústicos, tendo em vista que características ambientais como água turva e regime de marés, podem dificultar a comunicação visual e química, sendo a comunicação acústica um meio de identificação de um possível parceiro.

As altas frequências dominantes observadas nesse estudo, alcançando aproximadamente 2 kHz, são incomuns dentre a maioria dos peixes (AMORIM, 2006), porém já foram detectadas para cliques dos peixes-cachimbo *Syngnathus fuscus* e

Syngnathus floridae (RIPLEY & FORAN, 2007), pertencentes à mesma família dos cavalos-marinhos. Esta variação na frequência (*broadband sound*) provavelmente se deve à natureza estridulatória da produção do clique.

Quanto à duração dos cliques, houve correlação positiva com a altura dos indivíduos, como já registrada em outras espécies de teleósteos (e.g. CONNAUGHTON *et al*, 2000). Entretanto, este parâmetro não diferiu significativamente entre os sexos. Sabe-se que a temperatura da água pode influenciar na duração e frequência do som (CONNAUGHTON *et al*, 2000), entretanto, os resultados encontrados nesse estudo são similares aos obtidos por Oliveira *et al* (2014) também com *H. reidi* (duração: 7 – 27 ms; frequência dominante: 50 – 800 Hz). Já quando comparado a *H. zosteræ* (COLSON *et al*, 1998), a duração do clique foi semelhante (5 – 20 ms), porém a frequência dominante foi mais elevada do que a observada nesse estudo (2,65 – 3,43 kHz), o que faz sentido visto que os indivíduos dessa espécie medem não mais que 2,5 cm (Lourie *et al*, 2004). Em contraste, para *H. erectus*, registraram-se cliques com duração média de 110ms (ANDERSON, 2009). Estas diferenças observadas podem ser utilizadas como parâmetros para a identificação de espécies próximas (e.g. COLLEYE *et al*, 2011; MALAVASI, COLLATUZO & TORRICELLI, 2008).

A função dos cliques alimentares, entretanto, ainda é desconhecida, visto que não estão relacionados ao sucesso na captura da presa (ANDERSON, 2009) e também foram registrados em tentativas sem êxito, tanto no presente estudo como em Oliveira *et al* (2014). Anderson (2009) sugere que estes cliques podem estar relacionados com a sinalização para o parceiro de uma fonte de alimento.

As médias das correlações inter e intraindividual variaram significativamente entre as classes de tamanho, o que pode indicar uma individualização dos cliques. As maiores médias foram observadas nas classes T2 e T3, em que os indivíduos estão atingindo ou acabaram de atingir a maturidade sexual (obs. pessoal), enquanto que a menor média foi observada na classe T5, indivíduos já adultos, os quais se encontravam separados por sexo em tanques distintos no LAPEC/UFPB. Estes dados sugerem que os cliques podem estar associados ao comportamento de corte através do reconhecimento do parceiro, visto que

estas são espécies, em sua maioria, monogâmicas (FOSTER & VINCENT, 2004) com extenso cuidado parental (LOURIE *et al.*, 1999). Reforça-se então a importância da comunicação acústica durante o comportamento de corte, podendo a ausência de estes sinais afetarem o mesmo (ANDERSON, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2014). Destaca-se que a produção dos cliques foi registrada para *H. reidi* em laboratório, carecendo então de dados *in situ* para melhor embasamento, visto que este tipo de análise nunca foi antes realizada para espécies do gênero *Hippocampus*.

Considerando os sons produzidos durante o estresse por manuseio, nenhum dos parâmetros analisados variou significativamente entre as classes de tamanho, incluindo a análise de correlação cruzada. Esta ausência de variação ontogenética pode ser devido ao baixo número de indivíduos amostrados, visto que estudos *in situ* registraram uma correlação positiva entre a altura dos indivíduos e a duração dos rufos (OLIVEIRA, 2011). Entretanto, a elevada similaridade e possível ausência de individualização entre os pulsos, enfraquece hipóteses acerca da produção desse tipo de som no contexto do comportamento de corte (e.g. reconhecimento de parceiro). Devido à escassez de dados acerca da produção de rufos, pode-se apenas sugerir que estes sons são utilizados como mecanismo de escape de predadores e talvez durante o comportamento agonístico (e.g. competição – por quê?), dada a baixa frequência dominante registrada.

Os valores obtidos para a duração e período do pulso, taxa de repetição e frequência dominante, corroboram aqueles obtidos por Oliveira *et al.* (2014). As características observadas para estes parâmetros sonoros são semelhantes a aqueles produzidos pela vibração da bexiga natatória (AMORIM, 2006; LADICH & BASS, 2003; LADICH & FINE, 2006), porém, *Hippocampus reidi* não apresenta músculos sonoros associados a sua bexiga natatória (OLIVEIRA *et al.*, 2014) e o mecanismo para a produção dos rufos ainda é desconhecido. A frequência dominante de sons produzidos pela vibração da bexiga natatória apresenta uma tendência a correlacionar-se negativamente com o tamanho dos peixes (MYRBERG *et al.*, 1996; AMORIM *et al.*, 2003; AMORIM & HAWKINS, 2005), padrão que não foi observado neste estudo. Contudo, as diferenças nas características dos cliques e rufos no comportamento dos indivíduos de *H. reidi* ao produzi-los, indicam que estes sons são produzidos por mecanismos diferentes (Oliveira *et al.* 2014). Este é um fato

incomum em teleósteos, tendo em vista que apenas para alguns grupos de bagres (famílias Pimelodidae, Doradidae e Mochokidae) havia registros da emissão de sons tanto a partir da vibração da bexiga natatória, quanto sons estridulatórios (LADICH & BASS, 2003; AMORIM 2006).

Em outras espécies de peixes estudadas para variações ontogenéticas nos parâmetros acústicos (e.g. *Trichopsis vittata*), já foram documentados o aumento das características temporais dos sons (e.g. duração, período do pulso) com o aumento da massa corporal (HENGLMULLER & LADICH, 1999; WYSOCKI & LADICH, 2001). A ausência de correlação entre os parâmetros temporais dos sons e a altura dos indivíduos no presente estudo pode ser devido ao baixo N amostral ou então pelo fato de termos analisado os sons apenas em dois contextos comportamentais, podendo essa correlação surgir em diferentes contextos (e.g. comportamento de corte ou agonístico).

É importante observar que apenas um dos indivíduos da classe de tamanho T1 produziu rufos quando manuseado, sugerindo que qualquer que seja o mecanismo utilizado na produção deste tipo de som, provavelmente ainda não está bem desenvolvido em indivíduos jovens (< 4 cm). Entretanto, todos os indivíduos dessa classe produziram cliques quando manuseados, indicando o uso deste tipo de som no contexto do estresse, principalmente em indivíduos menores. Os parâmetros sonoros desses cliques não foram analisados, pois devido à aproximação dos indivíduos ao hidrofone, os sons apresentaram reverberação e foram descartados.

Rufos do tipo “*pulsos curtos*”, descritos por Oliveira (2011), foram registrados em uma fêmea da classe T4. Estes sons são caracterizados por apresentar pulsos mais curtos, com menores períodos, maiores taxas de repetição e frequência dominante mais alta do que os rufos denominados como do tipo *pulsos longos* (OLIVEIRA, 2011), porém só haviam sido descritos anteriormente para indivíduos em ambiente natural. Esta observação corrobora então a hipótese de que estes animais tem a capacidade de modificar a produção desse tipo de som, proposta também por Oliveira (2011), como também verificado em outras espécies de peixes (e.g. *Halobatrachus didactylus*, LADICH & BASS, 2003). Esta diferença observada acerca da diferenciação dos rufos merece ser estudada com maior

detalhamento, tanto *in situ* quanto *ex situ*, buscando maior entendimento deste som como mecanismo adicional de defesa contra a predação.

Dados acerca da ontogenia da produção de sons desde o nascimento até a maturidade sexual ainda são escassos, sendo documentado apenas para *Trichopsis vittata* (HENGLMULLER & LADICH, 1999; WYSOCKI & LADICH, 2001) e para o ciclídeo *Tramitichromis intermedius* (RIPLEY & LOBEL, 2004). Apesar do presente trabalho não englobar filhotes recém-nascidos, as equações de regressão linear aqui expostas permitem prever os parâmetros sonoros dos cliques e rufos de *H. reidi* para indivíduos de qualquer altura, fornecendo dados inéditos acerca do comportamento acústico da espécie, e também no contexto ontogenético para os peixes em geral.

6 CONCLUSÃO

- No contexto da alimentação, os indivíduos de *H. reidi* produziram cliques de curta duração e de banda larga de frequência, enquanto que durante a situação de estresse por manuseio, produziram rufos, sequência de pulsos curtos e ritmados com energias concentradas abaixo de 145 Hz. Cliques também foram produzidos neste último contexto comportamental, indicando o uso tipo de som também como uma resposta ao estresse.
- Tanto a duração do pulso (ms) quando a frequência dominante dos cliques variaram tanto ontogeneticamente quanto entre os sexos. Esta observação, associada com a significativa variação da similaridade inter e intraindividual dos cliques entre as classes de tamanho, sugere que este tipo de som pode cumprir papel importante durante o processo de escolha do parceiro, assim como no reconhecimento acústico da espécie.
- Não ocorreu correlação entre os parâmetros sonoros dos rufos e as classes de tamanho ou os sexos, porém propõe-se o estudo acerca deste tipo de som em outros contextos comportamentais. Os dois tipos de rufos produzidos pelos cavalos-marinhos durante o estresse por manuseio, demonstram a capacidade da espécie de modificar este tipo de som em relação a seus parâmetros temporais. Nesse estudo, apenas um indivíduo apresentou rufos de *pulsos curtos*, logo, sugere-se o desenvolvimento de estudos específicos que investiguem melhor essa variação, assim como o mecanismo de produção deste tipo de som.
- A elevada similaridade inter e intraindividual dos pulsos e sua ausência de variação entre as classes de tamanho, indica que não há individualização deste tipo de som, sugerindo o uso do mesmo como um mecanismo adicional de escape contra predação e enfraquecendo hipóteses acerca do uso dos rufos no processo de escolha do parceiro.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho apresenta informações inéditas acerca do comportamento acústico em cavalos-marinhos, principalmente acerca da ontogenia, baseando-se na avaliação da produção de sons. Novos questionamentos podem ser levantados quanto à bioacústica de *Hippocampus reidi* a partir dos resultados aqui expostos.

Sugerimos então estudos acerca da funcionalidade da produção de sons pela espécie em diferentes contextos comportamentais, principalmente durante o comportamento agonístico, visto que ainda não existem estudos nesse contexto para cliques ou rufos. Para melhores inferências acerca da funcionalidade dos cliques alimentares, é importante testar a produção dos cliques em relação a tipos de alimentos diferentes. Para os rufos, é essencial um melhor entendimento a respeito do mecanismo envolvido na produção dos mesmos, incluindo uma melhor investigação nos dois tipos (e.g. *pulsos curtos e longos*) já descritos para a espécie.

Dentre as informações que o estudo da bioacústica de cavalos-marinhos pode agregar para a conservação do gênero, destaca-se as implicações para a conservação *ex situ* da espécie, devido aos efeitos adversos de ruídos em ambientes de cultivo, como já registrado para *H. erectus* (ANDERSON *et al*, 2011). Logo, estes estudos têm o potencial contribuir para a elaboração e implantação de um plano de manejo e melhorar as condições de sua manutenção em cativeiro.

8 REFERÊNCIAS

AKAMATSU, T., OKUMURA, T., NOVARINI, N. & YAN, H. Y. 2002 **Empirical refinements applicable to the recording of fish sounds in small tanks.** The Journal of the Acoustical Society of America 112, 3073-3082.

AMORIM, M. C. P. 2006. **Diversity of sound production in fish.** In Communication in fishes (ed. F. Ladich, S. P. Collin, P. Moller & B. G. Kapoor), pp 71-104. Enfield and Plymouth: Science Publishers.

AMORIM, M. C. P., FONSECA, P. J. & ALMADA, V. C. 2003. **Sound production during courtship and spawning of *Oreochromis mossambicus*: male–female and male–male interactions.** J. Fish Biol. 62, 658—672.

AMORIM, M.C.P. & HAWKINS, A.D. 2005. **Ontogeny of acoustic and feeding behaviour in the grey gurnard, *Eutrigla gurnardus*.** Ethology. 111: 255–269.

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

ANDERSON, P. A., BERZINS, I. K., FOGARTY, F., HAMLIN, H. J. & GUILLETTE Jr, L. J. 2011. **Sound, Stress, and Seahorses: The Consequences of a Noisy Environment to Animal Health.** *Aquaculture*, 311, 129-138.

BASS, A. H. & LADICH, F. 2008 **Vocal–Acoustic Communication: From Neurons to Behavior.** *Fish Bioacoustics*, 253-278.

BROWN, D.H. and MARSHALL, J. A.. 1978. **Reproductive behaviour of the rainbow cichlid, *Herotilapia multispinosa* (Pisces, Cichlidae).** *Behaviour* 67: 299–322.

CARO, T., 1998. **Behavioral ecology and conservation biology**. Oxford University Press, New York.

CHAKRABORTY, B., SARAN, A.K., KUNCOLIENKER, D.S., SREEPADA, R.A., HARIS, K. & FERNANDES, W. 2014. **Characterization of yellow seahorse *Hippocampus kuda* feeding click sound signals in a laboratory environment: an application of probability density function and power spectral density analyses**. *Bioacoustics* 23, 1–14.

COLLEYE, O., VANDEWALLE, P., LANTERBECQ, D., LECCHUNI, D. & PARMENTIER, E. .2011. **Interspecific variation of calls in clownfishes: degree of similarity in closely related species**. *BMC Evol. Biol.* 11, 365.

COLSON, D. J., PATEK, S. N., BRAINERD, E. L. & LEWIS, S. M. 1998 **Sound production during feeding in *Hippocampus* seahorses (Syngnathidae)**. *Environmental Biology of Fishes* 51, 221-229.

CONNAUGHTON, M. A., FINE, M. L. & TAYLOR, M. H. 2002. **Weakfish sonic muscle: influence of size, temperature and season**. *Journal of Experimental Biology* 205, 2183-2188.

DEMSKI, L. S., GERALD, J. W. & POPPER, A. N. 1973 **Central and peripheral mechanisms of teleost sound production**. *American Zoologist* 13, 1141-1167.

DOS SANTOS, M., T. MODESTO, R.J. MATOS, M.S. GROBER, R.F. OLIVEIRA and A. CANARIO. 2000. **Sound production by the Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus***. *Bioacoustics* 10: 309–321.

DUFOSSÉ, L. 1874 **Recherches sur les bruits et les sons expressifs que font entendre les poissons d'Europe et sur les organes producteurs de ces phenomenes acoustiques**

ainsi que sur les appareils de l'audition de plusieurs de ces animaux. *Annales des Sciences Naturelles* 19, 53pp, 20, 134pp.

FINE, M. L., WINN, H. E. & OLLA, B. L. 1977 **Communication in fishes**. In *How animals communicate* (ed. T. A. Sebeok), pp. 472-518. Bloomington: Indiana University Press.

FISH, M. P. 1953 **The production of underwater sound by the northern seahorse, *Hippocampus hudsonius***. *Copeia* 1953, 98-99.

FOSTER, S. J.; VINCENT, A. C. J. 2004. **Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management**. *Journal of Fish Biology* v.65, pl-61.

GRIDI-PAPP, M. 2007. **SoundRuler: Acoustic Analysis for Research and Teaching**. <http://soundruler.sourceforge.net>.

HAUSER, M.D., 1997. **The Evolution of Communication**. MIT Press.

HENGMULLER, S. M. & LADICH, F. 1999: **Development of agonistic behaviour and vocalization in croaking gouramis**. *J. Fish Biol.* 54, 380—395.

KUITER, R.H., 2000. **Seahorses, Pipefishes and Their Relatives. A Comprehensive Guide to Syngnathiforms**. TMC Publishing, Solesbridge Lane, Chorleywood, Herts WD3 5SX, UK. 240pgns.

KROODSMA, D.E., MILLER, E.H., 1996. **Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds**. Cornell University Press, Ithaca, NY.

LADICH, F. 2004. **Sound Production and Acoustic Communication**. In *The Senses of Fish: Adaptations for the Reception of Natural Stimuli* (ed. J. M. Gerard von der Emde, B.G. Kapoor), pp. 210 - 230. New Delhi: Narosa Publ. House.

LADICH, F. & BASS, A. H. 2003 **Underwater sound generation and acoustic reception in fishes with some notes on frogs.** *Sensory Processing in Aquatic Environments*, 173-193.

LADICH, F. & FINE, M. L. 2006. **Sound generating mechanisms in fishes: a unique diversity in vertebrates.** In *Communication in fishes* (ed. F. Ladich, S. P. Collin, P. Moller & B. G. Kapoor), pp 3-43. Enfield and Plymouth: Science Publishers.

LADICH, F. & YAN, H. Y. 1998. **Correlation between auditory sensitivity and vocalization in anabantoid fishes.** *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 182, 737-746.

LAILOLO, P. 2010 **The emerging significance of bioacoustics in animal species conservation.** *Biological Conservation* 143, 1635-1645.

LOURIE, S.A., PRITCHARD, J.C., CASEY, S.P., TRUONG, S.K., HALL, H.J., and VINCENT, A.C.J.. 1999. **The taxonomy of Vietnam's exploited seahorses.** *Biological Journal of the Linnean Society*.

LOURIE, S. A.; FOSTER, S. J.; COOPER, E. W. T.; VINCENT, A. C. J. 2004. **A Guide to the Identification of Seahorses.** Project Seahorse and TRAFFIC North America. Washington D.C.: University of British Columbia and World Wildlife Fund, 114p.

MAI, A. C. G.; ROSA, I. L. 2009. **Aspectos ecológicos do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* no estuário Camurupim/Cardoso, Piauí, Brasil, fornecendo subsídios para a criação de uma Área de Proteção Integral.** *Biota Neotrop.* v. 9. n. 3. p. 85-91.

MALAVASI, S., COLLATUZO, S. & TORRICELLI, P. 2008. **Interspecific variation of acoustic signals in Mediterranean gobies (Perciformes, Gobiidae): comparative analysis and evolutionary outlook.** *Biol. J. Linn. Soc.* 93, 763–778.

MARQUES, A.M.P., DE ARAÚJO, C.B., LUÍS VICENTEL. 2011. **Nestling call modification during early development in a colonial passerine.** *Bioacoustics: The International Journal of Animal Sound and its Recording*, 20:1, 45-58.

MICHAEL, S. W. 2001. **Reef fishes: a guide to their identification, behavior, and captive care.** (Vol 1). 2 ed. Neptune City: T. F. H. Publications. 624p.

MYRBERG, A. A., HA, S. J. & SHAMBLOTT, M. J. 1993. **The sounds of bicolor damselfish (*Pomacentrus partitus*): predictors of body size and a spectral basis for individual recognition and assessment.** *The Journal of the Acoustical Society of America* 94, 3067.

NELSON, J. S. 2006. **Fishes of the world.** John Wiley and Sons, Inc. 4 ed. New York. 601 p. ISBN: 0-471-25031-7.

NOLL, A. M. 1967. **Cepstrum pitch detection.** *Journal of the Acoustical Society of America* 41, 293-309.

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

OLIVEIRA, T. P. R., LADICH, F., ABED-NAVANDI, D., SOUTO, A. S., ROSA, I. L. **Sounds produced by the longsnout seahorse: a study of their structure and functions.** 2014. *Journal of Zoology*.

OWINGS, H., BEECHER, M.D., THOMPSON, N.S., 1998. **Perspectives in Ethology: Communication.** Plenum Press, NY.

RIPLEY, J. L. & FORAN, C. M. 2007. **Influence of estuarine hypoxia on feeding and sound production by two sympatric pipefish species (Syngnathidae).** Marine environmental research 63, 350-367.

RIPLEY, J. L. & LOBEL, P. S. 2004. **Correlation of acoustic and visual signals in the cichlid fish, *Tramitichromis intermedius*.** Environ. Biol. Fish. 71, 389—394.

ROBINS, C. R; RAY, G. CARLETON. 1986. **A field guide to Atlantic coast fishes.** Boston: Houghton Mifflin Company, 354p.

ROSA, I. L.; BARROS A. T.; XAVIER J. H. A.; CORTEZ C. S. 2005. **Dados populacionais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) capturados para fins de aquarismo no Nordeste do Brasil.** Boletim Técnico Científico do CEPENE, 13, 1: 25-38.

ROSA, I.L. (2005) **National Report - Brazil.** In: Bruckner, A.W.; Fields, J.D.; Daves, N. (eds) **The Proceedings of the International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade.** NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-35. 1 ed. vol 1. Silver Spring, p46-53.

SMITH, C. L. 1997. **National Audubon Society Field Guide to Tropical Marine Fishes of the Caribbean, the Gulf of Mexico, Florida, the Bahamas, and Bermuda.** 2ed. New York: Alfred A. Knopf, Inc. 718p.

TAVOLGA, W. N. 1971 **Sound production and detection.** In Sensory systems and electric organs (ed. W. S. Hoar & D. J. Randall), pp 135-205. New York: Academic Press.

THOMSOM, D. A.; FINDLEY, L. T.; KERSTITCH, A. N. ; 2000. **Reef fish of the Sea of Cortez: the rocky fishes of the Gulf of California.** 3 ed. Austin: University of Texas Press, 353p.

VAUGHAN, N., JONES, G., HARRIS, S., 1997. **Habitat use by bats (Chiroptera) assessed by means of a broad-band acoustic method.** *J. Appl. Ecol.* 34, 716–730.

WYSOCKI, L. E. & LADICH, F. 2001. **The ontogenetic development of auditory sensitivity, vocalization and acoustic communication in the labyrinth fish *Trichopsis vittata*.** *J. Comp. Physiol. A* 187, 177—187.