À Biblioteca do ISPA
Com Amizade
Rui 7

RUI FILIPE NUNES PAIS DE OLIVEIRA
Assistente Convidado do Instituto Superior de Psicologia Aplicada

ETOLOGIA SOCIAL E ENDOCRINOLOGIA COMPORTAMENTAL DA TILÁPIA *OREOCHROMIS MOSSAMBICUS* (TELEOSTEI, CICHLIDAE)

Ref. 9529
Instituto Superior de Psicologia Aplicada
BIBLIOTECA

Lisboa
1995

ETOLOGIA SOCIAL E ENDOCRINOLOGIA COMPORTAMENTAL DA TILÁPIA *OREOCHROMIS MOSSAMBICUS* (TELEOSTEI, CICHLIDAE)

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
para a obtenção do grau de Doutor

Aos meus Pais e à Xana

ÍNDICE

Índice vii
Sumário xv
Summary xxi
Agradecimentos xxvii

PARTE I - APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E REVISÃO DA LITERATURA

1. Introdução Geral e Objectivos 3
1.1. Introdução 3
1.2. Objectivos 7
1.3. Plano da Obra 9

2. Biologia Social dos Ciclídeos Africanos: Etologia da Reprodução e Cuidados Parentais 11
2.1. Considerações Gerais 11
2.2. Variações: Sistemas Alternativos e Hermafroditismo 18
2.3. A Tribo Tilapiini 23
2.3.1. Sistema de Acasalamento 24
2.3.2. Dimorfismo Sexual 25
2.3.3. Cuidados Parentais 25
2.3.4. Ovos e Larvas 26
2.3.5. Fecundidade e Investimento Reprodutor 28
2.3.6. As Relações Filogenéticas entre as Linhagens 29

3. Sinopse da Biologia de *Oreochromis mossambicus* 31
3.1. Sistemática e Zoogeografia 31
3.2. Auto-ecologia 32
3.2.1. Factores Abióticos 32
3.2.1.1. Velocidade da Corrente e Profundidade 33
3.2.1.2. Temperatura 33
3.2.1.3. Salinidade 34
3.2.1.4. pH, Oxigénio Dissolvido e Outros Gases 35
3.2.1.5. Outros Factores 36
3.2.2. Ecologia Alimentar 36
3.2.3. Reprodução 39

4. Hormonas e Comportamento em Teleósteos 45
4.1. Esteróides Sexuais em Teleósteos 45
4.2. Androgénios e Comportamento Social em Machos de Teleósteos 47
4.2.1. Castração e Terapias de Substituição de Androgénios em Castrados e Administração de Androgénios e/ou Inibidores em Indivíduos Intactos 48
4.2.2. Controlo Androgénico dos Caracteres Sexuais Secundários 53
4.3. Progestogénios e Comportamento Social em Machos de Teleósteos 59
4.4. Ciclos Sazonais de Esteróides Sexuais e sua Relação com o Comportamento Reprodutor em Machos de Teleósteos 61
4.5. Mecanismos de Acção dos Esteróides Sexuais 63
4.5.1. Acção das Hormonas a Nível Periférico: Sistemas Sensoriais e Sistemas Motores 65
4.5.2. Acção das Hormonas a Nível Central: Sistemas Motivacionais e Mecanismos de Tomada de Decisão 67
4.6. A Relação Bidireccional Hormonas-Comportamento 69
4.7. Estratégias de Investigação em Endocrinologia Comportamental 74

PARTE II - METODOLOGIA GERAL

5. Material e Métodos 83
5.1. Reprodução e Manutenção do Stock 83
5.2. Procedimentos Experimentais 84
5.2.1. Grupos Experimentais 84
5.2.1.1. Estudo 1 85
5.2.1.2. Estudo 2 86
5.2.1.3. Estudo 3 88
5.2.2. Observações Comportamentais 91
5.2.2.1. Organização Social dos Grupos 95
5.2.3. Biometria 98
5.2.4. Determinação do Sexo e Maturação das Gónadas 99
5.2.5. Radio-imunoensaios 103
5.2.6. Actividade da Aromatase Neural 108
5.3. Procedimentos Estatísticos 109
5.3.1. Considerações Gerais 109
5.3.2. Análise de Variância (ANOVA) 110
5.3.3. Correlações, Correlações Parciais e Regressão Linear 111
5.3.4. Análise Discriminante 112

5.3.5. Análise de Componentes Principais 113
5.3.6. Estatística de Simulação 114
5.3.6.1. Análise de Tabelas de Contingência com Estatística de Simulação (ACTUS) 114
5.3.6.2. Estatística de Simulação para o Teste de Aderência (ADERSIM) ... 115

PARTE III - RESULTADOS

6. Etologia Geral - Padrões Elementares de Comportamento e Comunicação Social 119
6.1. Introdução 119
6.2. Métodos 126
6.3. Resultados 126
6.3.1. Etograma: Descrição de Movimentos e Posturas Corporais 126
6.3.1.1.Padrões de Locomoção 127
6.3.1.2. Comportamento Alimentar 129
6.3.1.3. Outros Comportamentos Não-Sociais 131
6.3.1.4. Comportamentos Agonísticos 135
6.3.1.5. Comportamento Sexual e Cuidados Parentais 141
6.3.1.6. Outros Comportamentos Sociais 145
6.3.2. Padrões de Coloração 146
6.3.2.1. Olhos 146
6.3.2.2. Corpo e Barbatanas 147
6.4. Discussão 152
6.4.1. Sobre a Função e o Design das Posturas de Submissão 152
6.4.2. Qual o Papel Funcional dos Ninhos para os Machos Territoriais de Ciclídeos com Incubação Bucal Materna? 154
6.4.3. Os Padrões de Coloração como Sinais Visuais 157

7. Organização Social dos Grupos em Cativeiro: I. Hierarquias de Dominância e Dinâmica das Interacções Sociais 159
7.1. Introdução 159
7.2. Métodos 162
7.3. Resultados 166
7.3.1. Hierarquias de Dominância 166
7.3.1.1. Factores Preditores da Dominância: Sexo e Tamanho Relativo 178
7.3.1.2. Sucesso Social e Posição Hierárquica dos Indivíduos 179
7.3.2. Estrutura Social: Análise da Rede de Interacções 180

7.3.2.1. Análise das Densidades de Interacções 180
7.3.2.2. Interacções Agonísticas e Estrutura Social 185
7.4. Discussão 190

8. Organização Social dos Grupos em Cativeiro: II. Dinâmica Temporal das Interacções Sociais 195
8.1. Introdução 195
8.2. Métodos 197
8.2.1. Estudo de Curto Prazo (Estudo 3) 197
8.2.2. Estudo de Longo Prazo (Estudo 2) 198
8.3. Resultados 200
8.3.1. Estudo de Curto-Prazo 200
8.3.1.1. Observações Qualitativas 200
8.3.1.2. Padrões de Variação Temporal das Actividades Comportamentais ..201
8.3.1.3. Padrões de Variação Temporal das Interacções Agonísticas 209
8.3.1.4. Padrões de Associação entre os Comportamentos Sociais 212
8.3.1.5. Estabelecimento das Hierarquias de Dominância 215
8.3.2. Estudo de Longo-Prazo 216
8.3.2.1. Padrões de Variação Temporal das Actividades Comportamentais ..216
8.3.2.2. Padrões de Variação Temporal das Interacções Agonísticas 224
8.3.2.3. Estabilidade das Hierarquias de Dominância 227
8.4. Discussão 234
8.4.1. Estudo de Curto Prazo 234
8.4.2. Estudo de Longo Prazo 237

9. Correlatos Comportamentais da Dominância Social 239
9.1. Introdução 239
9.2. Métodos 240
9.3. Resultados 243
9.3.1. Estudo de Curto Prazo (Estudo 3) 243
9.3.2. Estudo de Longo Prazo (Estudo 2) 260
9.3.3. Diferenças nos Perfis Comportamentais entre Estatutos Sociais 272
9.4. Discussão 280

10. Correlatos Morfo-Funcionais da Dominância Social 283
10.1. Introdução 283
10.2. Métodos 288
10.2.1. Dimorfismo Sexual e Alometria da Morfologia Externa 288

10.2.2. Variação de Caracteres Sexualmente Dimórficos com o Estatuto Social 289
10.3. Resultados
10.3.1. Dimorfismo Sexual e Alometria da Morfologia Externa 292
10.3.1.1. Caracteres Morfológicos com Crescimento Sexualmente Dimórfico 292
10.3.1.2. Dimorfismo Sexual da Morfologia Externa 300
10.3.2. Androgenização dos Machos Dominantes 303
10.3.2.1. Variação dos Caracteres Sexuais Secundários e de Outras Variáveis Biométricas com o Estatuto Social 303
10.3.2.2. Caracteres Sexuais Secundários e Acesso a Fêmeas 311
10.3.2.3. Androgénios e Competição entre Machos 312
10.4. Discussão 315
10.4.1. Dimorfismo Sexual 315
10.4.2. Correlatos Morfo-Funcionais do Estatuto Social 320

11. Correlatos Endócrinos da Dominância Social 325
11.1. Introdução 325
11.2. Métodos 328
11.2.1. Modulação Social dos Esteróides Sexuais 328
11.2.2. Actividade da Aromatase Neural 329
11.3. Resultados 330
11.3.1. Modulação Social dos Esteróides Sexuais nos Machos 330
11.3.1.1. Androgénios e Estatuto Social 330
11.3.1.2. Progestogénios e Estatuto Social 337
11.3.1.3. Correlação entre os Padrões de Variação dos Esteróides 339
11.3.2. Aromatização Neural dos Androgénios 341
11.3.2.1. Validação do Ensaio Radiométrico 341
11.3.2.2. Localização Neuroanatómica da Actividade da Aromatase Neural 341
11.3.2.3. Diferenças Inter-Sexuais e Variação com a Maturação Sexual da Actividade da Aromatase Neural 343
11.3.2.4. Estatuto Social e Actividade da Aromatase Neural 343
11.4. Discussão 346
11.4.1. Androgénios e Estatuto Social 346
11.4.2. Androgénios e a "Hipótese do Desafio" 349
11.4.3. Função Diferencial para a Testosterona e a 11- Cetotestosterona 351
11.4.4. Progestogénios e Estatuto Social 354
11.4.5. Aromatização Neural dos Androgénios 355

12. Plasticidade do Comportamento Social dos Machos: Tácticas Alternativas e Cortes entre Machos 361
12.1. Introdução 361
12.2. Métodos 362
12.3. Resultados 364
12.3.1. Sincronização da Reprodução nos Machos 364
12.3.2. Tácticas de Acasalamento nos Machos 364
12.3.3. Cortes entre Machos 371
12.3.4. Poliandria 373
12.4. Discussão 377

13. Comportamento Social das Fêmeas durante o Ciclo de Incubação Bucal: Agressão Maternal e Canibalismo Filial 383
13.1. Introdução 383
13.2. Métodos 384
13.3. Resultados 385
13.3.1. Variação da Agressividade das Fêmeas com o Ciclo de Incubação Bucal 385
13.3.2. Canibalismo Parcial das Posturas 389
13.4. Discussão 394
13.4.1. Função Adaptativa da Agressão Materna e seus Mecanismos Causais 394
13.4.2. Canibalismo Filial como Componente da Estratégia Reprodutora 397

PARTE IV - DISCUSSÃO GERAL

Nota Introdutória 403

14. Uma Abordagem Causal e Funcional do Sistema de Acasalamento de *Oreochromis mossambicus* 405
14.1. Sincronização do Comportamento Sexual: Custos, Benefícios e Mecanismos 407
14.2. Dominância, Territorialidade e Acesso a Fêmeas 410
14.3. Androgénios e Histórias Vitais 412

15. Selecção Sexual: Sexo, Mentiras e Handicaps 415
15.1. A Teoria da Selecção Sexual 415
15.2. A Selecção Sexual e os Sistemas de Reprodução em Arenas 420

15.2.1. Escolha Activa vs. Escolha Passiva do Parceiro Sexual 421
15.2.2. Os Benefícios Escondidos 423
15.3. O Handicap da Imunocompetência e o Papel dos Androgénios como Mediadores Fisiológicos da Qualidade dos Machos 426
15.4. Os Androgénios como Indicadores de Qualidades Fenotípicas dos Machos 428

16. 11-Cetotestosterona: uma Hormona Masculina em Teleósteos? 431

PARTE V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências 439

SUMÁRIO

Com a presente dissertação pretende-se estudar os aspectos funcionais e causais envolvidos no comportamento social dos Ciclídeos africanos incubadores bucais, sobretudo no que diz respeito às interacções entre as hormonas e o comportamento, e ao seu significado funcional, tendo sido escolhida como modelo para estudo a Tilápia de Moçambique *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852).

Nesta perspectiva, a presente dissertação apresenta-se, grosso modo, organizada em duas partes complementares: na primeira, procede-se à caracterização do comportamento social da espécie em estudo, nomeadamente no que diz respeito às hierarquias de dominância e à dinâmica das interacções sociais, e na segunda, analisam-se os correlatos comportamentais, morfo-funcionais e endócrinos do estatuto social nos machos, dando-se especial atenção às inter-relações entre as hormonas e o comportamento. Finalmente, apresentam-se dados recolhidos durante o presente trabalho que apontam para a existência de tácticas alternativas de reprodução nos machos desta espécie, e procede-se, ainda, à caracterização do comportamento das fêmeas durante o ciclo de incubação bucal dos alevins.

De seguida apresenta-se um pequeno resumo do conteúdo de cada um dos capítulos.

Na Parte I (capítulos 1 a 4) procede-se à apresentação do problema e à revisão da literatura relevante para o presente trabalho. Assim, faz-se uma caracterização da biologia social dos Ciclídeos africanos, especialmente no que diz respeito aos modos de reprodução e aos tipos de cuidados parentais existentes neste grupo. De igual modo, apresenta-se uma sinopse da biologia geral da espécie em estudo, nos seus múltiplos aspectos: sistemática e zoogeografia, factores abióticos, ecologia alimentar e reprodução. Finalmente, é apresentada uma resenha monográfica das inter-relações entre hormonas e comportamento em Teleósteos, englobando os seguintes aspectos: caracterização dos esteróides sexuais em Teleósteos; o papel dos androgénios e dos progestogénios no comportamento social em machos de Teleósteos; os ciclos sazonais de esteróides sexuais e a sua relação com o comportamento reprodutor; os mecanismos de acção dos esteróides sexuais sobre o comportamento e a relação bidireccional hormonas-comportamento; e, quais as estratégias de investigação em endocrinologia comportamental.

Na Parte II (capítulo 5) é apresentada a metodologia geral comum a todo o trabalho, sendo fornecidos dados sobre a manutenção e reprodução dos indivíduos em cativeiro, e sobre os procedimentos experimentais e estatísticos utilizados. É de referir que o presente trabalho se baseou em três estudos, tendo-se tido a preocupação de sacrificar o menor número de animais possível, maximizando-se a informação recolhida dos indivíduos de cada estudo. Em cada um dos estudos foram realizadas observações de comportamento de indivíduos mantidos em grupos padronizados (estudo 1: 8 grupos heterossexuais de 6 indivíduos cada; estudo 2: 8 grupos heterossexuais de 6 indivíduos cada; estudo 3: 4 grupos machos de 4 indivíduos cada, aos quais são adicionadas 2 fêmeas ovuladas por grupo ao fim de 5 dias), e no final os indivíduos foram sacrificados para recolha de amostras biológicas (i.e. gónadas, encéfalos, biometrias), excepto no caso do estudo de curto-prazo (estudo 3) em que se utilizaram amostras de urina para o doseamento dos esteróides sexuais, tendo-se evitado o sacrifício dos animais envolvidos neste estudo.

Na Parte III (capítulos 6 a 13) são apresentados e discutidos os resultados dos estudos levados a cabo, os quais estão resumidos abaixo.

No capítulo 6 procedeu-se à inventariação e descrição dos padrões elementares de comportamento e de coloração, como forma de caracterizar o repertório comportamental da espécie. Discutiu-se qual a função adaptativa da construção e defesa de ninhos pelos machos em espécies incubadoras bucais maternas, e analisou-se a possível evolução e o design das posturas de submissão em Ciclídeos.

No capítulo 7 caracterizou-se a organização social dos grupos em cativeiro (estudo 1), tendo sido detectada a formação de hierarquias de dominância, com estrutura linear e semi-despótica (o indivíduo α participa em mais de metade das interacções do grupo). O tamanho do corpo e o sexo dos indivíduos são factores importantes na decisão das interacções agonísticas: os indivíduos α (dominantes) de cada grupo são sempre machos e são os membros de maiores dimensões dos grupos a que pertencem.

Embora os indivíduos tenham sido criados juntos durante um longo período de tempo, são comuns interacções agonísticas que envolvem agressão de alta intensidade, o que indica que neste estádio (maturação sexual) os indivíduos efectuam avaliações frequentes das capacidades competitivas dos outros elementos do grupo.

Foram ainda analisadas as redes de interacções no interior dos grupos, tendo sido desenvolvidas para o efeito técnicas de estatística de simulação para a análise de dados sociométricos. As interacções agonísticas são especialmente comuns entre machos, sendo menos frequentes entre machos e fêmeas, e entre fêmeas. Os indivíduos ω (subordinados)

participam em menos encontros agonísticos do que o esperado. De acordo com a distância hierárquica, os vizinhos na hierarquia estão envolvidos em menos interacções agonísticas do que o esperado, excepto para as interacções simétricas, as quais representam uma pequena proporção do número total de interacções. Este dado é contrário às expectativas, mas pode ser explicado pelo facto de a agressão ser iniciada preferencialmente pelos indivíduos dominantes contra indivíduos que lhes são claramente subordinados, presumivelmente para manterem o seu estatuto social.

Foi ainda demonstrado que o índice de dominância, vitórias/ (vitórias + derrotas), é um muito bom preditor da posição hierárquica dos indivíduos nas ordens de dominância dos seus grupos. É argumentado que, em espécies nas quais as interacções agonísticas não são controladas por processos que envolvem operações cognitivas complexas, este índice de dominância pode ser um indicador biologicamente realista da motivação agressiva dos indivíduos.

No capítulo 8 estudou-se a dinâmica do estabelecimento das hierarquias de dominância e sua estabilidade ao longo do tempo.

No estudo de curto-prazo (7 dias, estudo 3), durante o processo de formação de grupos de machos foi detectada consistentemente a seguinte sequência temporal de actividades predominantes: (a) avaliação mútua dos membros do grupo e formação das hierarquias de dominância; (b) estabelecimento dos territórios e construção dos ninhos; (c) cortejamento. Sugere-se que estes resultados reflectem a sequência provável de acontecimentos que ocorrem durante o processo de formação de uma arena reprodutora na natureza, no início de cada episódio de reprodução.

Do estudo de longo-prazo (8 semanas, estudo 2) foi concluído embora a maior parte das estruturas de dominância seja linear, elas são instáveis de semana para semana. Isto é, sucedem-se no tempo estruturas lineares nas quais, no entanto, os indivíduos não ocupam as mesmas posições hierárquicas relativas. A estabilidade das posições hierárquicas é superior nos indivíduos dominantes de cada grupo, os quais sofrem menos reversões hierárquicas do que os subordinados. As reversões na ordem de dominância de um grupo são especialmente comuns entre vizinhos hierárquicos. As hierarquias de dominância não estabilizaram durante o período de tempo deste estudo.

No capítulo 9 avaliaram-se as relações existentes entre o estatuto social dos indivíduos e um conjunto de variáveis comportamentais, entre as quais a territorialidade, os padrões de coloração, o acesso às fêmeas, a construção e manutenção dos ninhos, os comportamentos agonísticos e os comportamentos sexuais. Os indivíduos dominantes apresentam uma coloração mais escura do corpo, têm prioridade no estabelecimento de territórios, constroem ninhos de maiores dimensões e monopolizam o acesso às fêmeas

do grupo a que pertencem. Os dados sustentam a hipótese de que os indivíduos dominantes são os que investem mais em comportamentos agonísticos, tendo como benefício deste investimento um maior acesso às fêmeas, segundo uma cascata comportamental: dominância social → estabelecimento de um território → construção do ninho → acesso a fêmeas.

No capítulo 10 investigaram-se as relações existentes entre o estatuto social e um conjunto de caracteres morfo-fisiológicos, entre os quais medidas biométricas (e.g. comprimento, peso, dimensões das barbatanas, etc.), indicadores da maturidade sexual (e.g. índice gonado-somático), das condições bioenergéticas (índice hepato-somático e factor de condição), e dos níveis de androgénios (dilatação da papila urogenital).

Para um avaliação correcta das variáveis biométricas foi realizado um estudo prévio sobre a existência de alometrias e de dimorfismo sexual na morfologia externa da espécie, tendo sido detectados dois complexos mofológicos sexualmente dimórficos: altura das barbatanas anal e dorsal; focinhos afilados com mandíbulas robustas nos machos. Colocou-se a hipótese destes caracteres morfológicos terem evoluído por selecção sexual, uma vez que conferem vantagens fenotípicas em termos de mecanismos comportamentais de defesa territorial e escolha do parceiro sexual por parte das fêmeas.

Uma vez identificados estes complexos morfológicos procedeu-se à averiguação da sua expressão em machos com diferente estatuto social, verificando-se que os indivíduos dominantes apresentam uma acentuação destes caracteres. Como, simultaneamente, estes indivíduos também apresentam papilas maiores, as quais são utilizadas como indicadores dos níveis fisiológicos de androgénios, colocou-se a hipótese de a dominância social, através de uma elevação dos níveis de androgénios circulantes, acentuar a expressão de características sexualmente dimórficas.

Foi também demonstrado que os indivíduos dominantes possuem índices gonado-somáticos superiores aos dos subordinados, não diferindo estas duas classes de machos no que diz respeito às variáveis bioenergéticas (i.e. índice hepato-somático e factor de condição). Observou-se ainda que os indivíduos dominantes têm o aparelho sónico (i.e. placas faríngicas e musculatura sónica) mais desenvolvido do que o dos subordinados, o que deixa adivinhar um papel importante da produção de sons para o estabelecimento das relações de dominância.

No capítulo 11 estudaram-se os correlatos endócrinos do estatuto social, nomeadamente a relação de causa-efeito entre o estatuto social nos machos e os níveis de esteróides sexuais, i.e. androgénios e progestogénios, e sua modulação pelo contexto social, através do doseamento das hormonas na urina por radio-imunoensaios (RIA), e a metabolização neural dos androgénios.

No estudo de curto-prazo, após 8 dias de isolamento social nenhum dos esteróides estudados (i.e. testosterona, 11-cetotestosterona, 17,20α-P, e 17,20β-P) era bom preditor da dominância social desenvolvida após a subsequente formação dos grupos de machos. Um dia após a formação dos grupos os índices de dominância são já bons preditores das concentrações urinárias de todos os esteróides sexuais. Assim, as interacções sociais têm um efeito importante de curto-prazo na modulação das concentrações dos esteróides sexuais em *O. mossambicus*. Os índices de dominância e as concentrações de androgénios, medidos após a formação dos grupos só de machos, estão correlacionados positivamente com a territorialidade, a taxa de cortes, e as dimensões dos ninhos. Foram detectadas relações semelhantes para os progestogénios, com a excepção de que a 17,20β-P e a taxa de cortes não se encontram correlacionadas. A formação dos grupos só de machos foi acompanhada de um aumento das concentrações urinárias dos esteróides sexuais em machos territoriais e um decréscimo em machos não-territoriais, com excepção para a testosterona, que aumenta em ambos os grupos. A introdução de fêmeas ovuladas nos grupos causou um retorno das concentrações de esteróides para níveis próximos dos do isolamento social, excepto para 17,20α-P que apresenta um grande incremento nos indivíduos territoriais. É discutido o possível papel de cada um dos esteróides.

Foi também desenvolvido um ensaio radiométrico para a quantificação da actividade da aromatase, que controla a metabolização de androgénios em estrogénios. Investigou-se a distribuição neuroquímica da aromatase no sistema nervoso central e as suas eventuais relações com o comportamento sexual masculino e com o estatuto social. Não foram detectadas relações entre a actividade deste enzima e o estatuto social. No entanto, existem diferenças significativas entre os dois sexos, sendo o enzima mais activo nos machos. Neuroanatomicamente o enzima apresenta uma maior actividade no tálamo e no telencéfalo, duas estruturas classicamente consideradas como estando envolvidas no controlo dos comportamentos sociais e do eixo reprodutor nos Vertebrados.

No capítulo 12 descreveu-se a existência de tácticas alternativas de acasalamento nos machos. Assim, enquanto os dominantes estabelecem territórios para os quais atraem as fêmeas, os subordinados, que não são bem sucedidos territorialmente, adoptam o comportamento das fêmeas, deixando-se cortejar e mantendo-se assim na imediação dos ninhos. Nas ocasiões em que se verificaram desovas os machos subordinados interferiram com o par tentando fertilizar alguns dos ovos da postura.

No capítulo 13 caracterizou-se o comportamento social feminino ao longo do ciclo de incubação bucal. As fêmeas não apresentam nenhuns indícios de comportamentos agressivos durante todo o ciclo excepto na fase em que incubam alevins com alimentação

exógena. Nesta fase, o padrão de coloração das fêmeas altera-se e passam a defender um espaço na sua vizinhança no qual não permitem a presença de outros indivíduos. Este espaço parece ser destinado às excursões que os alevins realizam fora da cavidade bucal materna nesta fase. Observou-se ainda que o tamanho das posturas incubadas diminui gradualmente ao longo do ciclo de incubação bucal, colocando-se a hipótese de as fêmeas praticarem canibalismo filial como um meio de viabilizarem a restante postura e de evitarem um abaixamento da sua condição física, uma vez que durante todo o ciclo se abstêm de se alimentar.

Na Parte IV os resultados são integrados numa discussão final subordinada ao tema "Uma abordagem causal e funcional do sistema de acasalamento de *Oreochromis mossambicus*" (capítulo 14). São ainda analisados alguns temas teóricos, cuja discussão se tornou pertinente no âmbito do presente trabalho, nomeadamente a selecção sexual (capítulo 15), e a evolução da 11-cetotestosterona nos Teleósteos como principal esteróide sexual masculino (capítulo 16).

SUMMARY

The aim of the present dissertation is the study of the functional and causal aspects of the social behaviour of African mouthbrooding Cichlids, focusing on the interaction between hormones and behaviour and on its functional meaning. The Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852), was chosen as the study model.

The dissertation is thus organised into two complementary parts. In the first one, the social behaviour of the study species is characterised, with stress on the dominance hierarchies and the dynamics of social interactions. In the second part, the behavioural, morpho-functional, and endocrine correlates of male social status are analysed, with special emphasis on the relationship between hormones and behaviour. Finally, data collected during the present study and suggesting the existence of male alternative reproductive tactics are presented, and the behaviour of the female during the mouthbrooding cycle is described.

A brief summary of each chapter follows.

In Part I (Chapters 1 to 4) the problem is presented, as well as a revision of the literature relevant to the present study. The social biology of African Cichlids is described, focusing on the reproductive patterns and the kinds of parental care. A synopsis of the biology of the study species is also presented, covering several aspects: systematics and zoogeography, feeding ecology, reproduction. The relationship between hormones and behaviour in Teleosts is summarised, including the following aspects: characterisation of the sex steroids; their seasonal cycles and their relationship with reproductive behaviour; the mechanisms of their action on behaviour and the bi-directional relationship between hormones and behaviour; and finally, the research methodologies in behavioural endocrinology.

In Part II (Chapter 5) the general methodology, common to the whole work is described, with data on the maintenance and breeding of the individuals in captivity and on the experimental and statistical procedures used. The present work is based on 3 studies and one aim has been to minimise the number of individuals sacrificed by maximising the information collected from the individuals in each study. In each study, observations of the behaviour of individuals kept in standardised groups were carried out (study 1: 8 heterosexual groups, with 6 individuals per group; study 2: 8 heterosexual groups, with 6 individuals each; study 3: 4 all-male groups of 4 individuals each, to which

2 ovulated females per group were added after 5 days). At the end, the individuals were sacrificed so as to obtain biological samples (e.g. gonads, encephalon, biometric measurements), except for the short-term study (study 3), in which urine samples were used to assay the sex steroids, and the sacrifice of the individuals was avoided.

In Part III (Chapters 6 to 13) the results of these studies are presented.

In Chapter 6 the elementary behavioural and colour patterns are enumerated and described, so as to characterise the behavioural repertoire of the species. The adaptive function of nest building and defence by the males in female-mouthbrooding species is discussed and the possible evolution of the submission postures and their design in Cichlids is analysed.

In Chapter 7 the social structure of the captive groups (study 1) was characterised. The dominance hierarchies were found to be linear and semi-despotic (α individuals participated in more than half of the group interactions). Size and sex were important factors in determining the outcome of agonistic interactions: the α individuals were males and the largest members of their groups. Though the fish had been raised together for a long period, agonistic interactions involving high intensity aggression were common, which indicates that at this stage (sexual maturity) frequent assessment of the competitive ability of other group members is performed.

The networks of interactions within the groups were also analysed, for which purpose techniques of statistical simulation for the analysis of sociometric data were developed. Agonistic interactions are especially common among males and less frequent than expected among females and between males and females. Ω individuals participated in fewer agonistic encounters than expected. With respect to rank distance, hierarchical neighbours were involved in fewer interactions than expected except for symmetrical interactions, which made up a low proportion of the total number of interactions. This finding is contrary to expectations, but maybe explained by the fact that aggression is initiated by dominants presumably to maintain their status against individuals that are clearly subordinates. It was found that a single dominance index, victories / (victories + defeats), was a very good predictor of the positions of the individuals in their groups' rank order. It is argued that in species where agonistic interactions are not controlled by processes involving complex cognitive operations, this index may be a biologically realistic indicator of aggressive motivation.

In Chapter 8 the dynamics of the establishment of the dominance hierarchies and their stability over time were studied.

In the short-term study (7 days, study 3), during the process of group formation in males the following regular temporal sequence of predominant activities was detected: (a) mutual assessment and hierarchy formation; (b) territorial establishment and nest digging; (c) courtship. It is suggested that these results reflect the probable sequence of events during the process of lek formation in nature at the onset of each breeding period.

From the long-term study (8 weeks, study 2) it was concluded that although most dominance structures were linear, they were unstable from week to week. That is, although linear structures succeed in time the individuals change their relative hierarchical ranks. The stability of the hierarchical positions is higher in dominant individuals, which were less likely to experience rank reversals than subordinates. Rank reversals were specially likely among hierarchical neighbours. Dominance hierarchies did not stabilise in the time span of this study.

In Chapter 9 the relationship between the social status and a set of behavioural variables, including territoriality, colour patterns, access to females, construction and maintenance of the nests, agonistic behaviours and sexual behaviours, was evaluated. The dominant individuals show a darker colouration of the body, have priority in establishing the territories, build larger nests and monopolise the access to females in their groups. The data support the hypothesis that the dominant individuals are the ones which invest most in agonistic behaviours, and this investment gives them the benefit of a better access to females according to the following behavioural cascade: social dominance $\rightarrow$ establishment of a territory $\rightarrow$ nest building $\rightarrow$ access to females.

Chapter 10 investigated the relationships between the social status and a set of morpho-physiological characters, namely biometric measurements (e.g. length, weight, fin size, etc.), indicators of sexual maturity (e.g. gonado-somatic index), bioenergetic conditions (hepato-somatic index and condition factor) and androgen levels (swelling of the genital papilla).

For a correct evaluation of the biometric variables a study on the allometry and sexual dimorphism of external morphology of the species was first carried out, and two sexually dimorphic morphological complexes were detected: height of the anal and dorsal fins; sharpened snouts and robust jaws in the males. It was suggested that these morphological characters may have evolved by sexual selection, as they provide a phenotypical advantage in terms of territorial defence and mate choice by the females. After these morphological complexes were identified, their expression in males of different social status was assessed. It was shown that dominants present an exaggeration of these characters. As these individuals also have swollen genital papilla's, which were used as indicators of androgen levels, it was hypothesised that the social dominance may

enhance the expression of sexually dimorphic characters by increasing the circulating levels of androgens.

It was also shown that the dominant individuals have higher gonado-somatic indexes than the subordinates, and that these two classes do not differ in the bioenergetic variables. It was also observed that the dominants have the sonic apparatus (i.e. pharyngeal plate and sonic muscles) more developed than the subordinates, which may indicate an important role for sound production in the establishment of dominance relationships.

In Chapter 11 the endocrine correlates of social status were studied, namely the cause-effect relationship between the social status in males and the levels of sexual steroids, i.e. androgens and progestogens, and their modulation by the social context. For this purpose the hormone levels were quantified by radioimmunoassay (RIA).

In the short-term study, after 8 days of isolation none of the steroids (i.e. testosterone, 11-ketotestosterone, 17,20α-P, and 17,20β-P) were good predictors of social dominance developed after subsequent formation of all-male groups. One day after group formation, dominance indexes were good predictors of the urine concentrations of all sex steroids. Thus, social interactions have an important short-term modulatory effect on sex steroid concentrations in *O. mossambicus*. Dominance indexes and androgen concentrations, measured after all-male group formation, were positively correlated with territoriality, courtship rate and nest size. Similar relationships were found for progestins, with the exception that 17,20β-P and courtship rate were not correlated. All-male group formation was also accompanied by an increase in urinary sex steroid concentrations in territorial and a decrease in non-territorial fish, with the exception of testosterone which increased in both groups. Addition of ovulating females caused steroid concentrations to return to levels near to isolation, except for 17,20α-P in territorial fish, which underwent a large increase. The possible role of the individual steroids is discussed.

A radiometric assay for the quantification of the activity of the aromatase enzyme, which controls the metabolization of androgens into estrogens, was also developed. The neurochemical distribution of aromatase in the central nervous system, and its eventual relationships with male sexual behaviour and the social status was investigated. No relationship was detected between the activity of this enzyme and social status. However, there are differences in the aromatase activity between the sexes with the enzyme being more active in the males. Neuroanatomically the enzyme is located in the thalamus, and in the telencephalon, two areas that classically considered to be involved in the control of social behaviours and in the reproductive axis in Vertebrates.

Chapter 12 described the existence of alternative mating tactics in males. Thus, while the dominant fish establish territories to which they attract the females, the subordinates, which fail to establish and keep a territory, adopt the female behaviour and they allow themselves be courted by the territorials and in this way they have access to the nests. In the observed spawnings the subordinated males interfered with the pair and tried to fertilise some of the eggs in the brood.

In Chapter 13 the female social behaviour throughout the mouthbrooding cycle was characterised. The females do not show any signs of aggressive behaviour during an entire cycle except in a phase when they are brooding fry with exogenous feeding. In this phase, the females' colouration pattern changes and they start to defend an area in their neighbourhood, in which they do not allow the presence of other individuals. This space seems to be defended for the feeding excursions that the fry make out the mothers' mouth during this phase.

It was also observed that the size of the brood decreases gradually over the mouthbrooding cycle, which suggests the hypothesis that the females are practising filial cannibalism as a way to sustain the rest of the brood and of avoiding a depletion of their physical condition, as they restrain from eating during the whole brooding cycle.

In Part IV the results are integrated in a final discussion on the subject: "A causal and functional approach of the mating system of *Oreochromis mossambicus*" (Chapter 14). Some theoretical aspects are also analysed, since they are relevant to the present work, namely sexual selection (Chapter 15) and the evolution of 11-ketotestosterone as the main male sex steroid in Teleosts (Chapter 16).

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação é o resultado de cinco anos (1991/95) de trabalho, pelo que são inúmeros os apoios e os estímulos de diversas pessoas e entidades. A todos os que aqui não refiro nominalmente queria expressar os meus sinceros agradecimentos.

A Junta Nacional de Investigação Científica através de uma bolsa de estudo do Programa Ciência (BD/1032/90-IG) viabilizou economicamente a persecução do projecto de investigação subjacente à presente dissertação. Sem este apoio dificilmente a presente obra teria sido realizada.

Entre as pessoas e as instituições que ajudaram a tornar realidade o presente trabalho, e às quais gostaria de expressar a minha gratidão, destacam-se os seguintes:

- Ao Prof. Dr. Vitor Almada (Instituto Superior de Psicologia Aplicada) está ligada toda a minha actividade científica. Como orientador da presente dissertação, fico-lhe a dever o encorajamento e a confiança transmitidos durante a escrita do presente trabalho, bem como a revisão crítica e exaustiva dos textos. No entanto, o seu contributo é de uma dimensão muito superior. Foi ele que me guiou nos meus primeiros passos na Etologia, numa altura em que esta disciplina ainda não era comum nos meios académicos nacionais, e foi ele que me ensinou a ver os porquês das coisas com um espírito crítico e com uma simplicidade de raciocínio pouco comuns. A sua influência em muito ultrapassa a mera formação científica, e tudo o que de mérito se possa encontrar no presente trabalho é, sem dúvida, fruto dos seus ensinamentos.

- Ao Prof. Dr. Pedro Ré (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa), que aceitou a co-orientação da presente dissertação, fico a dever a viabilização logística de grande parte dos estudos empíricos levados a cabo no Laboratório Marítimo da Guia. A sua orientação, entusiasmo e amizade permanentes ao longo deste trabalho em muito contribuíram para o levar a bom termo.

- Ao Prof. Dr. Luiz Saldanha (Director do Laboratório Marítimo da Guia) por ter aberto as portas do Laboratório Marítimo da Guia à Etologia, e por toda a amizade e todo o interesse demonstrados pelo presente trabalho.

- Ao Prof. Dr. Adelino Canário (Unidade de Ciências e Tecnologias dos Recursos Aquáticos da Universidade do Algarve) que desinteressadamente me recebeu de braços abertos na Universidade do Algarve e que me conduziu pelos meandros das técnicas de radio-imunoensaios e dos ensaios radiométricos de esteróides. A ele fico a dever toda a minha formação prática em Endocrinologia.

- Ao Prof. Dr. Luis Vicente (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa) cuja influência, como meu professor durante os idos tempos da Licenciatura, marcou profundamente as minhas opções num período decisivo do meu percurso académico. Ele, juntamente com o Prof. Dr. Vitor Almada, são a prova viva de que "um professor nunca pode dizer onde acaba a sua influência" (Henry Adams *in* S.J. Gould).

- Ao Prof. Dr. Frederico Pereira (Director do Instituto Superior de Psicologia Aplicada) por ter aberto as portas do ISPA à Etologia e por ter apostado na investigação científica num instituto de Ensino Superior particular. A presente dissertação é em grande medida o resultado dessa semente lançada há alguns anos atrás.

- Ao Prof. Dr. Eduardo Crespo (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa) pelo interesse que sempre demonstrou por este trabalho, bem como pelo apoio prestado na manutenção de amostras destinadas à Histoquímica.

- À Prof. Dr. Teresa Avelar (Instituto Superior de Psicologia Aplicada), que pacientemente reviu o manuscrito aqui apresentado, e com a qual discuti alguns problemas de Selecção Sexual que me têm vindo a intrigar, e que mereceram que lhes dedicasse um capítulo inteiro na Discussão do presente trabalho.

- Ao Prof. Dr. António Bracinha Vieira (Presidente da Sociedade Portuguesa de Etologia), pela amizade e pelo interesse constante pelo presente estudo. O seu papel à frente da SPE tem sido decisivo para o desenvolvimento desta disciplina entre nós, e este estudo é mais uma prova disso.

- Ao Prof. Dr. Lev Fishelson (Tel-Aviv University), com o qual tive inúmeras discussões, pelos seus conselhos e sugestões durante as várias fases do trabalho. Os seus conhecimentos enciclopédicos sobre as Tilápias foram uma fonte de inspiração para a presente obra.

- Ao Prof. Dr. Robert Patzner (Institut für Zoologie, Universität Salzburg) pelo seu apoio e ensinamentos no campo da Histoquímica, bem como pela sua hospitalidade durante a minha permanência no seu laboratório no qual realizei um estágio, no âmbito do presente trabalho, sobre a localização histoquímica de esteróides.

- Ao Prof. Dr. Hans Adam (Director do Institut für Zoologie, Universität Salzburg) pela simpatia com que me recebeu em Salzburgo, bem como por todas as facilidades que colocou à minha disposição durante a minha estadia no seu Instituto.

- À Dr. Barbara Loidl e ao Dr. Franz Lahnsteiner, ambos da Universidade de Salzburgo, devo a minha iniciação nas técnicas de corte e de coloração em Histoquímica.

- Ao Dr. José Feijó (Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências de Lisboa) pelos conselhos e pela ajuda prestada na montagem do "set-up" destinado à ultra-congelação em propano líquido das amostras destinadas à Histoquímica.

- Aos meus colegas da Unidade de Investigação em Eco-Etologia (Instituto Superior de Psicologia Aplicada), Dr. Emanuel Gonçalves, Dr. Manuel Eduardo dos Santos e Prof. Dr. António José dos Santos, pela amizade e pelo interesse constante por este trabalho. Ao Emanuel tenho ainda que agradecer toda a entreajuda durante o nosso percurso comum, desde que ambos embarcámos nesta aventura da Etologia dos Peixes, com as primeiras "expedições" à Arrábida para observar em Mergulho o comportamento dos Cabozes, em meses de Inverno e sem barco. É a amizade que faz esta aventura valer a pena.

- Durante os estudos levados a cabo no Laboratório Marítimo da Guia, foi necessária a colaboração de inúmeros pessoas para tarefas tão simples como a recolha de amostras de urina, ou a captura de indivíduos específicos em tanques com dezenas de peixes, ou ainda, para a alimentação diária dos animais. Pela voluntariosa participação nestas tarefas tenho que agradecer a um conjunto de pessoas que "habitavam" no laboratório no anos idos de 1992/93: Dr. Ana Maria Passos, Dr. Fátima Cairrão, Dr. Luís Narciso, Dr. Pedro Fidalgo e Costa, Dr. Diana Boaventura, Dr. Rita Borges, Dr. Claúdia Matos Júlio, Dr. Marco Aurélio e Milton Alfredo.

- Ao Dr. João Gil (Laboratório Marítimo da Guia) que desenhou as ilustrações que tornam menos maçudas as descrições do etograma (capítulo 6).

- Ao Dr. Pedro Pereira (Laboratório Marítimo da Guia) que colaborou com discussões interessantes sobre análise multivariada de dados, e com ele desenvolvi também um sistema para a análise tridimensional de trajectórias de peixes em aquários, recorrendo a imagens gravadas em vídeo.

- Ao Prof. Dr. Orlando Luís (Laboratório Marítimo da Guia) por ter disponibilizado os meios logísticos necessários para que a colheita e manutenção de amostras biológicas pudesse ter sido levada a bom termo no Laboratório Marítimo da Guia.

- Ao Carlos Pratas e ao Rui Quelhas (Direcção do Instituto Superior de Psicologia Aplicada) pelos quebra-cabeças que tiveram de resolver e que resultaram da instalação de um laboratório de Etologia, com a inerente manutenção de animais (i.e. peixes) vivos, num Instituto até então apenas dedicado ao estudo da Psicologia Humana.

- Durante a minha estadia na Universidade do Algarve foi inestimável a ajuda de várias pessoas no dia a dia laboratorial; entre elas gostaria de salientar o apoio de: Dr. Teresa Modesto, Dr. João Condeça, Dr. Paulo Vília, Dr. Elsa Rodrigues, Dr. Lília Franco e a Prof. Dr. Deborah Power.

- À Sociedade Portuguesa de Etologia que constituí actualmente um *forum* de debate de ideias na área do comportamento animal, e no âmbito da qual participei em inúmeras discussões científicas, que se revelaram úteis para o presente trabalho, com outros colegas: Dr. Paulo Gama (Universidade de Coimbra), Dr. Manuel Eduardo dos Santos (Instituto Superior de Psicologia Aplicada), Prof. Dr. Ricardo Serrão Santos (Universidade dos Açores), Dr. Octávio Paulo (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa). Este espírito de corpo da nova geração de etólogos transbordou para fora das fronteiras da Sociedade e as discussões estenderam-se a colegas emigrados: Dr. Raquel Freudenthal (Universidade de Sheffield), Dr. Eduardo Barata (Universidade de Tornheim), Dr. José Pedro Tavares (Universidade de Nottingham) e Dr. Clara Amorim (Universidade de Aberdeen). O contacto mais ou menos frequente com estes colegas dão mais sentido ao rigor do dia a dia de investigação.

- À Association for the Study of Animal Behaviour (ASAB), à Fisheries Society of the British Isles (FSBI), e à Fundação Calouste Gulbenkian, queria agradecer a comparticipação financeira em diversas deslocações a congressos internacionais no estrangeiro, que me permitiram apresenta e discutir com especialistas alguns dos resultados do trabalho.

- Aos alunos dos cursos de mestrado em Etologia (1993/94; 1994/95; 1995/96) do Instituto Superior de Psicologia Aplicada, nos quais leccionei nas aulas práticas de Métodos de Investigação em Etologia, que me ensinaram muitas coisas que eu julgava já saber.

- Finalmente, queria expressar a minha gratidão e o meu carinho aos meus Pais e à Xana, pela paciência e pela compreensão com que conviveram no dia a dia com as Tilápias durante estes últimos anos. Ao seu apoio se deve a concretização atempada da presente dissertação.

"O estudo do comportamento é único no seu género ao permitir e promover conexões entre diferentes níveis de organização biológica. Qualquer um que tenha estudado temas contemporâneos de comportamento sabe que nenhum estudo bem sucedido pode ser realizado sem se trabalhar através dos níveis múltiplos de organização. O comportamento do organismo encontra-se na interface entre o conjunto de processos internos, fisiológicos e psicológicos, que dão origem a acções particulares e o conjunto de consequências ecológicas e evolutivas das acções individuais. A principal força que estabelece a ligação entre o domínio interno das causas e o domínio externo das consequências é a selecção natural."

In Leslie Real, 1994

PARTE I

APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E REVISÃO DA LITERATURA

1.
INTRODUÇÃO GERAL E OBJECTIVOS

1.1. INTRODUÇÃO

Os Ciclídeos africanos apresentam uma grande variedade de sistemas sociais entre os quais se destaca a existência de espécies em que os machos se concentram em agregados reprodutores nos quais estabelecem territórios, que as fêmeas visitam durante o acasalamento, procedendo as fêmeas de seguida à incubação bucal dos ovos e larvas fora da colónia reprodutora. Este tipo de organização social (*i.e.* a existência de uma área de acasalamento na qual se agregam os machos), que tem paralelo nos sistemas de "lekking" de algumas Aves e Mamíferos (Loiselle e Barlow, 1978), envolve a evolução, no caso dos Ciclídeos, de uma série de traços que em conjunto foram já diagnosticados como um síndroma evolutivo, e que consiste na ocorrência de dimorfismo e dicromatismo sexual, poligamia, reprodução em arenas, incubação bucal materna, e libertação dos alevins em áreas separadas dos substratos de postura ("nurseries" ou creches) (Trewavas, 1983). A existência de incubação bucal materna é um traço comportamental pouco comum entre os Teleósteos nos quais os cuidados parentais paternos são os mais comuns (Almada, 1990). O estudo destas estruturas sociais segundo as diferentes perspectivas da etologia moderna (*i.e.* funcional, evolutiva, causal e ontogenética, Tinbergen, 1963, Hinde, 1982), parece ser uma área de investigação bastante frutuosa, tanto mais que os Ciclídeos africanos constituem um grupo animal que apresenta uma grande radiação evolutiva, à qual este tipo de organização social deverá provavelmente estar ligado. O interesse deste tipo de estudos é redobrado pelas suas potenciais aplicações na cultura e na conservação de espécies, uma vez que muitos dos Ciclídeos africanos possuem interesse económico e outros enfrentam graves problemas de conservação encontrando-se seriamente ameaçados (*e.g.* Haplocromíneos do lago Vitoria, Barel *et al.*, 1991).

Assim, para além do interesse científico, o estudo da etologia da reprodução das Tilápias, no qual o presente trabalho em *Oreochromis mossambicus* se insere, fornece dados cuja aplicação prática parece ser indiscutível em pelo menos estas duas áreas:

(a) Aquacultura - Devido ao seu interesse económico, os resultados das investigações sobre a organização social e a etologia da reprodução das Tilápias tem aplicações imediatas em aquacultura, quer no cruzamento de espécies para a obtenção de híbridos mais rentáveis, quer no planeamento das explorações e melhoria das condições de manutenção dos animais. Cerca de 95% da produção em aquacultura de

Tilápias é relativa ao género *Oreochromis* (Pullin e Maclean, 1992), pelo que os conhecimentos obtidos neste género se tornam ainda mais relevantes.

(a1) Manutenção e reprodução em cativeiro. Um exemplo clássico de como a organização social das espécies pode afectar as práticas de aquacultura é-nos fornecido pelo trabalho de Fishelson (1983) sobre os sistemas de acasalamento de algumas espécies de Tilápia com interesse económico. *Tilapia zillii* e *Sarotherodon galilaeus* são ambas espécies monogâmicas. No entanto os pares reprodutores de *T. zillii* incubam no substrato no qual estabelecem um território de reprodução do qual todos os conspecíficos são excluídos. Em *S. galilaeus* o par nada em conjunto e a incubação é oral e praticada por ambos os sexos, que se separam após a postura, não existindo nesta espécie o estabelecimento de um território reprodutor com consequente exclusão de conspecíficos. Assim, e apesar das espécies atingirem tamanhos semelhantes, é possível obter maiores densidades em culturas extensivas de *S. galilaeus* do que em *T. zillii* (*e.g.* em tanques 1 par de *T. zillii* requer *ca.* 400 litros e 2 pares *ca.* 700 litros, Fishelson, 1983). Em *Oreochromis niloticus*, embora exista também o estabelecimento de territórios reprodutores, estes são exclusivos dos machos e ocorrem em colónias das quais as fêmeas são excluídas e que apenas visitam no momento da postura, retirando-se de seguida com os ovos na boca. A existência de hierarquias de dominância nas colónias dos machos, nas quais os territórios são contíguos, e nos quais não se dá a incubação dos ovos, permite também aumentar as densidades, pois as posições relativas dos indivíduos são rapidamente estabelecidas e as lutas são ritualizadas (Fishelson, 1983). Falter e De Backer (1988) descrevem ainda para *O. niloticus* a passagem de um comportamento territorial a baixas densidades para um comportamento gregário a altas densidades, sendo os indivíduos mantidos em altas densidades menos agressivos e sexualmente inactivos quando expostos a estímulos específicos.

Outro exemplo das implicações da organização social e da etologia da reprodução para a aquacultura consiste no desenho de tanques de reprodução. Em incubadores bucais, que estabelecem pares territoriais, apenas se deve estabular o número de pares correspondente ao espaço disponível de acordo com as informações existentes sobre as dimensões médias dos territórios. Em incubadores orais com arenas reprodutoras, devem-se planear tanques de reprodução com três áreas distintas: (i) uma zona de substrato móvel, areia ou cascalho, sem vegetação e com uma profundidade baixa (*ca.* 1 m), na qual os machos possam estabelecer os seus territórios, formando a arena. Pode-se introduzir um número de machos excedentários de forma a que exista uma forte competição pelos territórios na arena, assegurando que os machos territoriais são sempre os mais motivados; (ii) uma zona com vegetação

densa para servir de refúgio às fêmeas durante os ciclos de incubação bucal; (iii) uma zona de muito baixa profundidade (*ca.* 10-20 cm) para servir de creche ("nursery") aos alevins os quais podem depois ser capturados para serem transferidos para tanques de crescimento com separação dos sexos (Philippart e Ruwet, 1982).

(a2) Hibridação. Para além do seu interesse fundamental para o conhecimento dos mecanismos de determinação do sexo (Kornfield, 1984) e para os problemas de evolução nos Ciclídeos (Crapon de Caprona e Fritzsch, 1984; Crapon de Caprona, 1986), os estudos de hibridação têm tido uma aplicação prática na piscicultura de Tilápias. Em stocks bissexuais de grandes densidades, os indivíduos atingem a maturidade sexual com dimensões pequenas em detrimento do crescimento, podendo este fenómeno comprometer o valor económico dos espécimens. A superpopulação, com a consequente co-ocorrência de nanismo, resulta do facto de em stocks bissexuais a reprodução ser incontrolável. Por outro lado, em culturas monosexuais, os machos apresentam taxas de crescimento muito superiores às das fêmeas. Várias soluções têm sido testadas para resolver este problema. A mais trabalhosa e menos fiável é a separação dos sexos ainda na fase juvenil, o que é dificultado pela quase inexistência de dimorfismo sexual nesta fase. Outra solução é recorrer à reversão sexual dos indivíduos através da administração de esteróides sexuais durante períodos críticos do desenvolvimento (Hunter e Donaldson, 1983). Alternativamente tem-se recorrido à hibridação de espécies com vista à obtenção de híbridos monosexuais (Lovshin, 1982; Schwartz, 1983). Actualmente a hibridização é já praticada à escala comercial para alguns híbridos (*e.g.* Israel: *O. niloticus* x *O. aureus*, Taiwan: *O.mossambicus* x *O. niloticus*, Brasil: *O. niloticus* x *O. hornorum*, Lovshin, 1982). As práticas de hibridação requerem um conhecimento aprofundado do comportamento reprodutor das espécies, sendo este um campo fecundo da etologia aplicada à reprodução nos Ciclídeos (N'Gokaka, 1983; Fishelson, 1988; Falter e Charlier, 1989; Falter e Dolisy, 1989), embora a recente introdução de práticas de fertilização artificial venha ajudar a ultrapassar os problemas de incompatibilidade comportamental.

(b) Controlo biológico de pragas - Para além do seu potencial para a aquacultura, as Tilápias têm sido também utilizadas no controlo biológico de pragas. O caso mais conhecido é o da utilização de *O. mossambicus* no controlo da malária em Djakarta, uma vez que esta espécie se alimenta de algas filamentosas que se encontram na superfície das massas de água e que constituem os locais de postura do mosquito vector da malária, *Anopheles ludlowi* (Hofstede e Botke, 1950). Mais recentemente *T. zilli*, *O. mossambicus* e *O. hornorum* foram introduzidos em vários canais de irrigação de sistemas hídricos da Califórnia do Sul como forma de controlo biológico de plantas

infestantes aquáticas, cujo crescimento requeria uma manutenção contínua e dispendiosa destes canais, os quais se estendem por cerca de 7 500 Km (Legner, 1983). Paralelamente resultou desta introdução um controlo das populações de vários insectos que utilizam o meio aquático durante o seu ciclo de vida (*e.g.* mosquitos e melgas, Legner e Medved, 1973) incluindo o vector da encefalite equina (*i.e. Culex tarsalis*, Legner e Pelsue, 1977).

(c) Conservação - Os peixes Ciclídeos constituem uma das famílias de vertebrados com o maior número de espécies em risco de extinção (*ca.* 21 %; 272 espécies de África e da América do Sul incluídas na "Red List of Threatened Animals", IUCN, 1988, numa família com *ca.* 1300 espécies segundo Nelson, 1994) tendo-se verificado recentemente o declínio de populações e mesmo a extinção de algumas espécies nos Grandes Lagos Africanos (*e.g.* Haplocromíneos do lago Vitoria, Barel *et al.*, 1991; Witte *et al.*, 1992). Este cenário levou à criação de programas internacionais de reprodução de espécies ameaçadas em cativeiro para posteriores reintroduções nos seus habitats naturais após o controlo das causas de extinção (Greenwood *et al.*, 1989; Ribbink e Twentyman-Jones, 1989; Reid, 1990). As Tilápias, ao possuírem os diferentes modos de reprodução que ocorrem entre os Ciclídeos (ver capítulo 2), e sendo bastante robustas e fáceis de manter e reproduzir em cativeiro, fornecem um modelo para o estudo de aspectos particulares da biologia da reprodução que posteriormente podem vir a ser aplicados às espécies ameaçadas, com as quais, por motivos logísticos (*i.e.* baixo número de efectivos, difícil manutenção em cativeiro), muitas vezes não é possível trabalhar. No caso das espécies de *Oreochromis*, incluindo *O. mossambicus*, a sua utilização como modelo para a reprodução de espécies ameaçadas é ainda mais relevante uma vez que grande parte da fauna de Ciclídeos africanos dos Grandes Lagos praticam também incubação bucal materna associada à existência de colónias reprodutoras (*e.g.* lago Malawi: Trewavas, 1935; Fryer, 1959; lago Tanganyika: Konings, 1988; lago Vitoria: Greenwood, 1981).

Com a presente dissertação, pretende-se estudar os aspectos funcionais e causais envolvidos no comportamento social dos Ciclídeos africanos incubadores bucais, sobretudo no que diz respeito às interacções entre as hormonas e o comportamento e ao seu significado funcional, tendo sido escolhida como modelo de estudo a Tilápia de Moçambique *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) pelas razões abaixo expostas:

(a) *O. mossambicus* é uma espécie robusta de fácil manutenção e reprodução em cativeiro.

(b) Existe uma literatura bastante vasta sobre diferentes aspectos da biologia fundamental de *O. mossambicus*, estando os estudos de base sobre o seu comportamento e a sua biologia da reprodução já realizados (Thys van den Audenaerde, 1968; Pullin e Lowe-McConnell, 1982; Fishelson e Yaron, 1983; Trewavas, 1983; Pullin *et al.*, 1988; ver capítulo 3), o que permite explorar aspectos mais específicos da sua biologia.

(c) *O. mossambicus* é uma espécie com interesse económico para a piscicultura (Pullin, 1983, 1991). As razões para o sucesso das espécies do género *Oreochromis* em geral e de *O. mossambicus* em particular, nas explorações de aquacultura são as seguintes:

(i) a versatilidade da alimentação, que pode variar entre a herbívoria e a detritivoria, podendo mesmo consumir peixes de pequenas dimensões (*e.g. Gambusia* sp. de 3-4cm em pequenos lagos no Hawaii, Neil, 1966), e a fácil adaptação às rações comerciais (Pullin, 1991);

(ii) facilidade da reprodução em cativeiro (Pullin, 1991);

(iii) taxas de crescimento bastante rápidas, sendo *O. niloticus*, *O. mossambicus* e *O. aureus* as espécies com maior potencial (Pauly *et al.*, 1988); no entanto, problemas de nanismo e de menores taxas de crescimento têm levado a que *O. mossambicus* tenha vindo a ser preterida em favor de *O. niloticus* e de *O. aureus* nas pisciculturas, embora *O. mossambicus* ainda continue a ser uma das principais espécies cultivadas no continente africano (*e.g.* Moçambique, Pullin, 1991);

(iv) fácil adaptação a águas salobras ou mesmos salgadas, existindo actualmente explorações de aquacultura em ambientes estuarinos e marinhos (Payne, 1983).

1.2. OBJECTIVOS

O principal objectivo da presente dissertação é o estudo das inter-relações entre as hormonas e o comportamento, no contexto do sistema de organização social de um Ciclídeo reprodutor de arena, com todas as características associadas (*i.e.* dimorfismo e dicromatismo sexual, reprodução em "leks", incubação bucal materna, poligamia, omissão da fase larvar, ovos grandes e reservas que sustentam o desenvolvimento do embrião até fases muito avançadas), nomeadamente no que diz respeito às relações de causa-efeito entre os esteróides sexuais e o comportamento reprodutor e ao mecanismo hormonal de indução dos comportamentos sexuais. A este respeito merece particular atenção a avaliação do papel da aromatização neural dos

androgénios em estrogénios na activação do comportamento reprodutor dos machos, uma vez que este mecanismo está envolvido na activação dos comportamentos sexuais nos machos de Aves e Mamíferos (Balthazart, 1992). Para que estes objectivos possam ser atingidos, é necessário proceder a uma caracterização cuidada do comportamento social da espécie nas suas múltiplas facetas, *i.e.* territorialidade e hierarquias de dominância nos machos, tácticas alternativas de reprodução, incubação bucal das fêmeas.

Nesta perspectiva, a presente dissertação apresenta-se sub-dividida em duas fases complementares: na primeira procede-se à caracterização do comportamento social da espécie em estudo e na segunda exploram-se as inter-relações entre as hormonas e o comportamento.

Para estas partes foram estabelecidos os seguintes objectivos parcelares:

1ª Fase - Caracterização do comportamento social:

- Proceder à inventariação e descrição dos padrões elementares de comportamento e de coloração, como forma de caracterizar o repertório comportamental da espécie.

- Estudo da dinâmica do estabelecimento das hierarquias de dominância, e sua estabilidade ao longo do tempo, e caracterização de traços comportamentais correlacionados com a dominância social. Investigar a relação entre a dominância social e as oportunidades de corte.

- Caracterizar o comportamento das fêmeas ao longo do ciclo de incubação bucal.

- Estudar a plasticidade do comportamento social da espécie, sobretudo em relação à possível existência de tácticas alternativas de reprodução em machos subordinados.

- Avaliar o impacto do estatuto social na diferenciação de características sexualmente dimórficas e na maturação sexual e potencial mediação hormonal destes efeitos. Para cumprir este objectivo, torna-se necessária uma avaliação quantitativa prévia das características sexualmente dimórficas.

2ª Fase - Inter-relação entre hormonas e comportamento social

- Estudo da relação de causa-efeito entre o estatuto social e os níveis de esteróides sexuais, *i.e.* androgénios e progestinas e sua modulação pelo contexto social.

- Avaliar a relação existente entre os diferentes esteróides sexuais e a expressão dos diferentes componentes do comportamento reprodutor da espécie, *i.e.* territorialidade, construção do ninho, cortes.

- Investigação da distribuição neuroquímica da aromatase no sistema nervoso central e eventuais relações com o comportamento sexual masculino e com o estatuto social.

1.3. PLANO DA OBRA

A presente dissertação encontra-se organizada em 4 grandes partes.

Na primeira parte procede-se à apresentação do problema em estudo e à revisão da literatura mais relevante. Neste âmbito insere-se o presente capítulo, no qual foi apresentado o problema e foram estabelecidos os objectivos, bem como os três capítulos que se seguem e nos quais se procede respectivamente a uma revisão da literatura sobre a biologia social dos Ciclídeos africanos, a uma sinopse dos dados disponíveis sobre a biologia da espécie em estudo e finalmente à introdução ao corpo conceptual de dados disponíveis na literatura referentes à inter-relação entre as hormonas e o comportamento.

Na segunda parte expõe-se a metodologia geral utilizada nos trabalhos conducentes à presente dissertação. Devido à especificidade das metodologias e técnicas utilizadas em cada um dos capítulos de resultados, optou-se por escrever secções de material e métodos enquadradas em cada um deles. Esta segunda parte é assim constituída por um único capítulo de material e métodos com vista à descrição das condições de manutenção e reprodução dos animais em cativeiro e dos procedimentos experimentais comuns a todo o trabalho, bem como para a descrição das estratégias de análise de dados e respectivos procedimentos estatísticos.

A terceira parte constitui a coluna vertebral desta obra, uma vez que é nela que são apresentados os resultados dos trabalhos realizados. Esta parte encontra-se sub-dividida em 8 capítulos, cada um deles organizado em 4 secções: introdução, métodos, resultados e discussão. Pretendeu-se com isto, que o leitor tivesse toda a informação respeitante a um determinado assunto disponível no mesmo capítulo, podendo cada um destes capítulos funcionar como uma unidade autónoma em termos de leitura.

Finalmente, na quarta parte procede-se à integração dos resultados obtidos, expostos nos capítulos anteriores, entre si e com os dados já existentes na literatura. Esta síntese é realizada em três capítulos. Num primeiro procede-se a uma abordagem causal e funcional do sistema social de *O. mossambicus* à luz dos novos dados obtidos. Nos restantes dois discutem-se temas teóricos que foram levantados pelos trabalhos realizados.

2.
BIOLOGIA SOCIAL DOS CICLÍDEOS AFRICANOS: ETOLOGIA DA REPRODUÇÃO E CUIDADOS PARENTAIS

2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os Ciclídeos são uma família de Perciformes dulçaquícolas cuja distribuição natural engloba a América do Sul e Central, África, Madagáscar, Península Arábica, Sri-Lanka e a península do Industão no continente Asiático (Nelson, 1994). Este padrão de distribuição sugere que a família Cichlidae tenha surgido antes da separação dos fragmentos do Gondwana (Stiassny, 1991). Os primeiros fósseis conhecidos de Ciclídeos remontam ao Eoceno na América e ao Oligoceno em África (van Couvering, 1982; Stiassny, 1991), embora a sua origem se deva situar no início do Cretáceo, uma vez que os fósseis disponíveis apresentam já especializações na sua dentição, sugerindo que a diferenciação taxonómica se havia já iniciado antes da separação do Gondwana (Stiassny, 1987, 1991).

Os Ciclídeos actuais apresentam uma grande diversidade morfológica e de hábitos alimentares. Existem espécies com dietas especializadas em escamas, ovos e larvas de outros Ciclídeos, bem como espécies limpadoras, insectívoras, piscívoras, detritívoras, etc. (Fryer e Iles, 1972). No que respeita à morfologia externa, a variação também é bastante grande, podendo ir desde a forma de um peixe bêntico semelhante a um Gobídeo até ao corpo alto e comprimido de um Escalar (Fryer e Iles, 1972). É interessante verificar que, apesar da variação de tamanhos e formas, os Ciclídeos apresentam uma anatomia básica bastante conservadora, sendo praticamente todos os elementos estruturais comuns a todos os grupos. A variação de formas nos Ciclídeos parece resultar de diferenças nas taxas de crescimento relativo de diversos caracteres entre os diferentes grupos e não de inovações estruturais ou de processos de reorganização anatómica (Stiassny, 1991).

A família Cichlidae é também bastante rica na diversidade de sistemas de acasalamento e cuidados parentais que apresenta, reconhecendo-se comummente dois padrões básicos: (a) espécies monogâmicas, geralmente sem dimorfismo sexual acentuado, com uma ligação duradoura do par e com guarda e ventilação de ovos e larvas depositados no substrato (maior parte dos Ciclídeos neotropicais, *e.g. Cichlasoma* spp., Barlow, 1974a, 1991; McKaye, 1984); (b) espécies poligâmicas, sexualmente dimórficas, com poligínia e possível ocorrência de poliandria, com comportamentos de corte curtos

(*i.e.* alguns minutos a poucas horas) e com incubação bucal de ovos e larvas (*e.g.* maioria dos Ciclídeos africanos dos Grandes Lagos: Fryer e Iles, 1972; Kuwamura, 1986; Barlow, 1991).

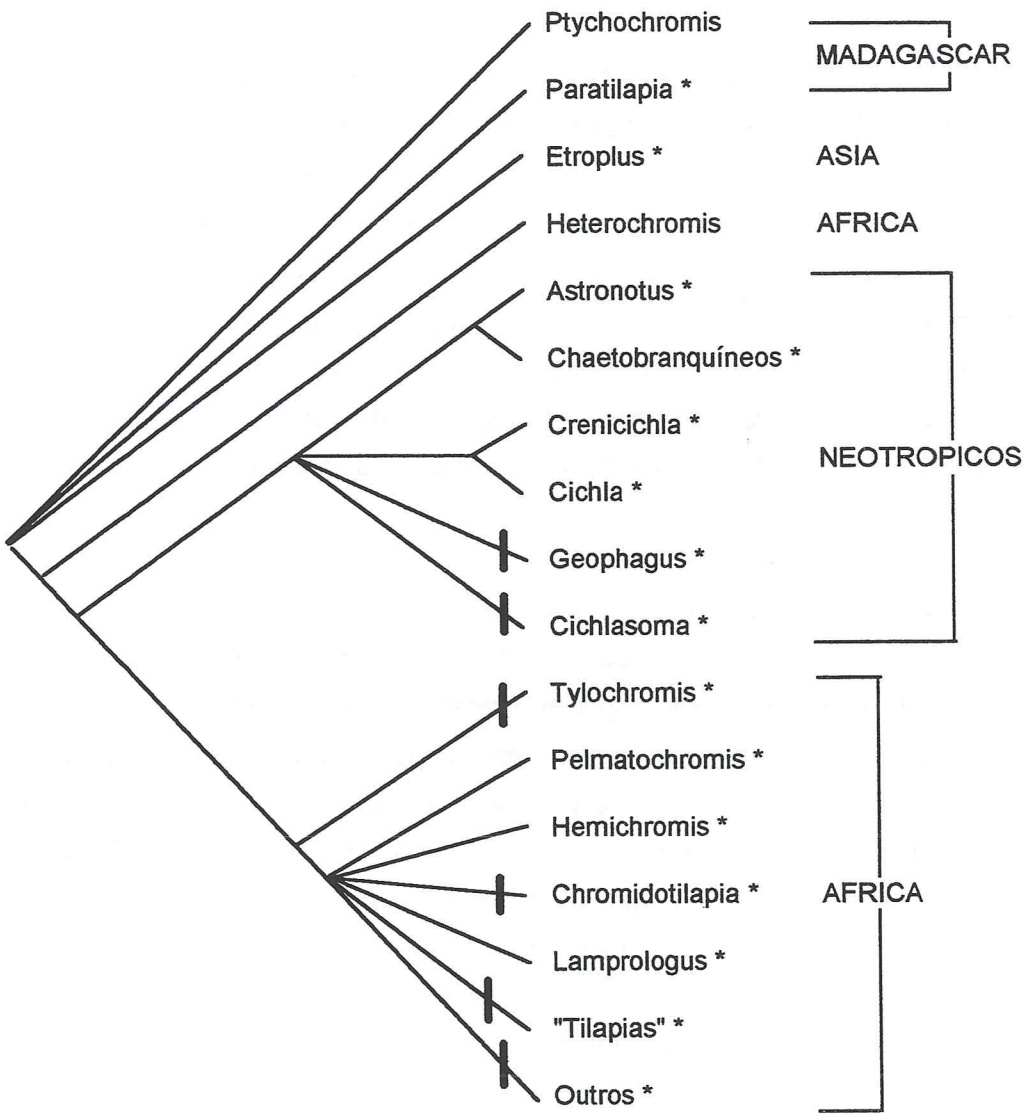


Figura 2.1. Árvore filogenética da família Cichlidae de acordo com Stiassny e Gerstner (1992). As barras negras indicam linhagens nas quais foi detectada a incubação bucal de ovos/alevins; os asteriscos assinalam a existência de literatura disponível sobre a biologia da reprodução de pelo menos um membro da linhagem.

A ocorrência dos diferentes tipos de reprodução e de cuidados parentais entre as linhagens dos Ciclídeos actuais não sugere uma sequência evolutiva bem definida, verificando-se antes um mosaico na ocorrência destes caracteres (Stiassny e Gerstner,

1992) (ver figura 2.1). Assim, a incubação bucal parece ter evoluído separadamente em diferentes grupos de Ciclídeos, a partir de hipotéticos ancestrais com incubação biparental no substrato e com manipulação bucal de ovos e/ou larvas. Verifica-se ainda que a incubação bucal se desenvolveu especialmente nos Ciclídeos africanos, embora também ocorra em algumas espécies neotropicais. Na maioria dos Ciclídeos incubadores bucais da América do sul a postura é realizada no substrato e guardada pelo par que procede de seguida à incubação bucal das larvas (*e.g. Aequidens*, *Gymnogeophagus*, *Satanoperca*, Barlow, 1991). Este modo primitivo de incubação bucal parece ter evoluído no género *Geophagus* para o qual está descrita a incubação bucal biparental dos ovos e larvas (*e.g. G. jurupari*, Reid e Atz, 1958; *G. altifrons* e *G. megasema*, comunicação pessoal de P. Loiselle *in* Barlow, 1991). A incubação bucal entre os Ciclídeos africanos é predominantemente feminina (Fryer e Iles, 1972; Kuwamura, 1986) estando apenas documentados dois casos de incubação bucal masculina neste grupo, *Sarotherodon melanotheron* e *Sarotherodon occidentalis* (Trewavas, 1983; Loiselle, 1985). Assim, uma particularidade adicional da biologia da reprodução nos Ciclídeos é a ocorrência de cuidados parentais femininos, quando a regra entre os Teleósteos é a ocorrência de cuidados parentais masculinos (Blumer, 1982; Almada, 1990), o que segundo alguns autores está relacionado com o facto de os custos em termos de fertilidade futura serem maiores para as fêmeas do que para os machos (uma vez que a fecundidade das fêmeas aumenta mais com o tamanho corporal do que o sucesso reprodutor dos machos, *e.g.* Gross e Sargent, 1985), ou com o papel epigâmico dos ovos (Almada, 1990). Encontra-se também documentada a existência de incubação feminina de ovos no substrato (*e.g. Nannacara anomala*, Kuenzer e Peters, 1974; *Herotilapia multispinosa*, *Cichlasoma panamense* e *Cichlasoma nigrofasciatum* em casos de deserção do macho: Keenleyside, 1983, Townshend e Wotton, 1985, Keenleyside *et al.*, 1990).

As várias abordagens feitas a este problema partem do pressuposto de que os cuidados biparentais são um caracter plesiomórfico na evolução dos Ciclídeos e que este evoluiu a partir de uma situação de cuidados parentais masculinos de ovos (Perrone e Zaret, 1979; Gross e Sargent, 1985). Para explicar a evolução dos cuidados parentais maternos a partir de cuidados biparentais a sequência evolutiva mais parcimoniosa é a seguinte:

(a) ligeira diferenciação dos papéis dos dois sexos;

(b) acentuada diferenciação dos papéis dos dois sexos, estando a fêmea mais envolvida no cuidado directo dos ovos e/ou larvas e os machos mais activos na guarda do território;

(c) cuidados parentais de ovos e larvas quase exclusivamente maternais, desertando o macho do par e concomitante ocorrência de poligínia (Almada, 1990; Stiassny e Gerstner, 1992).

A este respeito é interessante verificar que as espécies mais primitivas de Ciclídeos africanos de Madagáscar, são monogâmicas com incubação biparental no substrato, mas já com uma diferenciação marcada dos papéis parentais e com manipulação da postura com a boca (*e.g. Paratilapia polleni*, Stiassny e Gerstner, 1992). A diferenciação acentuada dos papéis dos dois sexos nos cuidados parentais, com a fêmea com uma função mais proeminente no cuidado directo dos ovos e/ou larvas e o macho com uma função de defesa activa da postura contra intrusos, observa-se também em linhagens distintas, tanto africanas (*e.g. Tilapia*) como neotropicais (*e.g. Pterophyllum*, *Herotilapia*, *Cichlasoma*, *Aequidens*) (Keenleyside, 1991).

Neste quadro de diversidade de modos de reprodução verifica-se que nos Ciclídeos africanos predomina a ocorrência de espécies poligâmicas com incubação bucal materna (Fryer, 1959; Fryer e Iles, 1972; Ribbink *et al.*, 1983; Kuwamura, 1986). Contudo, é possível encontrar neste grupo praticamente todas as combinações possíveis, *i.e.* incubadores bucais monogâmicos e sem dimorfismo sexual (*e.g. Sarotherodon galilaeus*), incubadores bucais monogâmicos com dicromatismo sexual (*e.g. Pelmatochromis guentheri*), incubadores bucais poligâmicos mas sem dimorfismo sexual (*e.g. Tropheus moorii*), incubadores bucais poligâmicos e sexualmente dimórficos (*e.g. Haplochromis wingatii*)(Wickler, 1966a). Também da parte dos incubadores no substrato todas as combinações possíveis destes factores são conhecidas: poligâmicos e com dicromatismo sexual (*e.g. Lamprologus congolensis*), monogâmicos e com dicromatismo sexual (*e.g. Pelmatochromis taeniatus*) e mais comummente monogâmicos e sem dimorfismo sexual (*e.g. Hemichromis fasciatus*) (Wickler, 1966a). Por fim existem espécies monogâmicas que incubam os ovos no substrato e as larvas na cavidade bucal (*e.g. P. taeniatus*, Wickler, 1966a), e ainda casos em que um dos sexos incuba os ovos até à eclosão, sendo nesta altura os embriões livres transferidos para o outro elemento do par, que incuba as larvas, seguindo-se uma fase de guarda biparental dos alevins já fora da cavidade bucal dos progenitores (*e.g. Chromidotilapia linckei*, Barlow, 1991).

Uma outra particularidade da etologia da reprodução dos peixes Ciclídeos com incubação bucal materna é a ocorrência de grandes agregações de territórios reprodutores masculinos, designadas por arenas reprodutoras, dos quais as fêmeas são excluídas. Este sistema de organização social possui características equivalentes aos "leks" descritos para Insectos, Aves e alguns Mamíferos (Krebs e Davies, 1993), uma vez que os machos não participam nos cuidados parentais e que as agregações servem apenas como locais de acasalamento, não ocorrendo defesa de recursos alimentares (Bradbury e Gibson, 1983). Segundo Loiselle e Barlow (1978) estas agregações de machos respeitam os prerequisitos que caracterizam os "leks" e que, segundo estes autores, são:

(a) Sincronia. A actividade reprodutora dos machos e das fêmeas encontra-se sincronizada.

(b) Agregação num determinado substrato. Os machos formam agregações reprodutoras em substratos específicos que são posteriormente visitados pelas fêmeas.

(c) Mobilidade. A espécie não habita no substrato de agregação para o qual se desloca ciclicamente na época de reprodução.

(d) Cuidados parentais. Se ocorrerem cuidados parentais eles serão providenciados por apenas um elemento do par.

(e) Alimentação. Não ocorre no interior do "lek" ou se ocorre é apenas vestigial.

As vantagens evolutivas destas agregações reprodutoras são, segundo Clutton-Brock *et al.* (1992), grandes para ambos os sexos. Os machos, na impossibilidade de controlarem os recursos das fêmeas, agregando-se nos "leks" aumentam a sua atractividade em relação às fêmeas. Simultâneamente estas agregações conferem uma protecção contra os predadores. Por outro lado, a concentração dos territórios reprodutores masculinos pemite aos machos que perdem o seu território uma maior facilidade na aquisição de um novo território de um vizinho. Em relação às fêmeas, os "leks" permitem que estas, através da escolha do par, accionem mecanismos de selecção sexual que lhes asseguram o acasalamento com os machos mais aptos.

A evolução das arenas reprodutoras nos incubadores bucais parece ter ocorrido a partir de agregações reprodutoras em incubadores no substrato, através de uma cascata de adaptações comportamentais. Com efeito, em incubadores de substrato monogâmicos ocorrem agregações reprodutoras em que vários pares se concentram num substrato de reprodução em águas de pouca profundidade e no qual também se dá o desenvolvimento dos ovos e das larvas. Este tipo de reprodução em Ciclídeos ocorre não só nas linhagens africanas incubadoras no substrato (*e.g. Tilapia zillii*: Loiselle, 1977), como também nas linhagens neotropicais (*e.g. Cichlasoma nicaraguense*, *C. rostratum*, *C. longimanus*, *C. nigrofasciatum*, *C. citrinellum*, *C. managuense*, *C. dovii* e *Neetroplus nematopus*: McKaye, 1984), e parece constituir uma adaptação a fortes pressões de predação dos adultos ou das posturas a maiores profundidades nos ambientes lacustres (*e.g. Clarias gariepinus* no lago Malawi e *Gobiomorus dormitor* no lago Jiloá, Nicarágua, McKaye, 1984). Esta forte pressão de predação teria promovido a migração dos indivíduos para as margens durante a época de reprodução, quando os indivíduos estabelecem uma ligação mais forte ao substrato, com o estabelecimento de territórios reprodutores, e se tornam mais conspícuos devido aos comportamentos de corte e muitas vezes à ocorrência de colorações nupciais mais vistosas, ficando desta forma mais expostos aos predadores.

As arenas reprodutoras em águas costeiras também parecem reflectir uma adaptação a fortes pressões de predação a profundidades maiores, estando descritos casos de arenas reprodutoras multiespecíficas em que ocorrem territórios de várias espécies intercalados no mesmo substrato de reprodução (McKaye, 1984). Em *Cyrtocara eucinostomus* no lago Malawi, as arenas reprodutoras concentram cerca de 50 000 machos numa faixa estreita de profundidade no litoral (*i.e.* uma extensão de 4 Km a uma profundidade entre 3 m e 9 m) a qual parece ser modulada pela predação sobre os adultos. O limite superior desta faixa parece ser determinado pela presença de Corvos marinhos piscívoros, mas também pela acção da ondulação, e o limite inferior parece corresponder ao limite superior das migrações nocturnas do Peixe-gato *Bagrus meridionalis*, o qual inclui na sua dieta várias espécies de Ciclídeos (McKaye, 1983).

Estas agregações reprodutoras promovem por sua vez uma forte pressão de predação sobre os ovos e as larvas. Casos de canibalismo estão descritos para uma grande quantidade de Ciclídeos (Fryer e Iles, 1972) e nas arenas multiespecíficas dos Ciclídeos africanos existem espécies especializadas na alimentação de ovos e larvas, que investem sobre os ninhos durante a desova, roubando os ovos no curto período de tempo em que estes estão expostos (*e.g. Cyrtocara labifer, C. insignis, C. ovatus*, McKaye, 1984).

Esta forte pressão de predação sobre os ovos e larvas parece ter promovido a evolução da incubação bucal, a qual se torna possível devido á pré-existência de comportamentos manipulação e transporte bucal de ovos e/ou larvas em Ciclídeos incubadores no substrato. Estes comportamentos podem ter funcionado como uma pré-adaptação para a evolução da incubação oral, em que a permanência dos ovos na cavidade bucal materna se foi progressivamente prolongando. É interessante verificar a evolução de comportamentos predatórios especializados sobre posturas incubadas oralmente, existindo Ciclídeos paedofagos que atacam os incubadores bucais na região cefálica, promovendo a libertação de ovos e larvas da cavidade bucal e alimentando-se em seguida destes (*e.g. Cyrtocara orthognathus* e *C. liemi*, McKaye e Kocher, 1983).

Como resposta a esta forte pressão de predação, várias estratégias de protecção das posturas e/ou de diminuição da mortalidade intra-posturas foram desenvolvidas. Estas estratégias têm por finalidade um efeito de diluição da progénie no conjunto das larvas que ocorrem no local ou de aumento do número de adultos que guardam as posturas. No primeiro caso encontramos os casos de guarda de posturas múltiplas intra- ou inter-específicas (*e.g. Cichlasoma* spp., lago Jiloá, McKaye e McKaye, 1977; incubadores bucais do lago Malawi, Ribbink *et al.*, 1980) e no segundo os cuidados parentais comunais (*e.g. Etroplus suratensis*: Ward e Wyman, 1977; *C. citrinellum*: McKaye e McKaye, 1977; *Tilapia rendalli*: Ribbink *et al.*, 1981) e a existência de juvenis nos territórios reprodutores parentais que ajudam na manutenção e na guarda das posturas

seguintes (*i.e.* "Helpers", *e.g. Lamprologus* spp. e *Julidochromis* spp.: Taborsky e Limberger, 1981; *Lamprologus brichardi*: Taborsky, 1984, 1985; Hert, 1985).

Encontra-se ainda descrita a construção de estruturas elaboradas no interior dos ninhos (*i.e.* túneis, "plafonds") para protecção das larvas em populações expostas a grandes pressões de predação sobre as posturas (*e.g. T. rendalli*, lago Malawi: Ribbink *et al.*, 1981). No entanto, outros factores ecológicos que não a predação podem influenciar a existência destas construções. Em *T. zillii* no lago Kinneret (Israel), os ninhos são depressões simples no substrato em zonas expostas à ondulação e em fundos arenosos, enquanto que em zonas abrigadas e de substrato argiloso os ninhos são mais elaborados ocorrendo a escavação de câmaras de protecção da postura no interior dos ninhos (Bruton e Gophen, 1992).

A incubação bucal permite a separação do par após o momento da postura. A partir desta situação, terá evoluído a incubação bucal biparental, materna e paterna, o que poderá estar relacionado com posturas suficientemente grandes para serem repartidas por ambos os elementos do par. Verifica-se que em incubadores bucais uniparentais o sexo que não incuba os ovos apresenta vestígios do comportamento de incubação bucal (*e.g. Oreochromis mossambicus*, Trewavas, 1983; *S. melanotheron*, Eyeson, 1992), parecendo que o sexo que incuba os ovos é aquele que apresenta uma menor latência na colecta dos ovos no momento da postura. É assim possível que em espécies com uma elevada fecundidade as dimensões da postura fossem suficientemente grandes para que após o indivíduo do sexo com menor latência ter terminado a colecta dos ovos, tendo como factor limitante o volume da sua cavidade bucal, ainda sobrasse um número elevado de ovos para serem incubados pelo outro elemento do par. Com efeito em *S. galilaeus*, em posturas de fêmeas pequenas (*i.e.* peso do corpo < 200 g) os machos são os primeiros a apanhar os ovos e são o único elemento do par a incubar; em fêmeas maiores estas são as primeiras a proceder à colecta dos ovos e ambos os elementos do par incubam os ovos bucalmente (Schwanck e Rana, 1991).

Nos incubadores bucais maternos este tipo de cuidado parental permite que as fêmeas se retirem do substrato de reprodução com a postura, permanecendo os machos nas arenas. Esta segregação das fêmeas das arenas reprodutoras permite a evolução da poligínia, a qual também é regra neste grupo. Associada a esta situação parece estar a evolução do dimorfismo e do dicromatismo sexual na época de reprodução, os quais deverão ter resultado de pressões de selecção sexual nas arenas reprodutoras, em que a escolha das fêmeas e a ocupação de um lugar privilegiado na arena (competição intrasexual) deverão ter desempenhado um papel crucial.

Este tipo de cuidado parental confere uma maior protecção à postura por duas vias: (a) os ovos no momento da postura são rapidamente recolhidos para a cavidade bucal materna; (b) a segregação subsequente das fêmeas durante o período de incubação

bucal e a libertação dos alevins em creches ("nurseries") separadas dos substratos de reprodução. A colheita rápida dos ovos para a cavidade bucal materna por sua vez promoveu a evolução da fertilização intrabucal dos ovos, a qual por sua vez levou à evolução de estruturas morfológicas masculinas que atraem as fêmeas para a região urogenital dos machos na altura da postura (*e.g.* manchas na barbatana anal que simulam ovos nos Haplocromíneos, papilas genitais com uma borla de expansões cutâneas em *Oreochromis Nyasalapia* spp. e barbatanas pélvicas com prolongamentos filiformes que terminam ao nível de inserção da barbatana anal com manchas de cores vivas, Wickler, 1962a, 1965, Fryer e Iles, 1972).

Wickler (1962b) demonstrou a existência de uma sequência evolutiva entre os Haplocromíneos quanto ao momento da fertilização dos ovos na sequência de corte das espécies. Em *Pseudocrenilabrus multicolor*, a espécie com o padrão mais primitivo, a fertilização ocorre imediatamente após a oviposição, maioritariamente ainda no exterior da cavidade bucal materna; em *H. wingatii* a fertilização é parcialmente externa e parcialmente intrabucal; em *Astatotilapia burtoni*, a fertilização ocorre exclusivamente na boca da fêmea, dando-se a ejaculação nos machos na altura em que as fêmeas mordiscam os ovos mimetizados das barbatanas anais dos machos. Em *Oreochromis Nyasalapia macrochir* os machos produzem esperma compacto filiforme que adere ao substrato, e que as fêmeas apanham para a sua cavidade bucal imediatamente antes da desova, sendo a fertilização igualmente intrabucal (Wickler, 1965, 1966b). A emissão de massas compactas de esperma por *O.N. macrochir* parece ser análoga aos espermatóforos conhecidos para outros grupos de animais.

2.2. VARIAÇÕES: SISTEMAS ALTERNATIVOS E HERMAFRODITISMO

Até este ponto foram descritas as principais tendências reprodutoras dos Ciclídeos africanos assumindo que estes constituíam um grupo de espécies gonocóricas. No entanto têm-se acumulado algumas evidências que apontam para a ocorrência de intersexualidade e de hermafroditismo em algumas espécies. Polder (1971) descreveu o único caso comprovado de hermafroditismo sequencial protândrico para Ciclídeos na espécie sul-americana *Aequidens portalegrensis*. Peters (1975) examinou espécimens de catorze espécies de sete dos nove géneros de Mbuna (*i.e.* complexo de espécies de Ciclídeos africanos), os quais são incubadores bucais maternos, e verificou que nos testículos de todos os machos observados estavam presentes oócitos em maior ou menor quantidade e diferentes estádios de desenvolvimento. Estes oócitos encontram-se dispersos pelo tecido intersticial em contacto com as paredes dos tubulos seminíferos. Podem atingir as dimensões máximas de 0.05-0.08 mm, e excepcionalmente em machos de grandes dimensões, 0.2 mm (Peters, 1975). Estas dimensões ficam muito aquém do tamanho dos

oócitos femininos no início da vitelogénese, o que aponta no sentido de não ocorrer uma transformação funcional dos machos em fêmeas (Peters, 1975). Esta hipótese é corroborada pelo facto de o comportamento sexual destes machos não apresentar alterações ao padrão masculino descrito para as espécies (Peters, 1975).

Naish e Ribbink (1990) detectaram em *Pseudotropheus lombardoi* a existência de comportamento de incubação bucal em indivíduos com o padrão de coloração típico dos machos, o que lhes sugeriu a existência de mudança de sexo protândrica. Esta hipótese era apoiada pelo facto de, nesta espécie, o sucesso reprodutor estar bastante correlacionado com a dominância social nos machos e com as dimensões corporais nas fêmeas, o que poderia fornecer as condições para que ocorresse hermafroditismo protândrico sequencial segundo um modelo de vantagem de tamanho (*sensu* Warner, 1975). No entanto, a análise das gónadas não foi conclusiva quanto à hipótese de mudança de sexo tendo apenas sido encontrados oócitos de pequenas dimensões em todas as gónadas masculinas examinadas (Naish e Ribbink, 1990).

Assim, e segundo os dados de Peters (1975) e de Naish e Ribbink (1990), parece mais plausível considerar nos Mbuna a existência de uma fase em que coexistem as duas populações de células germinais, ficando em aberto a questão de saber se nesta fase o sexo do indivíduo pode ou não ser determinado por factores ambientais, nomeadamente sociais. A ambivalência das gónadas e a ocorrência de oócitos vestigiais em testículos de espécies gonocóricas não comprova por si só a determinação ambiental do sexo, sendo comum em vários grupos de Teleósteos (*e.g.* Gobídeos, Fishelson, 1989).

A ocorrência de oócitos testiculares de pequenas dimensões nos Ciclídeos não se restringe aos Mbuna sendo também referida por Peters (1975) para Tilápias, sem no entanto especificar qual o material examinado.

Os padrões reprodutores acima descritos para os Ciclídeos africanos não são atributos fixos. Podem ocorrer variações dos sistemas de acasalamento, e espécies tipicamente monogâmicas em circunstâncias específicas apresentarem poligamia. Este é o caso descrito para algumas espécies monogâmicas neotropicais em que o sistema de reprodução típico é o par monogâmico com incubação biparental no substrato de ovos e larvas. No entanto em condições de enviezamento da proporção dos sexos ("sex ratio") na direcção das fêmeas (*i.e.* mais fêmeas do que machos) ou na ausência de fortes pressões de predação, ocorre a deserção do macho que volta a acasalar subsequentemente com outra fêmea, evoluindo este sistema para a poliginia (*e.g. H. multispinosa, C. panamense, C. nigrofasciatum*, Keenleyside, 1983, Townshend e Wootton, 1985, Keenleyside *et al.*, 1990). No entanto nem todas as espécies investigadas apresentam deserção masculina, mesmo em situações de sobrepopulação de fêmeas (*e.g. C. citrinellum*, Rogers, 1987). A deserção de machos em incubadores no substrato

biparentais africanos nunca foi investigada experimentalmente, mas a ocorrência de posturas na natureza que são guardadas apenas pela fêmea sugerem a sua ocorrência (*e.g. Lamprologus* spp., Nagoshi, 1983, *Tilapia mariae*, Schwanck, 1987). Em outros casos o enviezamento da proporção dos sexos na direcção das fêmeas não leva à deserção dos machos com poliginia sequencial, mas sim à aquisição de mais de uma fêmea por cada macho, ocorrendo haréns ou bigamia masculina (*e.g. L. brichardi*, Limberger, 1983; *C. nigrofasciatum*, Keenleyside, 1985).

O comportamento social de cada sexo também apresenta uma certa plasticidade. Sobretudo em espécies com arenas reprodutoras, nem todos os machos conseguem estabelecer e defender um território, existindo vários fenótipos comportamentais masculinos nestas condições.

Rossiter (1992) descreveu a ocorrência de vários fenótipos comportamentais masculinos, para além dos machos territoriais, em *Aulonocranus dewindti* do lago Tanganyika:

(a) vagabundos ("floaters") residentes no interior da arena reprodutora - machos que se movimentam no interior da arena e que tentam ocupar territórios que venham a ficar vagos;

(b) vagabundos ("floaters") não-residentes na arena- machos que não se conseguem manter no interior da arena, mas que tentam adquirir territórios no seu interior;

(c) piratas- machos pseudo-territoriais que tentam utilizar os ninhos dos territoriais para acasalarem com fêmeas;

(d) embusteiros ("sneakers")- machos que se movimentam com os cardumes de fêmeas e que mimetizam as fêmeas, com as quais entram nas arenas, tentando obter fertilizações parasitas.

Algumas destas estratégias comportamentais de machos não territoriais têm a função de manter os indivíduos no interior ou na vizinhança da arena, e/ou de diminuir a agressividade dos machos territoriais, aumentando assim as hipóteses de virem a adquirir um território que venha a ficar vago. No entanto, ocorrem também entre os Ciclídeos tácticas alternativas de acasalamento em machos não territoriais, como é o caso dos embusteiros ("sneakers").

Pseudocrenilabrus philander é uma espécie sul-africana com incubação bucal materna e com arenas reprodutoras (Ribbink, 1971). Nesta espécie, para além dos machos territoriais que formam a arena reprodutora, existem machos supranumerários que integram os cardumes de fêmeas e juvenis que se deslocam na vizinhança da arena

reprodutora. Entre estes machos não-territoriais ocorrem dois tipos de tácticas alternativas de reprodução: (a) pseudo-territorialidade - indivíduos que temporariamente adquirem a coloração nupcial na coluna de água e que tentam cortejar fêmeas; estes indivíduos são prontamente atacados pelos machos e o seu sucesso reprodutor parece ser nulo; (b) embusteiros ("sneakers") - indivíduos de pequenas dimensões, que não apresentam o padrão de coloração nupcial, confundindo-se com fêmeas, e que não fazem quaisquer tentativas de corte às fêmeas dos cardumes em que se integram; no entanto, intrometem-se em sequências de corte de machos territoriais na altura da fertilização, nadando rapidamente para o ninho no qual o par se encontra e tentando fertilizar os ovos enquanto estes estão depositados no substrato no período de tempo que decorre entre a oviposição e a colecta dos ovos pela fêmea (Ribbink e Chan, 1989; Chan e Ribbink, 1990). É de referir que nesta espécie a sequência completa de corte dura aproximadamente 80 minutos e que o tempo em que os ovos estão expostos é de apenas 3 minutos em média (Ribbink e Chan, 1989), pelo que o sucesso de fertilizações dos embusteiros é limitado. Estas tácticas de reprodução encontradas em *P. philander* (*i.e.* embusteiro, pseudo-territorial, e territorial), parecem ser tácticas que um indivíduo adopta sequencialmente durante a ontogenia não sendo geneticamente fixadas.

Em *C. eucinostomus*, uma espécie do lago Malawi incubadora bucal materna com arenas reprodutoras, também foram detectadas tentativas de "sneaking" por indivíduos com um padrão de coloração semelhante ao das fêmeas mas com testículos funcionais (McKaye, 1983). Estes indivíduos intrometem-se entre o par durante a sequência de corte numa altura em que a fêmea está prestes a por os ovos (McKaye, 1983).

Kuwamura (1987) descreve também a ocorrência de "sneaking" no incubador bucal materno *Pseudosimochromis curvifrons* do lago Tanganyika. Esta espécie, que ocorre em substrato rochoso, não forma arenas reprodutoras; os machos possuem territórios reprodutores contíguos na superfície das rochas nos quais também se alimentam. A sequência de corte desta espécie envolve a aproximação da boca da fêmea, já com os ovos no seu interior, da papila genital do macho, ocorrendo a fertilização dos ovos no interior da cavidade bucal da fêmea. Os episódios de "sneaking" nesta espécie são assim algo diferentes, uma vez que o embusteiro ("sneaker") não só se tem que intrometer entre o par no período entre a colecta dos ovos e a fertilização, como tem que atrair a fêmea para a sua região genital em desfavor da do macho territorial. Apesar da aparente dificuldade desta tarefa, Kuwamura (1987) refere que em 4 de 9 tentativas de "sneaking" observadas a fêmea escolheu o embusteiro, embora este tenha sido expulso pelo macho residente em todos os casos e num espaço de tempo que variou entre os 5 e os 15 segundos. Assim, os embusteiros podem ter sucesso na fertilização de alguns ovos, embora isto dependa do tempo durante o qual conseguem manter uma ligação com a

fêmea. O facto de nesta situação o sucesso das tentativas de "sneaking" estar dependente da atracção das fêmeas para o macho embusteiro pode ajudar a explicar o facto de nesta espécie os embusteiros embora não-territoriais, sejam morfologicamente indistinguíveis dos machos territoriais (Kuwamura, 1987).

Em *Lamprologus callipterus*, uma espécie poligínica harémica em que os machos defendem um território no qual acumulam conchas vazias de gastrópodes nas quais as fêmeas desovam e cuidam da postura, Sato (1994) encontrou duas categorias comportamentais de machos para além dos territoriais: (a) machos não-territoriais, que são excluídos pelo macho residente, e que no momento da postura investem sobre o ninho e tentam uma fertilização parasita; (b) e machos que mimetizam as fêmeas, e que são tolerados pelo macho residente no seu território, e que na altura da postura se aproximam do par e tentam também fertilizações parasitas.

A ocorrência de parasitismo reprodutor intraespecífico ("sneaking") está ainda descrita em observações realizadas em aquário para *Oreochromis niloticus* (Heinrich, 1967), *Oreochromis alcalicus alcalicus* e *O. a. grahami* (Albrecht,1968), *L. brichardi* (Taborsky, 1984, 1985), *Simochromis diagramma* (T. Sato comunicação pessoal *in* Kuwamura, 1987), *P. multicolor* (W. Mrowka comunicação pessoal *in* Taborsky, 1994) e *Pelvicachromis pulcher* (Taborsky, 1994).

Em observações de aquário de *O. mossambicus*, Baerends e Baerends van Roon (1950) e Turner (1986), referem a intromissão de machos entre o par no momento da postura com tentativas de fertilizações parasitas. Turner (1986) refere ainda um aumento da actividade dos indivíduos presentes no tanque durante os acasalamentos de pares e a intromissão de vários indivíduos (machos e fêmeas) nos ninhos na altura da desova para se alimentarem dos ovos.

Em *A. burtoni* (Fernald e Hirata, 1977) observaram-se também tentativas de fertilização parasita por machos territoriais vizinhos.

A ocorrência de tácticas de fertilização parasita entre os incubadores bucais está limitada pela exposição dos ovos a potenciais tentativas de fertilização, *i.e.* pelo período de tempo que medeia entre a oviposição e a colecta dos ovos. Assim, a ocorrência de "sneaking" entre os incubadores bucais maternos não é muito viável em espécies que põem poucos ovos de cada vez, e em que a colecta dos ovos é quase imediata, sendo a fertilização intra-bucal. No entanto, não é de excluir a possibilidade de ocorrência de competição de esperma de mais do que um macho na boca da fêmea.

Ribbink e Chan (1989) referem ainda os cenários ecológicos como motores da evolução desta estratégia reprodutora. Segundo estes autores, os ambientes fluviais são mais favoráveis à ocorrência de "sneaking" do que os ambientes lacustres. Os rios africanos estão sujeitos a grandes flutuações sazonais do seu caudal, sendo que na estação seca o caudal pode baixar bastante, permanecendo apenas algumas bolsas de

água. Nestas condições, em que existe uma diminuição da área dos potenciais substratos de reprodução, o número de machos territoriais que se consegue estabelecer diminui; inversamente, na estação das chuvas, o aumento do caudal dos rios com o concomitante aumento da área disponível de substrato de reprodução permite o estabelecimento de um maior número de machos territoriais. Assim, os indivíduos deverão responder às flutuações do ambiente e adoptar a táctica reprodutora de acordo com a situação concreta em que se encontram (Ribbink e Chan, 1989). É possível que em ciclos meteorológicos em que ocorrem secas em anos sucessivos, a única forma que alguns machos possuem de sucesso reprodutor é através de fertilizações por "sneaking", uma vez que a competição intrasexual pelos territórios reprodutores será bastante forte nestas condições de escassez de substrato para nidificação (Ribbink e Chan, 1989).

2.3. A TRIBO TILAPIINI

A diversidade de sistemas de acasalamento presente nos Ciclídeos africanos, e acima exposta, pode ser encontrada na íntegra na tribo Tilapiini (*Tilapia sensu lato*), à qual pertence a espécie em estudo neste trabalho. Neste contexto parece oportuno comparar *O. mossambicus* com as espécies mais aparentadas no que diz respeito à etologia da reprodução e aos cuidados parentais.

As Tilápias constituem um grupo de Ciclídeos africanos ao qual era atribuído o estatuto de género, posição ainda defendida por alguns autores até à pouco tempo (Thys van den Audenaerde, 1968, 1971; Peters e Berns, 1982). No entanto a existência de três sub-agrupamentos com traços da biologia alimentar e da reprodução bem distintos e com distribuições geográficas características levou à criação de três géneros dentro do grupo das Tilápias: *Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis* (Trewavas, 1973; Trewavas, 1983). Para além destas três grandes linhagens, dois casos não compatíveis com os traços reconhecidos para este grupo levaram à criação de dois novos géneros: *Tristramella*, endémico da Síria (Steinitz e Ben-Tuvia, 1960) e *Danakilia*, monoespecífico (*D. franchettii*) do lago Afrera, África (Trewavas, 1983)(ver tabela 2.1).

No que diz respeito à biologia da reprodução, cada uma das três grandes linhagens possuí características próprias dentro do grupo. Assim, o género *Tilapia* é incubador de substrato, *Sarotherodon* é incubador bucal paterno ou biparental e *Oreochromis* é incubador bucal materno (Trewavas, 1983). Estes três tipos de cuidados parentais estão correlacionados com uma série de características da biologia da reprodução abaixo expostas.

Tabela 2.1. Classificação das Tilápias (Tilapiini) segundo Trewavas (1983) com indicação do modo de reprodução específico de cada grupo.

Género	Subgénero	Etologia da reprodução
Tilapia Smith	*Tilapia*	Incubadores de substrato com guarda biparental
	Coptodon	Incubadores de substrato com guarda biparental
	Pelmatolapia	Incubadores de substrato com guarda biparental
Tristramella Trewavas		Incubador bucal biparental
Danakilia Thys		Incubador bucal (sem dados detalhados)
Sarotherodon Rüppell		Incubadores bucais paternais ou biparentais
Oreochromis Günther	*Oreochromis*	Arena reprodutora e incubação bucal materna
	Alcolapia	Arena reprodutora e incubação bucal materna
	Vallicola	Provavelmente como *Oreochromis* mas detalhes desconhecidos
	Nyasalapia	Arena reprodutora e incubação bucal materna
	Neotilapia	Incubação bucal materna (detalhes desconhecidos)

2.3.1. Sistema de Acasalamento

Tilapia e *Sarotherodon* são monogâmicos, pelo menos para uma postura, e *Oreochromis* são poligâmicos, ocorrendo poligínia e podendo ocorrer poliandria.

Em *Oreochromis* os machos defendem territórios reprodutores em arenas reprodutoras das quais as fêmeas são segregadas, apenas entrando nestas colónias quando estão sexualmente maduras e prontas a acasalar. Assim os machos recebem visitas sucessivas de fêmeas diferentes, as quais por sua vez também podem acasalar sucessivamente com mais do que um macho. A poliandria, embora possa ser uma característica comum a todas as espécies do género *Oreochromis*, está apenas

documentada para duas espécies: *O.N. macrochir* (Ruwet, 1963) e *O. aureus* (Fishelson, 1983). Em *Tilapia* também podem ocorrer colónias reprodutoras, nas quais ambos os elementos do par defendem activamente um território em que cuidam dos ovos e larvas (*e.g. T. zillii*, Loiselle, 1977).

A ligação entre o par, e a correspondente complexidade dos comportamentos de corte variam também consideravelmente. Em *Tilapia* a ligação é prolongada antes da postura e mantêm-se após a desova devido à guarda biparental (*e.g. T. mariae*, Lamprecht, 1973, Schwanck, 1987). Em *Sarotherodon* o par nada em conjunto durante alguns dias que precedem a postura, após a qual o par se separa com os ovos na boca (*e.g. S. galilaeus*, Heinrich, 1967, Fishelson, 1966b, 1983; *S. melanotheron*, Aronson, 1949, Pauly, 1976). Em *Oreochromis* o par permanece junto durante um período de tempo muito curto, que pode variar de alguns minutos a poucas horas (*e.g.* 20 a 60 minutos em *O. aureus*, Fishelson, 1983).

2.3.2. Dimorfismo Sexual

Verifica-se uma dicotomia em relação ao grau de dimorfismo sexual, estreitamente correlacionada com os dados respeitantes ao sistema de acasalamento acima expostos: em *Oreochromis*, no qual o sistema de arenas reprodutoras potencia a selecção sexual, o dimorfismo sexual é acentuado: os machos são maiores do que as fêmeas, apresentam mandíbulas mais desenvolvidas, dentes unicúspidos e papilas genitais elaboradas no subgénero *Nyasalapia* (Trewavas, 1983); em *Tilapia* e em *Sarotherodon*, géneros monogâmicos com uma ligação prolongada do par, o dimorfismo sexual não existe ou é apenas vestigial (Trewavas, 1983).

2.3.3. Cuidados Parentais

No que diz respeito aos cuidados parentais, parece existir nos três géneros uma repartição dos papéis parentais entre os sexos. Em *Tilapia* a ventilação dos ovos no substrato através de movimentos das barbatanas peitorais é uma função desempenhada maioritariamente pela fêmea, enquanto que o macho desempenha um papel mais activo na defesa do território (*e.g. T. mariae* e *T. guineensis*, Apfelbach, 1969). Em *Sarotherodon* após a postura ocorre incubação paternal (*e.g. S. melanotheron*: Aronson, 1949, Pauly, 1976; *S. occidentalis*: Loiselle, 1985) ou bi-parental dos ovos e larvas (*e.g. S. galilaeus*: Fishelson e Heinrich, 1963, Iles e Holden, 1969).

Em *Oreochromis* ocorre incubação bucal materna dos ovos e alevins, durante um período que varia entre 7 a 20 dias consoante as espécies (Trewavas, 1983), após o qual os alevins podem encontrar refúgio na cavidade bucal materna durante a noite ou em

situações de perigo (*e.g. O. mossambicus*, Baerends e Baerends van Roon, 1950). Existe assim neste género uma ligação fêmea-alevins para além do período de incubação bucal, tendo-se desenvolvido comportamentos de chamamento dos alevins (Fryer e Iles, 1972). Esta ligação entre o progenitor incubador e os alevins é vestigial (ocorre durante aproximadamente 1 dia) ou está ausente no género *Sarotherodon* (Destexhe-Gomez e Ruwet, 1967; Apfelbach, 1969). Em *Tilapia* na fase de natação livre das larvas os progenitores acompanham o cardume das larvas, defendendo-as activamente (Fryer e Iles, 1972).

Em *Oreochromis* após a postura as fêmeas retiram-se das arenas reprodutoras, incubando os ovos e alevins em águas mais profundas. Os alevins são libertados para o exterior da cavidade bucal em habitats costeiros de vegetação densa e de muito pouca altura de água -creches ("nurseries")-, tendo por vezes as fêmeas que nadar de lado para terem acesso a estes corpos de água (Donnelly, 1969; Trewavas, 1983).

Os incubadores bucais apresentam um conjunto de adaptações morfológicas e comportamentais para a incubação oral, nas quais diferem de *Tilapia*:

(a) Em machos de *S. melanotheron* está descrita a existência de glândulas faríngicas, situadas entre as cartilagens faringeo-branquiais dos três primeiros arcos branquiais, as quais parecem estar associadas ao processo de incubação bucal (Shaw e Aronson, 1954). Estas glândulas estão ausentes nos incubadores no substrato analisados (*i.e. T. zilli* e *T. sparrmani*) e estão presentes mas menos desenvolvidas nas fêmeas de incubadores orais (Shaw e Aronson, 1954).

(b) A cabeça é mais larga nos incubadores bucais (*i.e. Sarotherodon* e *Oreochromis*) do que nos incubadores de substrato (*i.e. Tilapia*), o que pode reflectir um aumento do volume da cavidade bucal como adaptação à incubação oral. Peters (1961) verificou que o índice espaço interorbital/ largura da cabeça ao nível dos opérculos separa os incubadores bucais dos incubadores de substrato. Chardon e Vandewalle (1971), numa análise comparada do esqueleto cefálico de Tilápias com os diferentes tipos de cuidados parentais, chegam à mesma conclusão de que os incubadores orais possuem uma cavidade bucal com um volume superior ao dos incubadores de substrato.

(c) Os incubadores orais apresentam comportamentos de mastigação dos ovos que têm por função manter os ovos em constante movimento no interior da cavidade bucal, evitando assim a deposição do vitelo num dos pólos do ovo, o que inviabilizaria o seu desenvolvimento (Fishelson, 1966a).

2.3.4. Ovos e Larvas

Os ovos dos incubadores bucais são energeticamente mais ricos do que os de incubadores no substrato, possuindo o seu vitelo um maior conteúdo em lípidos (até

cerca de 45 %), uma maior densidade e uma coloração opaca alaranjada, sendo o seu desenvolvimento mais precocial (Hanon, 1975; Noakes e Balon, 1982).

Durante o seu desenvolvimento, os incubadores no substrato passam pelos diferentes períodos de desenvolvimento (*i.e.* embrionário, larvar, juvenil, adulto e senescente, Jones, 1972 segundo terminologia de Balon, 1975), existindo uma heterocronia na ontogenia dos incubadores bucais com a supressão da fase larvar (Balon, 1977, Noakes e Balon, 1982). Assim, nos incubadores bucais, os eleuteroembriões transitam directamente para juvenis (usualmente designados nesta fase por alevins) uma vez que as estruturas embrionárias já se encontram substituídas por estruturas típicas do adulto (*e.g.* diferenciação da prega dorsal média, ossificação do núcleo das vértebras) aquando da transição para a alimentação exógena, a qual marca o início da fase juvenil (*sensu* Balon, 1975) (Balon, 1977, Noakes e Balon, 1982).

Assim, se compararmos os juvenis de Tilápia no início da alimentação exógena verifica-se que os dos incubadores orais apresentam maiores dimensões (*i.e.* 9-10 mm vs. 5-6 mm nos incubadores de substrato) e encontram-se num estádio de desenvolvimento mais avançado do que os juvenis dos incubadores no substrato (Noakes e Balon, 1982).

Os ovos e larvas possuem também características estruturais que reflectem o tipo de cuidados parentais do género. Os ovos de *Tilapia* são aderentes, existindo uma camada gelatinosa e filamentos adesivos na zona radiata. Em *Sarotherodon*, a camada adesiva é vestigial e não-funcional e em *Oreochromis* está completamente ausente (Kraft e Peters, 1963).

Em *Tilapia* a eclosão dos ovos ocorre no substrato e as larvas recém-eclodidas são transportadas por ambos os progenitores para cavidades escavadas no substrato, nas quais são depositadas, aderindo à superfície através de glândulas cefálicas. As glândulas cefálicas das larvas dos incubadores no substrato (*i.e. Tilapia*) são estruturas pares que ocorrem na região frontal (1 par) e superior (2 pares) da cabeça. Cada glândula consiste em várias células secretoras dispostas em forma de taça e que delimitam um espaço central para o qual segregam uma substância gelatinosa, a qual saí depois para o exterior (Fishelson, 1966a; Arnold *et al.*, 1968). As células secretoras são de dois tipos: na placa basal da glândula existem células que segregam muco, o qual constitui o eixo central de um filamento, que é depois envolvido por uma substância adesiva segregada por células das paredes laterais da glândula (Arnold *et al.*, 1968). Em contacto com a água, esta substância solidifica, formando-se filamentos a partir de cada uma das glândulas. Estes filamentos podem-se unir distalmente num filamento de maior espessura com o qual a larva é ancorada a uma superfície adequada. Muitas vezes, as larvas são ancoradas de tal forma que ficam suspensas acima do substrato, o que poderá trazer as vantagens de evitar a deposição de sedimentos e de disporem de uma melhor oxigenação da água (Fryer e Iles, 1972). Quando se comparam estádios de desenvolvimento equivalentes, existem

ainda vestígios destas glândulas nos incubadores bucais. Em *Sarotherodon* as glândulas cefálicas são vestigiais mas ainda possuem capacidade secretora e em *Oreochromis* estão regredidas e não funcionais (Peters, 1965; Fishelson, 1966a; Peters e Berns, 1982).

Nas larvas dos incubadores bucais (*i.e. Sarotherodon* e *Oreochromis*), a ventilação depende dos movimentos respiratórios do progenitor, e, mais tarde, de uma rede de capilares que envolvem o saco vitelino, possivelmente ventilados por movimentos das barbatanas peitorais da própria larva (Fishelson, 1966a). Em *Tilapia* as larvas possuem uma rede de vasos capilares na região caudal, ramificados a partir da *vena caudalis* inferior, a qual desaparece nas fases subsequentes do desenvolvimento larvar. Em *Sarotherodon* e em *Oreochromis*, este sistema de vasos capilares está menos desenvolvido e degenera rapidamente durante o desenvolvimento (Fishelson, 1966a; Lanzing, 1976).

Também no que diz respeito ao comportamento se encontram diferenças entre os três géneros de Peixes Tilapíneos. Os alevins de *Oreochromis*, após serem expulsos da cavidade bucal no final do período de incubação, apresentam uma reacção de contacto que consiste na atracção para a região cefálica da fêmea, e cuja função parece ser a manutenção da ligação entre a progenitora e os alevins, que se podem refugiar na cavidade bucal desta em caso de perigo (Baerends e Baerends van Roon, 1950). Esta reacção mantém-se por duas a três semanas após o abandono da cavidade bucal. Em *Tilapia* verificam-se toques pouco frequentes das larvas nos progenitores, na sequência dos quais as larvas fogem para o substrato. Em *Sarotherodon* não se verifica esta reacção de contacto ou é apenas vestigial (Apfelbach, 1969). No entanto Bauer (1968) demonstrou que as larvas de *S. melanotheron* criadas artificialmente também exibem uma reacção de contacto para com modelos parentais, a qual atinge um máximo numa fase do desenvolvimento coincidente com aquela em que esta reacção também ocorre em *O. niloticus*. Contudo, devido a um maior tempo de incubação bucal em *S. melanotheron*, que deriva de uma maior quantidade de vitelo, a fase do desenvolvimento durante a qual o embrião apresenta esta reacção de contacto ocorre ainda durante a incubação bucal, sendo por isso aparentemente inexistente ou vestigial (Bauer, 1968).

2.3.5. Fecundidade e Investimento Reprodutor

Apesar das variações no número de ovos em cada postura e das variações nas suas dimensões, verifica-se uma relação inversa entre o número de ovos por postura e o tamanho dos ovos. Assim *Tilapia* tem posturas grandes e ovos de pequenas dimensões (*e.g. T. zillii*, até 7000 ovos (1.1-2.0 mm) por postura , Lowe-McConnell, 1955, Fryer e Iles, 1972), *Oreochromis* tem posturas pequenas e ovos de grandes dimensões (*e.g. O. niloticus*, até 700 ovos (2.8-4.3 mm) por postura, Lowe-McConnell, 1955) e

Sarotherodon ocupa em geral uma posição intermédia (*e.g. S. galilaeus*, até 5000 ovos (2.8-3.0 mm) por postura, Ben-Tuvia, 1960).

No que diz respeito aos machos nas poucas espécies estudadas (*i.e. O. aureus*, *O. mossambicus*, *O. niloticus*, *S. galilaeus*, *S. melanotheron*, *T. tholloni*) existe uma tendência para que o índice gonado-somático seja maior em *Oreochromis* do que em *Sarotherodon* ou em *Tilapia* (Peters, 1971), o que pode estar correlacionado com o facto de *Oreochromis* praticar poliginia sequencial, mantendo-se sexualmente activo durante períodos de tempo mais prolongados, do que *Tilapia* ou *Sarotherodon* que são monogâmicos. Por outro lado, a reprodução de *Oreochromis* em arenas com uma ligação à fêmea de apenas alguns minutos aumenta a incerteza em relação ao momento da postura e à disponibilidade de fêmeas, pelo que é previsível um maior armazenamento de esperma do que em *Tilapia* ou em *Sarotherodon*, em que uma ligação pré-postura às fêmeas de alguns dias ou mesmo semanas permite um menor investimento em esperma por parte dos machos.

2.3.6. As Relações Filogenéticas entre as Linhagens

Existem duas hipóteses alternativas para explicar a evolução dos comportamentos reprodutores nas Tilápias, e consequentemente as relações filogenéticas entre as três linhagens principais (*i.e. Tilapia, Sarotherodon* e *Oreochromis*)(Peters e Berns, 1978, 1982; Trewavas, 1982, 1983). Ambas as hipóteses propõem que os incubadores bucais evoluíram a partir de incubadores no substrato. Segundo Trewavas (1982, 1983), deu-se a diferenciação de um incubador bucal ancestral a partir de incubadores no substrato, o qual originou o grupo *Sarotherodon*, com incubação bucal biparental. A partir deste grupo originou-se rapidamente o grupo *Oreochromis*, com incubação bucal materna. De acordo com a hipótese alternativa de Peters e Berns (1978, 1982), os incubadores bucais actuais têm ancestrais diferentes. Os incubadores bucais maternos teriam sido os primeiros a divergir, tendo os incubadores bucais biparentais e paternos divergido mais recentemente dos incubadores no substrato.

Vários estudos recorrendo a técnicas moleculares têm sido levados a cabo para tentar esclarecer este problema. Sodsuk e McAndrew (1991), baseados na análise de 44 loci de alozimas para 15 espécies pertencentes aos três géneros em causa, conseguiram resultados que permitem separar claramente os incubadores no substrato (*i.e. Tilapia*) dos incubadores bucais (*i.e. Sarotherodon* e *Oreochromis*). No entanto, os seus dados não são claros quanto ao estatuto dos incubadores bucais. Paralelamente, Seyoum (1989), recorrendo à análise de ADN mitocondrial, não só obteve uma distinção clara entre os incubadores de substrato e os incubadores bucais, como também pode separar claramente os incubadores bucais em dois grupos: *Sarotherodon* e *Oreochromis*.

Recentemente Pouyaud e Agnèse (1995) estudaram 24 loci de alozimas em 21 espécies de Tilápias (12 do género *Tilapia*, 4 do género *Sarotherodon* e 5 do género *Oreochromis*). As árvores filogenéticas obtidas apresentam um agrupamento das espécies de acordo com os três géneros reconhecidos, excepto para o caso de *S. melanotheron* o qual aparece geneticamente mais próximo das espécies do género *Oreochromis* do que das outras espécies do género *Sarotherodon* analisadas. Este dado é tanto mais interessante quanto *S. melanotheron* é a única espécie com incubação bucal paterna descrita com segurança (também existem dados que sugerem este tipo de cuidado parental para *S. occidentalis* em cativeiro, mas não se dispõe de dados da natureza, Loiselle, 1985). Este resultado sugere que esta espécie deveria ser colocada num quarto género dentro das Tilápias cujo principal apomorfismo seria o seu tipo de cuidado parental, - incubação bucal paterna. Por comparação com outras espécies de Ciclídeos utilizadas como "outgroup", verificou-se também que as espécies do género *Tilapia* são as que apresentam o maior número de caracteres ancestrais, o que sustenta a hipótese de os incubadores bucais terem uma origem mais recente a partir dos incubadores no substrato. Mais ainda, verificou-se que as espécies do género *Sarotherodon* apresentam uma posição intermédia nos dendrogramas entre as espécies do género *Tilapia* (mais ancestrais) e as espécies do género *Oreochromis* (com menor número de caracteres ancestrais), o que suporta a hipótese de Trewavas (1982, 1983) da origem monofilética dos incubadores bucais nas Tilápias. Estes resultados confirmam que os complexos de traços da biologia da reprodução descritos acima correspondem a linhagens evolutivas distintas.

3.
SINOPSE DA BIOLOGIA DE *OREOCHROMIS MOSSAMBICUS*

3.1. SISTEMÁTICA E ZOOGEOGRAFIA

Oreochromis mossambicus (Peters 1852) foi descrito pela primeira vez como *Chromis (Tilapia) mossambicus* por Peters (1852) a partir de exemplares recolhidos em Moçambique na região inferior do rio Zambeze até à região do Tete, e ainda na região costeira desde Quelimane, a norte do delta do Zambeze, estendendo-se para sul até perto da foz do rio Limpopo. No entanto, o primeiro material conhecido de *O. mossambicus* é anterior à sua descrição formal, tendo Müller e Peters (1844) fornecido os primeiros dados sobre esta espécie sob a sinonímia de *Chromis niloticus* (non Linn.). Para além deste sinónimo, a lista completa das sinonímias conhecidas para *O. mossambicus*, segundo Trewavas (1983), é a seguinte:

Chromis niloticus (non Linn.)
Chromis (Tilapia) mossambicus Peters 1852
Chromis niloticus var. *mossambicus*
Chromis mossambicus Peters 1852
Tilapia mossambica (Peters 1852)
Sarotherodon mossambicus (Peters 1852)
Chromis vorax Pfeffer 1893
Tilapia vorax (Pfeffer 1893)
Chromis natalensis Weber 1897
Tilapia natalensis (Weber 1897)

A distribuição natural conhecida para *O. mossambicus* tem o seu limite norte no Quelimane e estende-se para sul até ao rio Pongola (27° S 31° E). No entanto, devido à sua grande tolerância à salinidade esta espécie estende a sua distribuição mais para sul em meios estuarinos, chegando nestes habitats até ao rio Bushman, na Província do Cabo (África do Sul) (Whitfield e Blaber, 1979; Trewavas, 1983). Esta progressão para sul parece efectuar-se por via marítima através de passagens sucessivas entre estuários vizinhos, uma vez que W.W. Roberts, numa exploração dos cursos de água entre o rio Untavina (fronteira entre as províncias do Natal e do Cabo) e o rio Bushman, verificou a ocorrência desta espécie apenas nas secções terminais dos cursos de água, nunca ocorrendo a montante de nenhum obstáculo físico (Trewavas, 1983). É ainda de referir que a ocorrência de *O. mossambicus* depende da existência de substratos de reprodução adequados, *i.e.* substrato arenoso com vegetação dispersa

no qual se possam construir os ninhos e com vegetação marginal em águas pouco profundas que funcione como creche ("nursery") para os juvenis (Trewavas, 1983).

O seu valor económico e o seu interesse como espécie exótica em aquariofilia levaram à dispersão artificial da espécie, tendo sido introduzida acidental ou intencionalmente em quase todos os Continentes, *e.g.* (segundo Philippart e Ruwet, 1982, e Trewavas, 1983, excepto segundo indicação em contrário):

África, fora da área de distribuição natural: África do Sul, Zimbabwe, Angola, Madagáscar, Tunísia.

América do Norte: Sul da Califórnia (Legler, 1983), Texas, Florida, Idaho (em águas geotermais).

América Central e do Sul: Venezuela (Bowen, 1980a, 1980b), Haiti, Jamaica, Granada, Porto Rico, Nicarágua, México, El Salvador, Equador, Colômbia.

Sudeste Asiático: Indonésia, Sri Lanka, Java, Malásia, Singapura, Nova Guiné, Filipinas, Tailândia, Bangladesh, Hong Kong, Taiwan, Vietname do Norte, China e Japão.

Austrália: Queensland (Arthington *et al.*, 1984).

Ilhas do Pacífico: Hawaii, Ilhas Gilbert e Ellice.

3.2. AUTO-ECOLOGIA

3.2.1. Factores Abióticos

Ao longo deste vasto espectro de distribuição *O. mossambicus* colonizou uma grande diversidade de habitats que incluem rios equatoriais, tropicais e subtropicais, lagos tropicais e subtropicais, estuários, pequenas massas de água temporárias, fontes geotermais, canais de irrigação e até um atol no Pacífico. Esta grande versatilidade de *O. mossambicus* na ocupação de novos habitats parece estar correlacionada com a sua grande robustez física aliada a uma grande resistência à variação de factores físico-químicos.

3.2.1.1. Velocidade da Corrente e Profundidade

O. mossambicus é uma espécie lêntica que não ocorre em cursos de água com correntes fortes (Trewavas, 1983), tendo Whitfield e Blaber (1979) demonstrado experimentalmente que os indivíduos desta espécie evitam áreas em que a corrente é superior a 370 m/h. A distribuição em profundidade desta espécie pode ir até aos 12 m nos adultos, mas os juvenis podem penetrar até maiores profundidades (Caulton e Hill, 1973; Bruton e Boltt, 1975). Segundo Caulton e Hill (1973) *O. mossambicus* é fisiologicamente incapaz de se adaptar aos aumentos de pressão inerentes a maiores profundidades (> 20 m), sendo a secreção de oxigénio para a bexiga gasosa o mecanismo de compensação de profundidade utilizado por esta espécie. No entanto, a profundidade a que as espécies ocorrem num determinado habitat deve ainda ser influenciada por gradientes de temperatura e oxigénio dissolvido, e pelas concentrações de gases tóxicos (*e.g.* CO_2, NH_3, H_2S) (Philippart e Ruwet, 1982).

3.2.1.2. Temperatura

Os constrangimentos térmicos para a manutenção de uma população são basicamente dois: (a) que em pelo menos um período do ano a temperatura atinja níveis que permitam a reprodução da espécie e o crescimento dos alevins e juvenis; (b) que em nenhum período do ano a temperatura ultrapasse os valores superiores ou desça abaixo dos valores inferiores letais para os indivíduos (Philippart e Ruwet, 1982).

Abaixo de 20 °C as Tilápias não se reproduzem. *O. mossambicus* é uma espécie euritérmica que na sua zona de distribuição natural ocorre em águas com uma variação de temperatura entre 17 e 35°C. No entanto, noutros habitats em que foi introduzida, esta espécie pode suportar uma amplitude térmica entre 13 e 38 °C , sendo os seus limites de tolerância térmicos determinados experimentalmente de 8 e 43 °C (Chervinski, 1982; Philippart e Ruwet, 1982). Contudo estes limites letais variam consoante o stock testado e o seu grau de aclimatação, *e.g.* Allanson e Noble (1964) referem 38.2°C como o limite letal superior de temperatura.

Uma outra complicação advém da interacção entre a resistência térmica das Tilápias e outros factores abióticos, em especial a salinidade. *O. mossambicus* tolera melhor baixas temperaturas em água salgada do que em água doce, o que pode ajudar a explicar a extensão para sul da sua área de distribuição em ambientes estuarinos e costeiros (Allanson *et al.*, 1971). Em água doce *O. mossambicus* atinge o coma a 11°C, devido a um decréscimo da osmolaridade do plasma e das concentrações iónicas

de sódio e cloro; à mesma temperatura mas em água salgada (5‰) não se verifica nenhuma destas reacções (Allanson *et al.*, 1971).

3.2.1.3. Salinidade

O. mossambicus é uma espécie eurialina que sobrevive num largo espectro de salinidades [*e.g.* variações de 0 a 120‰ no lago de Stª Lucia (África do Sul), Whitfield e Blaber, 1979] e se reproduz em salinidades elevadas (*i.e.* >30‰, Phillipart e Ruwet, 1982). Contudo segundo Whitfield e Blaber (1979) *O. mossambicus* não suporta variações rápidas de salinidade, uma vez que está ausente de sistemas estuarinos permanentemente abertos e caracterizados por variações rápidas de salinidade associadas às marés. No entanto, a ausência de *O. mossambicus* nestes sistemas pode ser devida a outros factores negativos, como sejam a inexistência de substratos propícios à construção de ninhos, a existência de correntes fortes, competição com a ictiofauna marinha, ou predação por peixes piscívoros (Philippart e Ruwet, 1982). Os mecanismos fisiológicos envolvidos na adaptação de *O. mossambicus* a diferentes salinidades têm sido investigados, e parecem ser os seguintes: (a) a taxa de ingestão de água é mais elevada em água salgada (Potts *et al.*, 1967); (b) os rins não apresentam quaisquer adaptações à água salgada (*i.e.* nefrónios com um segmento distal convoluto para reabsorção de água) sendo típicos de uma espécie dulçaquícola (Fukusho, 1969); por outro lado verifica-se uma redução das dimensões dos glomérulos relacionada com uma menor taxa de filtração em meios salinos, mas que constitui um processo de degeneração do glomérulo e não uma adaptação funcional (Cataldi *et al.*, 1991); (c) as brânquias parecem ser o orgão que mais contribui para a versatilidade na osmoregulação das espécies eurialinas. As células do epitélio escamoso das brânquias possuem padrões de sulcos na sua superficie. Estes sulcos são mais densos e mais desenvolvidos nas espécies eurialinas do que nas estenoalinas. Em água doce as células superficiais são mais volumosas estendendo-se sobre as aberturas das células de cloreto ("chloride cells"); em água salgada os sulcos aumentam de dimensões e são mais densos, observando-se uma diminuição da superficie das células, que expõe os orificios das células de cloreto. Quanto mais eurialina for a espécie, menor a alteração estrutural que se verifica no processo de adaptação ao aumento de salinidade (Fishelson, 1980). Esta variação no padrão de sulcos da superficie celular foi também observada no epitélio do saco vitelino e no epitélio escamoso das brânquias de alevins aquando do início da natação (Fishelson, 1980), o que poderá explicar o facto de *O. mossambicus* não só sobreviver como também se reproduzir com sucesso em salinidades elevadas; (d) o epitélio do esófago sofre alterações estruturais, sendo a camada estratificada, típica de espécies de água doce, substituída por uma camada de

células colunares típicas de Teleósteos marinhos, a qual é permeável aos iões de sódio e de cloro, permitindo a desalinização da água ingerida para compensar a água perdida num meio hipertónico (Cataldi *et al.*, 1988).

A natureza eurialina de *O. mossambicus* tem sido explorada em aquacultura, existindo explorações desta espécie em ambientes estuarinos e mesmo em água salgada (Payne, 1983). Um caso que ilustra a resistência desta espécie à água salgada é o estabelecimento de uma população estável numa lagoa de um atol do Pacífico, na qual coexiste com a ictiofauna característica de um recife de coral (Lobel, 1980).

Perez e Maclean (1976) descrevem dois tipos de hemoglobina para *O. mossambicus* e tentaram relacionar este facto com o carácter eurialino e euritérmico desta espécie. Um dos tipos de hemoglobina, que só aparece aos 47 dias de idade, tem a sua afinidade para o oxigénio pouco afectada pela salinidade e pela temperatura, o que segundo os autores permitiria aos adultos de *O. mossambicus* colonizar habitats com temperaturas e salinidades mais elevadas do que as toleradas pelos alevins. No entanto, *O. mossambicus* não só ocorre nestas condições como se reproduz, e sabe-se que alevins desta espécie suportam temperaturas excepcionalmente elevadas em pequenos corpos de água utilizados como creches ("nurseries") (Trewavas, 1983).

3.2.1.4. pH, Oxigénio Dissolvido e Outros Gases

As Tilápias em geral, e *O. mossambicus* em particular, são resistentes a níveis baixos de oxigénio na água. *O. mossambicus* pode sobreviver com níveis de oxigénio dissolvido de 0.1 ppm (Chervinski, 1982; Philippart e Ruwet, 1982). A explicação para estes limites de tolerância encontra-se numa combinação de mecanismos fisiológicos: (a) hemoglobinas com uma afinidade muito elevada para o oxigénio, que permitem captar oxigénio dissolvido a níveis muito baixos; (b) respirar na camada superficial da coluna de água, mais oxigenada; (c) suportar condições de anerobiose (Dusart, 1963; Philippart e Ruwet, 1982). Por outro lado, as Tilápias suportam também elevadas concentrações de dióxido de carbono na água, bem como de outros gases tóxicos resultantes da decomposição da matéria orgânica (*e.g.* NH_3, H_2S)(Philippart e Ruwet, 1982). Para as Tilápias, o limite letal de acidez é aproximadamente de pH 4.0 e o limite letal de alcalinidade é de pH 11.0, sendo o pH de 7-8 o recomendado para as culturas comerciais (Chervinski, 1982).

3.2.1.5. Outros Factores

O. mossambicus consegue sobreviver em massas de água extremamente reduzidas, estando documentada a situação extrema de indivíduos encontrados vivos em areia molhada, cobertos por uma camada de areia, de até 3 metros, cuja superfície se encontrava seca (Donnelly, 1978). As Tilápias, incluindo *O. mossambicus*, também toleram bem a turbidez e são resistentes à poluição por substâncias tóxicas, quer orgânicas quer inorgânicas (Philippart e Ruwet, 1982).

3.2.2. Ecologia Alimentar

O. mossambicus é uma espécie oportunista do ponto de vista alimentar. Os juvenis até cerca de 8 cm de comprimento total são omnívoros, embora a sua dieta consista essencialmente em diatomáceas dos fundos ricos em matéria orgânica das creches ("nurseries") (Bruton e Boltt, 1975). Os juvenis acima destas dimensões continuam a alimentar-se de diatomáceas bênticas e epifíticas, e os adultos são preferencialmente detritívoros, embora a sua dieta varie consideravelmente consoante o alimento disponível nos diferentes habitats e possa englobar macrófitos, algas bênticas, fitoplâncton, perifiton, zooplâncton, ovos e larvas de peixe e mesmo peixes de menores dimensões (*e.g. Gambusia* sp., CT=3-4 cm, Neil, 1966) (Bowen, 1981; Bowen, 1982; Trewavas, 1983). A alimentação ocorre durante o dia, e os juvenis alimentam-se em águas pouco profundas mais ricas em diatomáceas, enquanto os adultos se alimentam em fundos mais afastados da costa e mais pobres em diatomáceas (Trewavas, 1983).

O aparelho digestivo de *O. mossambicus*, tal como o das restantes Tilápias, não apresenta especializações se comparado com outros Ciclídeos africanos, em particular com os Haplocromíneos (Fryer e Iles, 1972; Bowen, 1982). A cavidade bucal está equipada com uma a cinco fileiras de dentes nas mandíbulas. Os dentes das fileiras mais internas são tricúspidos ou bicúspidos, e os das fileiras mais externas são unicúspidos. Em adultos de grandes dimensões (*i.e.* >20 cm comprimento total), encontram-se exclusivamente dentes unicúspidos mesmo nas fileiras internas (Trewavas, 1983). Os dentes mandibulares são aplanados distalmente formando uma estrutura semelhante a uma lâmina a qual pode ser utilizada na raspagem de superfícies (Lanzing e Higginbotham, 1976; Bowen, 1982). Existe na zona da faringe um conjunto de ossos faringicos que formam as placas faringicas (1 inferior e duas superiores) (Trewavas, 1983). A superfície destas placas está também equipada com dentes faringicos, os quais reflectem a dieta da espécie, *e.g. Sarotherodon esculentus*, que se alimenta de fitoplâncton, apresenta dentes faringicos pouco desenvolvidos e frágeis,

enquanto que *Tilapia rendalli*, que se alimenta de macrófitos, possui dentes faringicos bem desenvolvidos e robustos (Bowen, 1982). Em *O. mossambicus* a acção das placas faringicas promove a desagregação dos aglomerados de detritos. As placas faringicas são accionadas por um conjunto de músculos que promovem a fricção das placas superiores na placa inferior (Liem, 1973), e através destes movimentos actuam sobre as partículas alimentares introduzidas na cavidade bucal, separando-as em partículas de menores dimensões. As vantagens de reduzir o tamanho das partículas alimentares são o aumento do índice superficie-volume, o que facilita a acção dos enzimas digestivos, e uma menor resistência aos movimentos peristálticos (Bowen, 1982). Nas espécies que se alimentam de macrófitos (*e.g. T. rendalli*) as placas faringicas promovem também a destruição mecânica das paredes celulares, aumentando a eficiência alimentar (Bowen, 1982), uma vez que as Tilápias não possuem nenhum equipamento enzimático que lhes permita a digestão da celulose (Nagase, 1964).

O esófago tem um lúmen reduzido e é curto, dando acesso a um estômago pouco dilatado separado do intestino por um esfincter pilórico. O pH do fluido estomacal é baixo e corresponde ao pH óptimo para as proteases segregadas pela mucosa gástrica (*i.e.* pH 2.0-2.5, Nagase, 1964; Bowen, 1982). No entanto, à medida que o estômago se enche, o seu pH diminui abaixo de 2.0, sendo o valor modal 1.5 e o mínimo registado 1.0 (Bowen, 1976, 1982). Com estes níveis de acidez as proteases tornam-se inactivas. No entanto, este pH provoca a lise das paredes celulares das cianobactérias e das bactérias existentes nos detritos, permitindo o acesso subsequente dos enzimas gástricos ao citoplasma destas células já no intestino. Este mecanismo confere uma vantagem adaptativa enorme às Tilápias em geral, e a *O. mossambicus* em particular, uma vez que lhes permite explorar um nicho alimentar extremamente rico em proteínas, para o qual não existem praticamente competidores, uma vez que os vertebrados não possuem enzimas capazes de provocar a lise da parede celular de procariotas (Bowen, 1982).

A seguir ao esfincter pilórico desenvolve-se um intestino no qual se reconhecem duas regiões distintas: (a) uma secção proximal curta de maior diâmetro, e com uma parede fina, na qual se abre o ducto biliar logo após o esfincter pilórico, e onde se finaliza a digestão e ocorre a absorção; (b) uma segunda secção distal extremamente longa e com um lúmen menor, terminando num esfincter anal, na qual aparentemente se dá a compactação do cordão fecal. O índice comprimento do intestino/ comprimento standard varia entre 7:1 e 10:1, o que reflecte um intestino bastante longo se comparado com espécies carnívoras (Bowen, 1982).

Apesar de o agregado de detritos constituir uma fonte principal de proteínas na dieta de *O. mossambicus*, ele pode não ser suficiente para colmatar as necessidades energéticas dos indivíduos. Na população do lago Sibaya (África do Sul) verifica-se

que, embora os juvenis cresçam rapidamente e apresentem bons factores de condição, os adultos apresentam-se mal nutridos (Bruton e Allanson, 1974). Este facto parece ter por base diferentes comportamentos alimentares: embora quer juvenis quer adultos se alimentem de detritos, os primeiros alimentam-se em águas pouco profundas (*i.e.* < 30 cm de profundidade) e os segundos a maiores profundidades (*ca.* 3-5 m de profundidade). Análises ao conteúdo proteico dos fundos a estas profundidades revelaram que as águas pouco profundas apresentam um índice de proteína assimilável por energia alimentar assimilável [proteína/ energia (mg/kJ)] muito superior ao dos detritos de maiores profundidades (Bowen, 1979). Estes resultados mostram que os juvenis dispõe de uma boa dieta proteica que lhes permite um crescimento rápido, não acontecendo o mesmo com os adultos, que apresentam insuficiências proteicas responsáveis pela sua malnutrição e nanismo (Bowen, 1979, 1982).

Numa outra população de *O. mossambicus* no lago Valencia (Venezuela), verificou-se um fenómeno semelhante. Nesta população o índice proteína/ energia da dieta alimentar detritívora não explicava a boa condição dos indivíduos e as boas taxas de crescimento (Bowen, 1980a). Contudo, verificou-se que, para além do conteúdo proteico, as dietas continham aminoácidos livres ligados a detritos amorfos, e que os indivíduos se alimentavam preferencialmente na zona de maior concentração de aminoácidos detríticos (Bowen, 1980b). Este facto veio colocar em destaque a importância dos amino-ácidos detríticos como complemento da dieta proteica de *O. mossambicus* e o seu papel na prevenção de fenómenos de nanismo.

A versatilidade do comportamento e da dieta alimentar desta espécie foi colocada em evidência por Bowen e Allanson (1982), num estudo sobre a população do lago Sibaya, África do Sul. Os juvenis desta população deslocam-se diariamente de águas mais profundas, ao largo, para águas costeiras de baixa profundidade, nas quais se alimentam durante o dia, regressando depois de novo a águas mais profundas. Contudo, a subida do nível de água do lago em cerca de 1 m durante o período do estudo (*ca.* 3 anos), provocou uma alteração na dieta e no comportamento alimentar dos juvenis. Estes passaram a realizar as migrações litorais alimentares diárias durante o período nocturno, aparentemente para evitar o predador *Clarias gariepinus*, que com a subida do nível de água passou a frequentar a zona litoral durante o dia. Numa segunda fase da subida do nível do lago, em que foram inundados os campos relvados nas margens, os juvenis passaram a alimentar-se nestes campos submersos isentos da presença de predadores, e não na faixa litoral de substrato móvel, ocorrendo uma concomitante mudança de dieta de agregados de detritos para perifiton.

3.2.3. Reprodução

Os dados disponíveis indicam que *O. mossambicus* se reproduz continuamente em latitudes tropicais, e que em zonas subtropicais e temperadas a sua reprodução é sazonal. Mesmo em latitudes em que se reproduz sazonalmente, *O. mossambicus* apresenta um pico de actividade reprodutora no início da época das chuvas. As fêmeas produzem mais de uma postura por época de reprodução (*ca.* 1 postura por mês, ver intervalo inter-posturas abaixo) (Trewavas, 1983).

Na tabela 3.1 apresentam-se os dados publicados sobre a extensão da época de reprodução, bem como para a idade e o tamanho de cada um dos sexos na maturação sexual. O tamanho e a idade com que cada um dos sexos atinge a maturidade sexual depende das condições ambientais. James e Bruton (1992), num estudo comparativo da biologia reprodutiva e da história vital de quatro populações de diferentes habitats verificaram que em ambientes instáveis, com temperaturas perto dos limites de tolerância da espécie e com grandes flutuações dos níveis de água, *O. mossambicus* apresenta um estilo de vida caracterizado por uma maturação sexual precoce, aumento da fecundidade, diminuição do tamanho dos ovos e uma menor longevidade (James e Bruton, 1992).

No início da época de reprodução, os machos juntam-se em grandes cardumes e deslocam-se para os terraços litorais de baixa profundidade nos quais estabelecem as arenas reprodutoras (Bruton e Boltt, 1975). Nesta altura os machos adoptam uma coloração nupcial, em que o corpo se apresenta todo negro, com excepção da região sub-mandibular que é branca e dos bordos das barbatanas caudal, anal e dorsal que são vermelhos (comunicação pessoal de M.N. Bruton *in* Trewavas, 1983). Cada macho estabelece um território no substrato, no qual escava um ninho. Os territórios são apenas defendidos durante o dia, e durante a noite os machos migram para águas mais profundas que possuem uma amplitude térmica menor e que não estão expostas a predadores, uma vez que o principal predador de *O. mossambicus* neste habitat *C. gariepinus*, possui actividade nocturna deslocando-se de águas mais profundas para os terraços litorais durante a noite (lago Sibaya, Bruton e Boltt, 1975; Bruton, 1983). Nos habitats lagunares costeiros de Puako (Hawaii), sujeitos a flutuações tidais do nível de água, e nos quais esta espécie foi introduzida, os machos territoriais defendem os territórios apenas durante a maré cheia, deslocando-se em cardumes durante a maré vazia (Neil, 1966).

Tabela 3.1. Extensão da época de reprodução e idade e tamanho na maturação sexual para cada um dos sexos (MM= macho; FF= fêmea) para diferentes populações de *O. mossambicus*; (na) dados não apresentados pelos autores.

Habitat	Idade da maturação (anos)	Tamanho (CS) na maturação (cm)	Época de reprodução	Autor
Lago Sibaya, África do Sul	FF: 1 MM: 1-2	FF: 8 MM: 10	Setembro-Fevereiro	Bruton e Allanson, 1974
Lagoa Kowie, África do Sul	FF: 3 + MM: 3 +	FF: 21.2 MM: 22.3	Novembro-Fevereiro	James e Bruton, 1992
Lago Rufanes, África do Sul	FF: 1 + MM: 1 +	FF: 11.8 MM: 11.0	Novembro-Março	James e Bruton, 1992
Represa de Bradshaw Mill, África do Sul	FF: 2 + MM: 2 +	FF: 18.6 MM: 16.8	Novembro-Março	James e Bruton, 1992
Represa de Mill Farm, África do Sul	FF: 2-3 + MM: 2 +	FF: 26.3 MM: 26.5	Novembro-Janeiro	James e Bruton, 1992
Reservatório de Tingalpa, Austrália	FF: 1 + MM: 1 +	FF: 18.0 MM: 15.2	Outubro- Abril	Arthington e Milton, 1986
Represa de North Pine, Austrália	FF: 1 + MM: 1 +	FF: 17.4 MM: 19.1	Novembro-Março	Arthington e Milton, 1986
Reservatório de Plover Cove, Hong Kong	FF: 1 MM: 1	FF: 16.2 MM: 17.8	Maio-Outubro	Hodgkiss e Man, 1978
Parakrama Samudra, Sri Lanka	FF: na MM: na	FF: 15 MM: 27.5	Contínuo com 4 picos	De Silva e Chandrasoma, 1980
Java, Malaca e Madras	FF: 0.25 MM: 0.25	FF: 6-10 MM: 7-13	Contínua	Trewavas, 1983
Lago Moyua, Nicarágua	FF: 0.5 MM: 0.5	FF: 12-14 MM: 2-14	Contínua	Riedel, 1965

As dimensões dos ninhos estão relacionadas com as dimensões do macho, e os ninhos ocorrem a baixas profundidades (ver tabela 3.2). Verificou-se ainda que as dimensões dos ninhos aumentavam com a profundidade a que estes se encontravam (Bruton e Boltt, 1975; De Silva e Chandrasoma, 1980), e estavam inversamente relacionadas com a densidade de ninhos e directamente com a distância inter-ninhos (De Silva e Sirisena, 1988). Estes autores detectaram ainda uma relação exponencial

entre o diâmetro do ninho e a sua altura (ou profundidade interna), pelo que a variabilidade dos volumes é maior do que a destas dimensões tomadas isoladamente.

Os ninhos encontram-se agregados nas arenas, variando as distâncias inter-ninhos entre 40 cm e 167 cm nas populações do Sri-Lanka (De Silva e Sirisena, 1988) e entre 2 m e 12 m nas populações da província do Cabo, África do Sul (James e Bruton, 1992). No entanto em condições de falta de disponibilidade de substrato de nidificação, a distância entre os ninhos pode-se anular, existindo uma compactação dos territórios como descrito por Barlow (1974b) para uma colónia em cativeiro de *O. mossambicus*. A zona escolhida para o estabelecimento das arenas reprodutoras é de fraca qualidade alimentar, reduzindo os machos a sua actividade de alimentação, o que se reflecte no seu factor de condição no final da época de reprodução (Bowen, 1984).

Tabela 3.2. Características dos ninho de *O. mossambicus*. ∅, diâmetro do ninho; CS, comprimento standard.

Local	Dimensões do ninho e dos machos (cm)	Profundidade (m)	Habitat	Autor
Lago Sibaya, África do Sul	∅ = 74 (51-97) CS = 17	0.4-0.85	terraço litoral com *Scirpus littoralis* e *Potamogeton pectinatus* dispersos	Bruton e Boltt, 1975
Lagoa Kowie, África do Sul	∅ = 40-90 CS = 22.3-30	0.4-1	terraço litoral com *Potamogeton pectinatus*	James e Bruton, 1992
Lago Rufanes, África do Sul	∅ = 30-50 CS = 11.2-29.5	0.3-0.5	terraço litoral com *Potamogeton pectinatus*	James e Bruton, 1992
Represa de Bradshaw Mill, África do Sul	∅ = 25-45 CS = 16.4-28	0.3-0.5	terraço litoral com *Potamogeton pectinatus*	James e Bruton, 1992
Represa de Mill Farm, África do Sul	∅ = 50-75 CS = 25.7-38.5	0.5-0.75	terraço litoral com *Potamogeton pectinatus*	James e Bruton, 1992
Lagoa Mhlanga, África do Sul	∅ = 60-100 CS = na	< 1	terraço litoral junto à franja de *Phragmites* spp.	Cooper e Harrison, 1992
Sri Lanka (lagos artificiais)	∅ = 11-110 CS = na	< 1	terraço litoral	De Silva e Sirisena, 1988
Lago Parakrama Samudra, Sri Lanka	∅ = 29-82 CS = 27.5	< 0.9	terraço litoral	De Silva e Chandrasoma, 1980

A construção do ninho em *O. mossambicus* é executada pela remoção bucal de partículas de areia do centro para a periferia, sendo o ninho uma depressão circular rodeada por um parapeito, resultante da deposição da areia removida da cavidade central. Ao contrário de outras espécies de Tilápias, em que em algumas fases da construção do ninho são utilizadas as barbatanas peitorais ou a caudal para remoção de substrato (*e.g. O.niloticus*, Fryer e Iles, 1972; *S. galilaeus*, Fagade *et al.*, 1984), *O. mossambicus* utiliza apenas a boca para a remoção de substrato, durante o processo de construção do ninho (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Trewavas, 1983; observações pessoais). Durante o dia, cada macho guarda o seu ninho, expulsando qualquer intruso que penetre no seu território. As fêmeas, os sub-adultos e os machos adultos não-territoriais e sexualmente inactivos habitam em águas sublitorais e as fêmeas apenas visitam as arenas reprodutoras dos machos quando estão maduras (Bruton e Boltt, 1975, Bruton, 1983). Os machos atraem as fêmeas para os seus ninhos através de uma sequência de corte bem definida (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Neil, 1964; N'Gokaka, 1983). A fêmea entra no ninho, no fundo do qual deposita os ovos, após o que os apanha com a boca, armazenando-os numa bolsa mandibular. Durante a sequência de corte e quer antes, quer depois, da oviposição e colecta dos ovos, a fêmea aproxima a boca da região genital do macho, chegando a mordiscar a sua papila genital. Nesta fase o macho ejacula o esperma, o qual deverá ser recolhido pela fêmea para a sua cavidade bucal, sendo a fertilização dos ovos intra-bucal e facilitada por movimentos de mastigação da fêmea (Seitz, 1948; Baerends e Baerends van Roon, 1950; Bohrer, 1953). De seguida, a fêmea retira-se da arena reprodutora, procedendo à incubação bucal dos ovos e larvas em águas mais profundas e afastadas da costa, formando-se cardumes de fêmeas incubadoras (Bruton e Boltt, 1975). Durante o período de incubação bucal, as fêmeas não se alimentam ou reduzem substancialmente a actividade alimentar (Baerends e Baerends van Roon, 1950).

A fecundidade das fêmeas está relacionada com o seu tamanho e com as dimensões dos próprios ovos (Fryer e Iles, 1972; Trewavas, 1983) (ver tabela 3.3). Contudo o número de ovos encontrado na boca das fêmeas incubadoras é substancialmente menor do que aqueles que se encontram nos ovários, o que sugere as seguintes hipóteses:

(a) parte dos ovos são predados no acto da postura, possivelmente pelo próprio macho;

(b) a fêmea não põe toda a postura, dando-se a regressão de alguns oócitos. Com efeito, Aravidan e Padmanabhan (1972) verificaram que alguns oócitos maduros eram retidos no ovário, tornando-se atréticos, e sendo absorvidos pelas células do folículo;

Tabela 3.3. Relação entre o tamanho das fêmeas, a fecundidade, a dimensão das posturas incubadas e a dimensão dos ovos para várias populações de *O. mossambicus*; (na) dados não apresentados pelos autores.

Local	Tamanho das fêmeas (cm)	Fecundidade (nº ovos ováricos)	Nº de ovos incubados	dimensões dos ovos (mm)	Autor
Java	CT = 8-11	80-300	na	2-2.2	Vaas e Hofstede, 1952
Lago Moyua, Nicarágua	Peso = 92-365 g	390-910	185-405	na	Riedel, 1965
Lago Sibaya, África do Sul	CS = 12.5-15.6	na	110-579	na	Bruton e Boltt, 1975
Lagoa Kowie, África do Sul	24.5-27.5	500-2300	x = 2662	2.4-3.2	James e Bruton, 1992
Lago Rufanes, África do Sul	8.7-23.2	300-800	x = 376	2.1-2.7	James e Bruton, 1992
Represa de Bradshaw Mill, África do Sul	21.5-24.5	800-2200	x = 1394	2.4-2.9	James e Bruton, 1992
Represa de Mill Farm, África do Sul	20.5-35	1000-4100	x = 3113	3.1-3.8	James e Bruton, 1992
Reservatório de Tingalpa, Austrália	CS = 19.6± 6.1a	2107±220a	na	na	Arthington e Milton, 1986
Represa de North Pine, Austrália	CS = 15.9± 3.9a	1360±117a	na	na	Arthington e Milton, 1986
Reservatório de Plover Cove, Hong Kong	CS = 15-25	650-1754	482-1175	na	Hodgkiss e Man, 1978
Parakrama Samudra, Sri Lanka	CS = 20-31.9	360-1775	na	1.2-3.0	De Silva e Chandrasoma , 1980

(a) média±desvio padrão

(c) existe canibalismo filial por parte da fêmea durante o período de incubação bucal, possivelmente como estratégia reprodutora para manter o seu factor de condição;

(d) ocorrência de mortalidade de ovos e alevins durante a incubação bucal, que são selectivamente removidos pela fêmea.

No capítulo 13 este assunto será retomado e estas hipóteses serão analisadas mais pormenorizadamente.

Os ovos eclodem após 3-5 dias de incubação bucal e as larvas são incubadas até ao 14°-15° dia pós-postura (Vaas e Hofstede, 1952; Bohrer, 1953, Russock e Schein, 1977; Smith e Haley, 1988; observações pessoais) após o que se mantém a ligação fêmea-alevins até ao 22° dia pós-postura, continuando os alevins a refugiar-se na cavidade bucal materna durante a noite e em situações de perigo (Trewavas, 1983).

As fêmeas incubadoras sofrem um desenvolvimento dos ovários logo após a desova, iniciando-se a vitelogénese uma semana após a postura, ficando no entanto o crescimento dos oócitos suspenso desde esta altura até ao final do ciclo de incubação bucal, após o qual o desenvolvimento destes é restabelecido, ocorrendo uma nova postura cerca de 40 dias após a precedente (Smith e Haley, 1988). Silverman (1978a) descreve um intervalo inter-posturas de 38.7±3.1 dias em fêmeas isoladas, o qual é no entanto significativamente reduzido para 22.2±1.2 dias na presença de um macho sexualmente activo. Vaas e Hofstede (1952) e Bohrer (1953) sugerem também intervalos inter-posturas entre 30 e 40 dias em condições de aquário, e Bruton e Boltt (1975) detectaram um intervalo inter-posturas de 36 dias para as fêmeas da população do lago Sibaya, África do Sul. Estes dados sustentam a hipótese de as fêmeas terem várias posturas durante uma época de reprodução, variando no entanto o número de posturas por época de reprodução com a extensão desta e com os diferentes habitats colonizados por *O. mossambicus* (*e.g.* 3-4 posturas numa época de 6 meses, lago Sibaya, Bruton e Boltt, 1975; até 5 posturas num período de 133 dias, Província do Cabo, James e Bruton, 1992).

4.
HORMONAS E COMPORTAMENTO EM TELEÓSTEOS

4.1. ESTERÓIDES SEXUAIS EM TELEÓSTEOS

A designação genérica de esteróides sexuais refere-se a um conjunto de hormonas cuja estrutura básica consiste em quatro anéis de carbonos fundidos numa molécula de ciclopentanoperhidrofenantreno, e que desempenham um papel activo na reprodução e metabolismo nas diferentes classes de vertebrados. Estas hormonas são classificadas em estrogénios, androgénios, e progestogénios, consoante a sua estrutura molecular básica é estrano (C_{18}), androstano (C_{19}) ou pregnano (C_{21}), respectivamente (Bentley, 1982).

A partir destas estruturas moleculares de base (*i.e.* estrano, androstano e pregnano) formam-se esteróides através de dois processos:

(a) adição de grupos funcionais em determinadas posições da molécula. Estes grupos funcionais podem ocorrer nas posições α ou β dando origem a estereoisómeros. Considerando todas as possíveis ligações de grupos funcionais e seus estereoisómeros seria de prever a existência de milhares de esteróides das três classes (C_{18}, C_{19}, e C_{21}). No entanto, apenas uma pequena fracção deste conjunto de combinações possíveis de esteróides se encontra nos vertebrados. O padrão de adição de grupos funcionais é relativamente restrito em Aves e Mamíferos: C18 do grupo metil, C20 e C21 do grupo etil, e C1, C3, C11, C16 e C17 do núcleo (Gorbman *et al.*, 1983). Nos Teleósteos também pode ocorrer a adição de grupos funcionais nas posições C6 e C7 do núcleo, e nas Lampreias na posição C15 (Kime, 1987, 1993).

(b) Remoção de átomos de hidrogénio nos carbonos do núcleo dando origem a a duplas ligações C=C. Embora um grande número de compostos também se pudesse formar desta maneira, a formação de duplas ligações entre átomos de carbono ocorre, à excepção dos estrogénios, apenas nos anéis A e B, e mesmo nestes estão restritas a algumas posições, *e.g.* C4=C5 e C5=C6 (Gorbman *et al.*, 1983).

A existência destes padrões pode ser explicada de duas formas:

(a) As duplas ligações e os grupos funcionais ocorrem em posições que conferem uma maior estabilidade termodinâmica à molécula. A sua ocorrência noutras posições dá origem a moléculas instáveis e rapidamente convertíveis em moléculas mais estáveis, que são assim também as mais comuns.

(b) A especificidade dos receptores hormonais terá restringido as moléculas esteróides que podiam ser biologicamente activas, tendo-se procedido desta forma à sua selecção.

As vias de síntese dos esteróides partem da transformação de colesterol, o qual é considerado como o precursor de todas as hormonas esteróides, em pregnenolona a partir da qual se podem formar androgénios, estrogénios e progestogénios (Gorbman *et al.*, 1983; Kime, 1987). As diferentes vias de síntese de esteróides utilizam um arsenal relativamente pequeno de diferentes tipos enzimáticos: liases (utilizadas para quebrar as cadeias laterais entre os carbonos 17 e 20, ou 21 e 22), hidroxilases (hidroxilação é mais comum nas posições 11,16, 17, 20, 21, e 22), hidroxi-esteróide desidrogenases (catalisa a conversão de um grupo álcool numa cetona e vice-versa, *i.e.* testosterona em androstenediona, estradiol em estrona e pregnenolona em progesterona), isomerases (involvidas na transferência de duplas ligações para posições mais estáveis), aromatase (transformação da androgénios em estrogénios), e reductases (adição de um hidrogénio na posição 5α ou 5β, e quebra da dupla ligação na posição C4) (Kime, 1987).

O funcionamento das diferentes vias de síntese nas gónadas e nas glândulas adrenais depende da existência das enzimas involvidas nessas mesmas vias e/ou da existência de receptores para as hormonas tróficas respectivas (*i.e.* FSH, LH, PRL, ACTH) nesses orgãos.

Ao contrário dos Mamíferos e das Aves em que os esteróides sexuais clássicos são a testosterona, o estradiol e a progesterona, nos Teleósteos a testosterona e o estradiol estão presentes mas o androgénio com maior actividade biológica é a 11-cetotestosterona e o papel da progesterona é desempenhado numas espécies pela 17α, 20β-dihidroxi-4-pregneno-3-ona (17,20β-P) e noutras pela 17,20β,21-tri-hidroxi-4-pregneno-3-ona (17,20β,21-P) (Kime, 1987, 1993).

Nos machos de teléosteos, os androgénios mais comummente encontrados no plasma em quantidades consideráveis são a testosterona (T), a 11β-hidroxi-testosterona (11-OHT), e a 11-cetotestosterona (11-KT), e os progestogénios mais comuns são a 17,20β-P e a 17α, 20α-dihidroxi-4-pregneno-3-ona (17,20α-P)(Kime, 1993). Os estrogénios aparecem em pequenas quantidades ou não são detectáveis no plasma masculino.

A função dos androgénios nos machos de Teleósteos está relacionada com vários aspectos da reprodução, como sejam a diferenciação das gónadas, a regulação da espermatogénese e da espermiação (Fostier *et al.*, 1983), a expressão dos caracteres sexuais secundários (Yamamoto, 1969; Liley e Stacey, 1983; Borg, 1994) e a regulação do comportamento reprodutor (Liley e Stacey, 1983; Borg, 1994). Os progestogénios parecem ter um papel na espermiação tal como acontece na maturação final dos oócitos nas fêmeas (Canário, 1989) mas a demonstração deste papel em

Vertebrados Anamniotas restringe-se à rã *Rana nigromaculata* (Kobayashi *et al.*, 1993).

A revisão da literatura que se segue, sobre hormonas e comportamento em Teleósteos, debruça-se quase exclusivamente sobre os aspectos endocrinológicos do comportamento dos machos, uma vez que os trabalhos práticos da presente dissertação incidiram exclusivamente sobre a relação entre esteróides sexuais e comportamento social dos machos de *Oreochromis mossambicus*. No entanto, e quanto parece pertinente são apresentados dados referentes à endocrinologia comportamental das fêmeas.

4.2. ANDROGÉNIOS E COMPORTAMENTO SOCIAL EM MACHOS DE TELEÓSTEOS

A inter-relação entre esteróides sexuais e comportamento em Teleósteos tem sido estudada sobretudo do ponto de vista do efeito dos androgénios (ver Liley e Stacey, 1983 e Villars, 1983).

Nos Teleósteos em geral e nos Ciclídeos em particular os androgénios têm sido implicados no controlo de aspectos bem precisos do comportamento reprodutor.

Nos Teleósteos há que considerar separadamente diferentes tipos de comportamentos reprodutores, por terem subjacentes sistemas motivacionais distintos (ver van Iersel, 1953; Wiepkema, 1961; Baggerman, 1966):

(a) os comportamentos que antecedem a postura, *i.e.* estabelecimento de territórios reprodutores, preparação de um local de postura (no qual em algumas espécies se pode dar o desenvolvimento dos zigotos sob guarda uni- ou biparental funcionando neste caso como ninho) e atracção de um parceiro sexual para o local de postura - corte;

(b) a postura *sensu stricto*, *i.e.* ejaculação nos machos sincronizada com a oviposição nas fêmeas em espécies com fertilização externa e cópula em espécies com fertilização interna;

(c) o comportamento parental, que envolve a guarda dos ovos ou ovos e larvas contra predadores, a oxigenação dos ovos através de movimentos de ventilação e a inibição dos comportamentos de alimentação incidindo sobre a própria postura.

Existem dois tipos de evidências que apontam para um papel dos androgénios na manifestação dos comportamentos que antecedem a postura: (a) estudos de administração de androgénios e ou anti-androgénios a indivíduos previamente castrados ou a indivíduos intactos; (b) acção dos androgénios nas estruturas morfológicas que funcionam como sinais sociais envolvidos no acasalamento (*e.g.* caracteres sexuais secundários).

Os androgénios não parecem desempenhar um papel activo no controlo do comportamento parental, excepto talvez na componente de territorialidade com defesa activa do ninho. Não se conhecem detalhes sobre o mecanismo fisiológico de ejaculação nos machos, embora em algumas espécies os machos possam controlar a quantidade de esperma ejaculado (*e.g. Thalassoma bifasciatum*, Shapiro *et al.*, 1994) o que sugere a existência de um controlo neural directo. A oviposição parece ser controlada por prostaglandinas e por neuropeptídeos hipofisários (Liley e Stacey, 1983; Stacey, 1987). Os diferentes aspectos do comportamento parental parecem ser regulados pela prolactina, actuando isoladamente em alguns casos e conjuntamente com androgénios noutros casos (Liley e Stacey, 1983; Wendelaar-Bonga *et al.*, 1984; de Ruiter *et al.*, 1986; Kindler *et al.*, 1991).

4.2.1. Castração e Terapias de Substituição de Androgénios em Castrados e Administração de Androgénios e/ou Inibidores em Indivíduos Intactos

Embora as experiências que recorrem à castração de indivíduos apresentem em alguns casos resultados contraditórios, pode-se concluir que a castração tende a suprimir os comportamentos sexuais, bem como os caracteres sexuais secundários, e que a administração de androgénios a indivíduos castrados reactiva estas características (tabela 4.1.). Por outro lado a administração de androgénios a indivíduos intactos tende a promover a expressão dos comportamentos reprodutores (tabela 4.1).

Também em Ciclídeos, os resultados das experiências de castração se têm revelado contraditórios. Por um lado, existem relatos da manutenção dos comportamentos de corte e de construção do ninho em indivíduos castrados em *Hemichromis bimaculatus* (Noble e Kumpf, 1936), *Sarotherodon melanotheron* (Aronson, 1951), *Aequidens latifrons* (Aronson *et al.*, 1960), *Sarotherodon melanotheron heudelotii* e *Oreochromis niloticus* (Heinrich, 1967). Por outro lado, Reinboth e Rixner (1970), demonstraram que a castração inibia a expressão dos comportamentos reprodutores em *Pseudocrenilabrus multicolor*, nomeadamente as componentes agonística, sexual e de construção do ninho, as quais eram completamente restabelecidas através da administração de testosterona exógena aos indivíduos castrados.

Estes resultados aparentemente contraditórios, em que a castração não removeu os comportamentos reprodutores, podem ser devidos a gonadectomias incompletas e/ou à regeneração do tecido testicular. O contexto social da experiência, o estatuto social e o estado de maturação sexual dos indivíduos utilizados são também variáveis que podem ajudar a explicar estes resultados.

Tabela 4.1. Efeitos de castração e terapias de substituição sobre o comportamento agonístico e sexual em Teleósteos Não-Ciclídeos.

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Belontiidae			
Trichogaster trichopterus	Castração	Inibição da corte e da construção do ninho	Johns e Liley, 1970
	Metiltestosterona em castrados	Restitui a corte e a construção do ninho	
	Metiltestosterona em fêmeas	Construção do ninho	Kramer, 1972
Macropodus opercularis	Castração	Inibição da corte; construção do ninho não é afectado	Villars e Davis, 1977
	Metiltestosterona em castrados	Restitui a corte	
Betta splendens	Castração	Comportamento agonístico não é afectado	Weiss e Coughlin, 1979
Gasterosteidae			
Gasterosteus aculeatus	Castração	Inibição da corte e da construção do ninho; não afecta comportamento agressivo em algumas condições de fotoperíodo	Hoar, 1962
	Metiltestosterona em castrados	Restituição da corte e da construção do ninho em castrados	Hoar, 1962 Wai e Hoar, 1963
	Acetato de ciproterona	Atrasa o aparecimento do comportamento reprodutor em peixes invernantes	Rouse *et al.*, 1977
Centrarchidae			
Lepomis megalotis e *L. gibbosus*	Castração	Suprime a construção do ninho	Smith, 1969
	Testosterona em castrados	Restabelece os comportamentos de escavar o ninho	Smith, 1969

Tabela 4.1. (Continuação).

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Ciprinidae			
Brachydanio rerio	Castração	Não suprime comportamento sexual	van den Hurk *et al.*, 1982
Carassius auratus	Testosterona ou 11-cetotestosterona em indivíduos intactos	Estimula comportamentos sexuais	Kyle, 1982
Poecilidae			
Xiphophorus maculatus	Castração	Decréscimo dos comportamentos de corte e agonísticos	Chizinsky, 1968
Xiphophorus helleri	Propionato de testosterona a fêmeas	Subida na hierarquia social	Noble e Borne, 1940

Francis *et al.* (1992a) demonstraram recentemente que a castração total de machos de *Astatotilapia burtoni* resulta na redução dos níveis séricos de 11-cetotestosterona e de testosterona, acompanhados pela redução da agressividade, e que indivíduos parcialmente castrados apresentam níveis intermédios, quer de androgénios, quer de agressividade. No entanto, em encontros diádicos com machos não-territoriais, os machos territoriais castrados mantiveram-se dominantes apesar de apresentarem níveis baixos de agressividade e de androgénios no plasma (*i.e.* T = 3.6 ng/ml; 11-KT = 0.3 ng/ml em machos territoriais castrados vs. T = 27.4 ng/ml; 11-KT = 4.0 ng/ml nos machos não territoriais).

Uma outra evidência sobre o envolvimento dos androgénios no controlo dos comportamentos reprodutores em Ciclídeos resulta ainda de estudos com *A. burtoni*, em que fêmeas tratadas com testosterona adquiriram a coloração reprodutora masculina, estabeleceram territórios nos quais escavaram ninhos e para os quais cortejaram fêmeas não tratadas (Reinboth e Rixner, 1970). A corroborar estes resultados, também as fêmeas de *A. burtoni* apresentam o repertório comportamental masculino completo 15 dias após uma única injecção intramuscular de testosterona (0.2 mg / g de peso), e chegam a manter a coloração masculina e a territorialidade até 6 a 8 meses após a injecção (Wapler Leong e Reinboth, 1974).

Fernald (1976) administrou testosterona por via intramuscular (0.15 mg / g de peso) a machos intactos de *A. burtoni* e verificou que estes aumentavam significativamente o número de aproximações e ataques a peixes estímulo (juvenis cegos de *Tilapia mariae*). O facto de não se terem verificado alterações significativas

nos comportamentos de corte e de construção do ninho podem ser interpretados como sendo devidos à ausência de estímulos apropriados no desenho experimental para despoletar estes comportamentos. Fernald (1976) refere que as aproximações precedem mais frequentemente as sequências de corte do que as sequências agonísticas e que a aproximação constitui um ponto de bifurcação no *continuum* comportamental, em que, dependendo da resposta do oponente à aproximação, o sujeito pode iniciar um ataque ou uma corte. Uma vez que os peixes alvo não reagem às aproximações dos machos de *A. burtoni* (por lhes ter sido seccionado o nervo óptico), pode-se considerar que o aumento verificado no número de aproximações reflecte um aumento da tendência para cortejar (Fernald, 1976). Desta modo a testosterona teria induzido um aumento dos padrões agonísticos e sexuais, ou do nível de vigilância e reactividade social.

Também nas fêmeas os esteróides sexuais aparecem envolvidos no controlo dos comportamentos sexuais e agonísticos. Munro e Pitcher (1985), colocaram em evidência o papel de diferentes esteróides no comportamento agonístico de fêmeas de *Aequidens pulcher* num contexto não-reprodutor (*i.e.* testes de agressividade recorrendo à utilização de um espelho como estímulo, e estatuto social num grupo unisexual feminino). Os esteróides foram administrados por imersão numa solução de 500µg de esteróide por litro de água. Ambos os protocolos sustentam conclusões semelhantes: a testosterona aumenta os actos agonísticos enquanto que o estradiol tem um efeito oposto. Estes factos podem reflectir a modulação hormonal do comportamento durante o ciclo sexual desta espécie.

O perfil hormonal das fêmeas de *O. mossambicus* durante o ciclo sexual foi caracterizado por Smith e Haley (1988), que demonstraram que os níveis de testosterona no plasma apresentam dois picos: o primeiro no final do ciclo ovárico, 3 a 5 dias antes da oviposição (média = 17 ng/ml); o segundo aos 15 dias de incubação bucal (média = 19 ng/ml) e que se estende até aos 25 dias, altura em que se verifica um decréscimo acentuado (média = 3 ng/ml). É interessante verificar que os níveis de testosterona se elevam em fases de maior actividade social: imediatamente antes da postura, quando as fêmeas estão sujeitas às cortes dos machos e às interacções agonísticas resultantes da competição entre os machos; na fase final da incubação bucal, numa altura em que as fêmeas se tornam mais agressivas (ver capítulo 13) e quando têm que defender uma área na sua vizinhança na qual os alevins possam permanecer em segurança, visto que estes apenas regressam à boca materna em ocasiões de perigo.

A administração de um anti-androgénio (acetato de ciproterona, 0.3-1.0 mg/g de peso) a machos de *O. mossambicus* inibe o comportamento agonístico 3 a 5 dias após a injecção, prolongando-se o efeito por 1 a 7 dias (Kramer *et al.*, 1969). Verifica-

se também um efeito negativo sobre o comportamento de construção do ninho, não se verificando no entanto uma inibição dos comportamentos de corte. A administração de metiltestosterona (0.03 mg / g de peso) teve um efeito inibitório dos três componentes do comportamento reprodutor (agressividade, construção do ninho, cortes), os quais podem ser despoletados pela administração de hormona luteinizante (LH) ou de factor de libertação de gonadotropina (GnRH), o que foi interpretado pelos autores como evidência para a existência de um mecanismo de retroacção negativa da testosterona circulante sobre a produção de gonadotropinas (Kramer *et al.*, 1969). A este respeito, Blüm e Fiedler (1965), demonstraram que, em *Symphysodon aequifasciata axelrodi* e em *Pterophyllum scalare*, a hormona estimuladora dos folículos (FSH) induz e a LH intensifica os padrões de coloração característicos dos indivíduos maduros, e que a LH aumenta a agressividade e induz o desenvolvimento da papila genital. O papel relativo das gonadotropinas no controlo dos comportamentos sociais, indirectamente via esteróides testiculares, ou directamente a nível central, permanece por esclarecer em Ciclídeos e noutros Teleósteos.

O efeito dos androgénios sobre o comportamento social parece não se restringir à activação do comportamento reprodutor nos adultos, desempenhando também um papel importante durante a ontogenia. Clemens e Inslee (1968) foram os primeiros a obter a reversão sexual de fêmeas de *O. mossambicus* através da administração de testosterona durante os primeiros dois meses de vida. Os indivíduos assim obtidos, embora geneticamente fossem fêmeas, funcionalmente desenvolveram-se como machos e quando adultos, na presença de fêmeas ovuladas, adquiriram a coloração negra típica dos machos e construíram ninhos. Billy e Liley (1985) numa investigação sobre os efeitos da administração de androgénios durante diferentes fases do desenvolvimento de *O. mossambicus*, não só puderam confirmar estes resultados como também colocaram em evidência os seguintes factos:

(a) fêmeas genéticas que foram androgenizadas quando juvenis (o período mais efectivo para a reversão sexual são os primeiros 21 dias pós-eclosão) funcionam quando adultos como machos, apresentando testículos funcionais e todo o repertório comportamental de um macho adulto, inclusive os padrões de coloração.

(b) machos e fêmeas expostos a androgénios numa fase inicial do desenvolvimento são mais agressivos quando adultos do que machos controlo, sem uma exposição precoce a androgénios.

(c) fêmeas expostas a um tratamento prolongado (40 dias) de androgénios quando adultas apresentam alguns traços comportamentais de machos: escurecem, dirigem cortes a outras fêmeas e apresentam exibições laterais (padrão agonístico exclusivo dos machos). No entanto, a expressão destes traços é significativamente

maior em fêmeas que já haviam sido sujeitas a uma exposição prévia a androgénios durante o desenvolvimento (embora sem que tivesse ocorrido reversão sexual).

Parece assim evidente que a exposição precoce a androgénios nesta espécie tem um carácter organizacional e que existe um período crítico prévio à diferenciação sexual durante o qual os androgénios são efectivos no direccionamento da diferenciação sexual das gónadas e após o qual os androgénios, embora não sendo efectivos na reversão sexual, facilitam a expressão dos sistemas comportamentais masculinos.

A administração precoce de androgénios em *Aequidens rivulatus* veio colocar em evidência o facto de estes fazerem acelerar o aparecimento de comportamentos de corte característicos dos adultos, mas que são exibidos indiscriminadamente aos dois sexos (Groothuis e Ros, 1994). Ficou também demonstrado que a orientação das exibições de corte para o sexo oposto e o contexto em que estes comportamentos são exibidos são influenciados pela experiência social dos indivíduos e estão sujeitos a um processo de emancipação, em que a exibição sexual aparece nos juvenis num contexto agonístico e durante o desenvolvimento vem a ser integrado no repertório sexual (Groothuis e Ros, 1994).

Em *Cyprinodon variegatus* Higby *et al.* (1991) demonstraram também que a administração exógena de testosterona em juvenis acelera o desenvolvimento dos comportamentos agonísticos e aumenta a probabilidade de os indivíduos serem vencedores em encontros diádicos padronizados.

4.2.2. Controlo Androgénico dos Caracteres Sexuais Secundários

Os caracteres sexuais secundários desempenham um papel importante na comunicação intraespecífica, permitindo o reconhecimento dos sexos bem como podendo também fornecer uma informação sobre o estatuto social do indivíduo e/ou o seu estado de maturação sexual. Tradicionalmente assume-se que estes caracteres foram seleccionados por selecção sexual, quer intersexual (por preferência na escolha do par), quer intrasexual, servindo de sinais na disputa por recursos ligados à reprodução (*e.g.* estabelecimento e defesa de um território reprodutor) ou por um lugar na hierarquia social. O controlo androgénico destes caracteres tem sido demonstrado em várias espécies, através de estudos que recorrem à administração de androgénios e/ou à castração de indivíduos. Estes caracteres são, na maior parte das espécies, exibidos pelos machos, existindo no entanto casos de diferenciação de estruturas sexualmente dimórficas por parte das fêmeas (*e.g.* ovipositor feminino em *Rhodeus* spp. a partir do qual os ovos são depositados no sifão inalante de um mexilhão, Wiepkema, 1961; e desenvolvimento de pregas cutâneas em fêmeas de

Singnatídeos *Nerophis ophidion*, Rosenqvist, 1990). Estas estruturas femininas parecem estar também elas sob controlo hormonal. Shirai (1962, 1964) demonstrou a existência de uma forte correlação positiva entre a dimensão do ovipositor em *R. ocellatus* e o desenvolvimento dos ovários, e propôs um controlo desta estrutura por parte dos estrogénios. No entanto, Riehl (1981) mostrou que esta estrutura respondia positivamente ao tratamento com progesterona, pelo que o papel dos diferentes esteróides no desenvolvimento do ovipositor nestes peixes requer esclarecimento. Também nas Tilápias, em que existe um dimorfismo sexual das papilas genitais, as quais se tornam mais proeminentes na altura da postura, Aronson e Holz-Tucker (1947) colocaram em evidência o efeito negativo da ovariectomia nas dimensões das papilas femininas em *Sarotherodon macrocephala*. No entanto, quer o tratamento com testosterona, quer com estradiol, foram efectivos na indução do crescimento da papila. O efeito dos estrogénios sobre o desenvolvimento da papila genital em Tilápias viria a ser demonstrado mais tarde por Jensen e Shelton (1979). Estes autores demonstraram que um tratamento prolongado de estradiol em alevins de *T. mariae* resultava no aparecimento de machos com testículos normais, sem vestígios de tecido ovárico, mas que apresentavam papilas genitais femininas (*i.e.* com duas aberturas separadas e com uma morfologia própria). Parece assim que, mesmo após um período de organização funcional da gónada, os estrogénios são efectivos na modulação da diferenciação da genitalia em Ciclídeos. Também em *Oryzias latipes* e no Peixe-gato indiano (*Heteropneustes fossilis*) o desenvolvimento da papila urogenital das fêmeas é estimulado quer por estrogénios quer por androgénios, embora seja mais sensível à acção dos primeiros (Yamamoto e Suzuki, 1955; Kar e Ghosh, 1950).

No que respeita aos caracteres sexuais secundários masculinos, existem fortes evidências para a existência de um controlo hormonal por parte dos androgénios. Nas tabelas 4.2 e 4.3 apresentam-se algumas destas evidências.

Enquanto a castração inibe a expressão dos caracteres masculinos, a ovariectomia não apresenta efeitos, ou seja não é devido a uma acção inibitória dos ovários que estes caracteres não se expressam nas fêmeas. A resposta negativa à castração é reversível através de terapia de androgénios exógenos, e a administração de androgénios a indivíduos intactos (*i.e.* não-castrados) resulta numa maior expressão destes caracteres nos machos e ao seu aparecimento em fêmeas. Em estudos em que se testam diferentes androgénios, a 11-cetotestosterona aparece como sendo o esteróide com maior capacidade androgenizante.

Tabela 4.2. Efeito da administração de androgénios e/ou castração na coloração nupcial em espécies com dicromatismo sexual. 11-KT, 11-cetotestosterona; 11-OHT, 11-hidroxi-testosterona; DHT, di-hidroxi-testosterona; T, testosterona; A, androstenediona.

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Cichlidae			
Sarotherodon macrocephala	Castração	–	Levy e Aronson, 1955
	Testosterona após castração	+	Levy e Aronson, 1955
Pseudocrenilabrus multicolor	Castração	–	Reinboth e Rixner, 1972
	Testosterona após castração	+	Reinboth e Rixner, 1972
	Testosterona em fêmeas	+ (coloração masculina)	Reinboth e Rixner, 1972
Astatotilapia burtoni	Propionato de testosterona	+ ("eye bar")	Fernald, 1976
	Testosterona em fêmeas	+ (aparecimento da coloração masculina com "anal spots")	Wapler-Leong e Reinboth, 1974
	11-KT>11OHT> DHT>A>T	+ (aparecimento de melanoforos nas pélvicas e nos "anal spots" em juvenis)	Reinboth, 1978
Poeciliidae			
Xiphophorus helleri	Gonadectomia em machos	–	Van Oordt e van der Mass, 1927
Poecilia reticulata	Metiltestosterona em machos hipofisectomizados	+ (recuperação das manchas de lipóforos)	Pandey, 1969
Belontiidae			
Trichogaster trichopterus	Gonadectomia em machos	–	Johns e Liley, 1970

Tabela 4.2. (Continuação).

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Cyprinidae			
Phoxinus laevis	Gonadectomia em machos	_	Kopéc, 1928
Gasterosteidae			
Gasterosteus aculeatus	Gonadectomia em machos	_	Ikeda, 1933
	Acetato de ciproterona	_	Rouse *et al.*, 1977
Gasterosteus pungitus	Gonadectomia em machos	_	van Oordt, 1923
Oryziidae			
Oryzias latipes	Gonadectomia em machos	_	Niwa Suzuki, 1965
	Metiltestosterona	+	
Salmonidae			
Oncorhynchus nerka kennerlyi	Castração antes da época de reprodução	_	Robertson, 1961
Oncorhynchus nerka	11-cetotestosterona	+	Idler *et al.*, 1961

Tabela 4.3. Efeito da administração de androgénios e/ou castração na diferenciação de estruturas morfológicas sexualmente dimórficas em machos de Teleósteos. 11-KT, 11-cetotestosterona; DHT, di-hidroxi-testosterona; T, testosterona.

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Cichlidae			
Sarotherodon macrocephala		Entumecimento da papila genital	Levy e Aronson, 1955
Poeciliidae			
Poecilia reticulata	Etinil testosterona	Desenvolvimento e regeneração da barbatana anal em fêmeas	Hopper, 1949
	Etinil testosterona	Desenvolvimento do gonopódio em machos	Hopper, 1949

Tabela 4.3. (Continuação).

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Xiphophurus helleri	Benzoato de estradiol	Dissolução das espinhas hemais do *suspensorium*	Rubin e Gordon, 1953
	Ovariectomia	Desenvolvimento das espinhas hemais em fêmeas	Vivian, 1952
Xiphophorus helleri	Etinil testosterona	Formação da espada a partir da extensão da caudal	Baldwin e Goldin, 1939
Gambusia affinis	Propionato de testosterona em fêmeas	Formação do gonopódio a partir da anal	Turner 1942
	Castração	Inibição da regeneração do gonopódio	Turner, 1947
	Metiltestosterona em fêmeas	Alongamento dos III e IV raios da anal e desenvolvimento do esqueleto hemal	Rodriguez-Sierra e Rosa-Molinar, 1990
Platypoecilus maculatus	Propionato de testosterona	Regeneração da anal em fêmeas	Grobstein, 1940, 1942a, 1942b
Belontiidae			
Trichogaster trichopterus		Alongamento da barbatana dorsal	Johns e Liley, 1970 Kramer, 1972
Cyprinidae			
Pimephales promelas	Metiltestosterona	Formação dos tubérculos reprodutores e de uma almofada secretora de muco	Smith, 1974
Carassius auratus	Metiltestosterona	Desenvolvimento do epitélio olfactivo e maior sensibilidade a feromonas de fêmeas	Yamazaki e Watanabe, 1979

Tabela 4.3. (Continuação).

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Gasterosteidae			
Gasterosteus aculeatus	Metiltestosterona	Desenvolvimento do epitélio hepático secretor de muco utilizado na construção do ninho	Borg, 1981
Gobidae			
Pterogobius zonoleucus		Alongamento da barbatana dorsal	Egami, 1959
Cobitididae			
Cobitis taenia bilineata	Metiltestosterona	Formação do orgão de Canestrini em fêmeas	Lodi, 1976 *in* Riehl, 1981
Batrachoididae			
Porichthys notatus	11-KT>T	Aumento das dimensões da musculatura sónica	Brantley *et al.*, 1993a
Opsanus tau	DHT>T	Aumento do peso da bexiga gasosa e musculatura sónica	Fine e Pennypacker, 1986
Mormyridae			
Brienomyrus brachystius	Testosterona	Indução de um sinal do EOD com características masculinas e masculinização da morfologia dos electrócitos	Bass, 1986a, 1986b
Oryziidae			
Oryzias latipes	castração	Regressão da papila anal e da forma da barbatana anal	Nagata, 1934 *in* Yamamoto, 1969
	Ovariectomia e implantação de testículos	Desenvolvimento da papila anal masculina	Nagata, 1936 *in* Yamamoto, 1969
	Metiltestosterona a fêmeas	Desenvolvimento da papila anal masculina	Okada e Yamashita, 1944 *in* Yamamoto, 1969

Tabela 4.3. (Continuação).

Espécie	Tratamento	Efeito	Autor
Oryzias latipes	Metiltestosterona em fêmeas	Desenvolvimento dos dentes	Takeuchi, 1967
Salmonídeos	Metiltestosterona	Espessamento da pele e produção dérmica de muco	Yamazaki, 1972

4.3. PROGESTOGÉNIOS E COMPORTAMENTO SOCIAL EM MACHOS DE TELEÓSTEOS

Os progestogénios têm um papel fundamental na reprodução dos Teleósteos, tendo sido demonstrado o seu papel na maturação dos gametas e na comunicação química entre os sexos.

A 17,20β-P é uma hormona associada à aquisição de mobilidade do esperma e à espermiação em machos de Salmonídeos (Miura *et al.*, 1992) e de Ciprinídeos (Asahina *et al.*, 1990, 1993). Embora ainda não existam evidências conclusivas quanto ao envolvimento da 17,20α-P na função espermática em Teleósteos, foi recentemente demonstrado o papel da 17,20α-P como mediador da espermiação na rã *Rana nigromaculata* (Kobayashi *et al.*, 1993). Devido à grande variabilidade nos perfis de progestogénios que se encontram nos machos de Telósteos, é possível que a activação do esperma esteja dependente de um progestogénio mas que este varie entre os diferentes grupos de Teleósteos.

A produção testicular de 17,20α-P em Teleósteos foi já demonstrada em várias espécies incluindo os Pleuronectiformes (*Limanda limanda* e *Pleuronectes platessa*) e os Ciprinídeos (*Carassius auratus*), embora esteja presente no plasma em quantidades muito diferentes (Canário e Scott, 1989). Em *L. limanda* os níveis de 17,20α-P no plasma atingem 100 ng/ml em resposta à gonadotropina coriónica humana (HCG), e em *C. auratus* ocorre em concentrações quase indetectáveis (Canário e Scott, 1990; Kime e Scott, 1993). No Peixe-gato (*Clarias batrachus*) ocorrem níveis equivalentes de 17,20α-P e de 17,20β-P no plasma (Zairin *et al.*, 1993) e para os Salmonídeos apenas está descrita a 17,20β-P (Nagahama, 1987; Canário e Scott, 1988).

No que diz respeito a uma relação mais directa entre os progestogénios e o comportamento social de Teleósteos, Liley *et al.* (1986a, 1986b) foram os primeiros a colocar em evidência a relação entre os níveis de 17,20β-P e o comportamento sexual em machos e fêmeas da Truta Arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Nesta espécie, as fêmeas na altura do acasalamento escavam ninhos no substrato e desencadeiam os

comportamentos nos machos, o que não acontece com fêmeas não-ovuladas. Se compararmos machos que interagem com fêmeas sexualmente activas, com machos isolados ou em contacto com fêmeas não-ovuladas, verifica-se que os primeiros possuem níveis bastante elevados de 17,20β-P, enquanto que os restantes apresentam concentrações baixas deste esteróide (Liley *et al.*, 1986a). Também nas fêmeas a presença de um macho leva a um aumento dos níveis séricos de 17,20β-P, quando comparadas com fêmeas ovuladas em isolamento (Liley *et al.*, 1986b; Liley e Rouger, 1990).

Outro aspecto do comportamento social no qual os progestogénios parecem estar envolvidos é na comunicação química entre os sexos sob a forma de feromonas urinárias. A 17,20β-P tem sido até à data o progestogénio sobre o qual se dispõe de mais informação quanto a este aspecto. Em Salmonídeos (*i.e. O. mykiss*) foi demonstrado que as fêmeas sexualmente activas emitem uma feromona que atrai os machos (Newcombe e Hartman, 1973; Emanuel e Dodson, 1979; Olsen e Liley, 1993) e que promove um aumento do esperma disponível e dos níveis séricos de testosterona, 11-cetotestosterona, 17,20β-P e gonadotropina II (Olsen e Liley, 1993; Scott *et al.*, 1994). Desta forma as fêmeas de *O. mykiss* produzem feromonas com efeitos não só sobre o comportamento dos machos ("releasing effect") como também promovem a sincronização da maturação sexual do par ("priming effect"). Saber se ambos os efeitos são desencadeados por uma só substância e qual a sua identidade química são questões que permanecem em aberto. No entanto o facto de as fêmeas apresentarem na altura da ovulação um pico de 17,20β-P circulante (Scott *et al.*, 1983) torna este progestogénio um potencial candidato a este papel. Esta hipótese é reforçada pela recente descoberta de grandes quantidades de um conjugado deste progestogénio (*i.e.* sulfato de 17,20β-P) na urina desta espécie (Scott e Liley, 1994).

Em Ciprinídeos (*i.e. C. auratus*) a 17,20β-P e o seu sulfato têm um efeito de "priming" sobre o eixo reprodutor dos machos (Dulka *et al.*, 1987), o qual não se fica apenas a dever a esta hormona, mas a um conjunto de esteróides e metabolitos de esteróides presentes na urina do qual a 17,20β-P também faz parte (Sorensen *et al.*, 1991). No que respeita a um efeito de preparação para o acasalamento ("releasing effect") não parece haver um envolvimento directo dos progestogénios em Ciprinídeos, nos quais este efeito parece ser mediado por prostaglandinas do tipo F (Sorensen *et al.*, 1989)

4.4. CICLOS SAZONAIS DOS ESTERÓIDES SEXUAIS E SUA RELAÇÃO COM O COMPORTAMENTO REPRODUTOR EM MACHOS DE TELEÓSTEOS

Em vários animais com reprodução sazonal os níveis de agressividade aumentam com o estabelecimento e a defesa de territórios durante a época de reprodução, período no qual também se encontram os níveis mais elevados de androgénios.

Embora existam vários exemplos em que a gametogénese, os níveis de esteróides sexuais e o acasalamento se encontram dissociados (Crews, 1984), o acoplamento entre a expressão dos diferentes aspectos do comportamento reprodutor e o aumento dos níveis de esteróides sexuais tem constituído uma das evidências para a relação entre os esteróides sexuais e o comportamento social em Teleósteos.

Nas espécies com ciclos sazonais de reprodução verifica-se um aumento dos níveis de esteróides sexuais circulantes (*i.e.* estradiol e testosterona) durante a gametogénese, atingindo um pico na época da postura, ou no início da época de reprodução, após o que estes níveis se mantêm elevados em algumas espécies, enquanto noutras se verifica uma diminuição (Pankhurst e Carragher, 1991).

Em relação aos androgénios, a testosterona aumenta gradualmente durante o desenvolvimento testicular enquanto a 11-cetotestosterona se mantém em níveis baixos, aumentando rapidamente apenas no início da época de reprodução, o que classicamente é interpretado como uma prova do envolvimento da 11-cetotestosterona na espermiação (Dodd e Sumpter, 1984). Existem no entanto várias excepções a este padrão, não sendo ainda clara a relação existente entre os ciclos sexuais e os ciclos de níveis circulantes de esteróides (Pankhurst e Carragher, 1991). Por exemplo, em algumas espécies, verificam-se picos bimodais de testosterona e de estradiol ao longo do ciclo sexual. Contudo, também este padrão apresenta variações quanto à fase do ciclo em que os picos ocorrem. Os picos de testosterona em machos e fêmeas de *Parapercis colias* (Pankhurst e Conroy, 1987) e de estradiol nas fêmeas de *Sparus aurata* (Pratt *et al.*, 1990), ocorrem no início da gametogénese e no início da época de reprodução (ovulação/espermiação). Em machos de *Gobius niger* os picos de testosterona ocorrem a meio da gametogénese e no início da época de reprodução (Bonnin, 1979) e em ambos os sexos de *Dicentrarchus labrax* os picos de estradiol e de testosterona observam-se no final da gametogénese e cerca de três meses após a postura (Pratt *et al.*, 1990).

A 11-cetotestosterona e a 17,20β-P também apresentam variações sazonais, estando a primeira normalmente relacionada com a recrudescência das gónadas e a

segunda com um aumento do índice gonado-somático (IGS) ou com a desova (Pankhurst e Carragher, 1991).

Tabela 4.4. Relação entre os ciclos de postura de curta-duração e os níveis de esteróides sexuais; ne, esteróide cuja pesquisa não foi efectuada; FF, fêmeas; +, correlacionado; -, não correlacionado.

Ciclo de postura	Espécie	T	11-KT	E_2	17,20β-P	Autor
Semi-lunar	*Fundulus grandis* (FF)	+	_	+	ne	Greeley *et al.*, 1988
	Fundulus heteroclitus	+	ne	+	ne	Bradford e Taylor, 1987
Semanal	*Chromis dispilus*	+	ne	ne	+	Pankhurst, 1990
Diário	*Pagrus major*	_	ne	+	ne	Matsuyama *et al.*, 1988
	Sillago japonica	_	ne	+	+	Matsuyama *et al.*, 1990

Tabela 4.5. Variação dos níveis de androgénios no plasma durante o ciclo reprodutor em machos de Teleósteos. R, reprodutor; P, parental.

Espécie	Fase do ciclo	Testosterona (ng/ml)	11-KT (ng/ml)	Autor
Syngnathus acus	R	15.2	3.6	Mayer *et al.*, 1993
	P	6.4	0.9	
Syngnathus typhle	R	3.2	2.4	Mayer *et al.*, 1993
	P	2.0	0.9	
Lepomis macrochirus	R	24	55*	Kindler *et al.*, 1989
	P	7	14*	
Chromis dispilus	R	4-6; 9[b]	49[b]	Pankhurst, 1990; Barnett e Pankhurst, 1994
	P	<1; 1.5[b]	8[b]	
Hypsypops rubicundus	R	15[b]	22[b]	Sikkel, 1993
	P	9[b]	7[b]	

* Valores obtidos um dia após a postura; (b)Valores obtidos a partir de gráficos.

Em espécies que apresentam ciclos de postura de curta duração integrados em ciclos sazonais, observam-se também variações cíclicas de curta duração dos níveis de esteróides circulantes. É o caso de espécies que apresentam ciclos de postura semi-lunares (*e.g. Fundulus heteroclitus*: Bradford e Taylor, 1987; *Fundulus grandis*: Greeley *et al.*, 1988), semanais (*Chromis dispilus*, Pankhurst, 1990) ou diários (*Pagrus major*: Matsuyama *et al.*,1988; *Sillago japonica*: Matsuyama *et al.*, 1990) (ver tabela 4.4).

Em Teleósteos com cuidados parentais masculinos, os níveis de androgénios nos machos, em especial da 11-cetotestosterona são bastante elevados no início da época de reprodução aquando do estabelecimento dos territórios e do acasalamento, e baixam para níveis muito baixos durante o período subsequente de guarda e/ou incubação da postura (ver tabela 4.5).

Estes dados sugerem que os androgénios têm um papel importante na activação do comportamento reprodutor, nomeadamente no estabelecimento dos territórios reprodutores e na corte às fêmeas.

4.5. MECANISMOS DE ACÇÃO DOS ESTERÓIDES SEXUAIS

A relação entre hormonas e comportamento não é uma relação unívoca do tipo uma hormona um comportamento. Não existem, em regra, hormonas específicas para determinado comportamento. Os comportamentos expressam antes o resultado final de um momento fisiológico para o qual as hormonas contribuem, conjuntamente com outros factores, para alterar a probabilidade de expressão de determinado comportamento. Para além deste papel activacional das hormonas, elas também podem desempenhar um papel organizacional actuando durante a ontogénese sobre a diferenciação de estruturas subjacentes ao comportamento.

A acção das hormonas pode verificar-se quer ao nível dos sistemas centrais, no sistema nervoso central, quer ao nível de sistemas de periféricos, sejam eles sensoriais ou efectores. No entanto, classicamente os mecanismos moleculares de acção das hormonas a nível neuronal são comuns aos vários tipos de sistemas (Luttge, 1983). No espaço extracelular (*i.e.* plasma ou líquido cefaloraquidiano) os esteróides podem ocorrer na forma livre ou ligados a uma proteína de transporte. Existe um equilíbrio dinâmico entre estas duas formas e apenas a forma livre atravessa a membrana plasmática, por difusão ou por transporte facilitado. Uma vez no citoplasma o esteróide pode-se ligar a um receptor citosólico após o que o complexo receptor citosólico-esteróide vai por difusão para o nucleoplasma, ou então o esteróide entra directamente para o nucleoplasma no qual se liga a um receptor nuclear, sem se ligar a

nenhum receptor no citoplasma. O complexo receptor nuclear-esteróide é depois activado por um processo ainda pouco conhecido, e uma vez activado vai interagir com proteínas de aceitação ("acceptor proteins") e com o ADN. A interacção receptor nuclear-esteróide-proteína de aceitação na cromatina vai por seu lado precipitar a produção de ARN mensageiros que codificam a formação de proteínas e enzimas especificos. Exemplos destes produtos são as proteínas estruturais (*e.g.* tubulina), receptores de membrana (*e.g.* receptores para: dopamina, agentes β-adrenérgicos, catecol-estrogénios, e glucocorticóides), receptores citoplasmáticos para esteróides, e vários enzimas (*e.g.* colestrol-acetil-transferase). Para além deste mecanismo genómico de acção dos esteróides, eles podem também actuar como "neuroesteróides" ao nível das sinapses, modulando a libertação e/ou a reabsorção de neurotransmissores, ou ainda interagir com a membrana plasmática ao nível do soma ou do axónio, modulando a distribuição iónica e provocando assim alterações nas respostas electrofisiológicas (*e.g.* alteração da velocidade de condução de uma resposta).

Durante o desenvolvimento, os níveis a que actuam as hormonas sobre o comportamento são essencialmente os mesmos que no animal adulto (*i.e.* mecanismos sensoriais, efectores e centrais), residindo a grande diferença no facto de os efeitos durante a ontogenia serem permanentes (*i.e.* organizacionais), enquanto que os efeitos no animal adulto são temporários (*i.e.* activacionais) (ver Arnold e Breedlove, 1985). Uma das implicações desta hipótese é a existência de janelas temporais durante o desenvolvimento nas quais os organismos são sensíveis à acção de hormonas específicas. A existência destes períodos está relacionada com as etapas da morfogénese durante as quais se dá a diferenciação de estruturas envolvidas no comportamento em causa.

Um exemplo clássico da acção organizacional das hormonas durante um período crítico da ontogenia é a diferenciação perinatal do comportamento sexual nas ratazanas (para uma revisão ver Kelley, 1986 e Baum *et al.*, 1990). Nestes animais existe um dimorfismo do sistema nervoso central ao nível da área pre-óptica (POA) que se reflecte por um lado em padrões diferentes de neurosecreção e por outro pela expressão de comportamentos sexualmente dimórficos. O cérebro do feto tem as características do cérebro feminino. Para se dar a masculinização do encéfalo é necessário que este seja exposto a um aumento súbito dos níveis de testosterona proveniente dos testículos, o que ocorre logo nos primeiros dias de vida. Se um macho for castrado logo após o nascimento, o seu comportamento quando adulto vai ser tipicamente feminino. Não será agressivo para com os outros machos e se tratado com estradiol assume a postura de lordose característica das fêmeas. No entanto, se após a castração lhe for administrada testosterona durante os primeiros dias de idade (*i.e.* o

período crítico tem início ainda durante a fase embrionária e prolonga-se até ao 6° dia pós-natal, Rhees *et al.*, 1990) apresentará quando adulto comportamentos masculinos, se for estimulado com tratamentos hormonais específicos. As fêmeas, se forem expostas a tratamentos de testosterona durante o período crítico, apresentarão quando adultas o comportamento masculino. Paradoxalmente é o estradiol o responsável pela masculinização do encéfalo, actuando a testosterona apenas como um agente intermediário. Isto fica-se a dever ao facto de a testosterona ser metabolizada intracelularmente em regiões específicas do encéfalo (*e.g.* núcleos sexualmente dimórficos) em estradiol. Durante o período crítico, as fêmeas produzem a nível do fígado uma alfa-feto-proteína que se conjuga com o estradiol circulante, prevenindo a masculinização do encéfalo (McEwen, 1976). A diferenciação de áreas sexualmente dimórficas está também demonstrada para outros Mamíferos (*e.g.* Primatas e Carnívoros) e para Aves (Hutchison, 1993).

Em várias famílias de Teleósteos, a administração precoce de esteróides sexuais pode induzir a reversão sexual dos indivíduos (*e.g.* Salmonídeos: Piferrer e Donaldson, 1991; Piferrer *et al.*, 1993; Ciclídeos: Clemens e Inslee, 1968; Poecilídeos: Schreck, 1974 *in* Liley e Stacey, 1983). Fêmeas masculinizadas com terapias de administração precoce de androgénios apresentam o comportamento sexual masculino quando adultas podendo mesmo ser funcionais se a reversão sexual das gónadas for completa (*e.g.* Clemens *et al.*, 1966; Billy e Liley, 1985). Por outro lado, o facto da administração de estrogénios transformar machos genéticos em fêmeas funcionais (*e.g.* Hunter e Donaldson, 1983) levanta dúvidas sobre o papel da aromatase na diferenciação sexual em Teleósteos, podendo-se considerar duas hipóteses: ou o mecanismo de diferenciação não é mediado pela aromatização, ou o estrogénio actua primariamente na gónada, e esta deixa de produzir androgénios em quantidades adequadas, responsáveis pela masculinização do cérebro, e que faltam nos machos tratados com estrogénio no período crítico.

4.5.1. Acção das Hormonas a Nível Periférico: Sistemas Sensoriais e Sistemas Motores.

As hormonas podem actuar ao nível dos mecanismos sensoriais alterando os limiares de resposta a determinados estímulos ou modificando a integração da informação proveniente do exterior. Nos Ciprinídeos, as fêmeas produzem feromonas (*i.e.* prostaglandinas) as quais induzem o comportamento de corte nos machos. Verifica-se no entanto, que a resposta dos machos às feromonas é maior em machos que apresentam tubérculos dérmicos, do que em machos sexualmente maduros mas que não apresentam estes tubérculos, os quais são dependentes de androgénios (ver

secção 4.2.2.). Cardwell *et al.* (1995) através de electrolfactogramas mostraram que machos de *Puntius gonionotus* e *P. schwanenfeldi* implantados com testosterona apresentavam uma maior sensibilidade e magnitude nas respostas a prostaglandinas do que indivíduos controlo. Os machos tratados apresentam ainda uma maior taxa de corte perante uma fêmea receptiva do que os indivíduos não-tratados.

No Esgana-gata de três espinhos (*Gasterosteus aculeatus*) existe uma vasta literatura que mostra que as fêmeas sexualmente activas preferem os machos com a coloração nupcial vermelha mais brilhante (McPhail, 1969; Semler, 1971; Milinski e Bakker, 1990). Cronley-Dillon e Sharma (1968) demonstraram que a sensibilidade do sistema visual feminino aumenta na parte vermelha do espectro durante a época de reprodução, e que a sensibilidade dos machos ao vermelho não sofre alterações durante este período. Estes dados, que constituem um exemplo clássico em selecção sexual da evolução de uma preferência em relação a um traço fenotípico, constituem também uma pista para uma possível modulação da sensibilidade visual das fêmeas durante a época de reprodução por hormonas sexuais.

As hormonas podem actuar ao nível dos sistemas efectores modulando a sua actividade, na exibição de posturas ("displays"), na produção de vocalizações ou na emissão de marcas odoríferas ou feromonas. Luine *et al.* (1980) demonstraram que, nas Aves, os androgénios podem modular o canto dos machos do Mandarim-diamante (*Poephila guttata*) através de uma acção directa sobre as colinesterase dos neurónios motores que controlam os músculos da siringe. Também nos Peixes está demonstrada a modulação hormonal de mecanismos efectores para a produção de sinais acústicos e eléctricos (Bass, 1986a). No Charroco americano, *Porichthys notatus*, a administração de androgénios provoca o desenvolvimento da musculatura sónica (*i.e.* aumenta o número de fibras musculares e o seu tamanho) adjacente à bexiga gasosa e um aumento dos motoneurónios sónicos. Esta via neuro-efectora é dimórfica nesta espécie e é utilizada pelos machos para a produção de vocalizações que atraem as fêmeas para os ninhos (Bass, 1992). Nos Peixes Mormirídeos, os androgénios podem modular os potenciais de acção dos electrócitos levando a alterações na duração dos sinais do orgão eléctrico. Estas alterações electrofisiológicas parecem ser devidas a um aumento das invaginações da membrana do electrócito provocadas pelos androgénios, o que tem como consequência um aumento da superfície da membrana com um concomitante aumento da sua capacitância e do potencial de acção (Bass, 1986b). Estes sinais são sexualmente dimórficos, sendo de curta duração nos juvenis e fêmeas (0.8 ms) e de longa duração nos machos adultos (2.5 ms) (Bass, 1986a). Os androgénios modulam neste caso os sinais típicos dos machos através de uma acção localizada sobre um mecanismo efector.

Para além do efeito periférico, os esteróides sexuais também podem actuar sobre a integração sensorio-motora ao nível dos gânglios basais (*i.e. striatum* e *globus pallidus*) e do cerebelo (Becker, 1992). A modulação hormonal da função sensorio-motora no *striatum* e no cerebelo ocorre durante o ciclo éstrico em fêmeas de ratazanas e pode ser mimetizada através da administração de esteróides exógenos. Em ambas as regiões, os estrogénios potenciam a actividade neuronal, e a progesterona tem um efeito oposto ao nível do cerebelo, mas não do *striatum* (Becker, 1992). Estes efeitos parecem ser mediados por uma modulação das vias dopaminérgicas no *striatum* (Becker e Beer, 1986) e dos receptores do neurotransmissor GABA (ácido gama-aminobutírico) no cerebelo (Schumacher, 1990).

4.5.2. Acção das Hormonas a Nível Central: Sistemas Motivacionais e Mecanismos de Tomada de Decisão.

O efeito das hormonas sobre o comportamento pode-se efectuar através de uma acção directa em regiões específicas do cérebro, que podem por sua vez regular determinados comportamentos. As evidências para a acção das hormonas sobre o comportamento a este nível resultam de dois tipos de estudos: (i) detecção de receptores hormonais em regiões do encéfalo responsáveis pela activação de um determinado mecanismo comportamental; (ii) acção das hormonas sobre sistemas motivacionais ou de decisão.

Vários trabalhos têm dado a conhecer a distribuição neuroanatómica dos receptores para várias hormonas. Por exemplo, sabe-se que nos Mamíferos os receptores de esteróides sexuais se localizam em núcleos do hipotálamo, da área pré-óptica e da amígdala, e que os receptores dos glucocorticóides se localizam em especial nas células piramidais do hipocampo (Luttge, 1983).

Em Teleósteos, foram já mapeados receptores neurais para o estradiol e para os androgénios (*i.e.* testosterona e 5α-di-hidroxi-testosterona). Em *C. auratus*, os receptores para os androgénios localizam-se em maior quantidade no prosencéfalo, seguido pela pituitária e em concentrações muito baixas no mesencéfalo e no rombencéfalo (Pasmanik e Callard, 1988b). Embora se mantenham as concentrações relativas entre estas grandes regiões do encéfalo, verificam-se variações sazonais das concentrações de receptores. Existe um pico na época de reprodução (Abril) que é 4 a 5 vezes maior do que os níveis basais fora da época de reprodução (Julho-Agosto). É interessante verificar que este padrão temporal está de acordo com as variações sazonais descritas para a actividade da aromatase neural e para os níveis de esteróides sexuais circulantes (Pasmanik e Callard, 1988a). Aparentemente, nos Teleósteos (ou

pelo menos nos Ciprinídeos) a acção a nível central dos androgénios efectua-se por duas vias: acção directa sobre receptores androgénicos, e aromatização dos androgénios em estrogénios e posterior acção destes via receptores estrogénicos.

A este respeito, é interessante verificar a co-ocorrência neuroanatómica de receptores estrogénicos e da aromatase detectada por Balthazart *et al.* (1990c) na Codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*). Nesta espécie, a actividade da aromatase restringe-se a áreas de grande densidade de receptores estrogénicos, nomeadamente o núcleo pré-óptico médio, o septo e um agregado de células que se extende desde a região dorso-lateral do núcleo ventromediano do hipotálamo até ao núcleo inferior do hipotálamo. No caso dos Teleósteos, os receptores de estrogénios até agora detectados encontram-se também em áreas nas quais foi detectada actividade da aromatase (*e.g. C. auratus*: núcleo pré-óptico e septo e região média do hipotálamo, Kim *et al.*, 1978; Pasmanik e Callard, 1988b).

Por outro lado, os esteróides sexuais podem actuar por retroacção sobre a secreção das gonadotropinas, as quais podem directa ou indirectamente (via esteróides sexuais) modular o comportamento [*e.g.* factor de libertação da hormona luteinizante (LHRH) induz o aumento da secreção de gonadotropinas, as quais por sua vez induzem o aumento da secreção de androgénios, os quais por sua vez induzem alterações ao nível das gónadas, dos caracteres sexuais secundários e do comportamento]. No Labrídeo *Thalassoma bifasciatum*, fêmeas e machos iniciais podem-se transformar em machos terminais, os quais apresentam características morfológicas (incluindo a coloração) e comportamentais distintas (Thresher, 1984). A mudança de sexo (fêmea → macho terminal) ou de morfotipo (*i.e.* macho inicial → macho terminal) pode ser induzida através da administração de gonadotropinas (Koulish e Kramer, 1989). Implantes de 11-cetotestosterona provocam o aumento do número de células LHRH-imunoreactivas na área pré-óptica (POA) nas fêmeas e nos machos iniciais para níveis equivalentes aos dos machos terminais (Grober *et al.*, 1991a), o que coloca em evidência a mediação dos esteróides sexuais no papel da LHRH na POA na diferenciação e maturação sexual. Também em machos de espécies de Teleósteos com tácticas alternativas de acasalamento se verificam diferenças ao nível das células LHRH-imunoreactivas na POA, possuindo o morfotipo que corteja activamente um maior número destas células do que o morfotipo "inactivo" (mas sexualmente maduro) (*e.g.* machos embusteiros ou satélites)(*Xiphophorus maculatus*: Halpern-Sebold *et al.*, 1986; *Porichthys notatus*, Grober *et al.*, 1991b), sendo que os níveis de 11-cetotestosterona são também mais elevados no morfotipo activo (Brantley *et al.*, 1993b).

4.6. A RELAÇÃO BIDIRECCIONAL HORMONAS-COMPORTAMENTO

Acabámos de expor nas secções acima um corpo sólido de dados sobre o papel desempenhado pelos diferentes esteróides sexuais no controlo do comportamento social em Teleósteos em particular e em Vertebrados em geral. No entanto também as interacções sociais apresentam efeitos relevantes sobre o sistema endócrino.

Vários estudos têm colocado em evidência o efeito das interacções sociais na modulação a curto-prazo dos níveis endógenos de esteróides.

A cópula induz um aumento dos níveis de testosterona e de LH nos machos de Mamíferos incluindo o Homem (Harding, 1981). Nas fêmeas de Mamíferos também se verifica um aumento de LH pós-cópula, o qual é devido à estimulação do trato genital da fêmea durante a cópula, e que promove a ovulação (Harding, 1981). No entanto, nos machos o contacto físico com a fêmea e a cópula efectiva não são necessários para activar este incremento dos níveis de testosterona e de LH. A mera exposição a uma fêmea, ou ao seu odor no caso dos Roedores, são estímulos suficientes para activar esta resposta (Harding, 1981).

Em Teleósteos tem sido amplamente investigado o efeito da exposição a estímulos sexuais e sociais. Como já se referiu atrás, em machos de Salmonídeos a exposição a fêmeas sexualmente activas (*i.e.* ovuladas e com ninhos) induz um aumento dos níveis dos esteróides sexuais e da gonadotropina (*Oncorhynchus mykiss*, Liley *et al.*, 1986a; *Oncorhynchus nerka*, Liley *et al.*, 1993), verificando-se também um aumento do volume de esperma disponível (Rouger e Liley, 1993). Verifica-se ainda que machos anósmicos, por cauterização do epitélio olfactivo, com acesso a fêmeas sexualmente activas apresentam níveis inferiores de esteróides sexuais e uma menor produção de esperma do que machos controlo com o epitélio olfactivo intacto, o que aponta na direcção de um papel importante da comunicação química na mediação destes efeitos (Olsén e Liley, 1992; Liley *et al.*, 1993). Em *O. mossambicus*, os machos são sensíveis ao estádio de maturação das fêmeas, cortejando mais as fêmeas quando estas estão ovuladas (Silverman, 1978b). Este efeito parece ser mediado através de feromonas libertadas pelas fêmeas (Falter e Dolisy, 1989).

Também as interacções agonísticas parecem induzir alterações nos perfis hormonais dos indivíduos que nelas participam, sobretudo no que diz respeito aos androgénios. Em diferentes grupos de Vertebrados, incluindo o Homem, tem-se demonstrado a existência de flutuações de curto-prazo nas concentrações de androgénios moduladas pelas interacções sociais (Harding e Follett, 1979; Eberhart *et al.*, 1980; Harding, 1981; Hannes *et al.*, 1984; Sachser e Prove, 1984; Hannes, 1986;

Sapolsky, 1987; Wingfield e Moore, 1987; Booth *et al.*, 1989; Greenberg e Crews, 1990; Cardwell e Liley, 1991a).

No entanto estudos recentes demonstraram que em alguns casos os níveis de agressão e de androgénios encontram-se dissociados (Dittami e Reyer, 1984; Wingfield e Ramenofsky, 1985; Logan e Wingfield, 1990; Dittami *et al.*, 1993). Parece que a associação entre os androgénios e os comportamentos agonísticos (no contexto reprodutor) é mais forte em situações de instabilidade social, como é o caso do estabelecimento de hierarquias de dominância, da definição dos territórios, de intrusões territoriais ou competição pelo acesso a fêmeas (Teleósteos: Cardwell e Liley, 1991a; Pankhurst e Barnett, 1993; Répteis: Moore, 1986, 1988; Aves: Wingfield, 1985; Wingfield *et al.*, 1987). Durante os períodos de estabilidade social os níveis de agressão diminuem e do mesmo modo os níveis de androgénios descem para valores de base relacionados com a reprodução (Wingfield *et al.*, 1990), podendo ocorrer uma dissociação entre ambas as variáveis.

Estas evidências têm sido interpretadas como uma adaptação para os indivíduos ajustarem a sua motivação agonística de acordo com alterações no ambiente social em que estão envolvidos. Assim, as interacções agonísticas macho-macho estimulariam a produção de testosterona e os níveis de androgénios seriam função da estabilidade social do meio em que o animal se encontra. Esta hipótese foi proposta por Wingfield (1984b) e é designada correntemente como "hipótese do desafio" ("challenge hypothesis", Wingfield, 1984b).

A hipótese do desafio de Wingfield gera um série de predições as quais têm vindo a ser testadas nos últimos anos:

(a) Intrusões territoriais - Durante a fase de estabelecimento de territórios os níveis de androgénios devem ser mais elevados do que em fases subsequentes em que os territórios já estão estabelecidos. Vários trabalhos sobre as variações dos níveis de esteróides sexuais ao longo do ciclo reprodutor em Teleósteos e em Aves demonstram que os níveis de androgénios são mais elevados no início da época de reprodução, ou seja, durante o período de estabelecimento de territórios e de maior actividade de corte, do que na fase parental que se lhe segue (Pankhurst, 1990; Wingfield *et al.*, 1987; Sikkel, 1993). Verifica-se ainda que existe uma relação directa entre o estatuto social e os níveis séricos de androgénios a qual é apenas válida quando o estatuto está a ser estabelecido ou quando é activamente desafiado (Hegner e Wingfield, 1987a; Wingfield *et al.*, 1992).

(b) Densidade territorial - Machos que estabeleçam territórios em áreas com uma maior densidade de machos territoriais devem apresentar níveis mais elevados de androgénios, devido a um maior número de interacções agonísticas em que se verão envolvidos, do que machos que nidifiquem em áreas de menor densidade populacional. Esta predição deve ser encarada com cautela uma vez que se o aumento da densidade for determinado por ou acompanhado de mecanismos de evitamento da agressão, ela já não é válida. De qualquer forma, esta relação entre a densidade de territórios, o número de interacções agonísticas e níveis de androgénios mais elevados foi já verificada em Aves, no Estorninho (*Sturnus vulgaris*, Ball e Wingfield, 1987) e em Melros (*Xanthocephalus xanthocephalus*, Beletsky *et al.*,1990b; e *Agelaius phoenecius*, Beletsky *et al.*, 1992), e em Teleósteos num Pomacentrídeo (*Chromis dispilus*, Pankhurst e Barnett, 1993).

(c) Padrões interanuais de androgénios - Dado que os níveis de androgénios medidos num determinado instante devem reflectir os desafios a que o indivíduo esteve sujeito a curto-prazo, e porque os padrões temporais dos desafios são variáveis, é de prever a não existência de boas correlações entre os níveis de androgénios de uma amostra de um determinado dia de uma época de reprodução, e um ponto equivalente de amostragem numa outra época de reprodução, para o mesmo indivíduo. Esta predição cai já no terreno das evidências muito fracas dada a grande diversidade de causas potenciais para essa variação. Mesmo assim, Beletsky *et al.* (1992) apresentaram dados referentes a níveis de testosterona de machos marcados de Melros (*A. phoenecius*) para quatro épocas de reprodução sucessivas, em que se verifica a ausência de boas correlações interanuais nos níveis individuais de androgénios.

(d) Sucesso reprodutor - Os machos com níveis mais elevados de androgénios devem apresentar também um sucesso reprodutor mais elevado, uma vez que ao possuírem os melhores territórios não só serão alvo de um maior número de desafios, como serão visitados por um maior número de fêmeas. A exposição quer a intrusões territoriais, quer a visitas de fêmeas, aumenta os níveis circulantes de testosterona, pelo menos em Aves (Moore, 1984, Wingfield *et al.*, 1987). Esta predição foi verificada experimentalmente em Aves, no Pássaro-jardineiro Acetinado (*Ptilonorhynchus violaceus*, Borgia e Wingfield, 1991) e em Melros (*A. phoenecius*, Beletsky *et al.*, 1989), em que os níveis de testosterona durante o período de guarda do par se correlacionam com o sucesso reprodutor. Deve-se salientar que a apenas os níveis de testosterona medidos na altura da guarda do par estão bem correlacionados com o sucesso reprodutor (Beletsky *et al.*, 1989). A avaliação desta predição pode tornar-se difícil em espécies com tácticas alternativas de evitamento do confronto e do

estabelecimento de territórios bem sucedidas, como é comum encontrar entre os Teleósteos (Taborsky, 1994). No caso de espécies com tácticas alternativas de acasalamento em Teleósteos, em que ocorrem diferenças nos perfis de 11-cetotestosterona e testosterona entre os morfotipos alternativos (Brantley *et al.*, 1993b), a validade desta predição para testar a hipótese do desafio é bastante limitada.

(e) Sistemas de acasalamento e respostas endócrinas - Machos de espécies poligínicas devem apresentar níveis mais elevados de testosterona durante períodos mais longos do que machos monogâmicos (*i.e.* espécies monogâmicas ou poliândricas, uma vez que nestas últimas os machos acabam por acasalar com uma única fêmea), o que reflectiria o facto dos machos poligínicos não terem cuidados parentais e terem de competir para fêmeas durante um período mais alargado de tempo (Wingfield *et al.*, 1990). Através de um estudo comparativo de cerca de 20 espécies de Passeriformes para os quais se conhecia o sistema de acasalamento e os níveis de androgénios ao longo do ciclo reprodutor, esta predição da "hipótese do desafio" foi confirmada (Wingfield *et al.*, 1990): as espécies poliândricas e monogâmicas apresentam uma maior amplitude de resposta dos androgénios às interacções sociais, enquanto que as poligínicas, e uma espécie parasita de ninhos (*Molothrus ater*), apresentam uma menor amplitude entre o nível basal reprodutor e o nível máximo de testosterona. Esta relação entre os sistemas de acasalamento, cuidados parentais, e os níveis de androgénios ganhou ainda mais peso com a demonstração do facto de que machos monogâmicos, quando implantados com testosterona por períodos longos, se tornarem poligínicos, serem mais agressivos e defenderem um território do dobro das dimensões normais (Wingfield, 1984a).

As variações hormonais de curto-prazo devidas a interacções sociais têm sido estudadas mesmo fora do esquema conceptual da "hipótese do desafio". Em Teleósteos, Hannes *et al.* (1984) verificaram que quando dois Espadas (*X. helleri*) eram colocados no mesmo aquário, o que desencadeava um confronto agonístico no qual se estabeleciam as posições relativas dos dois indivíduos (*i.e.* dominante-subordinado), quer os vencedores quer os vencidos sofriam um decréscimo dos níveis de androgénios imediatamente a seguir às lutas, embora este fosse mais acentuado nos vencidos. Os níveis de androgénios nos vencedores regressavam a valores superiores aos de indivíduos controlo (*i.e.* não expostos a lutas) apenas uma hora após o combate enquanto que no caso dos derrotados permanecia abaixo dos níveis controlo até cerca de 24 horas após o confronto.

Nesta espécie Hannes (1986) verificou ainda a existência de uma relação correlacional entre alguns parâmetros agressivos (*i.e.* latência, morder e ameaçar) em

testes padronizados de agressão e os níveis de androgénios medidos imediatamente após o final do teste. É interessante verificar que os indivíduos com uma predisposição agressiva maior (*i.e.* com períodos de latência menores) são os que apresentam uma maior concentração de androgénios. No entanto, quando se comparam os níveis de androgénios entre machos dominantes e subordinados de aquários comunitários (*i.e.* com 15 a 25 peixes por aquário) não se obtêm diferenças significativas (Hannes, 1984). Estes dois estudos em conjunto sugerem que não existe nenhuma relação de causa-efeito entre os níveis hormonais e a predisposição agonística dos indivíduos, sendo os níveis de androgénios antes um reflexo dos comportamentos agonísticos executados pelos indivíduos.

A influência dos estímulos sociais nos parâmetros endócrinos foi também demonstrada no Ciclídeo *A. burtoni*, no qual os níveis de androgénios circulantes são função do estatuto social do sujeito, e variam segundo o contexto social. Se manipularmos o estatuto social de um indivíduo dominante para subordinado verifica-se um abaixamento dos níveis de androgénios desse sujeito, e inversamente, se transformarmos um indivíduo subordinado em dominante, verifica-se um aumento dos seus níveis circulantes de androgénios (Francis e Fernald, 1993). Verificou-se ainda que estas variações eram controladas por um núcleo hipotalamico na área pre-óptica de células secretoras de GnRH, as quais respondem às variações de estatuto social (Francis *et al.*, 1993).

Nos exemplos acima expostos colocou-se em evidência os efeitos do comportamento de um indivíduo no sistema endócrino de um outro indivíduo. No entanto, também existem efeitos do desempenho de determinados comportamentos no estado endócrino do próprio actor. Os primeiros exemplos deste fenómeno foram o efeitos estimulatórios de um ninho no comportamento de oviposição nos canários (Hinde e Warren, 1959) e da auto-lambedura ("self-licking") dos mamilos no desenvolvimento das glândulas mamárias em ratazanas durante a gravidez (Roth e Rosenblatt, 1968). Em ambos os casos a auto-estimulação táctil, provocada por um determinado comportamento, exerce controlo sobre os estados endócrinos dos próprios indivíduos. A auto-estimulação do crescimento dos folículos ováricos em fêmeas de Rola-de-colar (*Streptopelia risoria*) devido ao arrulhamento, é talvez o exemplo mais bem estudado. Nesta espécie foi demonstrado que a exposição de fêmeas ao comportamento de corte dos machos estimulava o comportamento de oviposição (Erickson, 1970). No entanto, veio-se a demonstrar mais tarde que o efeito estimulatório não era apenas devido aos estímulos provenientes do macho mas também às vocalizações de arrulhamento produzidas pela fêmea como resposta à presença do macho (Cheng, 1986). Verificou-se inclusive a existência de dois canais activos neste sistema de auto-retroacção, um proprio-receptivo e um auditivo (Cheng *et al.*, 1988).

4.7. ESTRATÉGIAS DE INVESTIGAÇÃO EM ENDOCRINOLOGIA COMPORTAMENTAL

Para se investigar a relação entre as hormonas e o comportamento existe uma grande diversidade de metodologias disponíveis. Estas podem-se classificar, no que diz respeito à origem da alteração hormonal, em tratamentos exógenos e endógenos para uma maior facilidade de exposição. Nos primeiros recorre-se à manipulação exógena do ambiente endócrino do indivíduo e estudam-se as alterações comportamentais induzidas, nos segundos manipula-se de alguma forma o comportamento ou o meio social do indivíduo e estudam-se as alterações endócrinas produzidas (Brain, 1981).

Os tratamentos exógenos recorrem a uma série de metodologias:

(a) Cirurgia, como é o caso da gonadectomia ou da hipofisectomia, em que se retira o orgão responsável pela produção endógena de uma determinada hormona. Existem no entanto alguns problemas com esta prática. Por um lado exige um grande treino de cirurgia por parte do experimentador, e por outro lado muitos tecidos endócrinos, como por exemplo os testículos, possuem uma grande capacidade de regeneração pelo que a a sua remoção efectiva pode durar muito pouco tempo (alguns dias) e gerar resultados contraditórios (*e.g.* castração em Teleósteos, Francis *et al.*, 1992a).

(b) Administração de hormonas a indivíduos intactos ou castrados - A administração pode ser feita através de um conjunto de vias diferentes: implantes silásticos intraperitoniais ou intramusculares, injecções sub-cutâneas, intramusculares ou intraperitoniais, microinjecções intra-cerebrais em regiões localizadas do encéfalo, alimento enriquecido numa determinada hormona, e, em espécies aquáticas, através da manutenção dos indivíduos num banho de uma determinada hormona. Cada uma das vias de administração tem vantagens e desvantagens que devem ser equacionadas para cada caso concreto. Os implantes silásticos são uma técnica eficiente para aumentar os níveis circulantes de hormonas por períodos longos (*e.g.* 35 dias no Peixe-leite *Chanos chanos*, Tamaru *et al.*, 1990). No entanto apresentam alguns problemas: (i) Em alguns casos o organismo reage ao implante formando uma bolsa que envolve o corpo estranho e que dificulta a absorção da hormona (Marty e Summerfelt, 1986; Summerfelt e Smith, 1990); (ii) Em Teleósteos verificou-se um processo de captação de implantes silásticos intraperitoniais para o tubo digestivo e subsequente evacuação (Summerfelt e Mosier, 1984). As injecções são a forma mais eficaz de aumentar os níveis circulantes de hormonas a curto-prazo. No entanto produzem um pico nas

concentrações plasmáticas da hormona e um regresso rápido aos níveis basais (Pankhurst *et al.*, 1986). Contudo, Wapler-Leong e Reinboth (1974) refere efeitos duradouros de uma única injecção de testosterona no Ciclídeo *A. burtoni*, o que se poderá ter ficado a dever à dosagem utilizada, ou a efeitos organizacionais de mais curto prazo (os Peixes Ósseos têm neurogénese durante a vida adulta, o que possibilita diferenciações organizacionais mais curtas as quais podem explicar a persistência do efeito da administração de um esteróide durante semanas ou mesmo meses). A administração através da comida tem sido utilizada extensivamente em Teleósteos, sobretudo em tratamentos prolongados para reversão sexual em juvenis de espécies com interesse económico (Hunter e Donaldson, 1983). Em Teleósteos também se tem recorrido à utilização de banhos para a administração de hormonas, sobretudo em preparações cujas reduzidas dimensões tornam mais difícil as outras vias de administração, ou em que se pretende utilizar um elevado número de indivíduos, o que seria bastante moroso se se recorresse a uma das vias tradicionais de administração (*i.e.* injecção ou implante)(*e.g.* Munro e Pitcher, 1985; Piferrer e Donaldson, 1991; Piferrer *et al.*, 1993).

(c) Administração de anti-hormonas ou de inibidores - As anti-hormonas tem sido utilizadas sobretudo no caso dos esteróides e são produtos sintéticos que competem para os receptores citoplasmáticos especificos de cada hormona (Wakeling, 1987). Assim, temos anti-androgénios (*e.g.* acetato de ciproterona), anti-estrogénios (*e.g.* tamoxifen, clomifene), e anti-progestogénios (*e.g.* RU486). Existem ainda produtos que actuam sobre as gonadotropinas, inibindo a sua secreção, e consequentemente anulando o seu efeito estimulatório sobre as gónadas (*e.g.* matalibure, Paget, Walpole e Richardson, 1961). Alternativamente tem-se recorrido à utilização de inibidores enzimáticos para poder estudar os efeitos de uma determinada via metabólica (*e.g.* utilização de inibidores da aromatase para estudar o envolvimento desta via metabólica da activação dos comportamentos sexuais, ATD: Kaplan e McGinnis, 1989; Fradozole: Bonsall *et al.*, 1992; R767713: Balthazart *et al.*, 1992)

(d) Transplantação de tecido secretor de determinada hormona - Um exemplo é a implantação de um enxerto de tecido hipofisário de células secretoras de prolactina para testar os efeitos da prolactina no comportamento parental do Esgana-gata *Gasterosteus aculeatus* (de Ruiter *et al.*, 1986). A vantagem destes transplantes consiste na utilização da hormona natural e não de produtos sintéticos que podem não corresponder aos compostos biologicamente activos na espécie em causa.

Nos tratamentos endógenos recorre-se a indicadores da actividade endócrina para avaliar o efeito do tratamento. Entre estes indicadores podem-se referir os seguintes:

(a) Peso de determinados orgãos, como é o caso da utilização do índice gonado-somático como indicador do estado de maturação sexual dos indivíduos (de Vlaming *et al.*, 1982).

(b) Histologia, a qual permite a comparação qualitativa ou quantitativa (recorrendo a programas de processamento de imagem) dos efeitos de determinado tratamento. Davis e Fernald (1990) quantificaram o diâmetro do soma dos neurónios da área pre-óptica de indivíduos dominantes e subordinados do Ciclídeo *A. burtoni*, e Fraley e Fernald (1982) utilizaram o diâmetro do núcleo das células de Leydig e a percentagem de células germinais nos diferentes estádios de desenvolvimento como indicadores da maturação sexual nesta mesma espécie.

(c) Morfometria, através da qual se podem estudar os efeitos do tratamento sobre as dimensões relativas de certas características da morfologia ou sobre o crescimento (*e.g.* envolvimento da tiroxina na metamorfose de um corpo alongado e esguio para uma forma juvenil com uma maior profundidade do corpo: Okimoto *et al.*, 1993).

(d) Histoquímica, que permite por exemplo a localização da actividade de determinados enzimas e a sua comparação entre tratamentos. Resink *et al.* (1987) exploraram as possibilidades do "software" de tratamento e análise de imagem para quantificarem as reacções positivas, utilizando a densidade óptica integrada (IOD) como um indicador da actividade enzimática.

(e) Endoscopia, através da qual se pode avaliar o efeito de um determinado tratamento, por exemplo, no estado de maturação das gónadas de Teleósteos sem ter de se sacrificar o indivíduo (Moccia *et al.*, 1984).

(e) Bio-ensaios, que consistem na utilização da resposta de determinados indicadores biológicos para avaliar o efeito de tratamentos específicos. Por exemplo, Johns e Liley (1970) controlaram a altura da barbatana dorsal, a qual responde positivamente aos androgénios, para avaliarem o sucesso na castração de machos de *Trichogaster trichopterus*.

(f) Radioimunoensaios (RIA) e Enzimoimunoensaios (ELISA), através dos quais se podem medir as concentrações de hormonas específicas em amostras de sangue, urina ou de homogenados de determinado tecido. O número de hormonas para as quais existem ensaios disponíveis tem vindo a aumentar, podendo-se neste momento quantificar grande parte dos esteróides sexuais de Teleósteos (Kime, 1993).

(g) Cromatografia, através da qual se pode identificar quais as hormonas presentes numa determinada amostra biológica. Por exemplo, tem sido através de técnicas de cromatografia (*e.g.* HPLC) e de incubação de tecidos com percursores marcados, que se têm identificado quais os esteróides produzidos pelas gónadas de diferentes espécies de Teleósteos (*e.g. Betta splendens*, Leitz, 1987a).

(h) Autoradiografia, que permite a localização de células que acumulam uma determinada substância marcada radioactivamente previamente administrada. Através deste tipo de metodologias foi possível mapear no encéfalo de Teleósteos células que acumulam estrogénios, o que constitui uma indicação indirecta da existência de receptores estrogénicos nessas células (*e.g. Macropodus opercularis*, Davis *et al.*, 1977; *C. auratus*, Kim *et al.*, 1978).

(i) Hibridação *in situ*, constitui a prova da existência de um receptor hormonal específico num determinado tecido. Estudos que recorrem a esta técnica permitiram já a localização neural de receptores de diferentes esteróides sexuais.

Existem no entanto alguns problemas na aplicação das metodologias acima expostas. Nos trabalhos em que se recorre à administração de hormonas, utilizam-se muitas vezes doses que vão provocar um incremento nas concentrações endógenas dessa hormona para níveis muito acima dos padrões normais para a espécie em estudo. Estudam-se assim efeitos farmacológicos dessa hormona sem ter em conta os valores fisiológicos normais. A solução para este problema consistiria em, para a espécie em estudo, conhecer: (a) os níveis plasmáticos da hormona em causa e as variações diárias, sazonais e contextuais; (b) a taxa de absorção para a via de administração que se pretende utilizar, de modo a conhecer a relação entre a dosagem a administrar e o incremento que esta provoca nos níveis séricos da hormona.

Os resultados positivos obtidos em estudos que recorrem à administração de hormonas devem ser encarados cuidadosamente. Muitas vezes não é a substância utilizada mas um seu metabolito que é responsável pelos resultados obtidos. Um caso bastante estudado é o do metabolismo neural dos androgénios. A testosterona pode ser metabolizada a nível cerebral em dois outros esteróides biologicamente activos:

estradiol ou di-hidro-testosterona. Estas duas vias ocorrem em todas as classes de Vertebrados embora com algumas diferenças (Balthazart e Foidart, 1993). Foi demonstrado que os efeitos conhecidos da testosterona na activação do comportamento sexual nos machos de Aves, e no controlo do comportamento agonístico em Roedores, eram suprimidos através da administração de anti-estrogénios ou de inibidores da aromatase, o que prova o papel activo do estradiol na mediação destes efeitos (*e.g.* Aves, Balthazart e Foidart, 1993; Roedores, Brain *et al.*, 1988; Hassan *et al.*, 1988; ver também Kaplan e McGinnis, 1989).

Deviche e Balthazart (1987) mostraram que a magnitude dos efeitos dos esteróides depende do veículo utilizado na sua administração. Nesse, estudo os autores compararam os efeitos da administração de três androgénios, testosterona (T), 5α-di-hidro-testosterona (DHT) e androstenediona (A), no crescimento da glândula cloacal e do músculo esternotraqueal da Codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*), utilizando dois veículos diferentes, propileno-glicol e etanol:salino (1:1). Verificaram que, embora os três esteróides tivessem um efeito androgenizante nas características estudadas, a magnitude do efeito estava relacionada com o veículo utilizado. Para além disso existem interacções esteróide-veículo que não são equivalentes para os três androgénios utilizados: no propileno-glicol as potências relativas dos esteróides são DHT>> T> A, enquanto que em etanol:salino (1:1) são T≥ DHT> A (Deviche e Balthazart, 1987). Este facto pode explicar os resultados contraditórios obtidos por estudos de diferentes laboratórios que utilizam pequenas variações de uma mesma metodologia.

Uma outra fonte de resultados contraditórios reside no facto de não existir uma padronização dos testes comportamentais, existindo uma série de procedimentos experimentais alternativos que colocam em evidência diferentes mecanismos comportamentais (*e.g.* efeito de androgénios sobre agressão e dominância social, ver Francis *et al.*, 1992a). Por outro lado, muitos dos testes realizam-se em cativeiro em condições muito afastadas da realidade biológica da espécie em estudo.

As metodologias endógenas também estão sujeitas a erros. Por vezes a utilização de diferentes tecidos conduz à obtenção de resultados diferentes. Mayer *et al.* (1990a), ao compararem machos de Esgana-gata (*G. aculeatus*) territoriais e não-territoriais verificaram que os primeiros apresentavam níveis séricos bastante mais elevados de 11-cetotestosterona. No entanto quando se procedeu à incubação das gónadas destes dois tipos de machos com androstenediona tritiada, verificou-se que o principal produto que se formava no caso dos territoriais era 11-cetoandrostenediona, não sendo detectável a 11-cetotestosterona (Borg *et al.*, 1989). Mais tarde veio-se a esclarecer esta aparente contradição. Os eritrócitos possuem o enzima 17β- hidroxi-

esteroide-desidrogenase (17β-HSD) que converte a 11-cetoandrostenediona em 11-cetotestosterona (Mayer *et al.*, 1990b).

Recentemente tem-se vindo a caracterizar um número crescente de esteróides não-clássicos em vertebrados inferiores, variando de espécie para espécie os esteróides que estão presentes em maior quantidade (*e.g.* a proporção entre 17,20α-P e 17, 20β-P em Teleósteos) (Kime, 1993). No entanto, pesquisam-se tradicionalmente os esteróides clássicos, o que pode em alguns casos conduzir a resultados pouco fidedignos. Para ultrapassar este problema seria necessário proceder a uma caracterização dos perfis hormonais de uma espécie antes de avançar para objectivos mais específicos. Por outro lado, a função destes esteróides "não-clássicos" é pouco conhecida.

PARTE II

METODOLOGIA GERAL

5.
MATERIAL E MÉTODOS

5.1. REPRODUÇÃO E MANUTENÇÃO DO STOCK

Os indivíduos utilizados no presente estudo são a primeira geração de um stock mantido em cativeiro para fins experimentais no Laboratório Marítimo da Guia e no Instituto Superior de Psicologia Aplicada (I.S.P.A.). Este stock foi fundado com reprodutores cedidos pelo Aquário Vasco da Gama, que por sua vez provinham do stock desta espécie existente nesta instituição, o qual teve origem em indivíduos capturados no Rio Incomati, Moçambique, em princípios da década de setenta. Embora a origem dos animais coloque alguns problemas quanto à existência de consanguinidade e de deriva genética, por outro lado permitiu o apuramento de uma estirpe que se pode caracterizar fenotípica e geneticamente e com a qual se poderão vir a realizar trabalhos padronizados no futuro. Esta é aliás a tendência de outros laboratórios internacionais que tentam desenvolver as suas estirpes de animais, que, depois de caracterizadas, servem de modelo para aquela espécie (*e.g.* Dalhousie stock = *Oreochromis mossambicus* ×*O. hornorum*, Robinson e Doyle, 1990).

A reprodução natural de Tilápias em cativeiro é bastante comum e requere as seguintes condições (Rothbard e Pruginin, 1975):

(a) temperatura - a actividade reprodutora inicia-se aos 22°C e o óptimo varia entre 25-29 °C;

(b) alimentação - deve ser rica em proteínas e vitaminas uma vez que a água dos aquários é pobre em plâncton, algas, etc.;

(c) iluminação - o fotoperíodo deve ser de 12 a 14 horas de luz diárias;

(d) água - deve ser mantida uma boa visibilidade, retirando-se as excreções e os restos de comida regularmente (*i.e.* cada 2-3- semanas);

(e) aquários - devem ser compridos (*e.g.* 200×50×40 cm^3) de forma a permitir aos machos estabelecerem os seus territórios reprodutores, e a evitar as interferências de outros peixes durante as posturas dos pares;

(f) peixes reprodutores - os reprodutores devem ser colocados nos aquários de reprodução antes de atingirem a maturidade sexual. Os indivíduos adultos de grandes dimensões quando introduzidos em aquários podem tornar-se bastante agressivos, inclusive os machos em relação às fêmeas, o que pode inviabilizar a reprodução.

A reprodução natural de *O. mossambicus* foi conseguida no nosso laboratório por duas formas:

(a) um aquário (200×50×40 cm^3) com dois machos e duas fêmeas adultos previamente seleccionados (cedidos pelo Aquário Vasco da Gama), com a água a uma temperatura de 24±2°C, e um fotoperíodo de 12D:12L. A partir destes casais obtiveram-se duas posturas que deram origem aos indivíduos utilizados no estudo 1. Os restantes indivíduos originários destas posturas foram também os fundadores do nosso stock de *O. mossambicus*, juntamente com juvenis (*ca.* 100 indivíduos) que foram mais tarde oferecidos pelo aquário Vasco da Gama a partir de uma reprodução desta espécie, também realizada em cativeiro.

(b) em tanques de manutenção (*ca.* 600 l) com cerca de 16 indivíduos (proporção dos sexos de 1:1 aproximadamente) a reprodução ocorre espontaneamente com uma ciclicidade de aproximadamente 15 dias (ver capítulo 12).

Quando se detectava uma fêmea a incubar alevins esta era capturada com um camaroeiro e os alevins eram-lhe extraídos da boca e incubados artificialmente num aquário com arejamento e filtragem biológica, sendo a fêmea devolvida ao seu tanque de origem. Este procedimento tinha por finalidade evitar o canibalismo dos alevins pelos outros membros do tanque. Na realidade, verificou-se que posturas que não foram retiradas às fêmeas foram canibalizadas quase completamente aquando das primeiras saídas dos alevins ao exterior da boca materna.

5.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.2.1. Grupos Experimentais

Os trabalhos experimentais conducentes à presente dissertação seguiram as recomendações da Association for the Study of Animal Behaviour (ASAB) para a utilização de animais para fins experimentais (ASAB, 1995). De acordo com este espírito e com o objectivo de minimizar o número de animais sacrificados, tentou-se maximizar a informação que se obtinha de cada um dos estudos que envolviam a morte de animais.

O conjunto de dados recolhidos, para tentar dar resposta aos objectivos estabelecidos (ver capítulo 1), baseiam-se em três grupos de observações. Nestas não foram utilizados grupos experimentais, na verdadeira acepção da palavra, uma vez que não se dispunham de grupos de controlo. Assim, optou-se, pela utilização do termo estudo em vez de experiência para descrever estes três conjuntos de observações, dada a necessidade ao longo de todo o trabalho de nos referirmos a estes mesmos grupos de forma breve e não ambígua.

5.2.1.1. Estudo 1

Decorreu no laboratório da Unidade de Investigação em Eco-Etologia do ISPA de Setembro de 1991 a Julho de 1992. Foram observados 8 grupos de 6 indivíduos cada, em aquários padronizados de 50×30×25 cm^3. Estes grupos foram fundados com indivíduos todos provenientes da mesma postura, 10 dias após o término da incubação bucal pela fêmea. Os organismos de cada grupo cresceram assim juntos. Os grupos foram inspeccionados semanalmente, tendo as observações comportamentais sido realizadas quando se começaram a verificar os primeiros sinais da maturidade sexual, *i.e.* indivíduos com cor escura e escavação de pequenas depressões no substrato, que são esboços de ninhos. Isto ocorreu quando os indivíduos tinham 8 meses de idade.

Na tabela 5.1. apresentam-se os dados referentes à composição dos diferentes grupos. Devido à mortalidade durante o desenvolvimento dois dos grupos apresentavam apenas 4 e 5 indivíduos respectivamente aquando das observações comportamentais. Foi decidido não substituir os indivíduos que desapareceram para evitar a indução de alterações das relações sociais já existentes no interior dos grupos.

Tabela 5.1. Constituição dos grupos do estudo 1. Os dados de comprimento standard (CS) e peso referem-se ao máximo e mínimo para cada sexo em cada grupo, excepto para o total (última linha) em que se apresenta a média e o desvio padrão. N, nº de indivíduos no grupo; FF, fêmeas; MM, machos.

Grupo	N	Proporção dos sexos (MM:FF)	Machos		Fêmeas	
			CS (mm)	Peso (g)	CS (mm)	Peso (g)
1	6	2:4	66.3-69.7	9.6-10.7	46.3-60.0	3.9-6.9
2	6	4:2	60.0-71.8	6.7-10.3	59.1-69.4	6.6-6.9
3	4	1:3	60.4	7.2	49.3-65.0	4.2-9.1
4	6	4:2	54.0-65.5	4.7-8.5	51.7-57.6	4.6-5.8
5	6	3:3	43.0-62.4	2.9-8.1	47.7-59.4	3.6-7.1
6	5	2:3	58.0-59.4	6.4-7.0	50.7-65.0	3.9-9.8
7	6	1:5	62.3	7.7	46.2-64.5	3.0-8.7
8	6	3:3	59.5-64.8	6.5-7.8	48.8-59.7	3.6-6.7
Total	45	20:25	61.7±7.5	6.2±1.8	55.8±5.8	5.8±1.9

Cada grupo foi observado em dois dias consecutivos tendo sido realizadas doze amostragens focais contínuas (Martin e Bateson, 1993) por indivíduo de 5 minutos cada. Assim obteve-se um esforço de amostragem de 1 hora por indivíduo o que totaliza um tempo total de observação de 6 horas por grupo, excepto nos grupos em que ocorreu mortalidade (grupos 3 e 6, que somaram 4 e 5 horas de tempo total de observação respectivamente). Nestas amostragens eram registadas todas as interacções sociais bem como a identidade dos participantes. As observações comportamentais decorreram entre as 11 e as 18 horas. Os peixes eram reconhecidos individualmente em cada grupo através de marcas particulares e do seu tamanho relativo.

No dia seguinte ao período de observações, os indivíduos foram sacrificados com uma dose letal de quinaldina (Fluka Chemicals) e foram medidas várias variáveis biométricas (ver tabela 5.5), após o que se procedeu à dissecção dos indivíduos para examinação das gónadas, fígado e aparelho sónico (*i.e.* musculatura sónica e placas faringicas). As medidas biométricas extraídas são apresentadas na tabela 5.5. Procedeu-se ainda à pesagem do corpo não-eviscerado, das gónadas, do fígado e do aparelho sónico.

5.2.1.2. Estudo 2

Decorreu no Laboratório Marítimo da Guia (Universidade de Lisboa) de Janeiro a Março de 1993. Foram observados 8 grupos de 6 indivíduos cada em aquários padronizados (62×34×39 cm^3). Estes grupos foram fundados com indivíduos da mesma idade (*ca.* 9 meses) provenientes de dois tanques de manutenção. A formação dos grupos coincidiu com o aparecimento dos primeiros sinais de maturidade sexual nos indivíduos escolhidos (*i.e.* cor escura e esboços de ninhos). Tentou-se que a proporção dos sexos em cada grupo fosse de 1:1. No entanto, dificuldades no diagnóstico do sexo, através das características externas dos indivíduos nesta fase, levaram à existência de variações no "sex-ratio" entre os grupos (ver tabela 5.2.).

Imediatamente antes da formação dos grupos, todos os indivíduos foram medidos (CS e CT) e pesados. Os indivíduos foram introduzidos nos aquários experimentais simultaneamente para evitar fenómenos de residência prévia. Os grupos foram observados durante 8 semanas consecutivas. Em cada grupo os peixes eram reconhecidos individualmente através de marcas naturais e de diferenças relativas de tamanho. As observações comportamentais foram efectuadas segundo dois métodos de amostragem:

(a) amostragem por comportamentos (Martin e Bateson, 1993) para as interacções agonísticas e para as cortes, em 6 períodos de 5 minutos para cada grupo

em cada semana, o que totaliza um esforço de amostragem de 30 minutos por grupo por semana;

(b) amostragem animal focal com registo instantâneo (Martin e Bateson, 1993) de cada um dos indivíduos do grupo para as actividades comportamentais.

Em cada semana obtinham-se ainda os seguintes dados referentes a cada grupo: (a) coloração de cada um dos indivíduos; (b) dimensões dos ninhos presentes no aquário e identidade do proprietário; (c) ocorrência de fêmeas a incubar ovos; (d) actividade locomotora de cada um dos indivíduos; (e) distribuição espacial dos indivíduos.

Tabela 5.2. Constituição dos grupos do estudo 2, com dados de CS e peso amostrados no início e no final do estudo. Os dados de comprimento standard (CS) e peso referem-se ao máximo e mínimo para cada sexo em cada grupo, excepto para o total (última linha) em que se apresenta a média e o desvio padrão. MM, machos; FF, fêmeas; nd, não determinado.

Grupo	Proporção dos sexos (MM:FF)	Dimensões iniciais				Dimensões finais			
		Machos		Fêmeas		Machos		Fêmeas	
		CS (mm)	Peso (g)	CS (mm)	Peso (g)	CS (mm)	Peso (g)	CS (mm)	Peso (g)
1	4:2	36-71	nd	42-71	nd	36.6-71.7	1.9-13.3	44.2-73.3	3.1-13.8
4	3:3	37.0-72.5	2.2-11.9	30.5-63.5	0.9-8.9	48.7-77.1	2.3-13.2	36.3-71.4	1.8-11.6
5	4:2	70.4-80.7	10.2-14.4	61.0-64.5	7.4-9.0	74.0-83.5	11.3-16.3	62.0-68.0	8.2-9.2
6	3:3	50.5-55.0	4.5-6.3	44.0-50.0	2.9-4.6	55.4-60.3	5.7-6.9	45.9-51.3	3.4-5.0
7	4:2	41.0-53.0	2.3-4.5	38.0-39.0	1.7-2.0	46.0-60.5	3.4-6.5	40.4-40.6	2.3-2.4
8	3:3	39.0-52.0	2.1-4.3	30.0-47.0	nd	44.2-59.4	2.7-6.8	34.3-50.6	1.5-4.1
9	4:2	44.0-50.5	3.2-4.7	47.0-50.0	3.7-4.7	46.0-56.0	3.0-5.3	51.5-53.4	4.3-5.0
10	4:2	68.0-71.7	9.1-10.7	56.4-59.8	6.4-7.4	68.4-76.0	9.3-12.8	58.0-60.2	6.6-7.6
Total	29:19	57.2± 14.6	6.8± 4.6	49.4± 11.1	4.9± 2.5	59.9± 11.4	7.1± 3.5	50.8± 9.1	5.1± 2.4

No final das 8 semanas de observações os indivíduos foram sacrificados com uma dose letal de quinaldina (Fluka Chemicals), logo após o que foram pesados e medidos (CS e CT). Os indivíduos foram depois dissecados para extracção das gónadas e fígado, tendo-se procedido à classificação das gónadas frescas numa escala de maturação macroscópica e à pesagem das gónadas e do fígado. Foi ainda medido o comprimento da papila genital de cada indivíduo. Os grupos foram aleatoriamente separados em duas sub-amostras que foram processadas da seguinte forma:

(a) aos indivíduos dos grupos 1, 2, 3, 4 e 8 foram efectuadas um conjunto de medidas biométricas que são apresentadas na tabela 5.5.

(b) aos indivíduos dos grupos 5, 6 e 7 foi extraído o encéfalo o qual foi imediatamente incubado com um percursor radioactivo para determinação da actividade da aromatase neural (ver capítulo 11).

As características de cada um dos grupos utilizados no estudo 2 são apresentadas na tabela 5.2.

5.2.1.3. Estudo 3

Decorreu no Laboratório Marítimo da Guia (Universidade de Lisboa) de Abril a Julho de 1993. Os indivíduos utilizados neste experimento eram provenientes de grupos mistos de 30 a 50 indivíduos mantidos em tanques de cerca de 500 l. No início do estudo 16 machos foram isolados individualmente em aquários padronizados de 46 $\times 36 \times 40$ cm^3 por um período de 8 dias, com o objectivo de anular possíveis efeitos de experiência social prévia. No final do período de isolamento formaram-se 4 grupos de 4 machos cada, os quais foram colocados em aquários padronizados ($93 \times 36 \times 40$ cm^3). Tentou-se minimizar a variação de tamanho dos machos dentro de cada um dos grupos. Os coeficientes de variação para o CS são os seguintes: grupo 1 = 0.07; grupo 2 = 0.04; grupo 3 = 0.01; grupo 4 = 0.10. Cinco dias após a formação dos grupos foram adicionadas 2 fêmeas ovuladas a cada grupo (ver figura 5.1). A ovulação foi induzida nas fêmeas através de uma injecção intraperitoneal de 200µl de veículo contendo 5 µg de des-Gly 10, [D-Ala6]-LHRH etilamida (Sigma), 48 horas antes da sua introdução nos grupos experimentais. Os grupos foram observados por mais dois dias após a introdução das fêmeas nos grupos. Em cada grupo, os indivíduos eram reconhecidos individualmente através de cortes nas membranas das barbatanas anal e dorsal, segundo um código previamente estabelecido. Na tabela 5.3. são apresentados referentes à constituição de cada um dos grupos.

Tabela 5.3. Constituição dos grupos do estudo 3. Os dados de comprimento standard (CS) e peso referem-se ao máximo e mínimo para cada sexo em cada grupo, excepto para o total (última linha) em que se apresenta a média e o desvio padrão. MM, machos; FF, fêmeas.

Grupo	Proporção dos sexos (MM:FF)	Machos		Fêmeas	
		CS (mm)	Peso (g)	CS (mm)	Peso (g)
1	4:2	90-104	20.3-33.2	60-75	nd
2	4:2	89-96	18.3-24.3	60-70	nd
3	4:2	89-91	18.4-19.7	60-79	nd
4	4:2	79-99	12.5-22.5	60-80	nd
Total	16:8	91±6	20.5±4.4	68±8	nd

Foram efectuadas observações comportamentais de cada um dos grupos diariamente segundo duas estratégias de amostragem:

(a) amostragem por comportamentos (Martin e Bateson, 1993) para as interacções agonísticas e para as cortes, em 4 a 6 períodos de 5 minutos para cada grupo em cada dia, o que totaliza um esforço de amostragem de 20 a 30 minutos por grupo por dia;

(b) amostragem animal focal com registo instantâneo (Martin e Bateson, 1993) de cada um dos indivíduos do grupo para as actividades comportamentais.

Para cada dia obtinham-se ainda os seguintes dados referentes a cada grupo: (a) coloração de cada um dos indivíduos; (b) dimensões dos ninhos presentes no aquário e identidade dos proprietários; (c) ocorrência de fêmeas a incubar ovos; (d) actividade locomotora de cada um dos indivíduos; (e) distribuição espacial dos indivíduos. As amostragens comportamentais foram realizadas entre as 11 e as 18 horas.

Foram recolhidas amostras de urina, para a determinação das concentrações de esteróides sexuais, no final do período de isolamento social (dia 0), cinco dias após a formação dos grupos só de machos (dia 5), e dois dias após a introdução das fêmeas nos grupos (dia 7) (ver figura 5.1.). A urina era recolhida em tubos eppendorf de 1.5 ml, aplicando uma pressão suave na parte inferior dos flancos do peixe imediatamente atrás do nível de inserção da papila genital. Este procedimento durava menos de 1 minuto para cada indivíduo. As amostras de urina eram imediatamente congeladas e mantidas a -20°C até serem processadas para os radio-imunoensaios. Deve ser referido que os doseamentos hormonais se realizaram sem o conhecimento prévio dos dados comportamentais dos indivíduos.

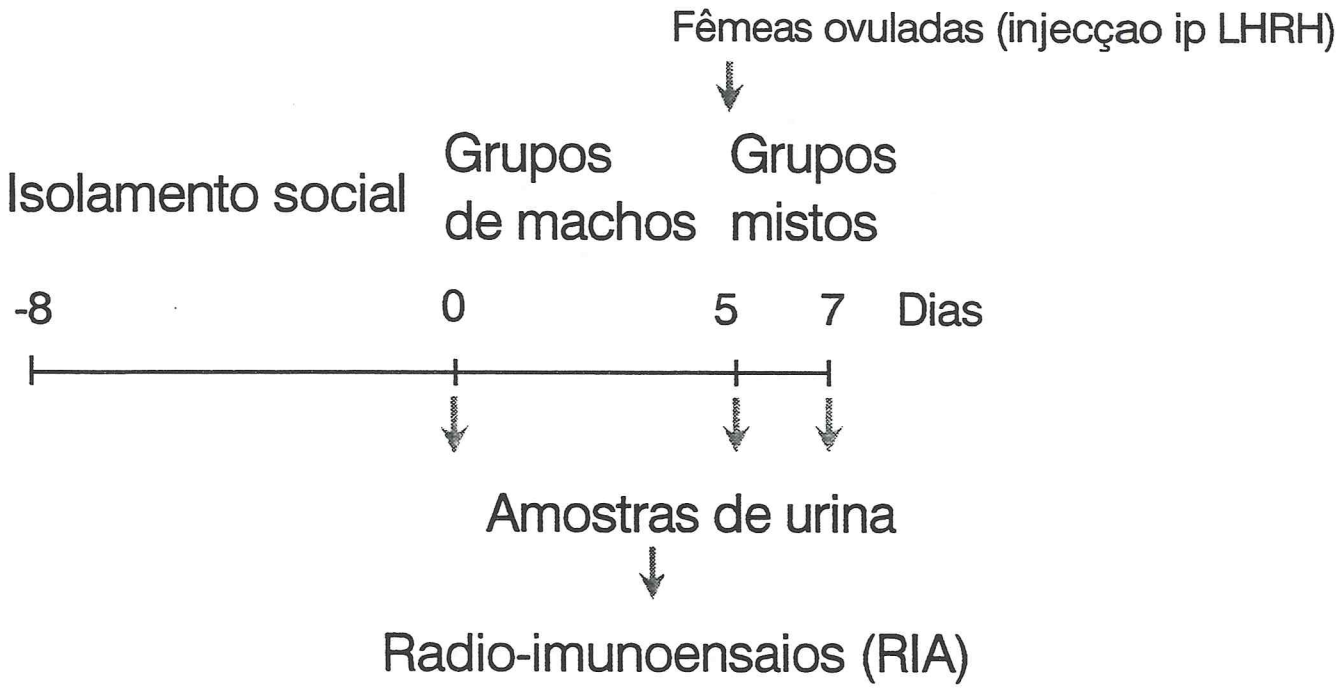


Figura 5.1. Cronograma do estudo 3.

Neste estudo assume-se que o padrão de variação das concentrações totais de cada esteróide na urina reflectem o padrão de variação do mesmo esteróide no plasma. Embora não existam dados disponíveis sobre a dinâmica da excreção para Tilápias, Scott e Liley (1994) mostraram que para a Truta Arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) a variação temporal de vários esteróides presentes na urina correspondia a padrões similares de variação no plasma. Do mesmo modo, Creel *et al.*(1993) mostraram que as concentrações urinárias de androgénios reflectem adequadamente variações de curto-prazo das concentrações plasmáticas no Mangusto-anão (*Helogale parvula*).

Apesar deste problema, foi decidido utilizar as concentrações urinárias, uma vez que a obtenção de amostras de urina apenas envolve uma manipulação rápida dos indivíduos, enquanto que a obtenção de amostras de plasma pode ter efeitos mais disruptivos sobre o comportamento dos peixes e sobre os seus níveis subsequentes de esteróides, devido ao stress provocado pela manipulação.

5.2.2. Observações Comportamentais

Nas observações de comportamento do presente trabalho foram utilizadas várias estratégias de amostragem e foram amostrados diversos parâmetros do comportamento de *O. mossambicus*, que se passam a expor de seguida.

Amostragem *ad libitum* (Martin e Bateson, 1993) - Com vista à inventariação do repertório comportamental (etograma) da espécie em estudo foram efectuadas cerca de 100 horas de observações *ad libitum* de grupos em diferentes contextos (ver capítulo 6). Segundo este método de amostragem o observador limita-se a registar tudo o que é visível e que parece ser relevante, incluindo a descrição minuciosa dos padrões de comportamento, quais os indivíduos que os apresentam e em que contextos.

Amostragem animal focal com registo contínuo (Martin e Bateson, 1993) - As observações do estudo 1 foram realizadas segundo este método de amostragem que consiste na observação de cada um dos indivíduos do grupo, registando-se todas as interacções sociais, agonísticas e sexuais em que ele participa, bem como a identidade dos oponentes e os seus comportamentos. Considerava-se que ocorria uma interacção agonística sempre que se observava um dos seguintes padrões de comportamento: aproximação, arranque, investida, perseguição, toques, morder, exibição frontal ou lateral, combates, postura de submissão, afastamento, ou fuga (para a descrição destes padrões de comportamento ver capítulo 6). Considerava-se que tinha ocorrido um episódio de corte sempre que se observava um dos seguintes padrões de comportamento: convite, guiar a fêmea, circundar o ninho, ou estremecer (para a descrição destes padrões de comportamento ver capítulo 6).

Amostragem por comportamentos com registo contínuo (Martin e Bateson, 1993)- Este tipo de amostragem foi utilizado para registar as interacções agonísticas e as cortes nos estudos 2 e 3. Consiste na observação simultânea de todo o grupo e no registo de todas as ocorrências das interacções em causa (*i.e.* agonísticas e sexuais). São também registados a identidade dos participantes nas interacções, os actos comportamentais exibidos e o desfecho da interacção. No caso das interacções agonísticas os participantes eram ainda classificados em vencedores ou derrotados, sendo considerado derrotado o participante que se retirava, fugia ou adoptava uma postura de submissão. Considerava-se que ocorria uma interacção agonística sempre que se observava um dos seguintes padrões de comportamento: aproximação, arranque, investida, perseguição, toques, morder, exibição frontal ou lateral, combates,

postura de submissão, afastamento, ou fuga (para a descrição destes padrões de comportamento ver capítulo 6). Considerava-se que tinha ocorrido um episódio de corte sempre que se observava um dos seguintes padrões de comportamento: convite, guiar a fêmea, circundar o ninho, ou estremecer (para a descrição destes padrões de comportamento ver capítulo 6).

Amostragem animal focal com registo instantâneo (Martin e Bateson, 1993) - Consiste na observação de cada um dos indivíduos do grupo registando-se a actividade comportamental que ele estava a realizar em pontos de amostragem sucessivos. No presente estudo estas amostragens tinham uma duração de 5 minutos e a cada 30 segundos eram registadas as actividades que o peixe estava a executar, o que totaliza 10 pontos de amostragem por observação. A marcação dos pontos de amostragem era fornecida ao observador por um temporizador previamente programado, que emitia um sinal sonoro ("beeper"). As actividades comportamentais consideradas foram as seguintes:

Nadar - indivíduo a nadar na coluna de água.

Pairar - indivíduo a pairar na coluna de água.

Alimentação - inclui episódios de alimentação no substrato, à superfície, ou de raspagem de superfícies (*e.g.* chaminé do filtro de fundo).

Pairar no ninho - indivíduo de coloração escura a pairar sobre o seu ninho.

Cavar no ninho - indivíduo de coloração escura a cavar com a boca no interior do seu ninho.

Interacção agonística - indivíduo envolvido numa interacção agonística, quer como dador quer como receptor.

Corte - indivíduo envolvido num episódio de corte, quer como dador quer como receptor.

Outras - incluem outros comportamentos menos frequentes como sejam: mordiscar à superfície, roçar-se, etc.

Estas amostragens foram utilizadas nos estudos 2 e 3.

Coloração dos indivíduos - À coloração dos indivíduos era atribuída uma pontuação de acordo com uma escala qualitativa de cinzentos com os seguintes níveis: neutro, cinzento 1, cinzento 2, cinzento 3 e negro. Quando o observador tinha dúvidas em relação ao padrão de coloração apresentado pelo peixe era atribuída uma pontuação intermédia entre os dois padrões possíveis (ver tabela 5.4.). A descrição destes padrões de coloração encontra-se no capítulo 6.

Tabela 5.4. Escala de colorações. Na primeira linha apresentam-se os padrões de coloração e na segunda linha as pontuações respectivas para cada padrão e para os casos intermédios.

Neutro		Cinzento 1		Cinzento 2		Cinzento 3		Negro	
0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5

Dimensões dos ninhos - Esta medida foi amostrada uma vez que se sabe que noutras espécies de Ciclídeos a dimensão dos ninhos é um correlato importante do estatuto social dos indivíduos e do seu sucesso reprodutor (Mckaye *et al.*, 1990; McKaye, 1991; Rossiter, 1992). Foi calculado o volume do ninho a partir do seu diâmetro e da sua profundidade no ponto central, assumindo-se que a forma dos ninhos se aproximava à de um cone invertido. O seu volume (V) foi assim calculado segundo a fórmula:

$$V = 1/3\ (\pi r^2\ h)$$

,em que r é metade do diâmetro do ninho (*i.e.* raio da base do cone) e h é a profundidade do ninho medida no seu ponto central (*i.e.* altura do cone). Para evitar uma grande variabilidade entre grupos na profundidade dos ninhos, foi colocada em cada aquário experimental aproximadamente a mesma quantidade de substrato (*i.e.* camada de 7 cm de areia).

Actividade locomotora - Foi desenhada uma quadrícula no vidro frontal de cada aquário, que o dividia em 12 células de iguais dimensões: 3 secções horizontais e 4 secções verticais (ver figura 5.2.). A actividade locomotora de cada indivíduo era expressa pelo número de vezes que um ponto fixo do indivíduo (*i.e.* a ponta da pre-maxila) intersectava um traço da quadrícula. Para tal, efectuaram-se amostragens animal focal com registo contínuo de 2 minutos de duração para cada indivíduo nos estudos 2 e 3. Nestas amostragens, para além do número de intersecções de células da quadrícula, foi simultaneamente quantificado o número de mudanças de direcção executadas pelo indivíduo, com base no qual se calculou um índice de linearidade dos trajectos (L) segundo a fórmula:

L = nº de mudanças de direcção / nº de intersecções da quadrícula

Este índice, ao dividir as mudanças de direcção pela distância percorrida, avaliada pelo número de intersecções de quadrículas, é um indicador da maior ou menor linearidade dos percursos dos diferentes indivíduos.

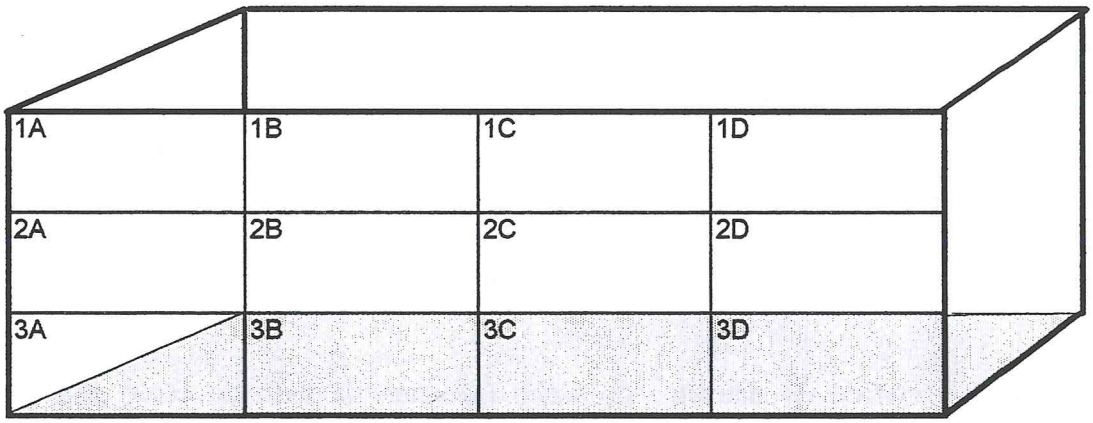


Figura 5.2. Quadrícula utilizada no vidro frontal dos aquários para medir a actividade locomotora e a distribuição espacial dos indivíduos.

Distribuição espacial dos indivíduos - Para se obter uma imagem da ocupação do espaço pelos diferentes indivíduos de cada grupo, efectuaram-se amostragens animal focal com registo instantâneo de 2 minutos de duração, em que se anotava a posição do indivíduo na quadrícula a cada 10 segundos (*i.e.* 12 registos por amostragem)(ver figura 5.2.). Estas amostragens foram realizadas nos estudos 2 e 3.

Territorialidade - Um macho era considerado como territorial quando escavava e defendia activamente uma cova no substrato e assumia uma coloração escura (para uma descrição dos padrões de coloração ver capítulo 6).

Ocorrência de fêmeas a incubar ovos - Sempre que eram detectadas fêmeas a incubar ovos nos grupos experimentais este facto era registado, e a evolução das posturas era seguida.

5.2.2.1. Organização Social dos Grupos

Com base nas observações comportamentais efectuadas foi possível proceder à caracterização da estrutura social dos grupos em cativeiro.

Na análise da estrutura social as **interacções agonísticas** foram classificadas como:

(a) Simétricas (SIM), quando o indivíduo alvo de um acto agonístico retaliava com outro acto agressivo (*i.e.* combates de boca, combates em circulo, combates pendulares, e exibições frontais/ laterais mútuas). Neste tipo de interacções foi considerado como derrotado o animal que primeiro desistiu da interacção, quer tenha sido por se ter afastado, fugido ou adoptado uma postura submissiva.

(b) Assimétricas, quando o actor de um acto agressivo suplantava o receptor sem este ter retaliado, *i.e.* o receptor não exibia nenhum acto agressivo. As interacções assimétricas foram subdivididas, de acordo com o nível de agressão envolvido, em:

(i) alta intensidade (AAI) quando envolveram: investida com ou sem toque - fuga, perseguição - fuga, morder - fuga, exibição lateral /frontal - fuga;

(ii) baixa intensidade (ABI) quando envolveram aproximação - afastamento.

Considerou-se uma interacção agonística terminada quando os oponentes se afastaram um do outro e não se observou quaisquer acto agonístico entre eles durante pelo menos os 3 segundos seguintes.

Para caracterizar a estrutura social de cada grupo foram calculadas as seguintes variáveis, a partir das respectivas matrizes sociométricas:

(a) **Índice de linearidade de Landau** - Para se avaliar a existência de estruturas hierárquicas nos grupo em estudo utilizou-se o índice de Landau (h)(1951a, 1968):

$$h = [12 / (n^3 - n)] \; \Sigma (v_i - v)^2 \qquad (1)$$

, sendo $v = (n-1) / 2$

, em que v_i é o número de indivíduos que o indivíduo i domina, e n é o número de indivíduos presentes no grupo.

Este índice fornece uma medida do desvio da estrutura de dominância em causa em relação a uma hierarquia linear (*sensu* Landau, 1968). No caso da existência de uma hierarquia linear com transitividade entre as suas tríades temos que:

$$V = (n-1, n-2, \ldots, 0)$$

, e no caso contrário, ou seja de igualdade entre todos os membros do grupo (*i.e.* em que cada elemento domina um número igual de outros membros do grupo) temos:

$$v_i = (n-1) / 2$$

, para todos os indivíduos i, e que representa a média de todos os possíveis v_i.

Este índice é assim uma medida da variância de v_i, multiplicada por um factor que normaliza o índice, variando este entre 1 (no caso de linearidade absoluta) e zero (no caso de igualdade absoluta) (Landau, 1968). Quanto mais próximo este índice se encontrar de 1 mais linear é a estrutura social em estudo, considerando-se 0.9 como o valor de corte para se reconhecer uma estrutura hierárquica como linear (Chase, 1974).

Contudo no caso de ocorrência de empates entre indivíduos,

$$\Sigma [v_i - (n-1) / 2]^2 > (n^3 - n) / 12$$

, o que torna h >1. Para ultrapassar este problema, no cálculo de v_i na fórmula (1) devem-se contabilizar para além dos indivíduos subordinados de i, também aqueles que possuem o mesmo estatuto que i, cada com o valor 1/2 (Nelissen, 1986a). Este procedimento é equivalente ao índice de linearidade de Kendall (1962) e permite a utilização do índice de Landau em qualquer tipo de estrutura hierárquica, mesmo na presença de indivíduos empatados na ordenação do grupo, ou no caso da existência de sub-hierarquias circulares.

Para além do índice de Landau, têm vindo a ser utilizadas outras medidas da linearidade das hierarquias. Entre estas, o índice de linearidade de Kendall é vulgarmente usado (*e.g.* De Vries *et al.*, 1993). Optou-se, no entanto, por não utilizar este índice no presente trabalho uma vez que os seus resultados são iguais aos obtidos com o índice de Landau para n par, e trabalhamos no presente estudo com n = 6 [em apenas um grupo no presente trabalho o n é ímpar (n=5) devido à mortalidade].

(b) **Número de tríades circulares (d)** - Appleby (1983a) colocou em evidência o facto de em grupos de pequenas dimensões a probabilidade de surgirem

estruturas transitivas devido ao acaso ser elevada (*e.g.* num grupo de n=3, 6 em 8 estruturas possíveis são lineares). Devido a este facto é necessário testar a significância da linearidade das hierarquias, tendo em conta a possibilidade de elas se gerarem devido ao acaso. Para este efeito calcula-se o número de tríades circulares (d) do grupo através da fórmula:

$$d = [\, n\,(n-1)\,(2n-1)\ /12] - 1/2\ \Sigma\ v_i^{\,2}$$

Para grupos com $n \leq 10$, que é o caso do presente trabalho (n=6), Appleby (1983a) fornece uma tabela de probabilidades para os valores inteiros de d, adaptada a partir de Kendall (1962).

É ainda de salientar que grupos com $n \leq 5$ têm uma probabilidade sempre superior a 5 % de gerarem hierarquias lineares devido ao acaso (*i.e.* n=3, p=0.75; n=4, p=0.375; n=5, p=0.117; Appleby, 1983a). Este efeito inviabiliza a validação estatística da linearidade em grupos com menos de seis animais. Em grupos de n=6 a existência de uma única tríade circular inviabiliza a validação estatística da linearidade a um nível de significância de 5% (p=0.051), e duas tríades circulares a um nível de significância de 10% (p=0.12) (Appleby, 1983a).

(c) **Índice de dominância** - Para se estimar o sucesso de cada indivíduo no conjunto das interacções agonísticas em que participou calculou-se um índice de dominância (ID), já utilizado por outros autores (*e.g.* Barlow e Ballin, 1976; Winberg *et al.*, 1991; Gómez-Laplaza e Morgan, 1993), segundo a fórmula:

$$ID_i = V_i/V_i+D_i$$

, em que V_i = número de vitórias do indivíduo i e D_i = número de derrotas do indivíduo i.

Este índice, tal como outras medidas cardinais da dominância (*e.g.* Boyd e Silk, 1983), tem a vantagem, em relação à ordenação dos indivíduos em escalas ordinais, de expressar a magnitude das diferenças entre os indivíduos numa escala de dominância social.

5.2.3. Biometria

Com o objectivo de investigar possíveis correlatos morfo-funcionais do estatuto social, foram medidas, nos indivíduos dos diferentes grupos, um conjunto de variáveis biométricas que englobam variáveis morfométricas respeitantes à morfologia externa e diferentes pesos, incluindo o peso do corpo e de diferentes orgãos.

As **variáveis morfométricas** medidas encontram-se definidas na tabela 5.5. e representadas na figura 5.3. Todas as medidas foram obtidas com uma craveira Mitutoyo com uma resolução de 0.1mm, excepto para o caso do comprimento da papila genital que foi medido com uma ocular micrométrica calibrada (resolução = 0.001 mm) numa lupa binocular Leitz com uma ampliação de 25×.

As medidas morfométricas utilizadas neste estudo foram escolhidas com base na literatura já existente sobre morfologia de Ciclídeos, tendo os métodos de medida descritos na tabela 5.5. sido em parte baseados nessa mesma literatura, nomeadamente nos trabalhos de Barel *et al.* (1977), Trewavas (1983) e Brzeski e Doyle (1988). Para além das variáveis medidas foi ainda utilizado o comprimento da barbatana caudal (CBC) como variável derivada, obtida a partir de duas variáveis amostradas:

$$CBC = CT - CS$$

Para além das medidas relativas à morfologia externa diversos pesos foram medidos:

(a) peso das gónadas = peso fresco do par de gónadas (testículos ou ovários) e dos ductos eferentes.

(b) Peso do corpo = peso fresco do corpo não eviscerado.

(c) peso do fígado = peso fresco do fígado.

(d) peso do aparelho sónico = peso fresco dos músculos sónicos e das placas faringicas.

Com base nestes pesos foram calculados os seguintes índices:

(a) **Índice gonado-somático (IGS)** - Quantifica o peso das gónadas como proporção do peso do corpo:

$$IGS = \text{peso das gónadas/peso do corpo} \times 100$$

(b) **Índice hepato-somático (IHS)** - Variações no peso do fígado reflectem o processo de armazenamento e transferência de proteínas e lípidos associados com o esforço reprodutor (*e.g.* Htun-Han, 1978; Crupkin, *et al.*, 1988; Santos, 1992). Estas variações podem ser avaliadas se se expressar o peso do fígado em função do peso do corpo:

$$IHS = \text{peso do fígado/peso do corpo} \times 100$$

(c) **Factor de condição (K)** - Foi utilizado o factor de condição (K) de Fulton (Weatherley e Hill, 1987), que é comummente utilizado para avaliar a condição física dos indivíduos, assumindo que o peso dos peixes é bem representado pelo cubo do seu comprimento, segundo a fórmula:

$$K = \text{Peso} / CS^3$$

5.2.4. Determinação do Sexo e Maturação das Gónadas

O sexo de todos os indivíduos utilizados nas experiências foi confirmado posteriormente por exame directo das gónadas, após dissecção dos peixes. Nos indivíduos imaturos em que as gónadas ainda não estavam bem diferenciadas, recorreu-se ao método proposto por Guerrero e Shelton (1974) para aferir o sexo de peixes imaturos. Este método consiste na aplicação de uma coloração aceto-carmin à gónada inteira numa lâmina e subsequente inspecção microscópica. A determinação do sexo baseia-se na detecção de oócitos primordiais nas gónadas os quais coram com esta coloração e que não são visíveis a olho nu.

Após a inspecção das gónadas cada indivíduo era classificado (e pontuado) numa escala de maturação das gónadas apresentada na tabela 5.6, e que se baseia em escalas já publicadas por outros autores (Dadzie, 1969, 1974; Arthington e Milton, 1986).

Tabela 5.5. Medidas morfométricas utilizadas no presente estudo (página seguinte).

Abreviações	Variável	Método de medida
CT	Comprimento total	Margem anterior do lábio superior até à extremidade distal dos raios medianos da barbatana caudal
CS	Comprimento standard	Margem anterior do lábio superior até à base da barbatana caudal
ACA	Altura da cabeça	Altura máxima entre os contornos dorsal e ventral da cabeça
ACO	Altura do corpo	Altura máxima entre os contornos dorsal e ventral do corpo
CPD	Comprimento pré-dorsal	Margem anterior do lábio superior até à inserção anterior da primeira barbatana dorsal
CPA	Comprimento pré-anal	Margem anterior do lábio superior até à inserção anterior da primeira barbatana anal
CPP	Comprimento pré-pélvico	Margem anterior do lábio superior até à base das barbatanas pélvicas
CP	Comprimento das barbatanas pélvicas	Base da barbatana pélvica esquerda até à extremidade distal do seu raio mais longo
APC	Altura do pedúnculo caudal	Altura máxima entre os contornos dorsal e ventral do pedúnculo caudal
AD2	Altura da barbatana dorsal	Comprimento do raio mais longo da 2ª barbatana dorsal
AA2	Altura da barbatana anal	Comprimento do raio mais longo da 2ª barbatana anal
DO	Diâmetro do olho	Diâmetro horizontal da íris
EIO	Espaço inter-orbital	Distância mínima do crânio entre as duas órbitas
EPM	Espessura da pré-maxila	Espessura máxima do lábio superior
EM	Espessura da mandíbula	Espessura máxima do lábio inferior
CPM	Comprimento da pré-maxila	Margem anterior do lábio superior até à margem posterior da mandíbula
CC	Comprimento da cabeça	Margem anterior do lábio superior até à extremidade posterior do opérculo
CF	Comprimento do focinho	Margem anterior do lábio superior até à margem anterior da órbita do lado esquerdo
CPAP	Comprimento da papila genital	Base da papila genital até à extremidade distal da mesma

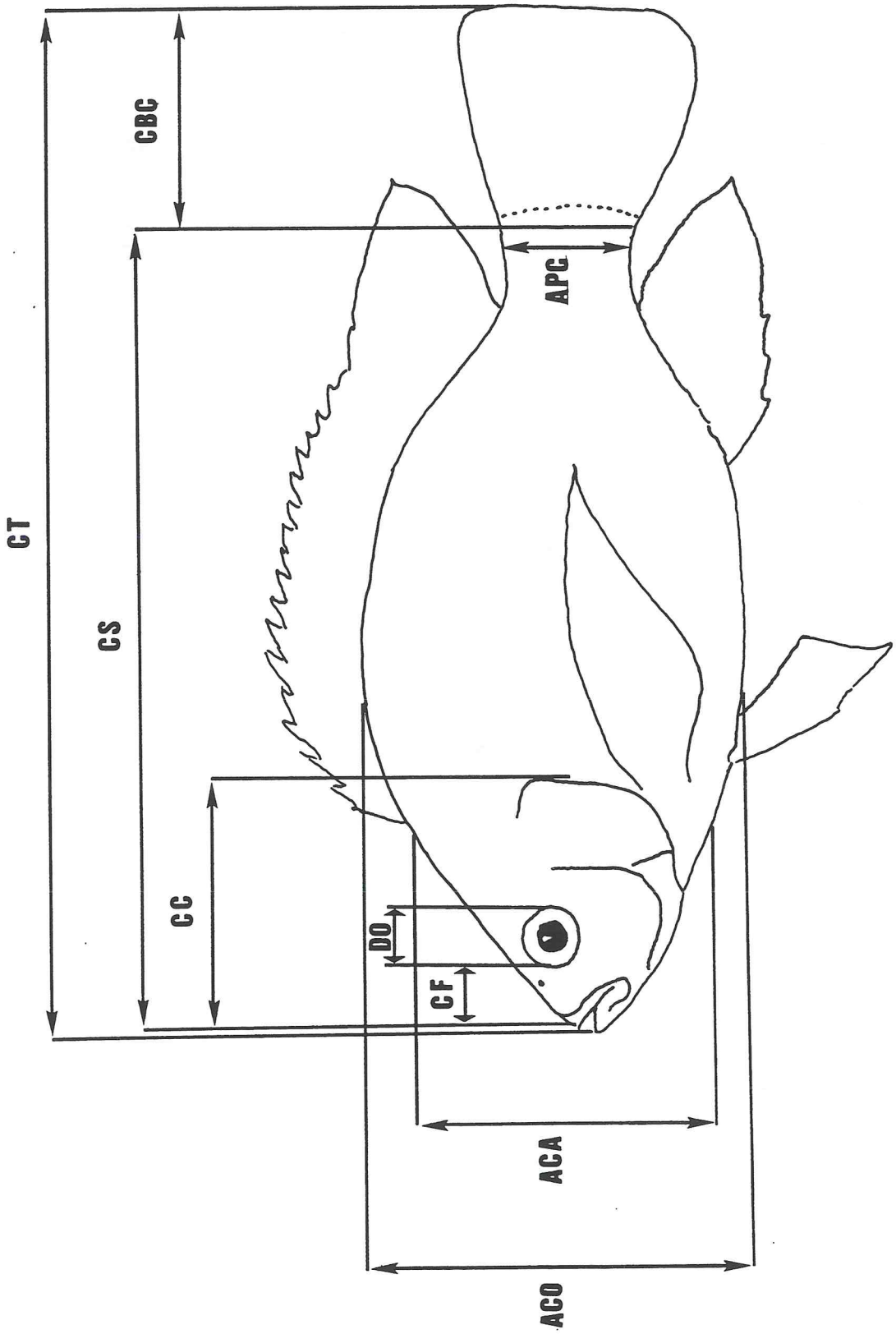
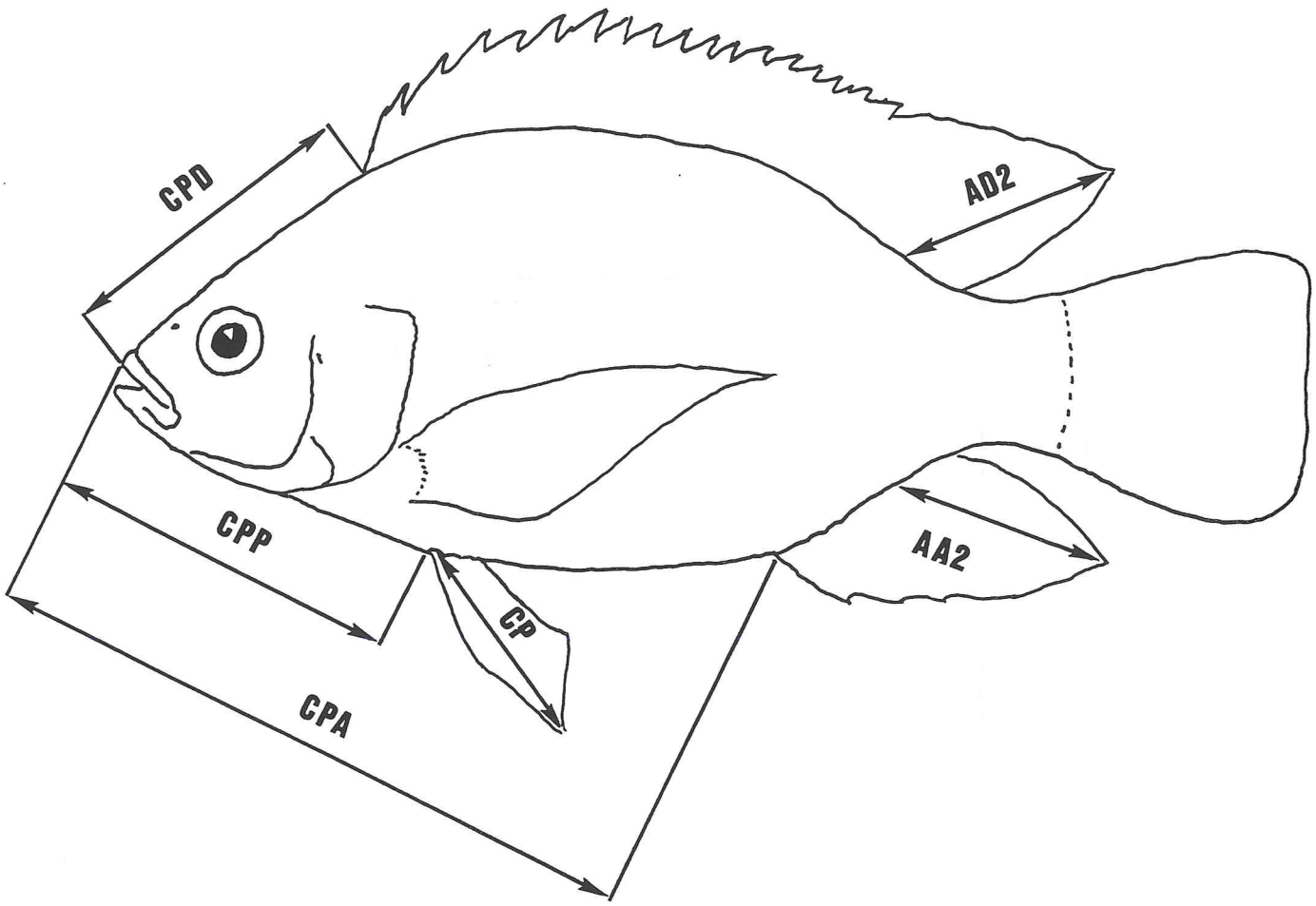


Figura 5.3. Medidas morfométricas utilizadas no presente estudo, ilustradas no plano lateral esquerdo excepto para o espaço inter-orbital (EIO) que é visto no plano frontal. Para uma inventariação destas medidas ver a tabela 5.5.

Instituto Superior de Psicologia Aplicada
BIBLIOTECA



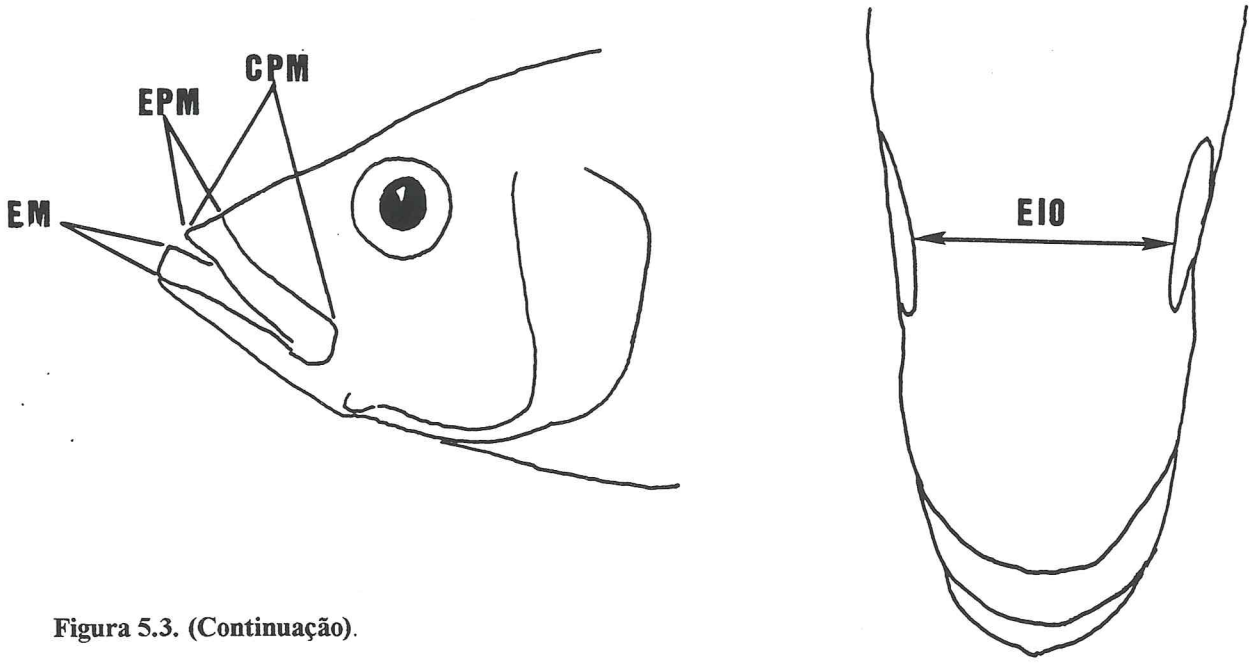


Figura 5.3. (Continuação).

Tabela 5.6. Escala macroscópica para estádios de maturação das gónadas de *O. mossambicus*.

Estádio de desenvolvimento	Pontuação	Fêmeas	Machos
Juvenil	1	Gónadas ainda não completamente formadas, e presentes como tecido filiforme transparente; o sexo é difícil de distinguir macroscopicamente	
Inactivo	2	ovários transparentes levemente amarelados com oócitos visíveis a olho nu	testículos translúcidos e adelgaçados
Amadurecer	3	ovários alargados com oócitos conspícuos e de cor amarelo vivo	testículos opacos e alargados, ocupando um volume maior da cavidade abdominal
Maduro	4	oócitos atingem dimensões máximas e são facilmente extraídos das fêmeas com uma ligeira pressão abdominal	testículos com aparência leitosa atingem volume máximo na cavidade abdominal; pode ser extraído esperma por pressão abdominal
Gasto	5	ovário parcialmente vazio com oócitos de vários diâmetros; podem ser detectados oócitos em desenvolvimento e a amadurecer	testículos flácidos mas ainda no seu volume máximo; por vezes apenas a extremidade distal está flácida mantendo-se a parte proximal do testículo com aparência leitosa

5.2.5. Radio-imunoensaios

Nas amostras de urina obtidas no estudo 3 foi utilizada a técnica de radio-imunoensaio para dosear as concentrações dos seguintes esteróides sexuais: testosterona (T), 11-cetotestosterona (11KT), 17α,20β-dihidroxi-4-pregnen-3-ona (17,20β-P) e 17α,20α-dihidroxi-4-pregnen-3-ona (17,20α-P). Na urina as concentrações de esteróides não conjugados são muito baixas predominando as fracções de sulfatos e de glucorónidos. Assim, as amostras utilizadas (50 µl de urina) foram extraídas para sulfatos e para glucorónidos, tendo sido assim obtidas três amostras por esteróide: fracção livre, fracção sulfatada, e fracção glucoronizada. A hidrolise dos conjugados foi obtida por via enzimática no caso dos glucorónidos (β-glucoronidase) e por acção do TFA que quebra as ligações sulfato.

Extracção de sulfatos - Adicionou-se 1 ml de TFA em acetato de etilo a cada amostra e deixou-se em agitação de um dia para outro e, de seguida, procedeu-se à evaporação com azoto gasoso. Adicionou-se 500 µl de tampão acetato (pH 5.0) e 3 ml de éter a cada tubo, agitando-se durante 15 minutos. Seguiu-se uma centrifugação a

1000 rpm durante 5 minutos para separação das duas fases (éter:água). De seguida mergulhou-se o tubo de extracção em azoto líquido solidificando-se a fase aquosa e ficando o éter no estado líquido, o qual foi vertido para tubos de ensaio. O éter foi de seguida evaporado dos tubos de ensaio num centrifugador de vácuo durante 25 a 30 minutos, terminando-se a evaporação com azoto gasoso. Adicionou-se 1 ml de tampão fosfato e guardou-se a amostra no congelador até ter sido processada para o radio-imunoensaio.

Extracção de glucorónidos - Deixou-se a fracção aquosa que ficou no tubo de extracção voltar ao estado líquido e retiraram-se quaisquer vestígios de éter com azoto gasoso. Adicionou-se 10 µl do enzima β-glucoronidase (Sigma) e deixou-se a incubar, a uma temperatura de 37 °C, durante 24 horas. Adicionou-se 3ml de éter e agitou-se durante 15 minutos, a que se seguiu uma centrifugação a 1000 rpm durante 5 minutos para separação das duas fases (éter:água). De seguida, mergulhou-se o tubo de extracção em azoto líquido solidificando-se a fase aquosa e ficando o éter no estado líquido, o qual foi vertido para tubos de ensaio. O éter foi de seguida evaporado dos tubos de ensaio num centrifugador de vácuo, durante 25 a 30 minutos, terminando-se a evaporação com azoto gasoso. Adicionou-se 1 ml de tampão fosfato e guardou-se a amostra no congelador até ter sido processada para o radio-imunoensaio.

Procedimento do radio-imunoensaio

1. Num tubo de vidro diluiu-se 50 µl de amostra (*i.e.* cada fracção em tampão fosfato) em 50 µl de tampão fosfato. Adicionou-se a cada um destes tubos 100 µl de uma solução de anticorpo e marcador em tampão fosfato. As diluições de anticorpo e do marcador radioactivo para cada ensaio são apresentadas na tabela 5.7.

Tabela 5.7. Diluições dos marcadores e anti-corpos utilizados nos radio-imunoensaios.

Esteróide	diluição por 10 ml de tampão	
	marcador (µl)	anti-corpo (µl)
T	10	1.85
11-KT	20	40
17,20β-P	40	75
17,20α-P	70	40

2. Para cada ensaio foi construída uma curva padrão com diluições sucessivas de uma solução padrão do esteróide a dosear em tampão fosfato, à qual foi igualmente adicionada 100 µl da solução de anticorpo e marcador em tampão fosfato.

3. Foram ainda preparados três tubos com as seguintes características:

Branco - 100 µl de uma solução de marcador diluído em tampão fosfato (ver diluição na tabela 5.7.) sem anticorpo.

Máximo e Total- 100 µl da solução de anticorpo e marcador em tampão fosfato.

4. Deixaram-se os todos os tubos a incubar durante a noite a uma temperatura de 4°C.

5. Adicionou-se 1 ml de carvão activado a todos os tubos excepto ao tubo do Total, ao qual se adicionou mais 1 ml de tampão fosfato, e deixou-se o carvão adsorver os esteróides durante 12 minutos.

6. Centrifugaram-se os tubos durante 12 minutos a 2000 rpm, a uma temperatura de 4 °C, e verteu-se o sobrenadante de cada um dos tubos para um novo tubo (tubo de cintilação).

7. Adicionou-se 8 ml de líquido de cintilação ao sobrenadante, já no tubo de cintilação, e agitou-se bem.

8. Procedeu-se à contagem de CPM (cintilações por minuto) para isótopos tritiados [^{3}H] num contador de cintilações (Beckman liquid cintilation counter) durante 5 minutos.

Os radio-imunoensaios utilizados no presente estudo foram validados em estudos anteriores: T e 17,20β-P (Scott *et al.*, 1984), 11KT (Scott e Sumpter, 1988), e 17,20α-P (Canário e Scott, 1989), e a sensibilidade (*i.e.* a quantidade mínima de esteróide não-marcado que pode ser detectada com um nível de significância de 5%) e a especificidade (determinada pela sua reactividade com um largo espectro de esteróides sintéticos) dos anticorpos utilizados eram já conhecidas e são apresentadas a título informativo na tabela 5.8.

Tabela 5.8. Reactividade cruzada de vários esteróides sintéticos com os anticorpos utilizados e sensibilidade dos ensaios para os progestogénios, de acordo com Canário e Scott (1989) (17,20α-P) e Canário *et al.* (1989) (17,20β-P) (página seguinte).

Esteróide (abreviatura)	Reactividade cruzada ao anticorpo de	
	17,20β-P	17,20α-P
4-pregneno-3,20-diona (P)	<0.003	<0.005
17α-hidroxi-4-pregneno-3,20-diona (17-P)	0.025	<0.005
20α-hidroxi-4-pregnen-3-ona	<0.006	<0.005
20β-hidroxi-4-pregnen-3-ona (20β-P)	0.13	<0.005
21-hidroxi-4-pregneno-3,20-diona (11-DOC)	<0.01	<0.005
17α,20α-dihidroxi-4-pregnen-3-ona (17,20α-P)	1.2	100
17α,20β-dihidroxi-4-pregnen-3-ona (17,20β-P)	100	0.08
17α,21-dihidroxi-4-pregnen-3-ona (17,21-P)	<0.006	<0.005
20β,21-dihidroxi-4-pregnen-3-ona	0.06	<0.005
11β,17α,21-trihidroxi-4-pregneno-3,20-diona (cortisol)	0.05	<0.005
17α,20α,21-trihidroxi-4-pregnen-3-ona	<0.006	9.5
17α,20β,21-trihidroxi-4-pregnen-3-ona (17,20β,21-P)	0.4	<0.005
17α,20β,21-trihidroxi-4-pregneno-3,11-diona	0.12	nd
11β,17α,20β,21-tetrahidroxi-4-pregnen-3-ona	<0.05	nd
3β,17α-hidroxi-5-pregnen-20-ona	<0.006	nd
3β,17α,20β-dihidroxi-5-pregneno (17,20β-Preg)	50	1.5
3β,17α,20α-dihidroxi-5-pregneno	nd	13.5
3α,17α,20β-trihidroxi-5α-pregnano (3α,17,20β-P-5α)	3.0	<0.005
3α,17α,20α-trihidroxi-5α-pregnano	nd	10.1
3α,17α,20β-trihidroxi-5β-pregnano	<0.006	<0.005
3α,17α,20α-trihidroxi-5β-pregnano	nd	2.1
3β,17α,20β-trihidroxi-5α-pregnano (3β,17,20β-P-5α)	54.9	<0.005
3β,17α,20α-trihidroxi-5α-pregnano	nd	42.0
3α,17α,20β,21-tetrahidroxi-5β-pregnano	<0.006	nd
3α,17α,20β,21-tetrahidroxi-5α-pregnano (3α,17,20β,21-P-5α)	0.85	nd
17β-hidroxi-4-androsten-3-ona	<0.001	<0.005

Tabela 5.8. (Continuação).

Esteróide (abreviatura)	Reactividade cruzada ao anticorpo de	
	17,20β-P	17,20α-P
17β-hidroxi-1,3,5-estren-3-ona	0.002	<0.005
Sensibilidade (pg/tubo)	16	16

Tabela 5.9. Reactividade cruzada de vários esteróides sintéticos com os anticorpos utilizados e sensibilidade dos ensaios para os androgénios, de acordo com Scott *et al.* (1984) (T) e Scott e Sumpter (1988) (11-KT).

Esteróide (abreviatura)	Reactividade cruzada ao anticorpo de	
	T	11-KT
17β-estradiol	0.05	nd
testosterona	100	1.3
11-cetotestosterona	2.4	100
17α-hidroxi-progesterona	<0.01	nd
17α-hidroxi, 20β-dihidro-progesterona	<0.01	nd
androstenediona	0.4	nd
progesterona	<0.01	nd
20β-hidroxi-progesterona	<0.01	nd
17α-hidroxi-progesterona	<0.01	nd
DHEA (di-hidro-epi-androstenediona)	0.05	nd
5α-di-hidro-testosterona	3.1	<1.0
androsterona	0.04	nd
11β-hidroxi-testosterona	8.9	nd
estrona	0.01	nd
cortisol	<0.01	nd
11-desoxi-corticosterona	<0.01	nd
11-desoxicortisol	<0.01	nd
Sensibilidade (pg/tubo)	2	2

Os valores de reactividade cruzada (RC) são obtidos segundo a fórmula:

$$RC = S / X \times 100$$

, em que S é a massa de esteróide standard necessária para remover 50% do marcador e X é a massa de esteróide que está a competir necessária para remover 50% do marcador.

A variabilidade intra- e inter-ensaios para amostras de urina de Tilápia foi aferida, doseando as mesmas amostras no mesmo ensaio e em ensaios sucessivos, e os resultados são apresentados na tabela 5.10.

Tabela 5.10. Coeficientes de variação (CV = desvio padrão/ média) intra- e inter-ensaio para os radio-imunoensaios dos esteróides doseados em amostras de urina de Tilápia.

Esteróide	N	CV intra-ensaio	CV inter-ensaio
T	8	0.075	0.124
11-KT	9	0.082	0.116
17,20β-P	11	0.085	0.107
17,20α-P	7	0.089	0.121

5.2.6. Actividade da Aromatase Neural

A aromatase é um complexo enzimático microsomal que converte testosterona em estradiol através de três hidroxilações sucessivas, as duas primeiras no grupo metilo em C19 e a terceira no C2, gastando 3 moléculas de oxigénio e de NADPH por cada molécula de estrogénio que se forma. Foi desenvolvido um ensaio radiométrico para a determinação da actividade da aromatase em tecidos de *O. mossambicus*, de acordo com o método proposto por Thompson e Siiteri (1974). É de salientar que o mecanismo de aromatização em Teleósteos é igual ao descrito para a aromatase placentária humana (Kitawaki *et al.*, 1987), pelo que a utilização do presente ensaio radiométrico parece ser adequada do ponto de vista bioquímico.

As amostras de tecido (encéfalo) foram homogeneizadas por agitação mecânica a baixa temperatura numa solução salina isotónica (TBSS: "trout balanced salt solution", Jalabert e Fostier, 1984). Em cada célula, de uma placa de cultura de tecidos (Costar tissue culture wells), foi incubada uma amostra de 200µl de homogenado com 1µCi de androstenediona tritiada, *i.e.* [1β-^{3}H] androst-4-ene-3,17-diona, e 1mmol de NADPH como coenzima, em 800µl de TBSS. As incubações são paradas congelando alíquotas com 200µl de amostra em azoto líquido. Os esteróides radioactivos

existentes na amostra são removidos pela adição de 1ml de uma suspensão de carvão activado com dextrano, e centrifugando de seguida a 2000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Retirou-se o sobrenadante para um tubo de cintilação, ao qual se adicionou 8 ml de líquido de cintilação. Procedeu-se à contagem de CPM para isótopos tritiados [^{3}H] durante 6 minutos num contador de cintilações (Beckman liquid cintilation counter).

A radioactividade presente no sobrenadante, e que corresponde a ^3H_2O e a ^3HCOOH que se formam durante a reacção de aromatização, constitui uma medida da actividade da aromatase (Fishman, 1982). Os brancos foram obtidos com incubações na ausência de tecido. A actividade da aromatase foi expressa em função da quantidade de proteína presente na amostra, tendo o conteúdo proteico das amostras sido doseado de acordo com o método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

Para validar o ensaio realizaram-se incubações de tecido na presença de um inibidor da aromatase (4-hidroxi-androstenediona, Sigma) e de um competidor inerte do esteróide marcado (androstenediona).

5.3. PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS

5.3.1. Considerações Gerais

Durante o presente trabalho recorreu-se à utilização de diferentes métodos e técnicas de análise estatística de dados. Na secção de métodos de cada capítulo são referidos quais os testes estatísticos utilizados, e quando necessário, explica-se o racional da sua aplicação ao conjunto de dados em questão. Na presente secção são apenas expostos os critérios que presidiram à escolha dos testes utilizados, bem como se explicam alguns pormenores técnicos de alguns procedimentos utilizados que julgámos por bem esclarecer. Algumas técnicas estatísticas, cuja utilização se restringiu a um aspecto particular do presente trabalho, não se encontram aqui descritas tendo o seu procedimento sido abordado nos capítulos respectivos, para evitar a dispersão do leitor.

Uma vez que os testes estatísticos paramétricos são mais potentes que os seus equivalentes não-paramétricos (Siegel e Castellan, 1988), optou-se sempre que possível pela sua utilização. No entanto, dada a natureza das variáveis comportamentais, que muitas vezes não respeitam os pressupostos de normalidade e homogeneidade da variância requeridos pela estatística paramétrica, e devido à dimensão reduzida das amostras, foram utilizados frequentemente testes não-paramétricos. De igual modo, recorreu-se à utilização de estatísticas de simulação em

testes de verosimilhança e na análise de tabelas de contingência quando as dimensões da amostra não permitiam calcular as probabilidades com base na distribuição de χ^2.

Excepto quando indicado o contrário, foi utilizado um nível de significância de 5% nos diferentes procedimentos inferenciais utilizados.

5.3.2. Análise de Variância (ANOVA)

Sempre que se utilizou uma ANOVA, para testar a significância das diferenças entre grupos, foram testados os seus pressupostos, nomeadamente a normalidade das amostras, através do teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade das variâncias, através do teste de Levene (Zar, 1984; Glantz e Slinker, 1990).

Quando necessário recorreu-se à transformação dos dados, de modo a ultrapassar problemas de violação dos pressupostos (*e.g.* logaritmos decimais para reduzir a variância das amostras). Sempre que se procedeu a transformações de dados estas são descritas na secção de métodos do capítulo respectivo.

Mesmo nos casos em que após a transformação de dados não se cumpriam os pressupostos da ANOVA, continuou-se a utilizar este procedimento estatístico, excepto nos casos em que as médias e as variâncias das amostras estão correlacionadas, uma vez que o teste de F é bastante robusto e a violação dos seus pressupostos não induz em erro excepto para o caso referido (Lindman, 1974).

Para a análise de variância de dados emparelhados ("repeated measures" ANOVA) foi verificada a estrutura de covariância H utilizando o teste de esfericidade para a análise univariada (Huynh e Feldt, 1970). Diferenças entre as medidas dos tratamentos correlacionados possuem variâncias homogéneas quando os dados exibem covariância do tipo H, o que permite utilizar o índice dos quadrados médios da "repeated measures" ANOVA com a distribuição de F (Huynh e Feldt, 1970). Quando o pressuposto da covariância do tipo H foi violado, ajustaram-se os graus de liberdade do numerador e do denominador como proposto por Huynh e Feldt (1976). Embora o teste multivariado para dados emparelhados não obedeça ao pressuposto de uma estrutura de covariância do tipo H, optou-se por não o utilizar, uma vez que para amostras de pequenas dimensões ele é menos potente do que o seu equivalente univariado (Latour e Miniard, 1983).

Quando as hipóteses experimentais se referiam a diferenças entre amostras específicas, e não apenas a efeitos gerais de um factor ou a interacções entre factores, recorreu-se a um de dois procedimentos:

(a) análise de contrastes ("contrast analysis"), para testar a significância estatística de diferenças entre grupos específicos preditas *a priori*;

(b) comparações post-hoc ("post-hoc tests"), para testar a diferença entre grupos específicos de um factor ou de uma interacção entre factores de um efeito não previsto à partida (Winer *et al.*, 1991). De entre os testes post-hoc disponíveis recorreu-se à utilização do teste HSD ("honest significant difference") de Tukey, para amostras de igual dimensão, e ao teste de Spjotvoll- Stoline (Spjotvoll e Stoline, 1973) para casos de amostras de dimensões diferentes.

5.3.3. Correlações, Correlações parciais e Regressão Linear

Para avaliar o modo como duas ou mais variáveis estão associadas foram utilizadas correlações. Quando os dados permitiam foram usaram-se correlações paramétricas de Pearson (Zar, 1984), referidas no texto apenas como correlações. Quando os dados eram de natureza não-paramétrica recorreu-se à utilização de correlações de Spearman (r_S) (Siegel e Castellan, 1988). Para nos certificarmos de que as correlações estavam a ser correctamente usadas, verificou-se sempre graficamente se a relação existente entre as duas variáveis era linear. Em casos de não-linearidade não se utilizaram as correlações.

Quando se quis avaliar a associação entre duas variáveis (X e Y) controlando para o efeito de uma terceira (Z) que se suspeitava que pudesse estar correlacionada com as duas primeiras, recorreu-se à utilização de correlações parciais. Segundo este método calcula-se a correlação entre X e Y, removendo o efeito de Z na relação entre X e Y (Pedhazur, 1982).

Para analisar o modo como uma ou mais variáveis independentes influenciam a expressão de uma dada variável dependente recorreu-se a regressões lineares simples ou múltiplas. Sempre que a regressão linear foi utilizada verificou-se a validade dos seus pressupostos para o conjunto de dados em questão, nomeadamente a normalidade das distribuições e a homocedasticidade das variâncias (Glantz e Slinker, 1990).

A percentagem de variância, na distribuição da variável dependente, explicada por um modelo de regressão pode ser avaliada através do seu coeficiente de determinação r^2:

$$r^2 = 1\text{- (SS resíduos/SS total)}$$

,em que SS é a soma dos quadrados (Glantz e Slinker, 1990).

Para se verificar se a equação de regressão descreve apropriadamente os dados recorreu-se a um teste de aderência comparando a variância explicada pelo plano de regressão com a variância residual, através de um teste de F:

$$F = MS\ regressão / MS\ resíduos$$

,em que MS são os quadrados médios (*i.e.* a soma dos quadrados a dividir pelos graus de liberdade respectivos) (Glantz e Slinker, 1990).

Em alguns casos utilizou-se também a estatística de F para avaliar o peso de cada uma das variáveis independentes, verificando se a adição de uma determinada variável à equação aumenta a variância explicada pelo modelo:

$$F = MS\ x_2|x_1 / MS\ resíduos$$

, em que MS $x_2|x_1$ representa o quadrado médio associado com a adição de x_2 ao modelo sendo que x_1 está presente na equação, e MS resíduos representa o quadrado médio residual parta a equação contendo x_1 e x_2 (Glantz e Slinker, 1990).

5.3.4. Análise Discriminante

Foi utilizada a análise discriminante para determinar quais as variáveis que melhor separam dois grupos previamente estabelecidos (*e.g.* machos vs. fêmeas; dominantes vs. subordinados). Esta técnica calcula uma função discriminante a qual é equivalente a uma regressão linear múltipla do tipo:

$$Grupo = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \ldots + \beta_n x_n$$

para o caso de dois grupos (1 e 2), em que α é a constante e β_1 a β_n são os coeficientes de regressão. As variáveis com os maiores coeficientes de regressão (padronizados) são aquelas que mais contribuem para a separação dos dois grupos. No caso em que existem mais de dois grupos (n) são estimadas n-1 funções discriminantes. Por exemplo, no caso de três grupos (1,2 e 3), é estimada uma função discriminante que separa o grupo 1 dos grupos 2 e 3 em conjunto, e uma segunda função discriminante que separa o grupo 2 do grupo 3. A significância das funções discriminantes pode ser testada, através do cálculo do seu erro (Wilks's λ) e só aquelas que discriminam significativamente os grupos é que devem ser analisadas (Klecka, 1980). Uma outra forma de avaliar o sucesso de uma função discriminante é avaliar o número de casos que segundo esta função são correctamente classificados nos grupos considerados.

5.3.5. Análise de Componentes Principais (ACP)

Em situações em que se pretendia detectar a existência de uma possível estrutura nas relações entre as variáveis ou ainda nos casos em que se pretendia reduzir o número de variáveis recorreu-se à análise factorial dos dados segundo a técnica de análise de componentes principais (ACP).

A ACP consiste basicamente em agrupar as variáveis melhor correlacionadas entre si do nosso conjunto de variáveis num factor comum, o qual não é mais do que uma combinação linear das variáveis originais. Deste modo, reduz-se o número maior de variáveis iniciais ao um número menor de factores, que passam a expressar conjuntos dessas variáveis. O método de extracção dos componentes principais corresponde a uma rotação do espaço das variáveis originais, de modo a simultaneamente maximizar a variância do factor extraído e a minimizar a variância dos restantes factores. Se se pensar nesta rotação apenas a duas dimensões ela corresponde a fazer aproximar o eixo do X da recta de regressão encontrada entre as duas variáveis. De entre as diferentes estratégias de rotação disponíveis na ACP foi utilizada a rotação de varimax normalizada (Kaiser, 1958; Morrison, 1990).

Neste tipo de análise o número de casos (N) deve ser substancialmente maior do que o número de variáveis (n), uma vez que à medida que o n se aproxima de N o erro padrão (SE) dos coeficientes de ponderação das variáveis nos factores (*i.e.* regressão linear das variáveis sobre os factores) vai aumentando, tendendo para infinito quando n+1 se torna igual a N (Short e Horn, 1984). Ou seja, quando N não é substancialmente maior do que n o erro torna-se elevado, diminuindo a confiança quanto à significância das diferenças encontradas entre os coeficientes de expressão de cada variável num determinado factor. Nesta situação a interpretação dos coeficientes pode-se tornar enganadora uma vez que as diferenças entre eles deixam de ser estatisticamente significativas. Embora não exista nenhuma dimensão (N) de amostra mínima que possa ser estimada matematicamente, Short e Horn (1984) referem que esta deve satisfazer duas condições: ser pelo menos três vezes o número de variáveis utilizadas (*i.e.* $N > 3n$) e ser suficientemente grande para garantir a estabilidade das correlações.

Para se determinar o número de factores a extrair de uma ACP foram utilizados dois critérios:

(a) critério de Kaiser (1960), segundo o qual apenas se retêm factores com valores de eigen maiores do que um, o que é o mesmo que dizer que só se consideram aqueles factores que extraem o equivalente a pelo menos uma variável original;

(b) teste de "Scree" (Cattell, 1966), que se baseia na análise de um gráfico XY onde se expressam os valores de eigen nas abcissas e os factores nas ordenadas. Neste tipo de gráfico, a partir de um determinado factor verifica-se uma inflexão na curva diminuindo o seu declive para a direita. Segundo Cattell (1966) devem-se considerar apenas os factores que ficam à esquerda do ponto de inflexão da curva eliminando-se aqueles que lhe ficam à direita.

Com estes dois critérios presentes, optou-se sempre pela solução que fazia mais sentido para a interpretação biológica dos factores extraídos.

5.3.6. Estatística de Simulação

5.3.6.1. Análise de tabelas de contingência com estatística de simulação (ACTUS)

Estabrook e Estabrook (1989) propuseram um método de simulação para ultrapassar o problema da análise de tabelas de contingência com valores esperados muito baixos (<4) ou iguais a zero, os quais invalidam as técnicas clássicas de análise destas tabelas (*e.g.* Everitt, 1992).

O método proposto por Estabrook e Estabrook (1989)(ACTUS: analysis of contingency tables using simulations), aplica-se a tabelas bidimensionais, e consiste na utilização de um gerador de números aleatórios o qual simula 1 milhar de conjuntos de dados comparáveis, cuja distribuição em tabelas de contingência específicas é aleatória. De seguida o computador conta o número de tabelas simuladas que possuem entradas maiores ou menores do que as entradas respectivas na tabela de dados observados. O número de casos em cada uma das mil tabelas simuladas é igual ao número de casos da tabela de valores observados. Nas tabelas de simulação a probabilidade com que cada caso é aleatoriamente colocado numa linha é proporcional à frequência de casos observados nessa linha; independentemente, cada caso é colocado numa coluna com uma probabilidade proporcional à frequência com que os casos observados aparecem nessa coluna. Deste modo, para as situações em que a hipótese nula não se poder rejeitar com os dados observados as entradas das tabelas simuladas vão ser maiores ou menores do que as entradas da tabela de valores observados em igual proporção.

Assim, o programa ACTUS segue um procedimento de simular, contar e comparar dados de uma forma que avalia a probabilidade da distribuição observada se dever ao acaso. Adicionalmente, este procedimento permite identificar quais as células com entradas demasiado grandes ou demasiado pequenas para serem consistentes com a hipótese nula, e desta forma focaliza quais os casos responsáveis pela rejeição da hipótese nula.

5.3.6.2. Estatística de simulação para o teste de aderência (ADERSIM)

Almada (1995) utilizando o mesmo racional do método proposto por Estabrook e Estabrook (1989) para as tabelas de contingência, desenvolveu um programa de simulação para o teste da máxima verosimilhança (χ^2 de aderência)(ADERSIM).

Com base nas frequências esperadas foram gerados números aleatórios assumindo uma distribuição uniforme variando de zero a n-1, sendo n = soma dos valores observados. Quando um número aleatório cai dentro dos limites de cada classe de valores esperados esta classe é incrementada uma unidade. Este procedimento é repetido até que n casos tenham sido atribuídos às classes respectivas, simulando-se assim uma amostra de valores aleatórios com probabilidades proporcionais a cada classe de valores esperados. Para cada simulação foi calculado um χ^2 de aderência entre os valores simulados e os esperados. Para cada teste repetem-se 1000 simulações destas num PC e o número de vezes em 1000 que o valor do χ^2 simulado foi igual ou maior que o χ^2 calculado para os valores observados vs. esperados foi utilizado para avaliar a significância do teste. Se por exemplo, o χ^2 simulado superou o χ^2 observado 20 vezes em 1000, a hipótese nula é rejeitada com uma significância de p = 0.02.

O mesmo programa avalia ainda a significância dos desvios entre os valores observados e esperados de cada classe através do número de vezes em 1000 que o valor simulado para essa classe não excedeu o valor observado para valores significativamente elevados, e vice-versa para valores significativamente baixos.

PARTE III

RESULTADOS

6.
ETOLOGIA GERAL:
PADRÕES ELEMENTARES DE COMPORTAMENTO
E COMUNICAÇÃO SOCIAL

6.1. INTRODUÇÃO

A descrição detalhada dos padrões de comportamento de *Oreochromis mossambicus* constitui o objectivo deste capítulo. Nele serão analisados qualitativamente os padrões elementares do comportamento social desta espécie. A utilidade desta inventariação pormenorizada é dupla: por um lado constitui os alicerces de todo o trabalho subsequente de análise de interacções sociais e seus correlatos morfo-funcionais e endócrinos; por outro lado serve de base para futuros estudos comparativos sobre a filogenia dos comportamentos sociais em Tilápias.

A elaboração de um etograma consiste num exercício de reconhecimento e descrição de padrões no *continuum* comportamental da espécie em questão. Os comportamentos descritos são portanto as unidades fundamentais e razoavelmente estereotipadas do repertório comportamental de *O. mossambicus*. Dependendo do nível de análise utilizado podemos chegar a diferentes resultados finais.

Imagine-se que pretendíamos catalogar o repertório comportamental de um teleósteo e que íamos utilizar um nível de análise o mais detalhado possível. Para isso tínhamos considerado diferentes unidades anatómicas (*e.g.* barbatanas, corpo, boca, membrana branquiostegal, opérculo, etc.) e para cada uma delas registaríamos o seu estado em cada padrão elementar de acção. Por exemplo, na exibição lateral teríamos: barbatana dorsal completamente aberta, barbatana anal completamente aberta, caudal completamente aberta, peitorais com batimentos lentos, pélvicas fechadas, membrana branquiostegal aberta, opérculos abertos, boca fechada, corpo inclinado na direcção do oponente, etc.

Com este sistema e pela combinação de todos os estados possíveis de cada uma das unidades anatómicas consideradas poderíamos chegar a um número elevadíssimo (*i.e.* algumas centenas) de possíveis padrões elementares de acção no repertório comportamental da espécie. No entanto, muitos destes padrões nunca seriam observados, possivelmente devido a constrangimentos anatómicos (*e.g.* raramente se observa um peixe com a boca completamente aberta e com a membrana branquiostegal distendida, possivelmente devido a imcompatibilidades na maquinaria neuro-muscular subjacente a cada um destes padrões), ou organizacionais [*i.e.* certos padrões terão sido seleccionados por sistemas ("drives") motivacionais diferentes e estão mutuamente excluídos; é por exemplo o caso dos comportamentos de submissão em

que nunca se observam as barbatanas ímpares abertas]. Outro problema adicional é que um etograma constituído por várias centenas de unidades comportamentais seria muito pouco prático, uma vez que exigiria um grande esforço de memorização por parte do observador, e por outro lado envolveria um nível de análise impraticável sem o auxílio de registos em vídeo das observações comportamentais, o que tornaria o trabalho bastante mais moroso. Assim apenas estudos para os quais é relevante uma análise fina dos padrões comportamentais descem a este nível de análise, como é o caso da avaliação do grau de estereotipia dos padrões fixos de acção (Stamps e Barlow, 1973; Schleidt, 1974), ou a detecção de variações filogenéticas de determinados comportamentos (Fentress, 1992).

Na elaboração do presente etograma foi utilizado um nível de análise em tempo real, embora para alguns pormenores se tenha recorrido a manipulação vídeo da imagem. Este procedimento é o mais comummente utilizado (Schleidt *et al.*, 1984) e desde que a identificação dos padrões se baseie na sua coerência interna e na sua distinção dos restantes, e que as descrições dos diferentes padrões sejam suficientemente objectivas e por vezes acompanhadas de figuras, permite o reconhecimento dos mesmos padrões por outros observadores. Com as novas tecnologias é possível que de futuro se depositem em videotecas especializadas registos filmados dos etogramas das diferentes espécies, e, existindo uma difusão razoável deste tipo de registo, seria uma forma de ultrapassar a subjectividade inerente às descrições dos comportamentos. Neste sentido existe já um grupo a compilar registos vídeo sobre a análise dos padrões de corte nos Tritões europeus (Tim Halliday, comunicação pessoal).

Em qualquer dos casos a elaboração dos etogramas está sempre enviezada pelas capacidades cognitivas do observador. Os padrões que se evidenciam para o observador numa sequência comportamental podem ser muito diferentes dos que são realmente importantes para os indivíduos da espécie. Fentress (1992) propõe um exercício interessante para por em evidência a influência das capacidades cognitivas do observador no etograma resultante, e que consiste em codificar uma sequência comportamental primeiro em velocidade normal, depois em movimento acelerado e finalmente em velocidade normal mas em reverso, *i.e.* do final para o princípio.

Muitos dos comportamentos sociais são utilizados pelos animais para comunicarem entre si, ou seja, os animais obtêm informações dos seus conspecíficos a partir desses sinais. Os animais utilizam diversos meios de comunicação que correspondem a diferentes canais para o envio de sinais: visual, acústico, táctil, químico, eléctrico, e outros menos comuns, sendo estes sinais recebidos pelos receptores em orgãos sensoriais específicos. A informação obtida pode ser de natureza

diversa desde a sinalização de predadores, ao estatuto social do emissor, etc. (Wilson, 1975).

A evolução dos sistemas de comunicação e as discussões acerca da honestidade dos sinais e da manipulação destes para "fazer batota" constituem um dos campos de investigação com maior desenvolvimento no plano da Ecologia Comportamental de hoje em dia (Zahavi, 1979; Dawkins e Krebs, 1984; Harper, 1991). No entanto, não pretendemos nesta introdução entrar nesta discussão, mas apenas ilustrar os diferentes canais de comunicação disponíveis em *O. mossambicus*.

Os Ciclídeos em geral e as Tilápias em particular utilizam pelo menos 4 canais de comunicação diferentes: visual, acústico, químico e táctil (Nelissen, 1991). A importância relativa destes quatro canais varia de espécie para espécie e pode estar modulada por variáveis ecológicas do habitat de cada espécie. Por exemplo, Nelissen (1978), num estudo comparativo sobre os sinais acústicos de Ciclídeos do lago Tanganyika, verificou que as espécies que apresentam um repertório acústico mais rico (*i.e. Tropheus*) são as que apresentam uma menor diversidade de padrões de coloração, e são espécies com actividade nocturna. Por outro lado, o género *Semichromis*, com actividade diurna, apresenta uma maior diversidade de padrões de coloração e um repertório acústico mais reduzido.

No caso de *O. mossambicus* existe evidência directa para a utilização dos canais visual e acústico e algumas pistas que nos levam a pensar que também poderá existir comunicação química e táctil.

Comunicação visual

O canal visual parece ser o canal de comunicação mais utilizado em *O. mossambicus*, sendo também aquele que se encontra mais bem estudado. Os diferentes movimentos e posturas do corpo envolvidos nos confrontos agonísticos e nas sequências de corte foram já descritos em pormenor por vários autores (Seitz, 1948; Baerends e Baerends van Roon, 1950; Neil, 1964).

Em termos de sinais agonísticos *O. mossambicus* apresenta alguns padrões bastante ritualizados que são comuns a todos os Ciclídeos, podendo no entanto apresentar alguma variação na sua forma (Baerends e Baerends-van Roon, 1950).
Nos padrões de ameaça o animal adopta posturas que tendem a maximizar o seu tamanho aparente. É o caso das exibições frontais e laterais, com erecção das barbatanas ímpares e das pélvicas, e com abertura da boca ou da membrana branquiostegal respectivamente. No caso das exibições laterais o emissor tenta manter-

se perpendicular ao oponente, e no caso de não estarem ao mesmo nível inclina o corpo na direcção do adversário.

No padrão de submissão o indivíduo ameaçado adopta uma postura que tende a reduzir o seu tamanho aparente, com todas as suas barbatanas recolhidas e com a membrana branquiostegal fechada.

Também na sua sequência de corte esta espécie apresenta uma série de sinais bastante estereotipados, que serão descritos e discutidos na secção de resultados (ver secção 6.3.1.5.).

Os padrões de coloração e os diferentes contextos em que ocorrem foram também já estudados com algum pormenor em *O. mossambicus* (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Neil, 1964; Lanzing e Bower, 1974). Esta espécie apresenta um repertório de padrões de coloração significativo, podendo o mesmo indivíduo alterar o seu padrão de coloração em alguns segundos. Existem no entanto padrões de coloração que são exclusivos dos machos. Os diferentes padrões de coloração são formados pela interacção de milhares de cromatóforos, que se podem expandir ou contrair. Estes cromatóforos apresentam-se organizados em sistemas descritos em pormenor por Baerends e Baerends van Roon (1950) e por Lanzing e Bower (1974).

Sistema I - Camada superficial de melanóforos de pequenas dimensões distribuídos homogeneamente por toda a superfície do corpo, mais numerosos na zona dorsal do que na zona ventral dos flancos. Estes melanóforos situam-se na porção distal das escamas formando um padrão semi-circular. Geralmente encontram-se ligeiramente expandidos, excepto em indivíduos subordinados ou doentes em que se apresentam expandidos, encobrindo os outros sistemas.

Sistema II - Melanóforos de maiores dimensões e situados numa posição mais profunda da derme, situando-se na região proximal das escamas. A este nível encontram-se também alguns guanócitos que, quando combinados com os melanóforos, formam os melanoiridossomas. Os melanóforos deste sistema apresentam a capacidade de se expandirem ou contraírem em questão de segundos, sendo os responsáveis pelas mudanças rápidas dos padrões de coloração relacionadas com o estado motivacional do indivíduo. Quando os melanóforos deste sistema se encontram contraídos, os guanócitos conferem uma aparência brilhante ao corpo do indivíduo. Este sistema está envolvido no padrão de barras verticais.

Sistema III - Melanóforos situados na derme ao mesmo nível do sistema II mas situando-se por debaixo da porção distal das escamas. Os melanóforos deste sistema apresentam também a capacidade de se expandirem e contraírem muito rapidamente. Este sistema está envolvido no padrão de barras longitudinais e, devido à grande concentração de melanóforos e melanoiridoforos que apresenta, é também responsável pelo negro aveludado exibido pelos machos durante a corte.

Sistema IV - Baerends e Baerends van Roon (1950) defendem a existência de um quarto sistema de melanóforos em *O. mossambicus* para explicar o padrão negro dos machos territoriais. No entanto, eles próprios não o conseguiram localizar. Posteriormente, Lanzing e Bower (1974) localizaram histologicamente na região basal da derme um quarto sistema de melanóforos intimamente associados a melanoiridoforos e guanócitos, que em conjunto formam o *stratum argenteum* que cobre a musculatura. No entanto não parece ser este sistema o responsável pelas marcas reprodutoras dos machos.

Sistema V - Guanóforos que podem ocorrer em diferentes zonas do corpo, e que conferem diferentes cores ao corpo do animal, dependendo do ângulo de incidência da luz. Em *O. mossambicus* existe uma grande concentração de guanócitos na região inferior do focinho e do opérculo dos machos. Os guanóforos são também os responsáveis pela auréola branca da mancha negra que ocorre na barbatana dorsal ("tilapia mark") dos alevins e juvenis.

Sistema VI - Eritróforos e alóforos que se encontram a diferentes profundidades na derme. São responsáveis, nos machos, pela coloração rosada e/ou avermelhada das barbatanas pélvicas, peitorais e do bordo da barbatana dorsal. Estas células, ao contrário dos melanóforos, não têm a capacidade de se contraírem ou expandirem rapidamente, demorando estes processos de algumas horas a alguns dias.

A relação entre os diferentes padrões de coloração, que podem emergir da interacção entre os sistemas de cromatóforos que acabámos de descrever, e o comportamento foi investigada por diversos autores (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Neil, 1964; Lanzing e Bower, 1974). Foram detectados padrões característicos para diferentes contextos e que correspondem a diferentes estados motivacionais dos indivíduos (Baerends *et al.*, 1986; Hulscher-Emeis, 1986, 1992). Os machos territoriais apresentam coloração negra que se acentua durante a corte a fêmeas; quando atacados ou assustados os indivíduos apresentam um padrão de riscas verticais (6 a 7) ou bandas longitudinais (1 a 2); as fêmeas, durante a incubação bucal dos ovos e alevins, apresentam uma banda longitudinal escura e a zona opercular e mandibular cinzento-escuro (Neil, 1964; Lanzing e Bower, 1974).

Comunicação acústica

A produção de sons em *O. mossambicus* foi primeiro documentada por Rodman (1965), que caracterizou um sinal acústico envolvido na defesa territorial com utilização de um espectro de frequências entre os 50 e os 600 Hz. Marshall (1971) identificou um som de tamborilar ("drum") produzido pelos machos durante a corte, e pôs em evidência o papel desse som na redução do período inter-posturas das fêmeas

(Marshall, 1972). Na tabela 6.1. apresentamos os diferentes sons identificados nesta espécie e o contexto em que são produzidos.

Tabela 6.1. Características e contexto dos sons produzidos por *O. mossambicus*.

Emissor	Som	Contexto	Autor
Macho territorial	Tamborilar ("drum")	Defesa territorial	Rodman, 1965 Lanzing, 1974
Macho	Tamborilar grave ("low-pitched drum")	Corte	Marshall, 1971
Fêmea a incubar alevins	Tamborilar ("drum")	Interacções agonísticas	Marshall, 1971
Machos + fêmeas	Tilintar agudo ("high pitched tinkles")	Grazing	Lanzing, 1974
Machos + fêmeas	Mastigar ("chewing")	Alimentação com flocos	Lanzing, 1974
Machos + fêmeas	Raspar ("Rasping/ scraping")	Sem contexto específico	Lanzing, 1974

O mecanismo de produção destes sons consiste na fricção das placas faringicas dorsais na placa faringica ventral que as Tilápias possuem na transição da cavidade bucal para o esófago. A superfície destas placas está coberta por dentes faringicos em cinzel, sendo que a face oblíqua dos dentes das placas dorsais está orientada para a região posterior e nos dentes da placa ventral está orientada para o rostro. O accionamento das placas dorsais é efectuado por um complexo muscular designado por musculatura sónica (Lanzing, 1974).

Comunicação química

Embora ainda não se tenha identificado em *O. mossambicus* nenhuma feromona, têm-se acumulado evidências que indicam a existência de comunicação química nesta espécie. Falter e Dolisy (1989) testaram a existência de feromonas femininas em *O. niloticus* e *O. mossambicus*. Numa situação de teste de escolha os machos foram colocados em aquários subdivididos em 2 compartimentos. Em cada um dos compartimentos colocaram um espelho com o duplo objectivo de reduzir o stress devido ao isolamento e de actuar como estímulo para orientar o comportamento dos

machos. Eram injectadas em cada um dos compartimentos as substâncias a testar: água na qual foram mantidas fêmeas não-ovuladas; água na qual se mantiveram fêmeas ovuladas; e água pura. Os machos demonstraram não só uma preferência altamente significativa pela água de fêmeas ovuladas como orientaram o seu comportamento sexual para o espelho do compartimento respectivo. Estes dados parecem apontar para a existência de uma feromona (ou de um complexo de feromonas) feminina com função de permitir aos machos avaliar o estado de maturação do parceiro sexual.

Noutros Teleósteos em que têm sido identificadas feromonas femininas com esta função, elas correspondem a progestogénios (*e.g.* 17,20β-P) que estão por sua vez envolvidas na indução da ovulação (Stacey e Sorensen, 1991).

A existência de comunicação química nesta espécie pode não se restringir à reprodução. Noutros Ciclídeos incubadores no substrato tem sido demonstrado o papel desempenhado por este canal no reconhecimento dos alevins (Noakes e Barlow, 1973; McKaye e Barlow, 1976), o qual deverá ser ainda mais importante em incubadores bucais.

Comunicação táctil

Alguns dos padrões de comportamento envolvidos na corte e/ou em confrontos agonísticos são percepcionados pelos parceiros ou oponentes por via somatosensorial. Entre estes padrões podemos referir o combate de bocas entre machos, durante o qual os oponentes se agarram mutuamente pelas bocas, tentando deslocar o adversário.

Também em contextos agonísticos os machos podem, numa posição paralela, executar batimentos da cauda sem contacto físico, numa posição com difícil acesso visual para o adversário.

No comportamento sexual desta espécie ocorrem também padrões comportamentais que envolvem o canal táctil. É o caso dos toques de boca do macho na região ventral da fêmea antes da oviposição, e dos toques de boca das fêmeas - mordiscar- na papila genital dos machos, os quais parecem ter por função respectivamente a estimulação da postura dos ovos e a ejaculação.

No presente trabalho apenas foi estudado o canal de comunicação visual quer na sua componente de movimentos do corpo e exibições posturais, quer no que diz respeito aos diferentes padrões de coloração. A este respeito gostaria de salientar dois aspectos:

(a) A não inclusão no presente trabalho de outros sistemas de comunicação, fica-se a apenas dever a constrangimentos de ordem logística e temporal. Não só

outros canais de comunicação existem nesta espécie como uma análise da relação dos elementos desses canais com o sistema endócrino seria da maior relevância.

(b) O etograma que se apresenta, embora não sendo inovador, torna-se necessário por dois motivos: (i) a vasta informação disponível para esta espécie encontra-se dispersa por vários trabalhos (Seitz, 1948; Baerends e Baerends van Roon, 1950; Neil, 1964; Pinheiro, 1980); (ii) faz parte de uma fase inicial de qualquer investigação etológica não só o reconhecimento dos padrões de comportamento já descritos por outros autores como também a sua operacionalização para utilização nas fases subsequentes do presente trabalho.

6.2. MÉTODOS

Foram realizadas cerca de 100 horas de observações *ad libitum* (*sensu* Altmann, 1974) de grupos cativos de *O. mossambicus*, em diferentes contextos: confrontos agonísticos entre machos, cortes de machos a fêmeas, fêmeas a incubarem ovos e alevins.

Os padrões de comportamento observados foram anotados e recorreu-se ainda à gravação em vídeo de algumas sequências que foram posteriormente analizadas com recurso a "câmara lenta" e imagem a imagem (com uma resolução de 25 imagens por segundo) (Vídeo Sony VHS SLV-E7).

Foram observados animais em tanques de manutenção (cerca de 50 animais por aquário) e também animais em grupos experimentais (6 indivíduos por grupo).

As descrições obtidas foram comparadas com as já existentes na literatura e sempre que possível fez-se a correspondência no texto, indicando os nomes respectivos dos comportamentos em Inglês.

6.3. RESULTADOS

6.3.1. Etograma: Descrição de Movimentos e Posturas Corporais

Com vista à elaboração de um etograma os comportamentos observados foram agrupados nas seguintes categorias:

1. Padrões de locomoção e comportamentos associados;
2. Comportamento alimentar;
3. Outros comportamentos não sociais;
4. Comportamentos agonísticos;
5. Comportamento sexual e cuidados parentais;
6. Outros comportamentos sociais.

6.3.1.1. Padrões de Locomoção

Natação

Para se deslocarem na coluna de água estes peixes recorrem a uma natação sub-carangiforme (*sensu* Keenleyside, 1979), que consiste em ondulações da parte posterior do corpo e da caudal, da parte posterior da dorsal e batimentos das peitorais, os quais parecem servir sobretudo para equilibrar o peixe na coluna de água evitando que este rode sobre o eixo longitudinal do seu corpo (ver figura 6.1).

Na natação podem-se reconhecer pelo menos duas modalidades que têm a ver com a frequência e amplitude dos movimentos: natação lenta e natação rápida.

Os alevins ainda com saco vitelino retirados da boca da fêmea conseguem-se mover ao longo do substrato através de ondulações da parte posterior do corpo e da caudal. Quando largados na coluna de água conseguem-se deslocar com os movimentos já referidos, embora caiam rapidamente para o fundo devido à sua flutuabilidade negativa.

Os alevins numa fase inicial (aproximadamente até aos 21 dias pós-eclosão) não têm a bexiga gasosa insuflada, pelo que apresentam uma flutuabilidade negativa; como consequência deste facto aparecem nesta altura dois padrões de locomoção que depois tendem a desaparecer: natação oblíqua e deslocação por saltos. Na natação oblíqua o peixe desloca-se oblíquo em relação ao substrato com a cabeça elevada em relação à cauda. Na deslocação por saltos o indivíduo, imóvel no substrato, através de um impulso do corpo e da caudal e de batimentos das peitorais, descola do substrato e plana na coluna de água vindo a cair alguns centímetros à frente.

Pairar

O peixe mantêm uma posição constante na coluna de água através de movimentos das peitorais, extensão das ventrais, possivelmente para equilibrar o corpo e batimentos da caudal e tronco (ver figura 6.1).

Imóvel no substrato

O indivíduo permanece imóvel com a região ventral em contacto com o substrato. Observam-se batimentos das peitorais cuja função deve ser a de manter o peixe nesta posição, evitando qualquer rotação do corpo para um lado ou para o

outro. Por vezes nesta posição o peixe apoia-se nas barbatanas ventrais (ver figura 6.1).

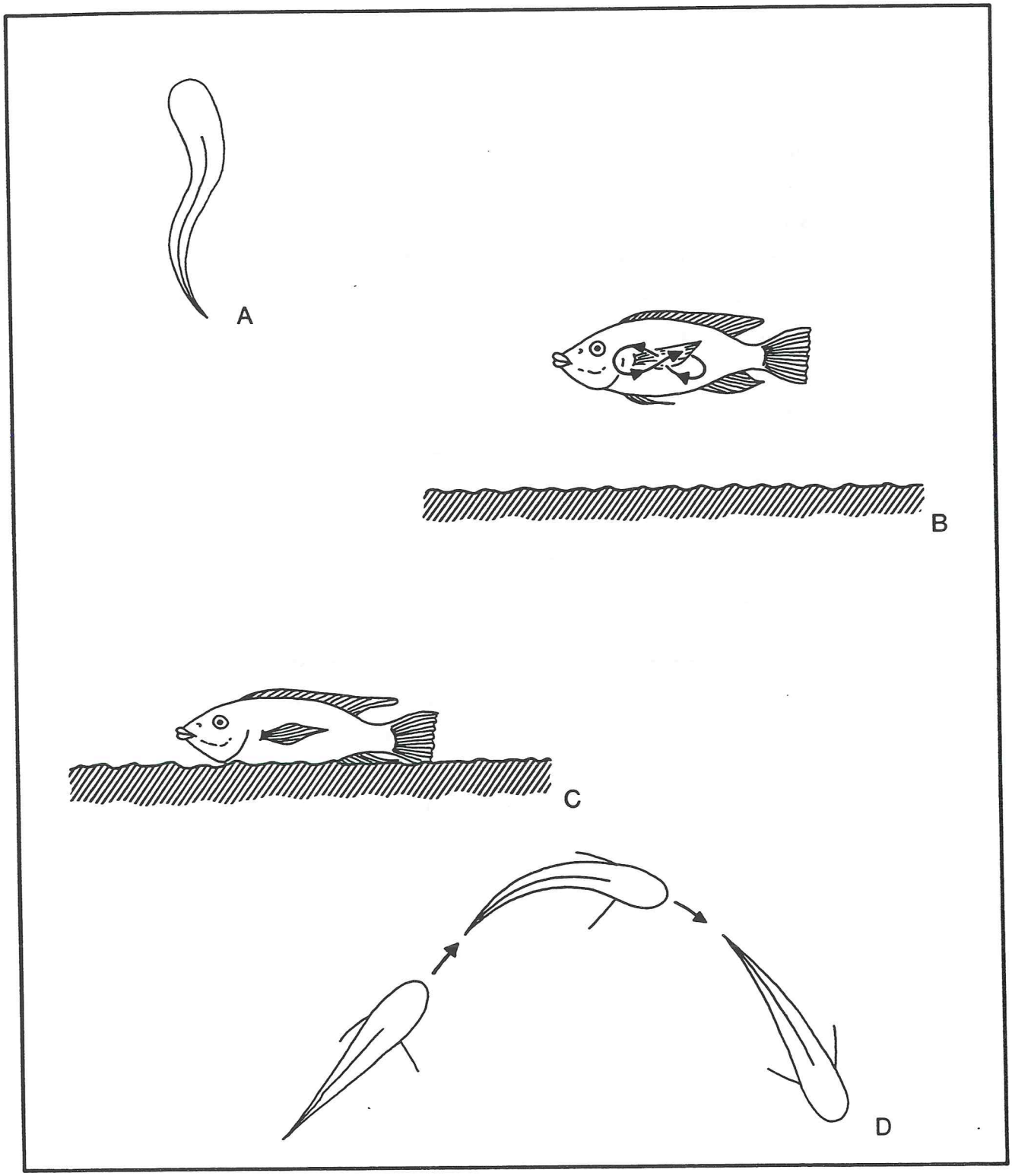


Figura 6.1. Locomoção e comportamentos associados em *O. mossambicus*: (A) natação; (B) pairar na coluna de água, com batimentos das peitorais; (C) imóvel no substrato; (D) mudar de direcção.

Mudar de direcção

Quando em natação na coluna de água os indivíduos podem mudar de direcção através da orientação da cabeça, da abertura das barbatanas pélvicas e de batimentos diferenciais das peitorais (ver figura 6.1).

Travar/ Parar

Para diminuir a velocidade com que se deslocam (travar) ou para se imobilizarem na coluna de água (parar) os indivíduos recorrem à extensão das barbatanas pélvicas. O envolvimento das peitorais, caudal e parte posterior da dorsal neste processo é possível mas não nos foi possível confirmá-lo.

6.3.1.2. Comportamento Alimentar

Alimentação no substrato

A alimentação no substrato realiza-se segundo a seguinte sequência: (a) o indivíduo assume uma posição oblíqua em relação ao fundo com a cabeça para baixo; (b) abre a boca; (c) o ângulo que forma com o substrato aumenta no momento em que o indivíduo se impulsiona para a frente, por acção de ondulações fortes do corpo, caudal e peitorais, empurrando a boca contra o substrato; (d) regressa à posição inicial fechando a boca na qual introduziu uma certa quantidade de substrato; (e) nesta posição o peixe mastiga e após algum tempo expele as partículas de substrato. Esta sequência pode ser realizada isoladamente ou em séries mais ou menos longas (ver figura 6.2).

Alimentação na coluna de água

Quando na coluna de água, em natação ou a pairar, os indivíduos podem captar items alimentares.

Quando as partículas são de dimensões que não lhes permitem serem colocadas inteiras na boca o peixe mantém-se activamente junto do alimento mordendo-o repetidamente e ingerindo as partículas de menores dimensões que se vão libertando.

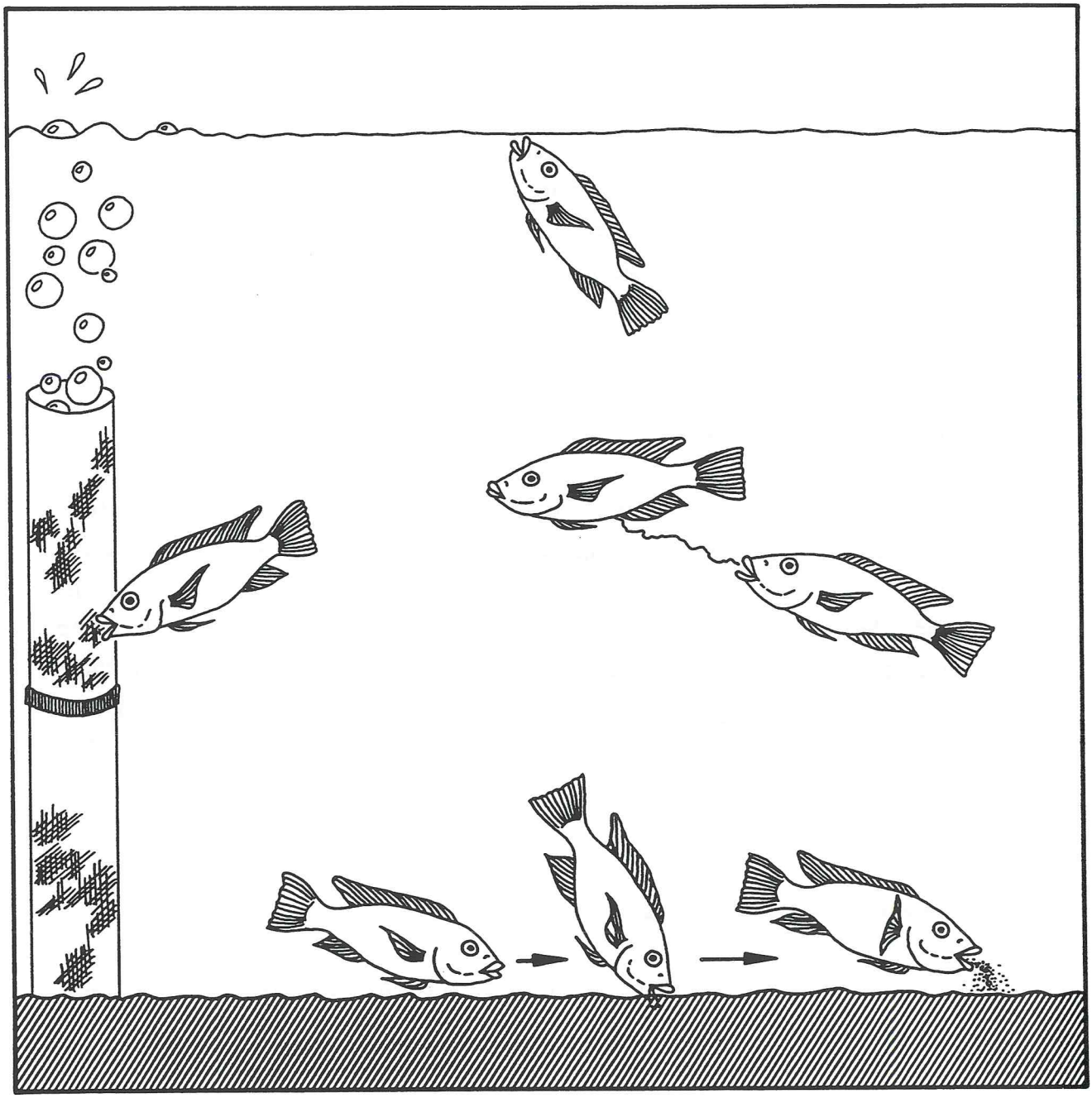


Figura 6.2. Comportamentos alimentares em *O. mossambicus*: alimentação no substrato, alimentação à superfície, raspagem de superfícies (chaminé do filtro de fundo), e coprofagia.

Coprofagia

É muito frequente os indivíduos capturarem fezes que se encontram em suspensão ou mesmo ainda cordões de fezes que pendem do ânus de outro animal, após o que as mastigam e expelem, acontecendo em muitos casos voltarem a mastigá-las e a expeli-las repetidamente (ver figura 6.2).

Alimentação na película superficial

Os peixes mantêm uma posição oblíqua relativamente à superfície da água através de batimentos da caudal e peitorais; a boca entra em contacto com a camada superficial da água. Podem permanecer num determinado ponto ou podem progredir nesta posição (ver figura 6.2).

Raspagem de superfícies

Consiste em abrir e fechar a boca com esta em contacto com uma superfície (*i.e.* vidro do aquário, termómetro, chaminé da placa de fundo, tubo de ar, pedra difusora), e pode ser realizado mantendo a posição num determinado ponto ou nadando ao longo da superfície em questão (ver figura 6.2). Para terem acesso a determinadas áreas observaram-se indivíduos rodarem sobre o seu eixo principal e manterem-se durante alguns segundos com os flancos paralelos à superfície enquanto se alimentam.

6.3.1.3. Outros Comportamentos Não Sociais

Nesta secção incluem-se comportamentos não sociais que não estão directamente relacionados nem com a locomoção nem com a alimentação, ou cuja função se desconhece.

Roçar ("Chafing")

O indivíduo roça uma zona do corpo numa determinada superfície que na maior parte das vezes é o substrato mas que também pode ser o vidro do aquário ou um objecto nele existente (ver figura 6.3). Consoante a área do corpo a roçar os movimentos envolvidos são os seguintes:

(a) Flancos: o indivíduo nada para a superfície escolhida, roda ao longo do seu eixo longitudinal e roça um dos seus flancos.

(b) Ventre: o peixe nada para a superfície escolhida roçando nela a sua zona ventral.

(c) Cabeça: o indivíduo nada para a superfície escolhida, roda 180 graus em torno do seu eixo longitudinal e roça a zona interocular, após o que termina a rotação regressando à posição inicial.

É um padrão comportamental relacionado com a libertação de ectoparasitas muito difundido entre os peixes e outros animais aquáticos (Wyman e Walters-Wyman, 1985).

Zig-zag e UU

Partindo da posição de pairar na coluna de água os indivíduos realizam arranques em natação rápida movimentando-se em zig-zag ou em U, após o que permanecem imóveis de novo na coluna de água (ver figura 6.3). A função destes comportamentos é desconhecida mas pode também estar relacionada com a libertação de ectoparasitas.

Bocejo ("Yawning")

Padrão caracterizado por uma abertura da boca de grande amplitude com extensão das mandíbulas na posição de pairar na coluna de água, em que não se observa a captura de partículas visíveis (ver figura 6.3). É um movimento descrito para muitos Ciclídeos (Baerends e Baerends van Roon, 1950) e para os Teleósteos em geral, cuja função é desconhecida.

Mastigar ("Mumbling"; "Chewing")

Na posição de pairar na superfície os indivíduos realizam movimentos rápidos de abrir e fechar a boca coordenados com movimentos operculares. Este comportamento é de significado desconhecido, podendo estar relacionado com a filtração de partículas alimentares ou com um aumento de oxigenação da água que vai passar nas brânquias em condições de défice de oxigénio, quer devido à qualidade da água, quer após um esforço intenso por parte do peixe (Pinheiro, 1980).

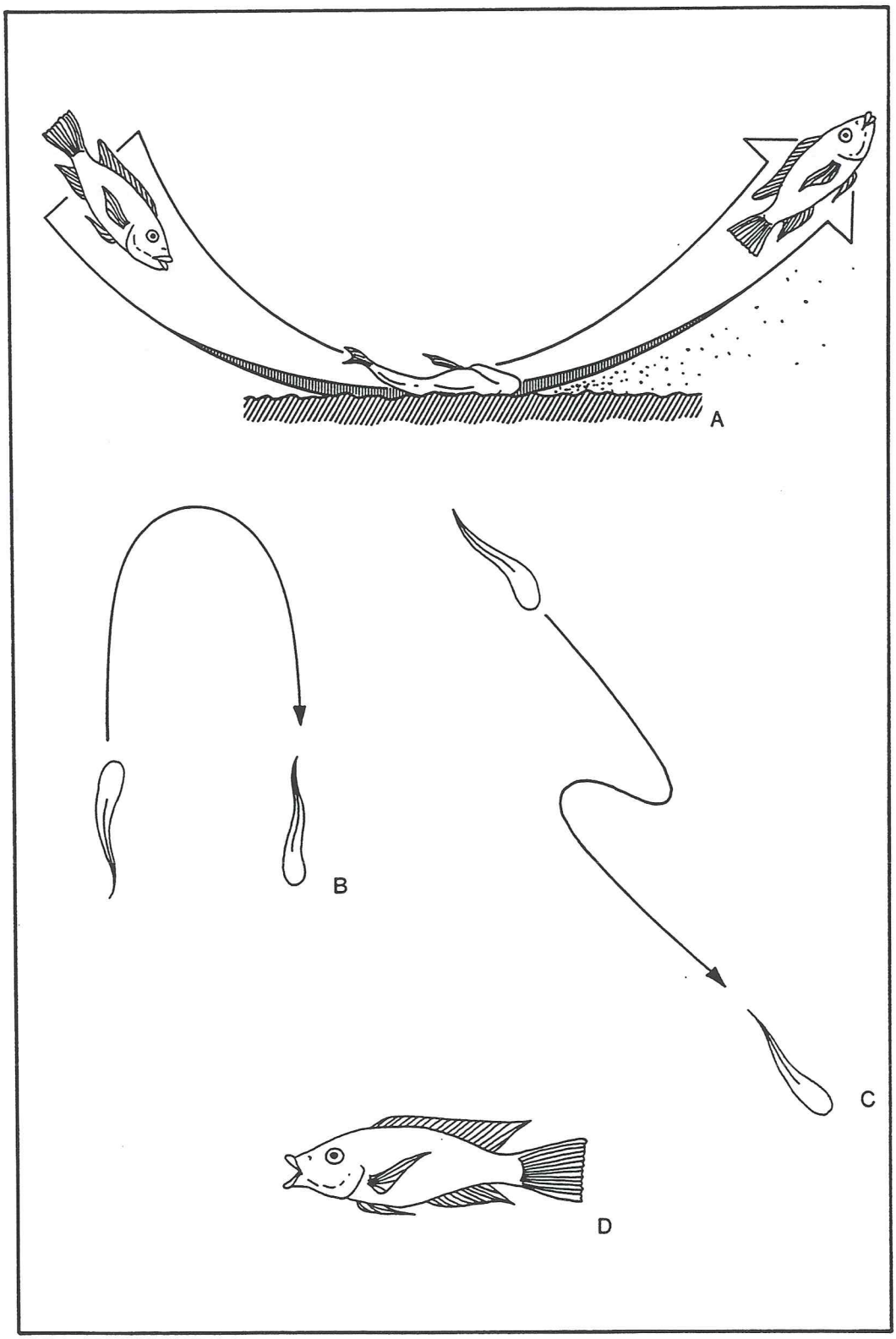


Figura 6.3. Comportamentos não-sociais em *O. mossambicus*: (A) roçar-se no substrato; (B) arranque em U; (C) zig-zag; (D) bocejo.

Contacto com a superfície ("Nipping at the surface")

Padrão em tudo idêntico à alimentação à superfície mas que ocorre na ausência de particulas alimentares visíveis. Após este comportamento muitos indivíduos, quando na coluna de água, libertam bolhas de ar. Este comportamento pode estar relacionado com uma taxa de oxigenação da água deficiente, como proposto por Pinheiro (1980). É ainda de referir que este padrão aparece muitas vezes na sequência de padrões de submissão após derrota em confrontos agonísticos, que constituem situações de stress em que as taxas metabólicas tendem a ser maiores, aumentando assim as necessidades de oxigenação dos indivíduos. Kramer e McClure (1982) chamaram a atenção para o fenómeno de "respiração na camada superficial" ("aquatic surface respiration - ASR") bastante comum em Teleósteos dulçaquícolas sem respiração aérea, como é o caso de *O. mossambicus*, em situações de hipoxia. Nestas situações os peixes tendem a procurar a zona imediatamente abaixo da película superficial para respirarem. De facto, mesmo nas águas com menor concentração de oxigénio, existe uma camada superficial em que a rápida difusão do oxigénio da interface ar-água aumenta localmente a concentração de oxigénio acima da restante massa de água. É assim plausível que um indivíduo que entre numa situação de maiores necessidades em oxigénio procure também a camada superficial para respirar, devendo ser essa a função deste padrão de comportamento.

Defecar

A defecação nesta espécie realiza-se através de cordões fecais, os quais apresentam várias constrições pelas quais normalmente se partem. Os indivíduos permanecem longos períodos de tempo com os cordões de fezes pendentes do ânus, chegando a transportar cordões de comprimento maior do que o do seu corpo (por exemplo foi observado um indivíduo de cerca de 15 mm com um cordão fecal de aproximadamente 40 mm).

Dormir/Descansar

Durante longos períodos à noite ou durante o dia por breves períodos os peixes mantêm-se imóveis no substrato ou a pairar na coluna de água, como descrito em "Pairar" ou "Imóvel no substrato".

6.3.1.4. Comportamentos Agonísticos

Aproximação

Um indivíduo desloca-se até à vizinhança de outro indivíduo. Consideramos que um peixe se encontra na vizinhança de outro quando se aproxima a uma distância inferior ao comprimento do corpo deste (ver figura 6.4).

Arranque

Impulso único de um indivíduo na direcção de outro indivíduo, sem se chegarem a verificar movimentos de natação. Pode ser seguido de investida ou não.

Investida

Deslocação em natação rápida dirigida para um indivíduo (ver figura 6.4).

Perseguição

Após uma investida ou aproximação um peixe pode nadar no encalço de outro que foge (ver figura 6.4).

Toque

Contacto físico de um peixe noutro. Após investida, arranque ou aproximação um peixe pode entrar em contacto com outro. os tipos de contacto observados foram os seguintes: flanco com flanco; Boca ou cabeça com flanco; boca ou cabeça com região caudal (ver figura 6.4).

Morder

Após investida, perseguição, aproximação ou durante um combate, um indivíduo pode morder outro. As zonas mais frequentemente atingidas são a cabeça e o focinho.

Afastamento

Um indivíduo afasta-se de outro em natação lenta.

Fuga

Um indivíduo afasta-se de outro em natação rápida (ver figura 6.4).

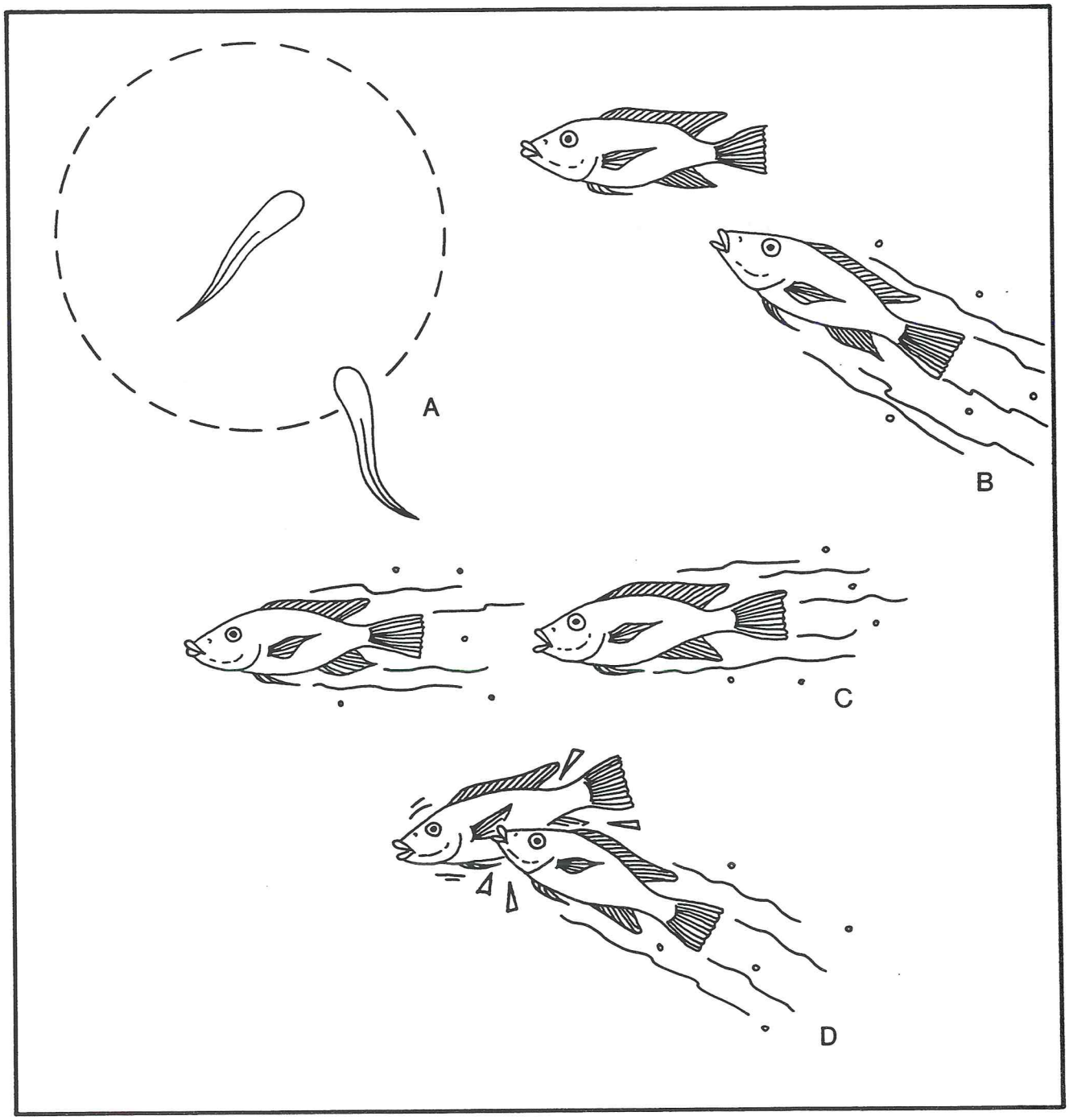


Figura 6.4. Comportamentos agonísticos em *O. mossambicus*: (A) aproximação de um indivíduo a outro ao penetrar na sua vizinhança; (B) investida; (C) perseguição / fuga; (D) toque.

Exibição frontal ("frontal display")

O peixe permanece imóvel na coluna de água de frente para o seu oponente, com as barbatanas ímpares erectas e com batimentos lentos das peitorais. Em grande número de casos está associado a abertura de boca (ver figura 6.5).

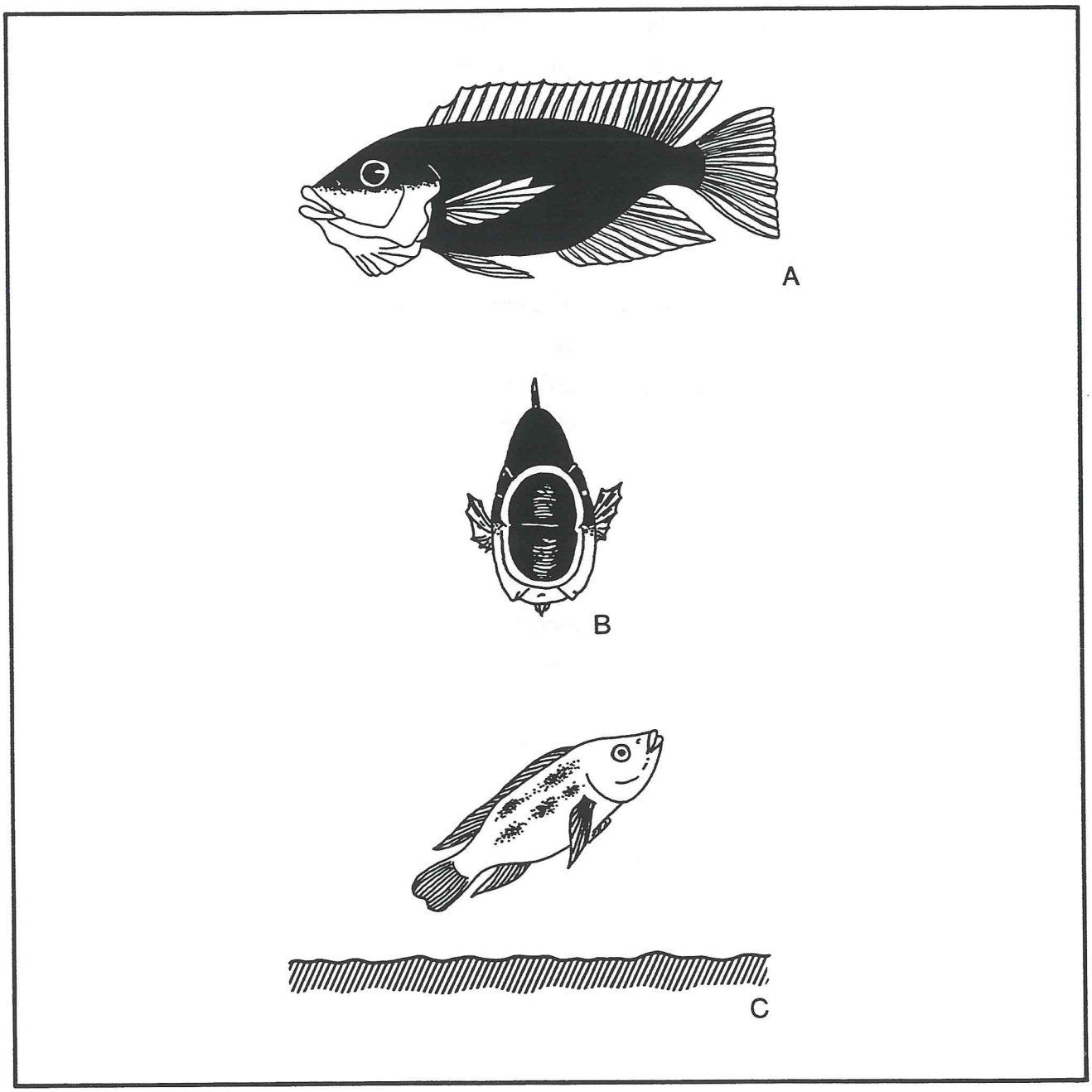


Figura 6.5. Posturas agonísticas em *O. mossambicus*: (A) exibição lateral; (B) exibição frontal; (C) postura de submissão.

Exibição lateral ("lateral display")

O peixe permanece imóvel na coluna de água com a dorsal, anal, caudal e ventrais abertas e com batimentos lentos das peitorais. Em grande número de ocasiões é acompanhado de dilatação da membrana branquiostegal com abertura dos opérculos (ver figura 6.5). Este comportamento é sempre dirigido a um oponente ou à imagem do próprio indivíduo reflectida no vidro do aquário. Pode ocorrer com o emissor e o receptor em posições paralelas ou antiparalelas. Muitas vezes, quando o emissor está num plano inferior ao do receptor, o primeiro roda o corpo ligeiramente em relação ao seu eixo longitudinal de forma a expor uma maior área do seu flanco ao campo de visão do receptor.

Postura de submissão

O indivíduo mantém-se imóvel a pairar na coluna de água, oblíquo em relação ao substrato com a cabeça elevada em relação à cauda, formando o seu eixo longitudinal um ângulo de cerca de 20° com a horizontal. As barbatanas dorsal e anal estão recolhidas e a caudal está fechada (ver figura 6.5).

Combates

Os combates são interacções agonísticas simétricas em que são utilizados vários padrões de comportamento descritos acima.

Detectámos quatro tipos diferentes de combates (ver figura 6.6):

(a) combate com ataques alternados - consiste em investidas e fugas alternadas dos dois peixes;

(b) combate em círculo ("circling")- oponentes em posição antiparalela e em exibição lateral rodam em torno de um ponto central, podendo ocorrer investidas alternadas de ambos, com tentativas de morder. Quando um dos peixes se subordina ao outro, adopta uma postura estática com todas as barbatanas recolhidas, servindo de pivot ao dominante contínua os círculos em seu torno. A partir da posição de pivot o indivíduo suplantado adopta a postura de submissão. O combate termina nesta fase ou pelo afastamento do derrotado ou por investida do vencedor e fuga do derrotado.

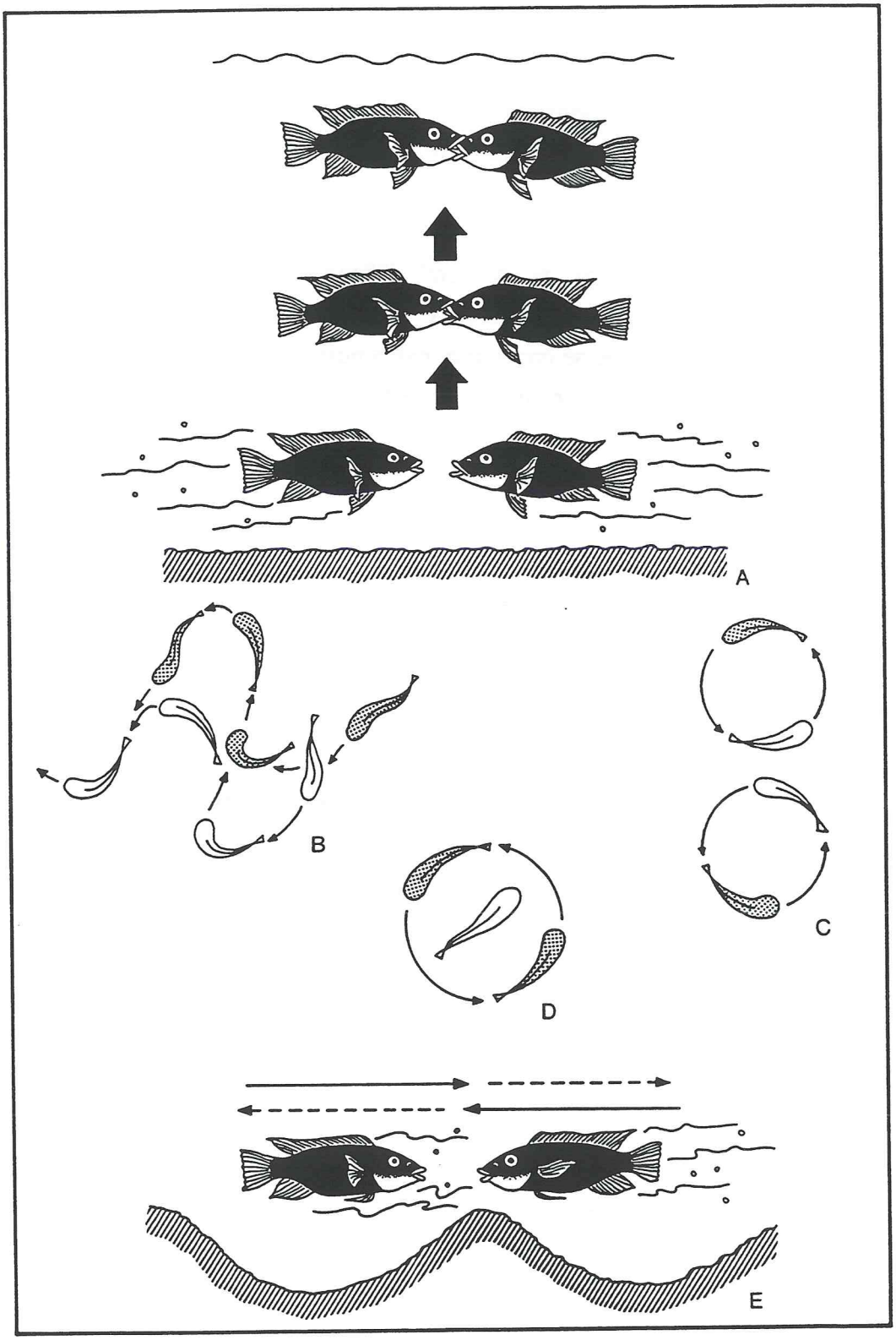


Figura 6.6. Combates entre machos em *O. mossambicus*: (A) combate de bocas; (B) combate com ataques alternados; (C) fase inicial de combate em círculo; (D) fase final de combate em círculo, em que o subordinado adopta uma posição de pivot; (E) "vaivém" entre machos territoriais vizinhos.

(c) combate de bocas ("mouth-fighting")- numa primeira fase os oponentes colocam-se frente a frente e investem frontalmente um contra o outro, podendo ocorrer toques ou mordeduras na região da boca. Geralmente, se nenhum dos intervenientes desiste do confronto, os indivíduos acabam por se agarrar pelas mandíbulas mordendo-se mutuamente ao mesmo tempo que tentam deslocar o adversário na coluna de água.

(d) combate pendular ou "vaivém" ("Pendelling") - ocorre entre machos territoriais que defendem ninhos vizinhos. Consiste em arranques e recuos alternados de cada um dos machos que se encontram numa posição frontal na fronteira dos seus territórios. Numa fase inicial podem ocorrer exibições frontais entre os oponentes.

Construção do ninho

Os machos territoriais cavam uma depressão em forma de bacia, no centro do seu território, por movimentos da boca (ver figura 6.7).

Os movimentos envolvidos podem ser de dois tipos:

(a) O indivíduo coloca-se numa posição central no ninho, oblíquo em relação ao substrato, e abrindo amplamente a boca, impulsiona-se para a frente empurrando a boca contra o substrato, na qual introduz uma certa quantidade de substrato. De seguida, fecha a boca e nada para a periferia do ninho, onde expele as partículas de substrato. Numa fase mais avançada de construção do ninho, ou de manutenção do ninho, a posição do peixe em relação ao substrato, aquando da captura de partículas de substrato, torna-se quase vertical.

(b) Quando as faces internas do ninho apresentam um declive acentuado, que promove o deslocamento de partículas do substrato dos topos para o interior do ninho, o peixe actua como um "bulldozer"; de boca aberta impulsiona-se para o substrato e nada vigorosamente, de baixo para cima, ao longo dos declives internos arrastando a areia do centro para a periferia do ninho.

Nesta espécie, e nos Ciclídeos incubadores bucais em geral, os ninhos são locais nos quais se dá o acasalamento e a fertilização dos ovos, mas sem qualquer papel nos cuidados parentais em relação a ovos e a alevins, a não ser talvez o facto de oferecerem alguma protecção contra a predação dos ovos durante o muito curto período de tempo que decorre entre a oviposição e o apanhar dos ovos por parte da fêmea.

Mesmo na ausência de fêmeas os machos territoriais construem, mantêm e defendem ninhos, pelo que a sua construção deve ser encarada no contexto agonístico.

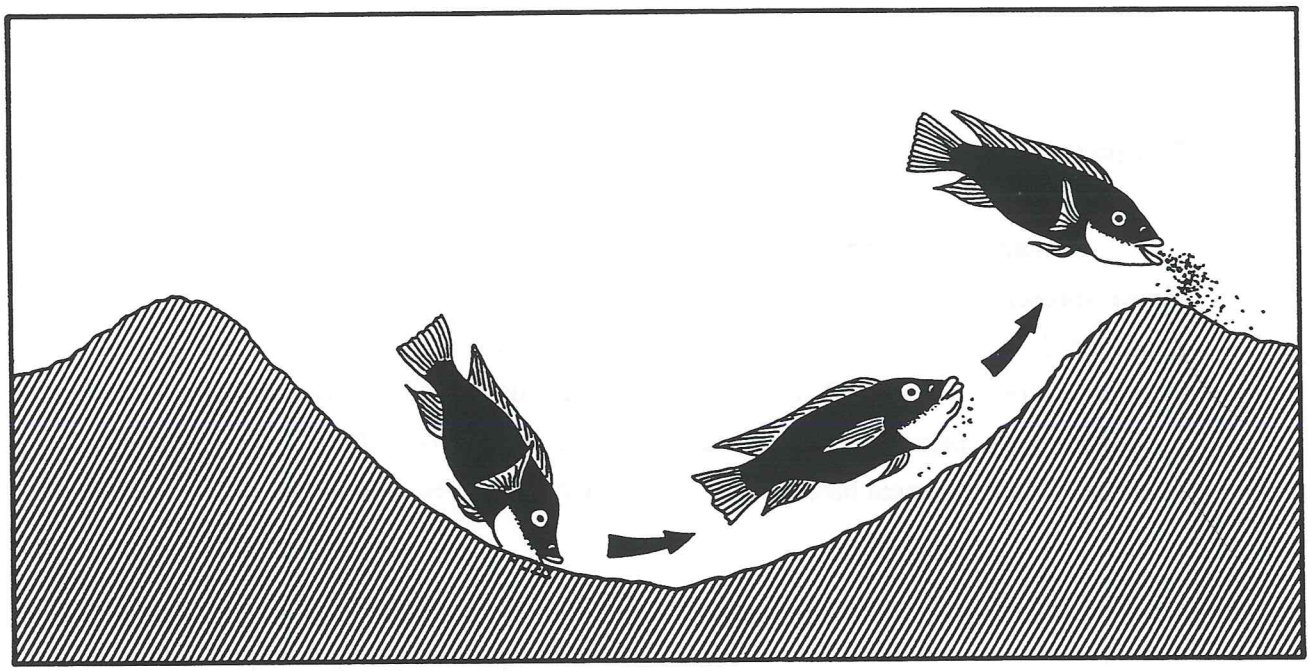


Figura 6.7. Construção do ninho pelo macho de *O. mossambicus*.

6.3.1.5. Comportamento Sexual e Cuidados Parentais

A sequência completa de corte nesta espécie está esquematizada na figura 6.8.

Convite ("Tilting"; "Inviting")

O macho, na vizinhança ou no interior do seu ninho, coloca-se na frente da fêmea e adopta uma posição quase vertical com a cabeça para baixo, expondo o seu flanco à fêmea. As barbatanas ímpares encontram-se recolhidas.

Guiar a fêmea para o ninho ("Leading")

Quando o convite foi realizado fora do ninho o macho nada numa posição oblíqua com a cabeça para baixo na direcção do ninho. Se for seguido pela fêmea, continua até ao ninho assumindo gradualmente uma posição horizontal.

Circundar o ninho ("jolting"; "Circling")

Quando o macho entra no ninho seguido pela fêmea, ele executa um semicírculo, que aparentemente serve para cortar o caminho à fêmea. De seguida, e tendo ficado a fêmea colocada no centro do ninho, o macho inicia uma natação lenta em torno da fêmea com a cabeça orientada para o seu lado e com as barbatanas ímpares recolhidas, descrevendo uma trajectória circular.

Estremecer ("Quivering")

O macho estacionário no interior do ninho e numa posição perpendicular à fêmea apresenta ondulações do corpo acompanhadas de batimentos laterais da parte posterior da cauda. As barbatanas ímpares encontram-se recolhidas e as peitorais e pélvicas actuam como travões, de forma a evitar que as ondulações do corpo e cauda propulsionem o peixe. As ondulações do corpo são movimentos de fraca amplitude mas com uma frequência bastante elevada, assemelhando-se a tremuras.

Receptividade

O sexo feminino tem um papel mais passivo na sequência de corte desta espécie. A fêmea, quando receptiva, limita-se numa fase inicial da corte a manter-se imóvel, não se afastando perante um convite do macho.

Seguir macho

Perante um convite, seguido de natação orientada para o ninho por parte do macho, a fêmea segue-o a curta distância em natação lenta.

Pivot

Uma vez no interior do ninho a fêmea mantém uma posição central enquanto o macho a circunda numa posição mais periférica. A fêmea mantém a cabeça sempre orientada para o macho pelo que vai rodando sobre o seu próprio corpo, formando o par um T. O macho encontra-se numa posição mais elevada em relação à fêmea pelo que a boca desta fica perto da região ventral do macho.

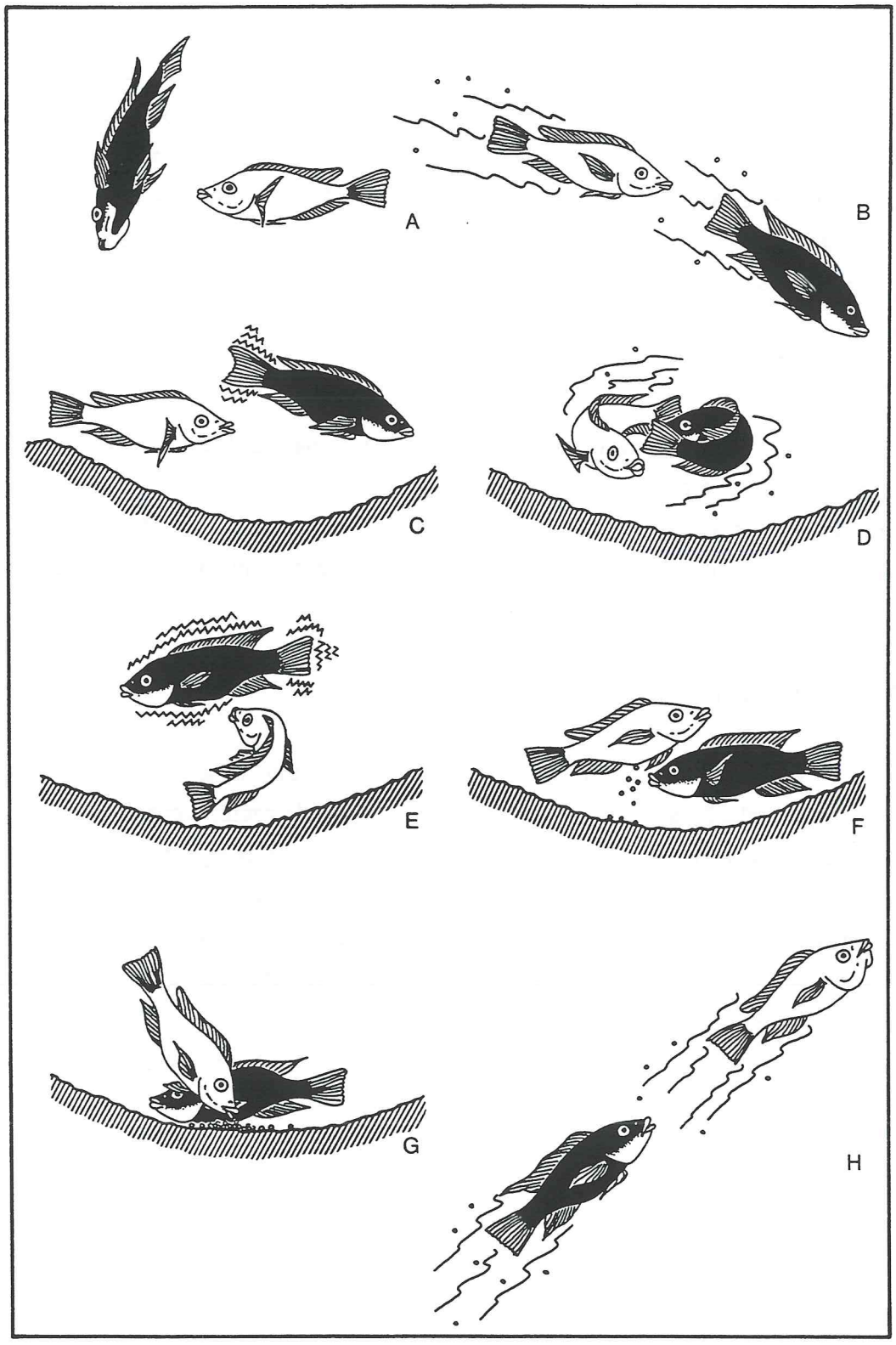


Figura 6.8. Acasalamento em *O. mossambicus*: (A) convite do macho à fêmea; (B) macho guia a fêmea para o ninho; (C) macho a "estremecer" no ninho; (D) macho circunda a fêmea no interior do ninho; (E) fêmea aproxima a boca da região genital do macho enquanto este "estremece"; (F) oviposição; (G) colecta dos ovos pela fêmea e fertilização dos ovos pelo macho; (H) macho expulsa a fêmea do ninho após a desova.

Oviposição

No interior do ninho do macho a fêmea deposita os ovos no substrato, apresentando vibrações que lhe percorrem o corpo. O macho permanece junto da fêmea formando o par uma posição em T. Imediatamente após a oviposição a fêmea começa a apanhar os ovos do substrato numa sequência semelhante à alimentação no substrato. O macho por vezes também parece apanhar alguns ovos mas não os incuba, engolindo-os aparentemente.

Fertilização dos ovos

Após a oviposição o macho ejacula esperma na vizinhança dos ovos. A fêmea captura o esperma para a sua cavidade bucal por movimentos de abrir e fechar a boca, devendo-se dar a fertilização dos ovos maioritariamente no interior da boca da fêmea. Com os ovos e o esperma na boca a fêmea executa movimentos de mastigação que devem facilitar a fertilização dos ovos.

Morder papila genital

No interior do ninho, com o par formando um T, a fêmea numa posição inferior em relação ao corpo do macho aproxima-se da região ventral deste e morde repetidamente a papila genital do macho. Embora este comportamento tenha sido observado em algumas ocasiões antes da oviposição, poderá estar relacionado com a fertilização dos ovos. Ou os machos ejaculam nesta altura para o interior da boca da fêmea, mesmo antes da oviposição, ou este comportamento serve de estímulo para a posterior ejaculação dos machos. Bohrer (1953) tinha também já observado este comportamento e interpretou-o como sendo as fêmeas a "sugarem o esperma directamente dos machos".

Incubação dos ovos

Após terem abandonado o ninho com os ovos fertilizados na boca as fêmeas incubam os ovos e os alevins por um período aproximado de 20 dias.

Durante a incubação dos ovos as fêmeas executam movimentos de mastigação incessantemente, mesmo durante a noite, pelo que estes movimentos devem ser de uma importância vital para a oxigenação dos ovos.

Sensivelmente a partir do quinto dia de incubação as fêmeas começam a defender um território móvel na sua vizinhança, aumentando a sua agressividade com o

tempo de incubação. Numa fase adiantada da incubação uma fêmea com 90 mm de comprimento standard (CS) pode investir e afastar do seu território um macho territorial com 150 mm (CS). Este comportamento parece estar relacionado com o assegurar de uma zona segura para as excursões que os alevins realizam ao exterior da boca da mãe.

A incubação bucal termina quando a fêmea se recusa a receber os alevins que tentam entrar na sua boca. Esta situação só se verificou em aquários de reprodução, dos quais se retirou o macho após a fertilização dos ovos. Nas reproduções que ocorreram nos aquários comunitários e em que não se retiraram os alevins da boca da fêmea, estes acabaram por ser predados pelos outros indivíduos presentes no aquário.

6.3.1.6. Outros Comportamentos Sociais

Canibalismo

Em aquário os adultos, machos e fêmeas, capturam activamente os alevins aquando das primeiras saídas destes da boca materna.

Alevins da mesma postura com cerca de 30 dias pós-incubação bucal atacam em grupo indivíduos menos robustos e aparentemente doentes, alimentando-se de seguida de partes da carcaça do animal morto.

Natação em grupo

Dois ou mais indivíduos nadam com trajectórias paralelas e mantendo-se na vizinhança uns dos outros. A mudança de direcção de um deles, normalmente o que nada na frente, leva a uma alteração da trajectória dos restantes elementos do grupo. Este padrão pode ser considerado um equivalente à natação em cardume numa situação de grupos sociais com poucos indivíduos.

Formação de cardumes

Os alevins dos aquários comunitários deslocam-se em cardume. Os juvenis e os adultos, quando perturbados por um estímulo estranho, agrupam-se e ficam a pairar na coluna de água formando um grupo compacto.

Os alevins e os juvenis possuem uma marca circular de cor negra na barbatana dorsal, comum a outras espécies de Tilápias, que serve como sinal para a orientação do indivíduo no interior do grupo (Fryer e Iles, 1972). Esta marca vai desaparecer durante a fase juvenil, estando ausente nos adultos.

Comportamento anti-predatório

Quando se tentam capturar os peixes com um camaroeiro, perseguindo-se um indivíduo activamente, estes fogem segundo uma trajectória que se caracteriza por frequentes mudanças de direcção e alterações repentinas de velocidade. Comparativamente esta resposta é muito mais complexa e convoluta do que a fuga em contexto agonístico intraespecífico, na qual a velocidade é mais uniforme e a trajectória mais linear. Este comportamento encontra-se bem documentado para outras espécies de peixes e a sua componente errática e aleatória tem por função prevenir que o predador possa avaliar com detalhe a posição ou acção seguinte que o indivíduo em fuga vai assumir (Keenleyside, 1979).

6.3.2. Padrões de Coloração

Para a descrição dos padrões de coloração consideraram-se separadamente os olhos e o corpo e barbatanas.

6.3.2.1. Olhos

A coloração dos olhos em O. mossambicus pode variar em poucos segundos, e embora possam ocorrer estádios intermédios, reconhecem-se seis padrões tipo, ilustrados na figura 6.9.

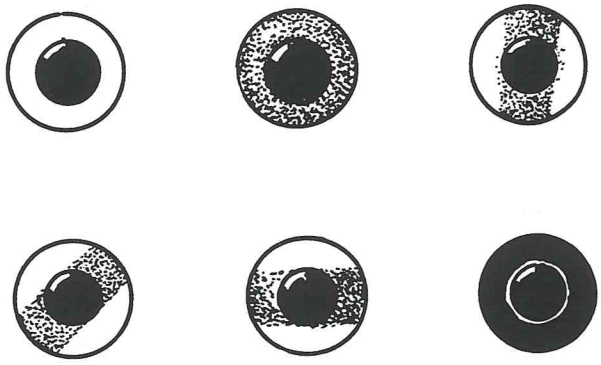


Figura 6.9. Desenho esquemático dos olhos de *O. mossambicus* com as diferentes colorações: (1ª fila da esquerda para a direita) brancos, cinzentos, barra vertical; (2ª fila da esquerda para a direita) barra oblíqua, barra horizontal e negros.

A coloração da pupila mantém-se sempre negra variando apenas a coloração da íris, que pode assumir os seguintes padrões: branca, cinzenta, com uma barra vertical cinzenta, com uma barra oblíqua cinzenta, com uma barra horizontal cinzenta, negra.

6.3.2.2. Corpo e Barbatanas

A coloração das barbatanas acompanha em geral a coloração dos flancos dos indivíduos, com a excepção dos bordos marginais das barbatanas dorsal, caudal e peitorais que se apresentam rosadas a avermelhadas nos machos sexualmente maduros. Ao contrário das colorações escuras os tons vermelhos não sofrem alterações rápidas de coloração. Lanzing e colaboradores demonstraram que estes tons avermelhados nas barbatanas são formados por eritróforos (Lanzing e Bower, 1974; Lanzing, 1975), e que estes são exclusivos dos machos, sendo as concentrações de carotenóides nos eritróforos da barbatana dorsal maiores nos machos dominantes do que nos subordinados (Lanzing, 1978).

No que diz respeito aos padrões escuros, devidos as melanóforos, embora possam ocorrer padrões intermédios e gradações dos diferentes padrões de coloração do corpo, são identificáveis 6 padrões tipo (ver figura 6.10):

Neutro

O peixe apresenta uma cor clara, amarelo-prateado podendo ser mais ou menos brilhante. Usualmente existe uma mancha cinzento escuro na extremidade superior do opérculo.

Riscas verticais ("barred")

O indivíduo apresenta 6 a 7 riscas verticais escuras, situando-se a primeira entre o opérculo e o nível de inserção anterior da barbatana dorsal, seguindo-se 4 a 5 no flanco e uma no pedúnculo caudal. A cor de base do corpo pode variar entre o padrão neutro e o cinzento escuro.

Bandas horizontais ("striped")

O indivíduo apresenta duas barras longitudinais escuras nos flancos. Uma ao nível médio do flanco corre ao longo de todo o corpo, desde o opérculo até ao pedúnculo caudal, e apresenta três manchas mais marcadas intercaladas com zonas mais claras. Uma segunda barra está presente na zona superior do flanco, desde o nível

anterior até ao nível posterior de inserção da barbatana dorsal, a qual também apresenta zonas mais marcadas.

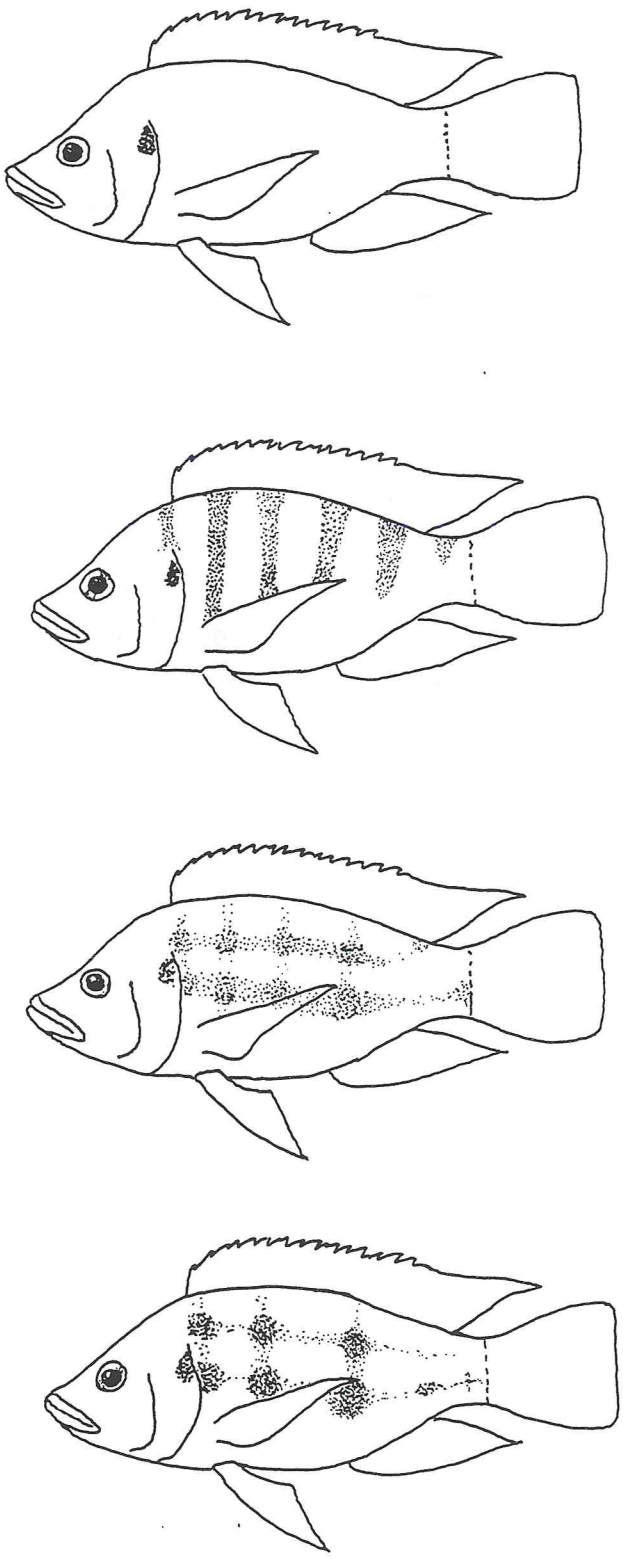


Figura 6.10. Desenho esquemático de *O. mossambicus* com diferentes padrões de coloração: (de cima para baixo) neutro, riscas verticais, barras horizontais e malhado.

Malhado ("hatched")

Os indivíduos apresentam um padrão misto entre as riscas verticais e as bandas horizontais, ficando com um padrão quadriculado.

Cinzentos

Os indivíduos podem apresentar um escurecimento global do corpo, sendo reconhecíveis três níveis de cinzentos (ver figura 6.11):

Cinzento I - O peixe fica com uma cor homogénea cinzento-claro.

Cinzento II - O peixe assume uma cor homogénea cinzenta.

Cinzento III - O peixe apresenta uma cor cinzento-escuro quase negro.

Negro

O peixe adquire uma cor negra em todo o corpo excepto na região mandibular e opercular que se apresentam brancas (ver figura 6.11). Os lábios têm uma cor branco-azulado. Este padrão de coloração é exclusivo de machos territoriais. Durante o acasalamento ou em confrontos agonísticos simétricos de grande intensidade torna-se negro aveludado.

Em relação aos diferentes padrões de coloração que acabámos de descrever são de salientar alguns aspectos:

(a) As colorações cinzentas são características de machos e estão relacionadas com o contexto social. Os machos que vencem combates tendem a adoptar uma coloração mais escura e os derrotados tendem a tornar-se mais claros, de tal forma que num grupo os indivíduos dominantes e/ou territoriais apresentam a coloração negra e os subordinados um cinzento claro ou neutro.

(b) Os indivíduos podem mudar o seu padrão de coloração num curto período de tempo, da ordem dos segundos a minutos.

(c) Um indivíduo que se encontra numa situação de inferioridade, por exemplo a perder uma interacção agonística, adopta o padrão de riscas verticais.

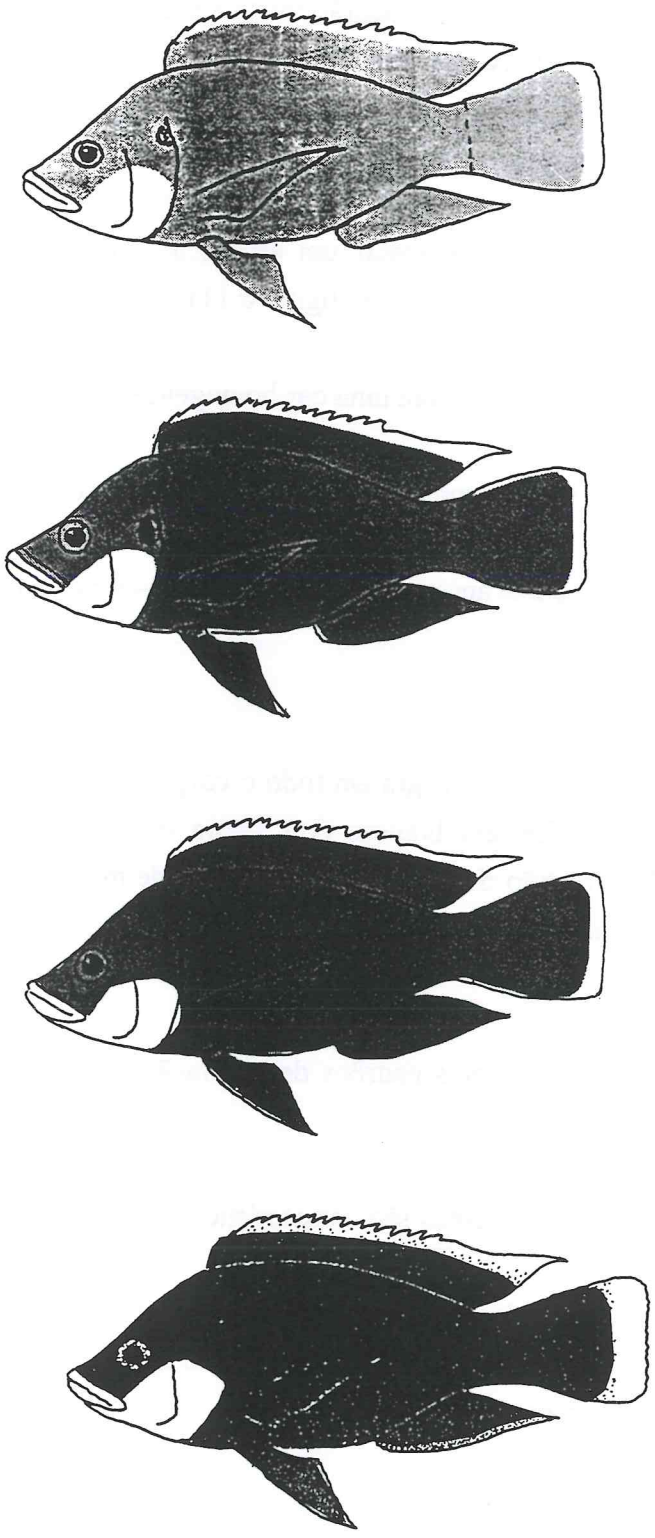


Figura 6.11. Desenho esquemático de *O. mossambicus* com diferentes níveis de escurecimento do corpo: (de cima para baixo) cinzento 1, cinzento 2, cinzento 3 e negro.

(d) O padrão de bandas horizontais é característico de 'stress' (ou medo), ocorrendo quando se produz uma situação disruptiva nos aquários (*e.g.*, choque mecânico, manipulação dos aquários, como sejam a captura de indivíduos, mudanças de água, etc.).

Este padrão ocorre também em indivíduos adultos subordinados após perseguições agonísticas violentas. Na maior parte das situações em que foi verificado, também se observaram nos indivíduos que o apresentavam os seguintes sinais de stress: movimentos respiratórios acelerados; pairar a meia-água numa zona escondida do aquário (*e.g.* atrás de uma chaminé do filtro de fundo, num canto, etc.), com ventrais abertas e batimentos rápidos das peitorais.

(e) As fêmeas que incubam ovos ou alevins adoptam um padrão de bandas horizontais com características particulares. A banda média é a primeira a aparecer e é sempre a mais marcada. Na região da mandíbula e na metade inferior do opérculo apresentam uma coloração cinzento-escuro. A mancha opercular, na extremidade superior do opérculo está bem marcada. Todo o padrão de coloração tende a acentuar-se com o tempo de incubação e parece estar correlacionado com um aumento de agressividade por parte da fêmea durante as fases mais avançadas da incubação. As fêmeas, numa fase terminal da incubação de alevins, podem apresentar o padrão de bandas horizontais muito marcado sobre uma coloração de base Cinzento I ou II. O escurecimento das fêmeas durante a incubação bucal havia já sido referido para esta espécie e também para *O. niloticus* (Turner e Falter, 1989).

Tabela 6.2. Associações entre padrões de coloração dos olhos e do corpo em *O. mossambicus*.

Coloração da íris	Coloração do corpo
branco	neutro cinzento 1
cinzento	cinzento 2 cinzento3
negro	negro
barra vertical	riscas verticais
barra horizontal	bandas horizontais
barra oblíqua	malhado

(f) Durante a noite ou em períodos de alimentação os machos territoriais perdem a coloração escura.

(g) As colorações do corpo/barbatanas e dos olhos parecem ter um mecanismo causal comum uma vez que as mudanças de coloração dos olhos acompanham as alterações de coloração do corpo (ver tabela 6.2).

6.4. DISCUSSÃO

Embora o objectivo primordial deste capítulo seja a inventariação dos diferentes padrões de comportamento com vista à análise subsequente das interacções sociais, gostaria de discutir neste ponto alguns aspectos relativos à etologia geral de *O. mossambicus*.

6.4.1. Sobre a Função e o Design das Posturas de Submissão

Em *O. mossambicus* observa-se uma dicotomia marcada entre os comportamentos reprodutores, exibidos por machos dominantes, e os comportamentos dos indivíduos subordinados.

No padrão de submissão desta espécie o indivíduo, para além de reduzir o tamanho aparente do seu corpo, através da recolha das barbatanas, adopta uma posição oblíqua na coluna de água com a cabeça orientada para a superfície. Por outro lado, em interacções agonísticas assimétricas (*e.g.* Investida - Fuga) as fugas são preferencialmente orientadas para a superfície, e na sequência destas o peixe subordinado fica a pairar na coluna de água junto da superfície, com a cabeça orientada para cima, e por vezes apresenta comportamentos deslocados de alimentação na película superficial/ mordiscar na superfície.

A orientação para a superfície dos indivíduos subordinados ou derrotados contrasta com o comportamento dos machos dominantes, orientado preferencialmente para o substrato. Os ninhos são escavados no substrato, e muitas vezes, na sequência de interacções agonísticas ou de episódios de corte abortados, o macho territorial redirecciona o seu comportamento agressivo para o substrato apresentando sequências de interacção com o substrato que podem assumir mesmo a forma de escavar o ninho. Por outro lado, a corte envolve padrões orientados para o substrato, como sejam o "Convite" com o macho oblíquo com a cabeça orientada para baixo, e o "Chamar a fêmea para o ninho", em que o macho nada da vizinhança da fêmea para o ninho localizado no substrato.

Poderemos por a hipótese que, em termos de comunicação, a orientação do comportamento dos indivíduos subordinados para a superfície poderá ser uma indicação para o oponente dominante, de que o indivíduo já não está "interessado" no

substrato, o qual representa um recurso fundamental para o sucesso reprodutor dos machos por nele defenderem os territórios e construírem os ninhos.

Do ponto de vista comparativo, é interessante verificar que espécies cujos ninhos são estruturas ligadas ao substrato apresentam, de uma forma geral, padrões de submissão com a cabeça orientada para a superfície. É este o caso dos Labrídeos, cujo ninho é uma cavidade natural em substrato rochoso (*e.g. Crenilabrus melops*, Potts, 1974), dos Gasterosteídeos, em que o ninho pode variar de uma massa tubular de plantas e lama aderentes à vegetação perto do substrato, até a simples covas no substrato (*e.g. Pygosteus pungitius* e *Gasterosteus aculeatus*, Morris, 1958), e dos Ciclídeos, na maioria dos quais os ninhos são depressões escavadas em substrato arenoso (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Fryer e Iles, 1972). Complementarmente, é interessante verificar que nos Anabantídeos, em que o ninho consiste numa "jangada" de bolhas na superfície, a postura de submissão envolve a orientação da cabeça para o substrato (*e.g. Betta splendens*, Vierke, 1988).

As posturas de submissão, nas quais o animal subordinado opta por não fugir nem se afastar do dominante na sequência de um confronto agonístico, têm merecido diferentes interpretações. Darwin (1871) já abordava este assunto, e interpretava as posturas de submissão como antíteses das posturas de ameaça de cada espécie. Segundo Lorenz (1952) estas posturas teriam uma função de apaziguamento, em que o subordinado oferece ao seu adversário as regiões do seu corpo para as quais os ataques são dirigidos. Este não parece ser o caso de *O. mossambicus*, uma vez que ao orientar a cabeça para a superfície o indivíduo subordinado expõe ao dominante a sua superfície ventral, a qual não é, por regra, a mais visada nos ataques. Para Tinbergen e Moynihan (1952) o efeito de submissão destas posturas deriva do facto de nelas o animal ocultar as principais armas e/ou os estímulos desencadeadores de agressão no oponente. De facto, em *O. mossambicus* a principal arma, que é a boca, é de alguma forma ocultada com a orientação da cabeça para a superfície e com o fechar da boca que se apresenta amplamente aberta nas exibições frontais (ver figura 6.5). Simultaneamente, potenciais estímulos desencadeadores são esbatidos, como é o caso do recolher das barbatanas ímpares, que se encontram erectas nas exibições agonísticas, e da perda da coloração negra típica de machos territoriais, por parte dos machos submissos.

6.4.2. Qual o Papel Funcional dos Ninhos para os Machos Territoriais de Ciclídeos com Incubação Bucal Materna?

Em *O. mossambicus*, tal como na generalidade dos Ciclídeos com incubação bucal materna, os machos escavam no substrato estruturas mais ou menos complexas que são vulgarmente designadas por ninhos (Fryer e Iles, 1972).

Estas estruturas estão também presentes nas espécies incubadoras no substrato (*e.g. Tilapia*), nas quais desempenham o papel de um ninho no sentido convencional do termo.

Em *O. mossambicus*, e nos Ciclídeos incubadores bucais em geral, os ninhos são locais nos quais se dá o acasalamento e a fertilização dos ovos, mas sem qualquer papel nos cuidados parentais em relação a ovos e/ou a alevins. Mesmo na ausência de fêmeas os machos territoriais constroem, mantêm e defendem ninhos (ver capítulo 8).

Ocorrem-me cinco hipóteses explicativas para a manutenção do comportamento de construção de ninho nesta espécie:

(a) A pressão de predação sobre os ovos é muito elevada, de forma que o facto de o acasalamento se dar "fora dos olhares" dos machos vizinhos, potenciais predadores de ovos, confere uma dupla protecção: por um lado existe uma maior incerteza para os predadores em relação ao momento da oviposição, obrigando-os a uma exposição prolongada a curta distância, e passível de resposta por parte do macho residente; por outro lado durante o curto período de tempo, entre a oviposição e o apanhar dos ovos pela fêmea, em que os ovos se encontram no substrato, o ninho confere-lhes protecção visual contra predadores.

(b) O ninho confere protecção ao par durante a postura, diminuindo o risco de tentativas de fertilização de ovos por outros machos (*i.e.* fertilizações parasitas, "sneaking fertilizations"), aumentando a certeza de paternidade por parte do macho territorial.

(c) Numa arena reprodutora, em substrato móvel, com muitas dezenas ou centenas de machos territoriais, os ninhos podem servir como referências espaciais que marcam as fronteiras dos territórios individuais de cada peixe. Teriam assim um papel fundamental na partilha do espaço no interior das arenas, reduzindo as interacções agonísticas entre machos territoriais.

(d) Os ninhos podem ser utilizados pelas fêmeas durante a escolha de parceiro como indicadores da qualidade dos machos. McKaye *et al.* (1990) colocou em evidência a relação entre o tamanho dos ninhos e o sucesso reprodutor em machos de *Cyrtocara eucinostomus*.

(e) Por inércia evolutiva, o comportamento de construção de ninho já presente em formas primitivas de incubadores de substrato (*e.g. Paratilapia polleni*, Stiassny e Gerstner, 1992) ter-se-ia mantido nos incubadores bucais.

De entre estas hipóteses as duas últimas [(d) e (e)] parecem-me menos plausíveis:

(d) Embora os trabalhos de McKaye *et al.* (1990), coloquem em evidência a relação entre a dimensão do ninho e o sucesso reprodutor, esta relação não implica uma relação de causa-efeito. É de referir a este propósito que no seu trabalho McKaye *et al.* (1990) demonstraram também que o sucesso reprodutor está também correlacionado com uma posição mais central do ninho dentro da colónia, o que por sua vez depende do estatuto social do macho. Machos mais dominantes têm acesso a ninhos mais centrais e machos menos dominantes localizam-se perifericamente na colónia. Por outro lado, Heiligenberg (1965) demonstrou que a actividade de escavar o substrato está relacionada com a agressividade, sendo que machos mais agressivos apresentam maiores taxas de comportamentos de cavar o substrato. Assim sendo, é possível que a relação encontrada por McKaye *et al.* (1990) se fique a dever a um esquema de relações sequenciais, em que, por exemplo, a localização mais central dos ninhos, que por sua vez também são os de maiores dimensões, seja a característica privilegiada na escolha das fêmeas.

(e) A permanência de ninhos em incubadores bucais por simples inércia filogenética, teria como predição que este comportamento envolveria gastos pouco significativos para os machos territoriais. No entanto, verifica-se que os machos territoriais despendem uma fracção importante do seu tempo a cavar e a cuidar do seu ninho, sendo os gastos energéticos também consideráveis. Se pensarmos que um macho de 12 cm (CT) pode cavar um ninho de 1000 cm^3, o que à escala humana equivaleria a um indivíduo com um metro e oitenta cavar um buraco na areia, sem utensílios, mas não necessariamente com a boca, com um volume de 150 m^3, temos que reconhecer que representa um esforço considerável. Se adicionarmos ainda o custo suplementar de os ninhos tornarem os machos territoriais mais conspícuos para

potenciais predadores, temos que considerar esta hipótese como a menos parcimoniosa das acima expostas.

Parece assim que a manutenção dos ninhos nos incubadores bucais resulta por um lado da pressão de predação sobre os ovos e por outro lado do seu valor como marco territorial. A favor destas hipóteses podem-se apresentar argumentos como o inequívoco papel do ninho na protecção dos ovos e alevins em incubadores de substrato, em que ocorrem exemplos extremos como sejam a construção de um túnel no substrato, permanecendo os progenitores a guardar a entrada (Keenleyside, 1991) ou a utilização de conchas vazias que são parcialmente enterradas (*e.g. Lamprologus ocellatus*, Haussknecht e Kuenzer, 1991). Em *Cichlasoma maculicauda*, um ciclídeo monogâmico incubador de substrato, Perrone (1978), demonstrou que os ninhos mais profundos eram menos sujeitos a predação de ovos, existindo uma correlação entre a profundidade do ninho e a taxa de sobrevivência da postura. A pressão de predação de ovos durante o período que decorre entre a oviposição e o início da incubação bucal foi demonstrada para outro ciclídeo com incubação bucal materna (*Pseudocrenilabrus multicolor*), em que, variando a densidade de conspecíficos presentes no momento da postura, se verificou que com densidades elevadas uma proporção maior de ovos era predada (Mrowka, 1987). Tentativas de predação de ovos no momento da postura foram também observadas por nós em tanques comunitários de *O. mossambicus* com densidades elevadas (*i.e.* 15 indivíduos adultos em 180 litros). Por outro lado, os custos associados ao comportamento reprodutor, com redução das oportunidades de alimentação e concomitante redução do factor de condição (Bowen, 1984), são em *O. mossambicus* um precedente que favorece a predação de ovos nas arenas reprodutoras com densidades elevadas (em que podem ocorrer ninhos contíguos; ver Barlow, 1974b), e talvez explique também o facto de as fêmeas se retirarem das arenas após a postura, procedendo à incubação na ausência de machos reprodutores, e em habitats com maior cobertura vegetal e menos expostos a predadores visuais (Fryer e Iles, 1972; Bruton e Boltt, 1975).

Também existem provas que reforçam o papel do ninho na regulação do comportamento agonístico entre machos territoriais. Efectivamente, os níveis de agressividade entre machos territoriais vizinhos são geralmente muito mais baixos do que em relação a intrusos (Loiselle, 1977; Fernö, 1987), podendo este fenómeno ser explicado por habituação ou por um equilíbrio dinâmico entre as tendências para fugir ou para atacar. O papel do ninhos neste quadro, embora nunca tenha sido testado, parece fundamental como marco topográfico do território.

6.4.3. Os Padrões de Coloração como Sinais Visuais

No que diz respeito aos padrões de coloração, é de salientar a possibilidade que *O. mossambicus* tem de mudar rapidamente (de alguns segundos a poucos minutos) os padrões de coloração, os quais ganham assim uma posição privilegiada como potenciais sinais no sistema de comunicação desta espécie. A co-ocorrência de olhos escuros e corpo cinzento escuro ou negro aparece correlacionada com a dominância social e a posse e defesa de um território. Este facto havia já sido notado por outros autores (Neil, 1964; Lanzing e Bower, 1974; Pinheiro, 1980), e é interessante verificar a boa correlação existente entre o escurecimento da coloração dos olhos e a dominância social/ territorialidade em diferentes famílias de Teleósteos (*e.g.* Poecilídeos: *Poecilia reticulata*, Gorlick, 1976; Martin e Hengstebeck, 1981; Ciprinodontídeos: *Cyprinodon macularius*, Barlow, 1961; *C. rubrofluviatilis*, Echelle, 1973; Godeídeos: Kingston, 1980; Nandídeos: *Badis badis*, Barlow, 1963; Centrarquídeos: *Lepomis cyanellus*, Greenberg, 1947). Nos Ciclídeos este padrão de correlações nem sempre está presente. Em *Cichlasoma coryphaenoides* a íris escurece instantaneamente quando o peixe é atacado ou perseguido, o que não acontece com os agressores nos quais é a coloração do corpo que se altera (Watanabe *et al.*, 1984).

As mudanças rápidas de coloração em Teleósteos (*i.e.* alterações de coloração fisiológicas) são devidas à agregação ou dispersão de cromatóforos por via neural e endócrina. O controlo neural da mobilidade dos cromatóforos é efectuado pelo sistema nervoso simpático (Fujii e Oshima, 1986). A adrenalina e a noradrenalina medeiam a agregação dos melanóforos através de receptores α-adrenérgicos presentes nos melanóforos, enquanto que a adrenalina, através de receptores β-adrenérgicos, promove a dispersão dos melanossomas. Os tipos de receptores adrenérgicos presentes nos cromatóforos podem variar no mesmo indivíduo, podendo existir cromatóforos com ambos os tipos de receptores ou só com um deles. Para além da regulação neural via sistema nervoso simpático, existem alguns indícios de que o sistema parasimpático também possa estar involvido. Castrucci (1975) demonstrou um efeito positivo da acetil-colina na dispersão dos melanóforos em *Tilapia rendalli*. O controlo endócrino dos melanóforos é por sua vez assegurado por duas hormonas, a MSH (hormona estimuladora dos melanócitos) e a MCH (hormona condensadora dos melanócitos). A MSH é um neuropeptídeo produzido pela *pars* intermédia da hipófise, e induz o escurecimento lento do corpo como adaptação à cor de fundo, estando o seu papel nas mudanças rápidas de coloração ainda por demonstrar (Fujii e Oshima, 1986). A MCH é um neuropeptídeo produzido pelo hipotálamo que induz o clareamento do corpo, actuando directamente sobre os melanóforos, e indirectamente ao nível da hipófise, inibindo a secreção de MSH. Para além destas hormonas existem outros compostos

biológicos que podem modular as alterações fisiológicas de coloração, entre os quais se destacam os corticosteróides, os esteróides sexuais, a ACTH, e as endorfinas entre outros (Fujii e Oshima, 1986).

O facto de em *O. mossambicus* ocorrerem alterações de coloração fisiológicas, aliado ao profundo conhecimento que já se possui sobre a sua etologia, tornam esta espécie uma excelente preparação para estudos futuros em que se procure a integração entre os mecanismos causais das mudanças de coloração e os sistemas motivacionais. Estudos deste tipo começaram recentemente a ser realizados. Muske e Fernald (1987a,b) estudaram, em *Astatotilapia burtoni*, o controlo neural de uma mancha negra na região lacrimal usualmente designada por barra ocular ("eye-bar"). A intensidade desta marca pode variar rapidamente, e havia já sido demonstrado que ela funciona como um sinal social indicador da motivação agonística do indivíduo (Heiligenberg *et al.*, 1972). Muske e Fernald (1987a,b) conseguiram demonstrar que as variações rápidas deste sinal social são mediadas pelo sistema nervoso simpático através da divisão maxilar do nervo trigeminal. Num outro trabalho, Hulscher-Emeis (1992) demonstrou que em *Tilapia zilli* as variações das marcas melanísticas presentes nos flancos não se relacionam directamente com a motivação agonística (*i.e.* tendências de ataque/ fuga), mas com situações de stress, uma vez que os mesmos factores causais que controlam a regulação dos melanóforos estão também envolvidos nas respostas de stress. Estes padrões de coloração são assim um espelho do estado de perturbação do animal, podendo constituir uma componente importante da comunicação visual em Ciclídeos.

Em *O. mossambicus* parecem existir dois sistemas de colorações que correspondem a dois eixos motivacionais e factores causais diferentes:

(a) o escurecimento global do corpo parece ser modulado pelo estatuto social do indivíduo (dominância/ territorialidade) e pela a sua actividade reprodutora, podendo estar envolvido na causalidade próxima deste sistema o eixo reprodutor (hipotálamo-hipófise-gónadas);

(b) a presença de riscas verticais ou bandas horizontais (ou um misto das duas no padrão malhado) parece responder à componente de stress, devendo estar envolvido em termos causais o eixo hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais.

Esta separação das colorações em dois sistemas é suportada pelo facto destes puderem responder autonomamente a estímulos específicos. Por exemplo, quando perturbados, os machos territoriais perdem o seu padrão negro e apresentam-se cinzentos e com riscas verticais; do mesmo modo, numa luta entre dois machos o derrotado fica com um padrão de coloração mais claro e com riscas verticais presentes.

7.
ORGANIZAÇÃO SOCIAL DOS GRUPOS EM CATIVEIRO: I. HIERARQUIAS DE DOMINÂNCIA E DINÂMICA DAS INTERACÇÕES SOCIAIS

7.1. INTRODUÇÃO

Os sistemas sociais de vários grupos de animais envolvem hierarquias de dominância, que consistem no domínio de alguns membros do grupo por outros membros, segundo padrões ordenados e de longa duração (Wilson, 1975).

Os primeiros estudos sobre as relações de dominância em grupos de animais foram realizados por Schjelderup-Ebbe (1922), o qual, baseando-se na direcção e frequência das interacções agonísticas entre os membros de um grupo, descreveu a existência de hierarquias lineares em grupos de galinhas. Nestes grupos, cada indivíduo atacava os que lhe eram subordinados, sendo atacado pelos que lhe eram dominantes. Desde então a ocorrência de hierarquias lineares tem sido descrita num grande número de espécies de vertebrados e invertebrados (para uma revisão ver Gauthreaux, 1978; Dewsbury, 1982; e Huntingford e Turner, 1987).

Em geral reconhecem-se três tipos de hierarquias de dominância (Chase, 1974):

(a) despotismo, quando um animal domina todos os elementos do grupo, sem existir uma ordenação entre os restantes elementos;

(b) linear, quando um indivíduo domina todos os elementos do grupo, sendo que um segundo domina todos os restantes excepto o primeiro e assim sucessivamente, ocorrendo transitividade em todas as tríades de dominância (*e.g.* A>B, B>C, A>C);

(c) não-linear, quando existem estruturas circulares em que nem todas as tríades são transitivas (*e.g.* A>B>C>A).

Recentemente, Appleby (1983a) demonstrou que a probabilidade de estruturas sociais lineares se formarem devido ao acaso não é desprezível, sobretudo para grupos pequenos (*i.e.* n<6), e que este facto é agravado quando a informação sobre todas as díades do grupo é incompleta ou quando existem reversões na ordem de dominância. Torna-se assim necessário testar estatisticamente as estruturas hierárquicas descritas para a sua validação.

Para a descrição de estruturas sociais recorre-se usualmente à análise das relações diádicas de todos os elementos do grupo através da computação de matrizes sociométricas. No entanto vários autores colocaram em dúvida a relação entre o desenlace de encontros diádicos e a relação entre os indivíduos no seio de um grupo,

realçando a existência de factores de grupo (Chase, 1980, 1985; Francis, 1988; Nelissen, 1985). Uma evidência deste fenómeno é nos dada pelo recente estudo de Dugatkin *et al.* (1994) sobre a replicabilidade das hierarquias de dominância em baratas. Estes autores analisaram o que aconteceria se um grupo fosse desfeito e subsequentemente restabelecido. Em 6 de 11 grupos as hierarquias formadas coincidiram com as que existiam previamente, sendo diferentes nos restantes 5 grupos.

Numa tentativa de apresentar um modelo de análise de estruturas sociais alternativo à análise de díades, Chase (1980, 1982, 1985, 1986) propôs o modelo triádico de dominância ("jig-saw model"). Segundo este autor a dominância seria uma propriedade emergente das interacções de tríades e não de díades. As interacções de uma tríade possuem quatro possibilidades, que dependem de o animal que iniciou ou que recebeu o primeiro acto agonístico, atacar ou ser atacado pelo terceiro elemento da tríade. Num estudo empírico com grupos de galinhas, Chase (1985) detectou a predominância de relações triádicas transitivas, *i.e.* duplos ataques ou duplas derrotas, o que segundo ele levaria à emergência de hierarquias lineares em grupos de maiores dimensões. Trabalhos de outros autores confirmaram a existência deste padrão transitivo em tríades de indivíduos (*e.g.* Mendoza e Barchas, 1983; Barchas e Mendoza, 1984; Eaton, 1984; Nelissen, 1990).

Esta aproximação ao estudo das estruturas hierárquicas conheceu sérios ataques. Appleby (1985) perguntou-se como o modelo de Chase poderia produzir um padrão linear num grupo de grandes dimensões. Para exemplificar, Appleby (1985) colocou em evidência que mesmo num grupo de 10 indivíduos existem 120 tríades possíveis e que quaisquer indivíduo poderia pertencer a 36 destas tríades, não tendo Chase explicado como o seu modelo, aplicado a uma tríade, poderia ser expandido para esta situação. Numa resposta a esta crítica Chase e Rohwer (1987) desenvolveram este modelo para grupos de dimensão ilimitada, tendo-o testado com grupos de pardais de 12 a 17 indivíduos com bons resultados. No entanto mais dados empíricos serão necessários para uma validação desta aproximação.

Uma outra crítica ao modelo de Chase prende-se com o facto da existência de relações transitivas em grupos de três animais poder ser esperada devido à existência de diferenças comportamentais individuais ou de características que se correlacionem com a probabilidade que um indivíduo tem de vencer ou de perder um encontro agonístico (Slater, 1986). Estas críticas, conjuntamente com a obtenção de dados empíricos discordantes com o modelo (*e.g.* Strayer, 1989 *in* Archer 1992; Nelissen, 1990), levam a que a análise das relações diádicas nos grupos ainda continue a ser o principal instrumento de análise de estruturas sociais disponível.

O estudo da dominância social em Teleósteos remonta ao final dos anos 30 com os trabalhos de Noble e colaboradores (*e.g.* Noble e Curtis, 1939; Noble e Borne, 1940).

No entanto este tipo de estudos não é muito frequente em Teleósteos (com algumas excepções: Braddock, 1945, 1949; Greenberg, 1947; Braddock e Braddock, 1955; Frey e Miller, 1968, 1972; Myrberg, 1972; Barlow e Ballin, 1976; Nelissen, 1985; Fernö, 1987; Andries e Nelissen, 1990) e a maioria dos estudos realizados analisam a dominância em pares de indivíduos, averiguando quais os factores que influenciam as relações de dominância (*e.g.* Thines e Heuts, 1968; Zayan, 1974, 1975; Figler *et al.*, 1975; Beaugrand e Zayan, 1985; Barlow *et al.*, 1986; Beacham e Newman, 1987; Nelissen e Andries, 1988; Wazlavek e Figler, 1989; Beaugrand *et al.*, 1991). No entanto, a relação de dominância existente entre dois animais pode ser alterada se este par se encontrar num grupo de conspecíficos, devido à existência de "factores de grupo" (*sensu* Nelissen, 1985).

Baerends e Baerends van Roon (1950) no seu trabalho clássico sobre o comportamento dos peixes Ciclídeos distinguiram três padrões básicos de relações sociais: territorialidade, hierarquias de dominância e cardumes. Estes autores defenderam que mais do que um destes padrões podiam ocorrer simultaneamente num determinado grupo, variando as relações sociais entre os indivíduos, com o sexo, o estado de maturação sexual e a idade, entre outros factores. Por outro lado, territorialidade e dominância social não são fenómenos mutuamente exclusivos (*e.g.* Myrberg, 1972; Fernö, 1987). Oberski e Wilson (1991) numa revisão da literatura em Aves chegam mesmo a defender que os territórios são apenas o extremo de um *continuum* de formas de dominância espacial ("site-related dominance", *i.e.* variação espacial do desenlace de interacções agonísticas entre dois indivíduos).

Nos Ciclídeos que nidificam em "leks", como é o caso de *Oreochromis mossambicus*, a existência de relações de dominância entre os machos territoriais de uma dada arena afecta fortemente o sucesso reprodutor dos indivíduos, ocupando os machos dominantes as posições mais centrais na arena, as quais são por sua vez preferidas pelas fêmeas (McKaye *et al.*, 1990, McKaye, 1991; Rossiter, 1992), o que aliás é comum entre espécies com este tipo de sistema de acasalamento (para uma revisão para outros grupos de Vertebrados ver Andersson, 1994).

Apesar das implicações biológicas das relações de dominância em grupos de Ciclídeos existem poucos estudos disponíveis (Barlow e Ballin, 1976; Fernö, 1987), centrando-se grande parte dos trabalhos em espécies de Mbuna (Nelissen, 1985, 1990; Nelissen e Andries, 1988; Andries e Nelissen, 1990).

O presente capítulo é um estudo dos padrões de interacções sociais que ocorrem em grupos heterossexuais cativos de *O. mossambicus* durante o período da maturação sexual. Decidiu-se estudar os grupos de peixes nesta fase do seu ciclo de vida, uma vez que é um período no qual os territórios dos machos começam a ser estabelecidos e se verifica uma segregação espacial entre os sexos. Assim, o estudo das interacções que ocorrem nesta fase podem revelar processos que modelam as estruturas sociais dos grupos de adultos.

7.2. MÉTODOS

Numa primeira fase do estudo da organização social dos grupos em cativeiro decidiu-se estudar pormenorizadamente a estrutura dos grupos no que diz respeito à formação de hierarquias de dominância e à dinâmica das interacções sociais entre os indivíduos que compõem um grupo.

Os dados apresentados neste capítulo dizem respeito ao estudo 1 (ver capítulo 5).

Para estudar a estrutura social dos grupos em cativeiro, analisaram-se as interacções sociais (SIM, AAI e ABI) entre cada um dos pares de indivíduos de cada grupo. A partir destas interacções construíram-se matrizes sociométricas, nas quais cada célula representa o número de vezes que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna. Após a análise das relações entre cada díade, a matriz é reordenada segundo uma ordem hierárquica, de acordo com o seguinte procedimento:

(a) para cada par de indivíduos A e B, determina-se qual é o dominante (*e.g.* A domina B se o número de vezes que A suplantou B é superior ao número de vezes que B suplantou A, *i.e.* célula (A,B) > célula (B,A));

(b) aquele que é dominante recebe uma pontuação de 1 e o subordinado -1. No caso de empate, ou de não ocorrerem interacções na díade, ambos recebem a pontuação 0;

(c) somam-se as pontuações de cada indivíduo, e ordenam-se os indivíduos na matriz de acordo com as suas pontuações totais;

(d) a ordem entre dois indivíduos adjacentes na matriz é revertida se a relação de dominância entre eles não corresponder à ordem encontrada pelas pontuações individuais (Roberts, 1990; De Vries *et al.*, 1993).

As matrizes sociométricas foram testadas segundo dois procedimentos:

(a) Teste g de independência - Para se avaliar o desvio dos dados sociométricos em relação ao que seria de esperar se as interacções entre os indivíduos ocorressem ao acaso aplicou-se o teste g de independência a cada uma das matrizes

sociométricas. Sendo O o valor observado e E o esperado para uma determinada célula da matriz o valor de g é calculado segundo a fórmula (Everitt, 1992):

$$g = 2 \Sigma O \log (O/E)$$

, com (L-1)(C-1) graus de liberdade, sendo que L = número de linhas e C = número de colunas.

Devido ao facto de as matrizes sociométricas conterem zeros estruturais (*i.e.* os valores na diagonal principal) o cálculo das frequências esperadas foi corrigido de acordo com o método proposto por Lemon e Chatfield (1971), o qual constitui uma aproximação aos métodos iterativos descritos por Everitt (1992) para tabelas de média e grande dimensão:

$$E_{ij} = n_{i*} n_{*j} / (n_{**} - n_{j*})$$

, em que:
n_{i*} = total da linha do elemento i;
n_{*j} = total de coluna do elemento j;
n_{**} = grande total;
n_{j*} = total de linha do elemento j.

(b) Teste g de simetria - Com o objectivo de se avaliar se o padrão global de interacções diádicas é assimétrico ou não, *i.e.* se os valores acima da diagonal principal diferem significativamente daqueles que se encontram abaixo dela, calculou-se o g de simetria para as matrizes sociométricas segundo a formula (Everitt, 1992):

$$g = \Sigma (O_{ij} - O_{ji})^2 / (O_{ij} + O_{ji})$$

, com 1/2 L (L-1) graus de liberdade.

Para caracterizar a estrutura social de cada grupo foram calculadas, a partir das respectivas matrizes sociométricas, as seguintes variáveis:

(a) índice de linearidade de Landau (h) para cada grupo;

(b) número de tríades circulares (d) de cada grupo;

(c) índice de dominância (V/V+D) para cada indivíduo de cada grupo;

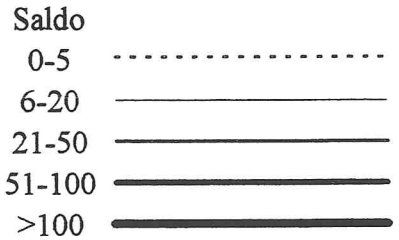
(d) Quem inicia as interacções? Para cada grupo foi contabilizado o número de interacções iniciadas pelo elemento dominante da díade e o número de interacções

iniciadas pelo elemento subordinado. Utilizou-se um teste de $\chi 2$ de aderência (Sokal e Rohlf, 1987) para se testar o desvio da proporção de interacções iniciadas por cada um dos elementos das díades (dominante vs. subordinado) em relação ao que seria de esperar se ambos os elementos das díades tivessem a mesma probabilidade de iniciar as interacções agonísticas.

São ainda apresentadas para cada grupo as seguintes medidas descritivas: número total de interacções, a percentagem de relações unidireccionais, a percentagem de relações nulas (De Vries *et al.*, 1993), e a percentagem de interacções simétricas (SIM), assimétricas de alta intensidade (AAI) e assimétricas de baixa intensidade (ABI).

Sociogramas

Para cada um dos grupos é apresentado um sociograma, no qual estão representados através de setas os saldos (*i.e.* as dadas menos as recebidas) das interacções agonísticas entre cada par de organismos que compõem o grupo (seta no sentido do dominante para o subordinado). A magnitude dos saldos é expressa pela espessura das setas de acordo com a seguinte escala:



O sexo dos indivíduos é indicado pelas caixas, sendo os machos representados por quadrados e as fêmeas por círculos.

Preditores da dominância social

Para se avaliar os efeitos do tamanho corporal relativo e do sexo na posição hierárquica dos indivíduos utilizou-se uma análise de variância de dois factores. Para tal os indivíduos foram classificados em duas categorias em relação ao sexo (machos vs. fêmeas) e em três categorias relativas de tamanho (pequenos vs. médios vs.

grandes). Para cada grupo os dois indivíduos maiores (*i.e.* com comprimento standard mais elevado) são classificados como grandes, os dois mais pequenos como pequenos e os restantes dois como médios.

Densidade de interacções

Com base nas matrizes sociométricas foi calculado para as díades de cada grupo uma medida de associação agonística (S) entre os indivíduos, que expressa a importância relativa das interacções agonísticas da díade face ao total das interacções agonísticas em que cada um dos elementos do par participou (coeficiente de Jaccard; Aldenderfer e Blashfield, 1984):

$$S = AB / (AB + Ab + aB)$$

, em que:

AB = nº de interacções agonísticas entre A e B.
Ab = nº de interacções agonísticas em que A participou e B não.
aB = nº de interacções agonísticas em que B participou e A não.

Com base nesta medida de associação entre os indivíduos foram construídos dendrogramas para cada um dos grupos, através do método de agrupamento UPGMA ("unweighted pair-grouping method of aglomeration") da análise de clusters, uma vez que representa um compromisso entre o método de "single linkage", mais englobante na construção dos agrupamentos (*i.e.* "clusters") e o método de "complete linkage" mais restritivo (Sneath e Sokal, 1973; Aldenderfer e Blashfield, 1984).

Na análise destes dendrogramas deve ser tido em conta que o agrupamento de indivíduos revela não só uma associação em termos de interacções agonísticas entre eles (Morgan *et al.*, 1975) mas também que os elementos de um agrupamento partilham o mesmo perfil de interacções agonísticas, *i.e.* interagem em proporções semelhantes com os mesmos elementos.

Análise da rede de interacções

Para se analisar a rede de interacções dos grupos investigaram-se os factores: sexo dos participantes (macho-macho, macho-fêmea, fêmea-fêmea), a sua posição hierárquica (1, 2, ..., 6) e a distância hierárquica (*sensu* De Waal, 1991; 1, 2, ..., 5) utilizando uma estatística de simulação para o teste de aderência (ADERSIM).

As frequências esperadas (E_i) para cada classe, seguindo um modelo aleatório, foram calculadas de acordo com a fórmula:

$$E_i = n\, d_i / D$$

, em que:
n = número total de interacções (*i.e.* a soma dos valores observados para todas as classes);
d_i = número de díades possíveis para a classe i;
D = Número total de díades do grupo.

Por exemplo, para um grupo de 6 indivíduos com uma proporção dos sexos de 3:3 (machos: fêmeas) e com um total de 10 interacções observadas, seriam calculadas as seguintes frequências esperadas para cada classe:

$$E_{\text{macho-macho}} = 10 \times 3 / 15 = 2$$

$$E_{\text{fêmea-fêmea}} = 10 \times 3 / 15 = 2$$

$$E_{\text{macho-fêmea}} = 10 \times 9 / 15 = 6$$

7.3. RESULTADOS

7.3.1. Hierarquias de Dominância

Para cada grupo são apresentadas as matrizes sociométricas (tabela 7.1 a 7.8) e os sociogramas (figura 7.1 a 7.8) que ilustram as relações entre os indivíduos.

Com base nas matrizes sociométricas de cada grupo foi construída a tabela 7.9 na qual se apresenta a ordenação hierárquica dos indivíduos nos grupos de acordo com o processo proposto por De Vries *et al.* (1993, ver secção 7.2). A partir desta tabela pode-se concluir que os grupos apresentam hierarquias lineares transitivas, ocorrrendo no entanto alguns empates nas posições hierárquicas entre indivíduos de estatuto intermédio e baixo.

Tabela 7.1. Matriz sociométrica reordenada do grupo 1. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	A	C	B	D	E	F	Total vitórias	Total derrotas
A	-	90	104	49	47	71	361	2
C		-	11	27	26	49	113	98
B	1	5	-	8	2	10	26	119
D		2	1	-	8	5	16	84
E	1	1	2		-	3	7	88
F			1		2	-	3	138

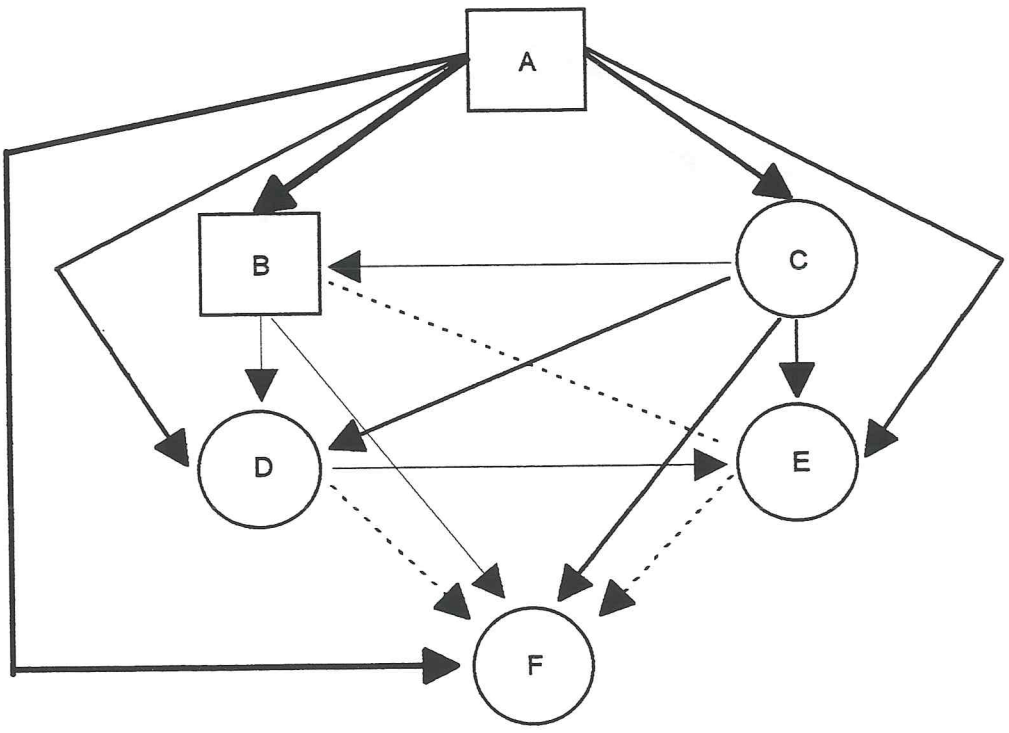


Figura 7.1. Sociograma do grupo 1.

Tabela 7.2. Matriz sociométrica reordenada do grupo 2. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	B	A	E	F	D	C	Total vitórias	Total derrotas
B	-	86	120	111	24	22	363	4
A	2	-	18	33	11	12	76	102
E		7	-	27	15	16	65	161
F	2	7	15	-	9	18	51	180
D		2		3	-	4	9	61
C			8	6	2	-	16	72

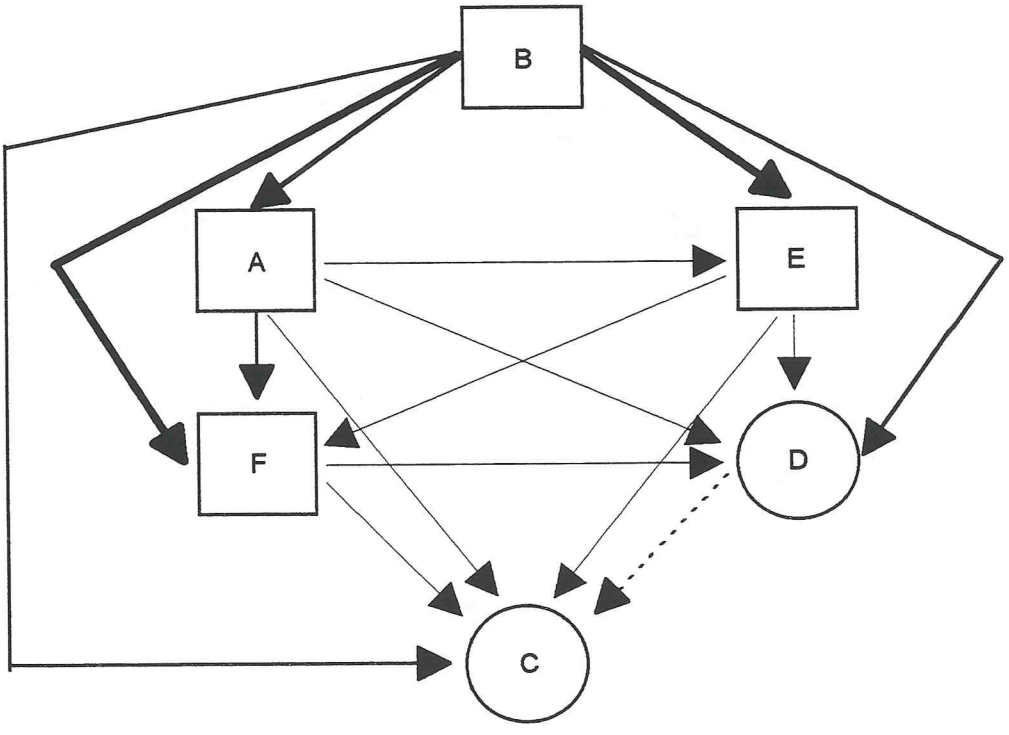


Figura 7.2. Sociograma do grupo 2.

Tabela 7.3. Matriz sociométrica reordenada do grupo 3. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	C	B	A	D	Total vitórias	Total derrotas
C	-	190	246	120	556	8
B	1	-	6	12	19	195
A	7	5	-	11	23	253
D			1	-	1	143

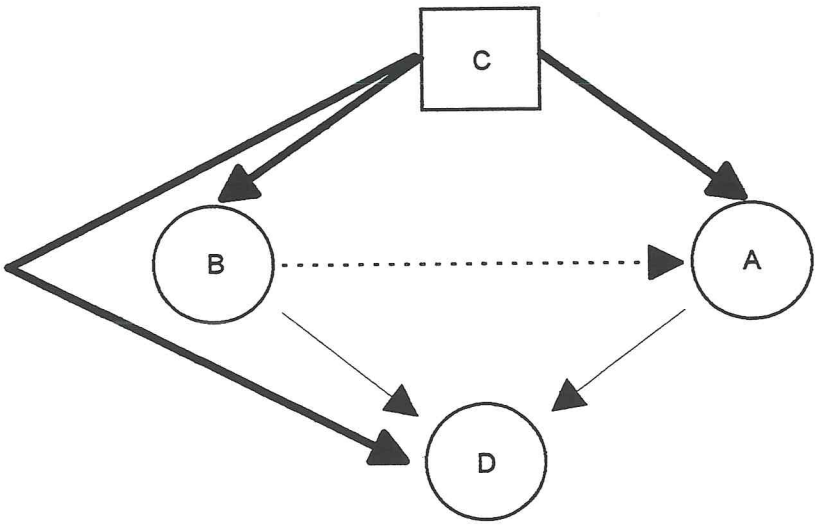


Figura 7.3. Sociograma do grupo 3.

Tabela 7.4. Matriz sociométrica reordenada do grupo 4. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	A	C	B	E	D	F	Total vitórias	Total derrotas
A	-	109	135	106	82	59	491	9
C	3	-	25	35	28	26	117	122
B	4	1	-	31	13	11	60	187
E	2	12	25	-	19	12	70	173
D				1	-	2	3	142
F			2			-	2	110

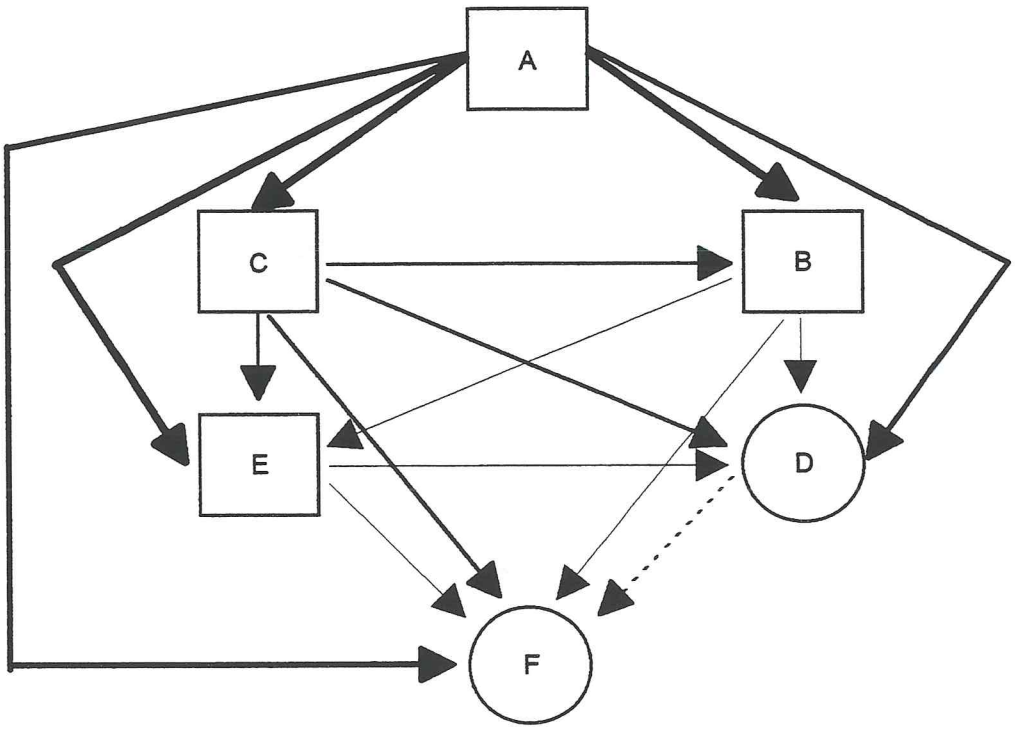


Figura 7.4. Sociograma do grupo 4.

Tabela 7.5. Matriz sociométrica reordenada do grupo 5. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	A	D	C	B	F	E	Total vitórias	Total derrotas
A	-	2	3	9	3	2	19	3
D		-	2	2	4	1	9	6
C	1	2	-	4			7	7
B	2	2	2	-	4	2	12	15
F					-	1	1	11
E						-	0	5

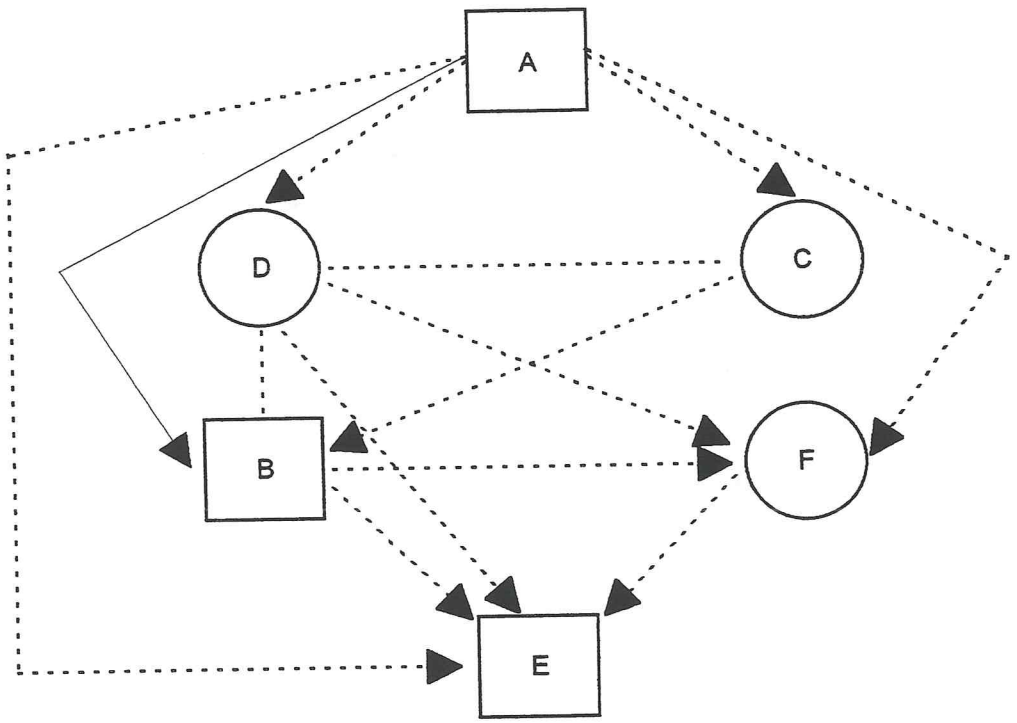


Figura 7.5. Sociograma do grupo 5.

Tabela 7.6. Matriz sociométrica reordenada do grupo 6. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	A	B	C	D	E	Total vitórias	Total derrotas
A	-	80	15	55	70	220	7
B	5	-	7	19	40	71	93
C		1	-	23	4	28	37
D	2	8	14	-	4	28	101
E		4	1	4	-	9	118

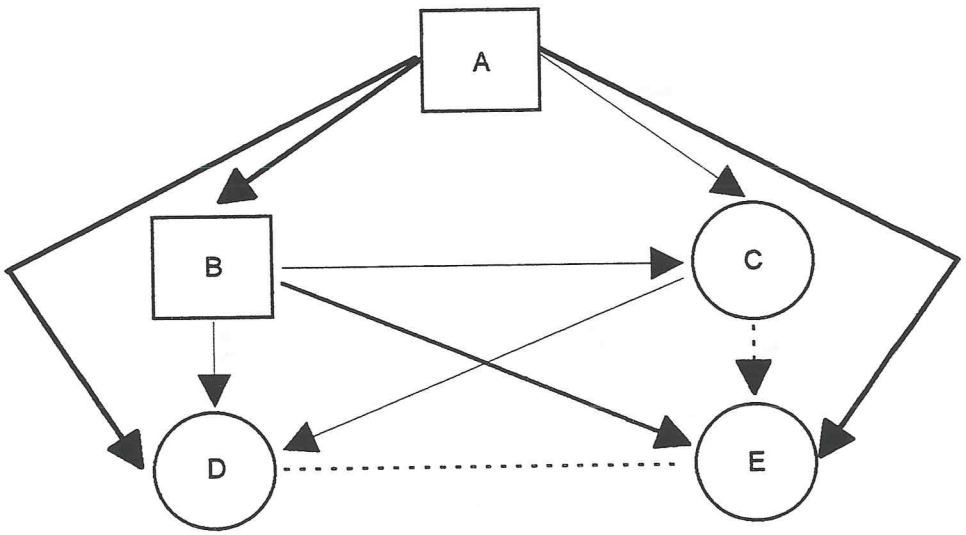


Figura 7.6. Sociograma do grupo 6.

Tabela 7.7. Matriz sociométrica reordenada do grupo 7. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	A	C	E	D	B	F	Total vitórias	Total derrotas
A	-	33	18	10	67	11	139	27
C	14	-	15	4	139	8	180	72
E	2	4	-	91	26	30	153	90
D	2	5	45	-	17	38	107	121
B	9	30	6	8	-	5	58	249
F			6	8		-	14	92

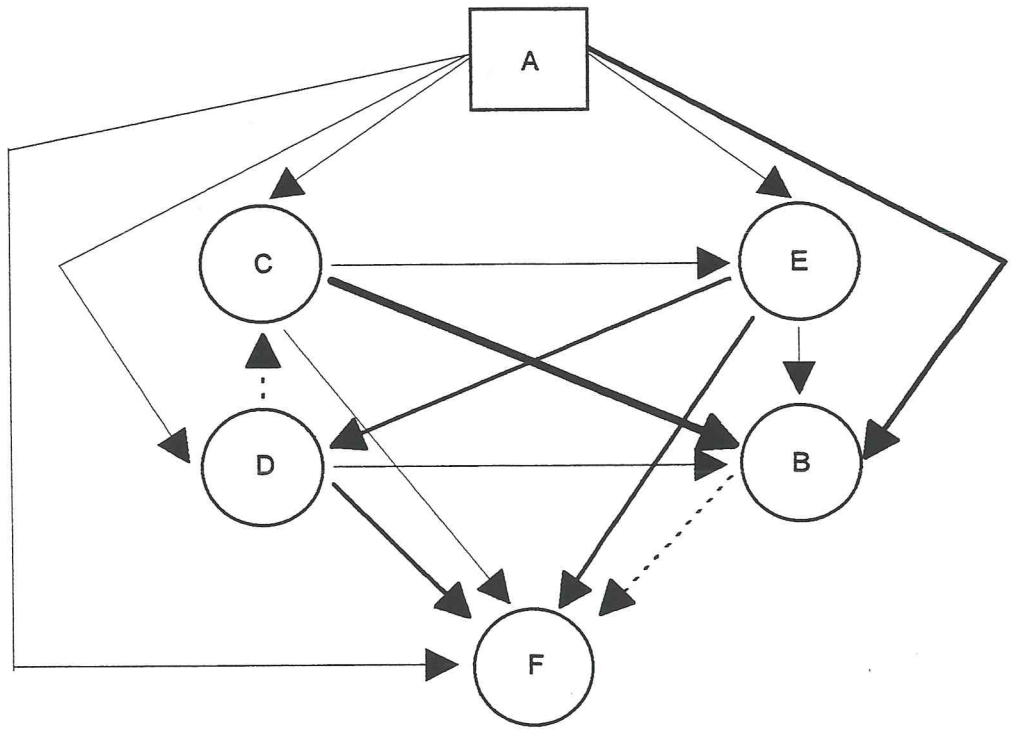


Figura 7.7. Sociograma do grupo 7.

Tabela 7.8. Matriz sociométrica reordenada do grupo 8. Cada célula representa o número de interacções agonísticas em que o indivíduo da linha suplantou o indivíduo da coluna.

	A	B	E	D	C	F	Total vitórias	Total derrotas
A	-	33	56	48	120	111	368	26
B	25	-	4	7	14	11	61	37
E			-	20	2	4	26	76
D			10	-	3	4	17	77
C	1	4	4	1	-	8	18	139
F			2	1		-	3	138

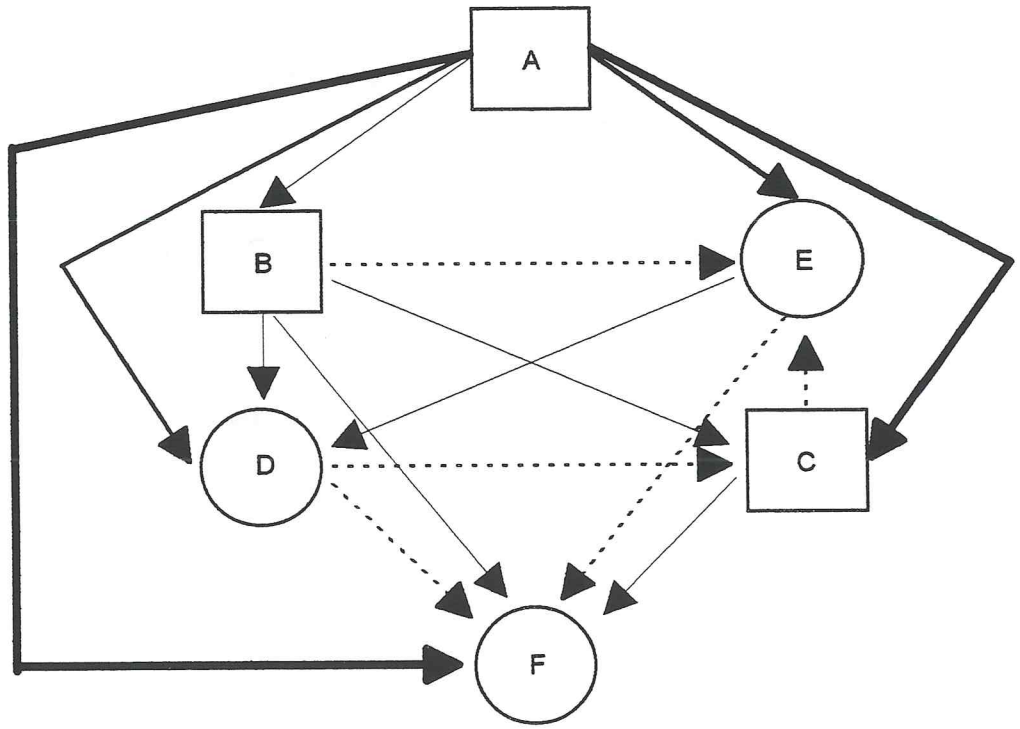


Figura 7.8. Sociograma do grupo 8.

Tabela 7.9. Ordenação dos elementos nos grupos de acordo com o algoritmo proposto por De Vries *et al.* (1993, ver secção 7.2.). (>) indica que um indivíduo suplanta outro; (=) indica que os indivíduos se encontram empatados.

Grupo	Hierarquia de dominância
1	A > C > B > D > E > F
2	B > A > E > F > D > C
3	C > B > A > D
4	A > C > B = E > D = F
5	A > D > C = B > F > E
6	A > B > C > D = E
7	A > D = C = E > B > F
8	A > B > E = D = C > F

Na tabela 7.10 apresentam-se as medidas descritivas das hierarquias de cada um dos grupos, bem como algumas medidas que podem ajudar a interpretar a estrutura social dos grupos em causa (*i.e.* proporção entre os sexos e variância das dimensões corporais dentro de cada grupo).

Tabela 7.10. (página seguinte) Caracterização sociométrica e estrutural dos grupos estudados: n = número e elementos do grupo; CV_{CS} = coeficiente de variação do comprimento standard dos elementos do grupo; h = índice de Landau; d = número de tríades circulares; g = valor do teste g de independência para a matriz de interacções de cada grupo; χ^2 de simetria = valor do teste de χ^2 para a simetria da matriz de interacções de cada grupo; Relações unívocas (%) = percentagem de díades para cada grupo nas quais só se observaram interacções unidireccionais; Relações nulas (%) = percentagem de díades para cada grupo nas quais não se observaram interacções; SIM (%) = percentagem de interacções simétricas para cada grupo; AAI (%) = percentagem de interacções assimétricas de alta intensidade para cada grupo; ABI (%) = percentagem de interacções assimétricas de baixa intensidade para cada grupo; IIDD (%) = percentagem de interacções iniciadas pelo elemento dominante da díade, com indicação da significância do teste de χ^2 de aderência. A significância de todos os testes estatísticos está indicada por asteriscos: * = $p<0.05$; ** = $p<0.01$; *** = $p<0.001$. Na última coluna da tabela apresenta-se a média e o desvio padrão para as medidas descritivas, excepto no caso da proporção dos sexos em que se apresentam os valores totais, no caso do número das interacções em que se apresenta o somatório das interacções ocorridas nos 8 grupos, e no caso de estatísticas em que se apresenta a proporção de grupos em que a hipótese nula é rejeitada.

	Grupo								
	1	2	3	4	5	6	7	8	X±σ
n	6	6	4	6	6	5	6	6	-
Proporção dos sexos (MM:FF)	2:4	4:2	1:3	4:2	3:3	2:3	1:5	3:3	20:25
CV_{CS}	0.139	0.084	0.113	0.087	0.146	0.133	0.149	0.092	0.12± 0.03
h	0.914	1.0	1.0	1.0	0.843	0.950	0.914	0.886	0.94± 0.06
d	0.75 *	0*	0*	1.75	2.5	0.25*	1*	1*	6/8
g	67.9***	77.8***	18.4*	53.8***	8.7	70.5***	419.1***	91.7***	7/8
Simetria (χ^2)	914***	811***	1089***	1161***	31.5**	465***	450***	720***	8/8
Total de interacções	526	580	599	743	48	356	651	493	3996
Interacções do α (%)	0.690	0.633	0.461	0.661	0.458	0.618	0.255	0.799	0.57± 0.17
Relações unívocas (%)	0.40	0.33	0.33	0.46	0.46	0.20	0.20	0.46	0.36± 0.11
Relações nulas (%)	0	0	0	0	0.13	0	0	0	0.02± 0.05
SIM (%)	0.032	0.057	0.045	0.092	0.166	0.084	0.072	0.085	0.08± 0.04
AAI (%)	0.797	0.814	0.688	0.766	0.271	0.680	0.737	0.789	0.69± 0.18
ABI (%)	0.171	0.129	0.267	0.143	0.563	0.236	0.191	0.126	0.23± 0.14
IIDD (%)	0.958 ***	0.916 ***	0.955 ***	0.913 ***	0.708 *	0.882 ***	0.780 ***	0.897 ***	0.88± 0.09

Uma análise da tabela 7.10 suporta as seguintes conclusões:

(a) Os grupos cativos heterossexuais de *O. mossambicus* apresentam uma rede de interacções sociais ordenada em que as interacções entre os indivíduos não ocorrem ao acaso. Em 7 de 8 grupos o valor do teste g à matriz sociométrica rejeita esta

hipótese. Assim, o desfecho das interacções entre os indivíduos é afectado pela identidade dos participantes.

(b) Em todos os grupos as matrizes reordenadas de acordo com a hierárquia estabelecida são assimétricas, o que indica que as relações diádicas seguem padrões consistentes em que um dos membros tende a suplantar consistentemente o outro.

(c) A estrutura social destes grupos pode-se caracterizar como quasi-linear (6 em 8 grupos apresentam um valor de d estatisticamente significativo a α=5%, e o índice de linearidade de Landau médio para os oito grupos é de h = 0.94±0.06) e semi-despótica uma vez que o indivíduo dominante (α) de cada grupo participa em média em mais de metade das interacções sociais do grupo (0.57±0.17).

A importância do indivíduo α na estrutura social do grupo é ainda sugerida pela correlação negativa que existe entre o número de interacções nas quais ele participa e o número de interacções assimétricas de baixa intensidade (ABI) para cada grupo (r_S = -0.76, p = 0.044, n = 8), e pela correlação positiva moderada entre o número de interacções nas quais participa e o número de interacções assimétricas de alta intensidade (AAI) para cada grupo (r_S = 0.667, p = 0.078, n = 8). Estes dados levantam a hipótese de que o comportamento agressivo do α pode ser importante para o seu estatuto, não só pelo efeito directo sobre o oponente com quem interactua, como também pelo facto de uma interacção de alta intensidade ser mais visível para os outros elementos do grupo do que uma interacção de baixa intensidade, podendo assim contribuir para a avaliação que os restantes indivíduos fazem dele, e desta forma para a manutenção do seu estatuto no seio do grupo.

(d) A estrutura social dos grupos é mantida activamente através de avaliações sucessivas de capacidades competitivas mútuas entre os pares de elementos dos grupos. Isto é-nos revelado pelo número elevado de interacções existentes nos grupos (excepto no grupo 5, que parece ser atípico), pela existência de uma única díade na qual não se registaram interacções considerando as 106 díades possíveis para todos os grupos, e ainda pela existência de uma maioria de díades (*ca.* 64%) com relações bidireccionais (*i.e.* em que o elemento subordinado da díade também vence alguns encontros). Estes dados são especialmente relevantes se tivermos em conta que os grupos haviam sido estabelecidos bastante tempo antes do período em que as observações foram realizadas.

(e) A rede de interacções dos grupos é maioritariamente constituída por interacções assimétricas de alta intensidade, observando-se em menores proporções

interacções assimétricas de baixa intensidade e ainda em menores proporções interacções simétricas. Estas diferenças são estatisticamente significativas - Friedman ANOVA: $F = 19.24$, $p << 0.001$, $n = 8$.

(f) Em todos os grupos observados, para cada díade a grande maioria das interacções agonísticas foi iniciada pelo indivíduo dominante do par (88±9%), o que difere significativamente das frequências esperadas se a dominância não afectasse a probabilidade de cada elemento da díade iniciar uma interacção. Além de que a proporção de interacções iniciadas por cada indivíduo (em função do número de interacções nas quais participou) está correlacionada positivamente com o estatuto social medido pelo índice de dominância (V/V+D) ($r_S = 0.934$, $p < 0.001$, $n = 45$).

7.3.1.1. Factores Preditores da Dominância: Sexo e Tamanho Relativo

Na tabela 7.11 são apresentados os resultados da análise de variância para testar o efeito do sexo e do tamanho relativo na posição dos indivíduos na hierarquia de dominância do grupo a que pertencem.

Tabela 7.11. Análise de variância para os efeitos sexo e tamanho relativo na posição hierárquica dos indivíduos. SQ = soma dos quadrados; GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio.

Efeitos	SQ	GL	QM	F	p
Efeitos principais	66.53	3	22.18	18.16	<0.0001
sexo	12.32	1	12.32	10.09	0.0029
tamanho	28.30	2	14.15	11.59	0.0001
Interacção entre os efeitos	5.15	2	2.58	2.11	0.1349
Resíduos	47.63	39	1.22		

Da análise da tabela 7.11 e da figura 7.9 podemos concluir que o tamanho relativo e o sexo são bons preditores do estatuto social nos grupos de *O. mossambicus*. Os machos tendem a ser dominantes em relação às fêmeas e os indivíduos grandes e médios em relação aos pequenos (teste post-hoc de "multiple range", $p< 0.05$). É ainda relevante referir que todos os indivíduos α são machos e, em 6 de 8 grupos, pertencem à classe "grande" de tamanhos relativos (nos restantes dois grupos pertencem à classe "médio").

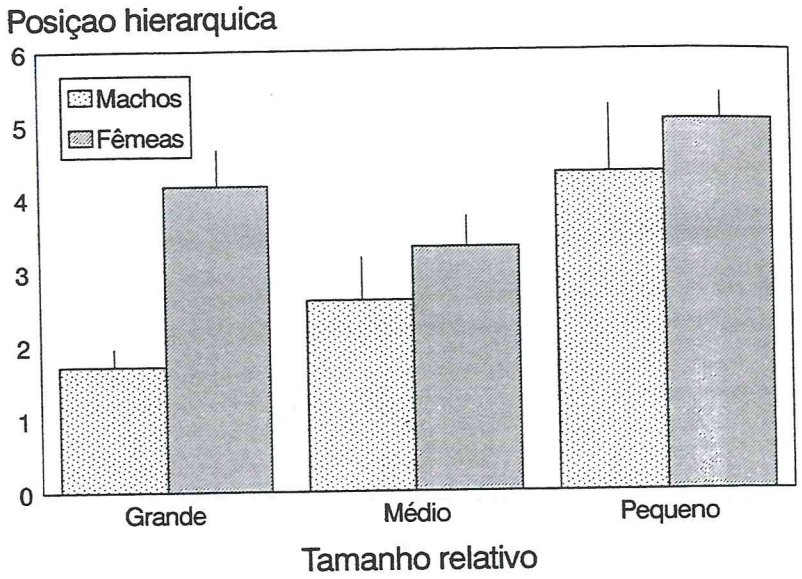


Figura 7.9. Posição hierárquica (média±dp) dos indivíduos por classes de tamanho e sexo; a posição hierárquica 1 corresponde ao indivíduo α e a posição hierárquica 6 ao indivíduo ω.

7.3.1.2. Sucesso social e posição hierárquica dos indivíduos

No presente capítulo ordenaram-se os indivíduos numa escala hierárquica após a análise da rede de interacções entre todos os indivíduos de cada grupo. No entanto, quando o nosso objectivo não for o de estudar a organização social dos grupos *per se* mas o de relacionar a dominância social com outros factores, a análise da rede de interacções de cada grupo torna-se demasiado pesada para o objectivo perseguido, - a ordenação dos indivíduos numa escala de dominância. Vários procedimentos e medidas têm sido propostos na literatura para atingir este objectivo (*e.g.* Clutton Brock *et al.*, 1979; Boyd e Silk, 1983), entre as quais o índice de dominância social V/V+D (Barlow e Ballin, 1976; Winberg *et al.*,1991; Gómez-Laplaza e Morgan, 1993). Procedeu-se assim a uma avaliação da relação existente entre este índice de dominância e a posição hierárquica de cada indivíduo no seio do seu grupo, tendo-se detectado uma correlação positiva entre as duas variáveis ($r_S = 0.963$, $p < 0.001$, $n = 45$). Este resultado é bastante interessante uma vez que nos permite utilizar o índice de dominância nos capítulos subsequentes como indicador da posição hierárquica dos indivíduos, dispensando-nos da análise das relações sociais no seio dos grupos através da construção de matrizes sociométricas. Adicionalmente uma inspecção da figura 7.10 sugere que o índice de dominância, o qual reflecte o sucesso individual de cada peixe nas interacções em que participa, tende a cair em três níveis: o indivíduo α aparece bem demarcado dos intermédios (posições 2 a 3.5) os quais por sua vez aparecem separados dos indivíduos subordinados (posição hierárquica 4 a 6).

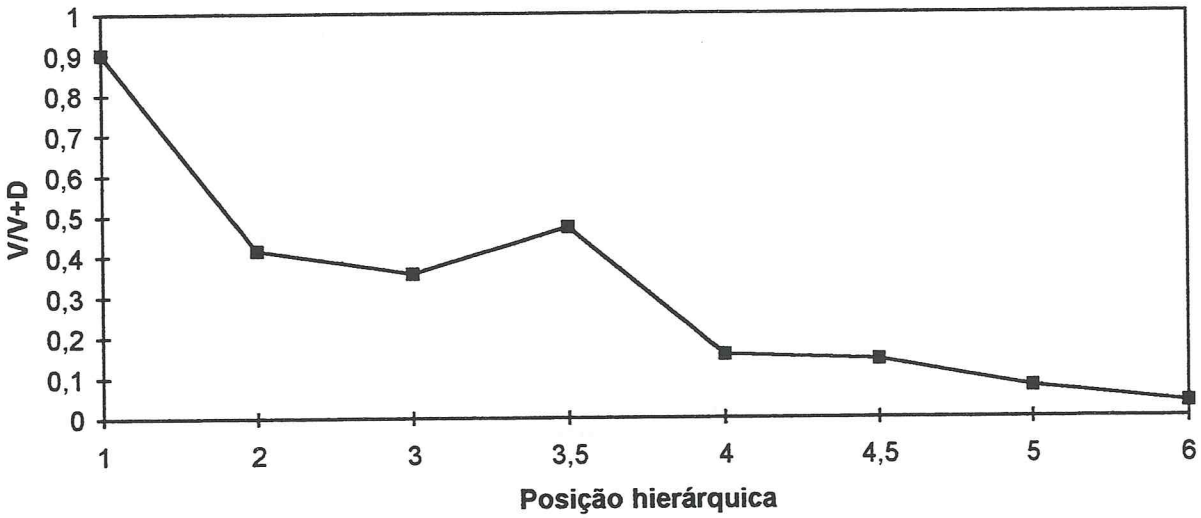


Figura 7.10. Variação do índice de dominância (V/V+D) com a posição hierárquica dos indivíduos.

7.3.2. Estrutura Social: Análise da Rede de Interacções

7.3.2.1. Análise das Densidades de Interacções

Nas figuras 7.11 a 7.18 são apresentados os dendrogramas das densidades de interacções para cada grupo.

Uma análise das figuras 7.11 a 7.18 sugere os seguintes resultados:

(a) Em 6 dos 8 grupos o macho α aparece associado a outro macho que em 5 dos 6 casos não é o indivíduo β. Ou seja, existe uma tendência para o α interagir com outro macho que não seja seu vizinho hierárquico o qual apresenta um perfil de interacções semelhante ao do α (*i.e.* as suas interacções distribuem-se pelos restantes elementos do grupo com proporções idênticas à distribuição das interacções do α).

(b) Nos restantes dois grupos o indivíduo α era o único macho no grupo. Num destes grupos o indivíduo α apresenta-se isolado na rede de interacções do grupo (figura 7.17), e no outro grupo encontra-se associado a uma fêmea que não ocupa uma posição vizinha na escala hierárquica (posição hierárquica 3) (figura 7.13).

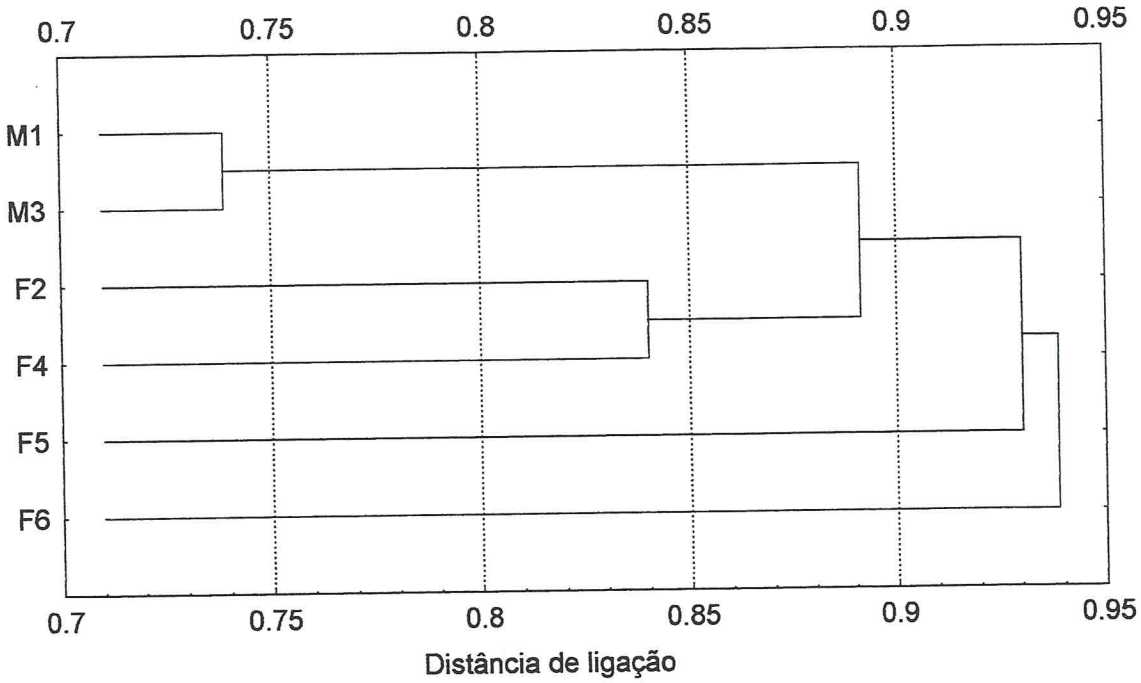


Figura 7.11. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 1. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

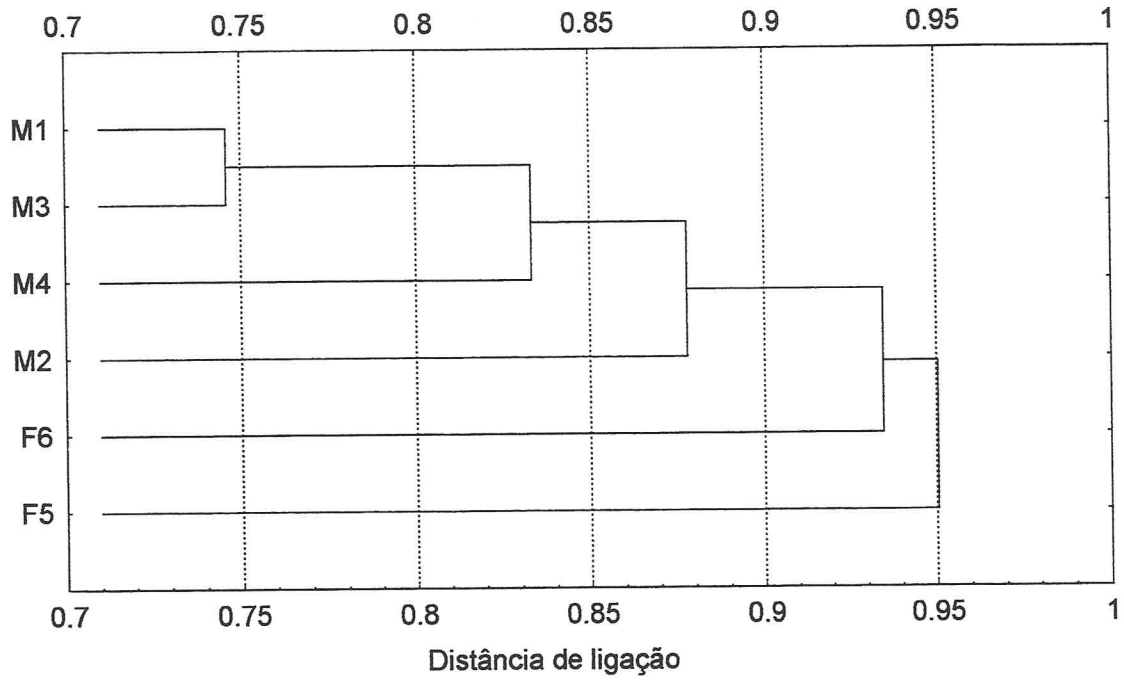


Figura 7.12. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 2. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

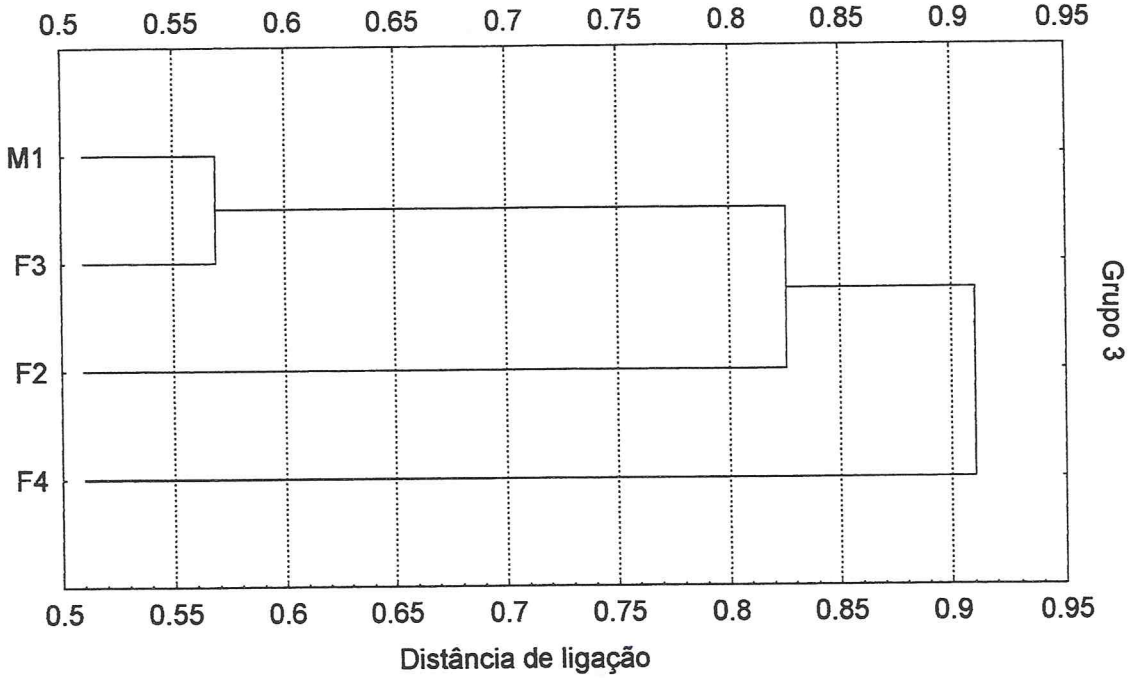


Figura 7.13. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 3. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

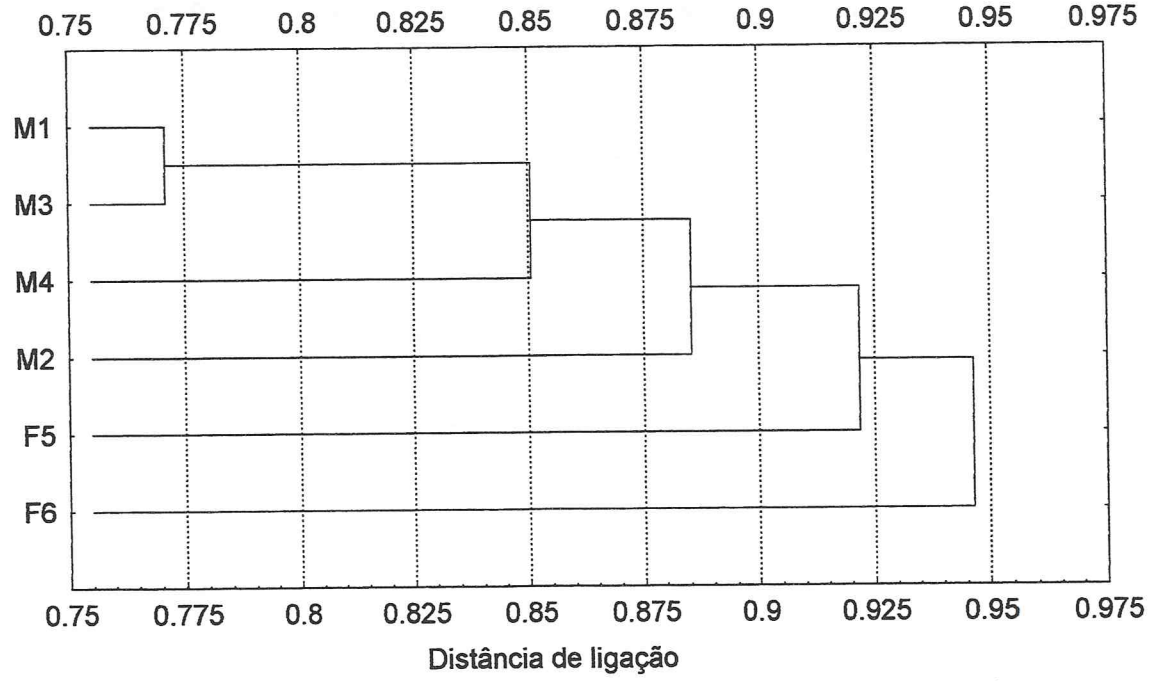


Figura 7.14. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 4. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

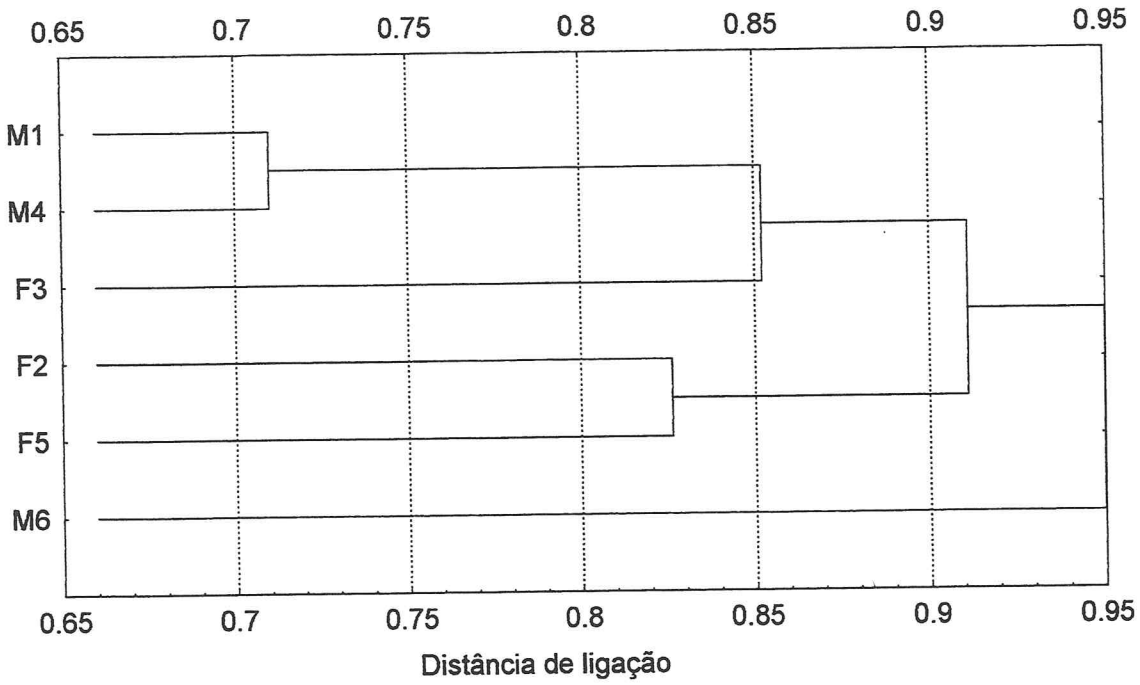


Figura 7.15. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 5. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

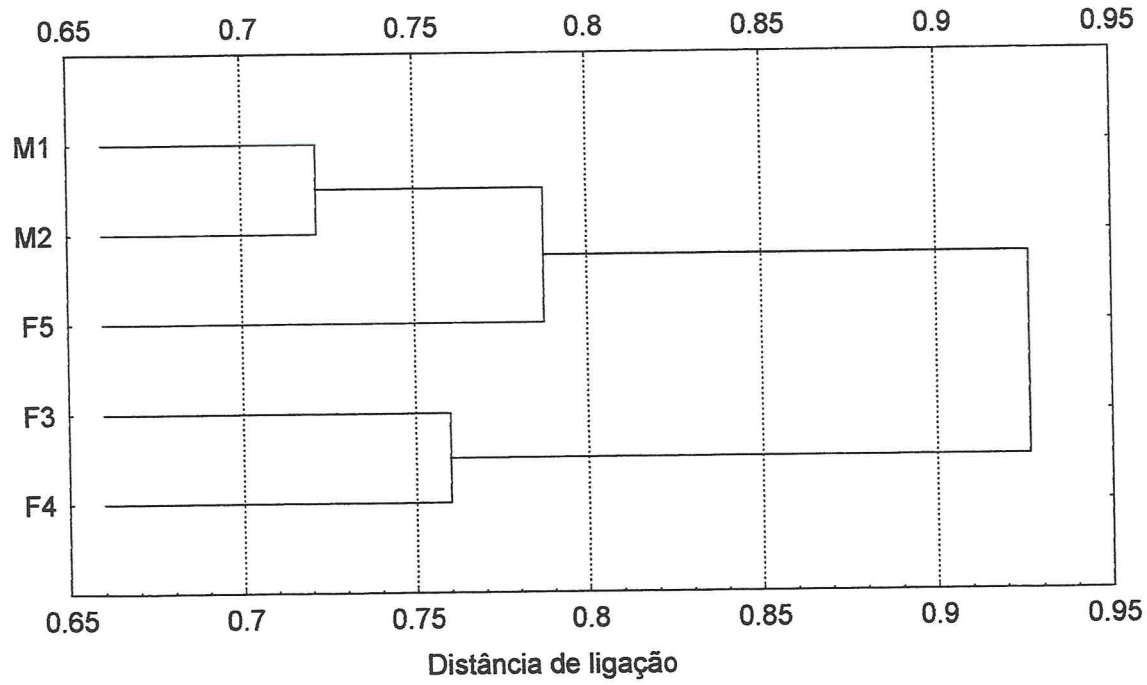


Figura 7.16. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 6. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

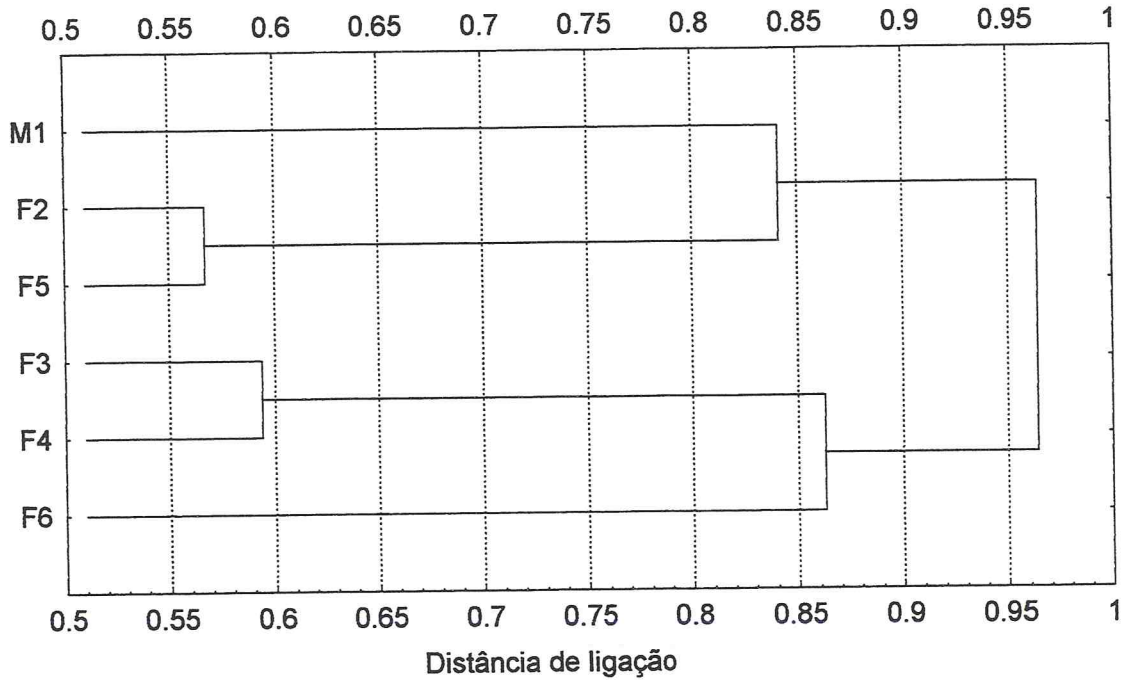


Figura 7.17. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 7. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

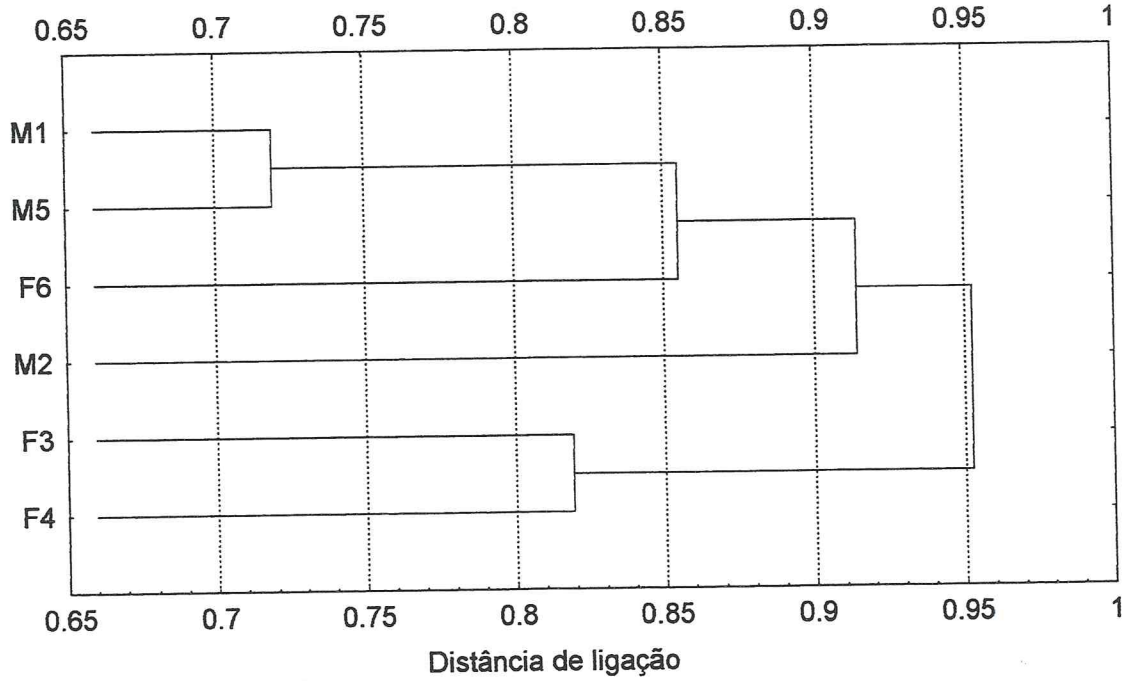


Figura 7.18. Dendrogramas das densidades de interacções entre os indivíduos do grupo 8. O sexo dos indivíduos está representado pela letra (M= macho; F= fêmea) e a posição hierárquica pelo número (1= α, 2= β, ..., n= ω).

(c) Em todos os grupos os indivíduos ω apresentam-se isolados não formando agrupamentos consistentes com nenhum outro elemento do grupo, o que sugere que evitam participar nas redes de interacções dos grupos.

(d) Dos 11 agrupamentos ("clusters") consistentes encontrados (*i.e.* em que a distância a que os indivíduos, que formam o "cluster", se separam é pelo igual ou superior à distância a que o "cluster" se encontra da ramificação precedente) 5 (*ca.* 46%) são de 2 machos, 1 (9%) agrupa dois machos e uma fêmea, 1 (9%) é composto por um macho e uma fêmea, e 4 (*ca.* 36%) são de duas fêmeas. Este resultado sugere uma segregação dos sexos na rede de interacções dos grupos aparecendo os machos associados entre si, e também, mas em menor grau, as fêmeas associadas entre si, existindo um défice de interacções intersexuais.

7.3.2.2. Interacções Agonísticas e Estrutura Social

Com vista a avaliar até que ponto o sexo dos participantes, a posição hierárquica e a distância hierárquica afectam a distribuição das interacções agonísticas no interior dos grupos, testaram-se as frequências observadas de SIM, AAI, e ABI contra modelos aleatórios para cada um dos factores. Os resultados são apresentados nas tabelas 7.12 7.13 e 7.14. Baseados nos dados apresentados nestas tabelas, cada célula para um determinado grupo (*i.e.* uma determinada classe de um determinado factor) recebeu o valor 1 se se verificaram mais interacções do que seria de esperar devido ao acaso e -1 na situação inversa. A todas as diferenças não significativas entre os valores observados e esperados foi atribuído o valor zero. Os valores para cada classe de cada factor foram somados ao longo de todos os grupos nos quais essa classe ocorre, e subsequentemente divididos pelo número de grupos, podendo assim variar entre -1 (se todos os grupos apresentarem valores significativamente menores do que os esperados para a classe em causa) e 1 (se todos os grupos apresentarem valores significativamente maiores do que os esperados para a classe em causa). Nas figuras 7.19, 7.20 e 7.21 são apresentados os dados para as variáveis consideradas. Na análise que se segue foram apenas considerados os casos para os quais o índice calculado era superior ou maior que |0.5| (*i.e.* quando metade ou mais dos grupos apresentam um determinado padrão). Em relação à análise presente pode-se argumentar que se está na presença de uma situação de re-teste, em que o mesmo conjunto de dados está a ser testado sequencialmente para factores diferentes, aumentando-se assim a probabilidade de se obterem resultados significativos devido ao acaso (erro do tipo I). No entanto, pensamos que este tipo de erro está devidamente controlado na situação presente por duas formas:

(a) embora o nível de significância utilizado seja de 5% apenas 5 de todos os valores significativos de $\chi 2$ apresentam uma probabilidade associada igual ou menor que 1%;

(b) adicionalmente, a restrição da interpretação a casos que são consistentemente significativos em pelo menos metade dos grupos analisados reduz ainda mais este tipo de erro, uma vez que a probabilidade de os efeitos do acaso se repetirem nos vários grupos é bastante menor.

Sexo dos participantes

Uma inspecção da tabela 7.12 mostra que em 7 dos 8 grupos as interacções de acordo com o sexo dos participantes não ocorrem ao acaso. Da figura 7.19 pode ser visto que a frequência das interacções entre machos está muito acima do que seria de esperar se o padrão fosse aleatório. Para a soma de todos os tipos de interacções (*i.e.* SIM + AAI + ABI) os encontros macho-fêmea e fêmea-fêmea são menos comuns do que seria de esperar. Ou seja, as interacções agonísticas dos grupos tendem a estar concentradas nas díades macho-macho. No que respeita à agressão entre fêmeas os resultados indicam que as interacções AAI e ABI são menos comuns do que o esperado, não se verificando o mesmo padrão para as interacções simétricas. A característica mais interessante das díades macho-fêmea é o baixo número de interacções simétricas nesta classe.

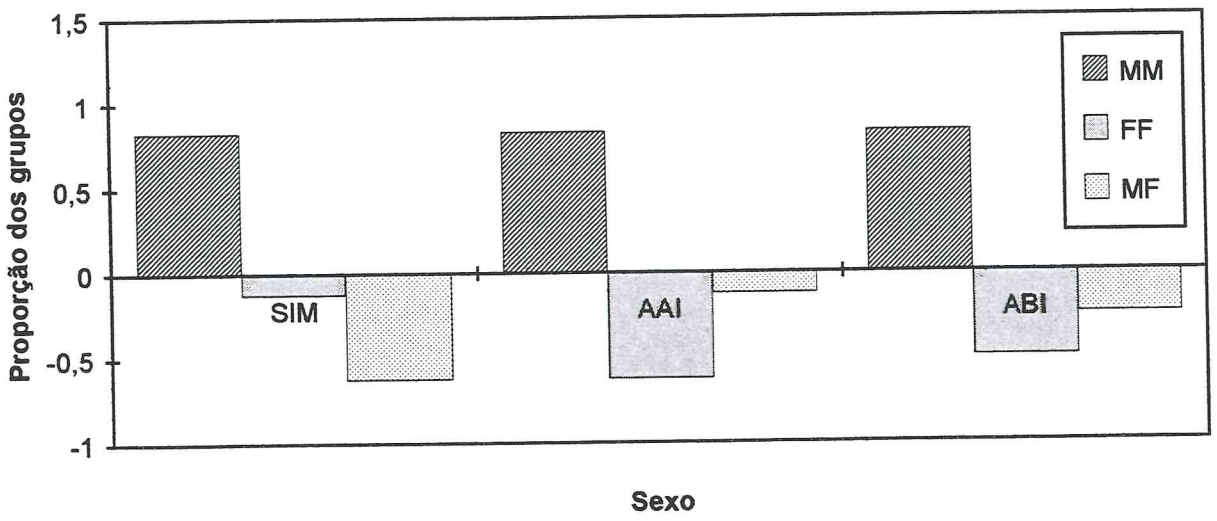


Figura 7.19. Proporção dos grupos para os quais os valores observados para cada classe de interacções (MM=macho-macho; FF= fêmea-fêmea; MF= macho-fêmea) são significativamente diferentes, maiores (+) ou menores(-), dos valores esperados.

Tabela 7.12. Estatística de simulação para o teste de aderência (ADERSIM) para o efeito do sexo dos participantes na rede de interacções agonísticas. Os resultados significativos estão marcados com um asterisco.

		Total				SIM				AHI				ALI			
Grupo	Sexo	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2
1	MM	105	35.1	<0.001*	264.1*	6	1.1	0.012*	23.8*	87	27.9	<0.001*	155.5*	12	6	0.013*	16.2*
	FF	298	210.4	<0.001*		6	6.8	0.616		97	167.6	<0.001*		20	36	<0.001*	
	MF	123	280.5	<0.001*		5	9.1	0.048*		235	223.5	0.125		68	48	0.021*	
2	MM	428	232	<0.001*	279.4*	29	13.2	<0.001*	31.6*	348	188.8	<0.001*	226.5*	51	30	<0.001*	25.1*
	FF	6	38.7	<0.001*		0	2.2	0.119		5	31.5	<0.001*		1	5	0.038*	
	MF	146	309.3	<0.001*		4	17.6	<0.001*		119	251.7	<0.001*		23	40	<0.001*	
3	MM	?	?	?	467.2*	?	?	?	23.2*	?	?	?	361.6*	?	?	?	87*
	FF	564	299.5	<0.001*		1	13.5	<0.001*		13	206	<0.001*		21	80	<0.001*	
	MF	35	299.5	<0.001*		26	13.5	<0.001*		399	206	<0.001*		139	80	<0.001*	
4	MM	488	297.2	<0.001*	219.9*	45	27.2	<0.001*	21*	377	227.6	<0.001*	175.7*	66	42.4	<0.001*	23.8*
	FF	2	49.5	<0.001*		0	4.5	0.011*		1	37.9	<0.001*		1	7.1	0.004*	
	MF	253	396.3	<0.001*		23	36.3	0.001*		191	303.5	<0.001*		39	56.5	0.001*	
5	MM	15	9.6	0.061	3.8	4	1.6	0.109	5.3	6	2.6	0.057	5.6	5	5.4	0.415	0.59
	FF	8	9.6	0.3		2	1.6	0.634		2	2.6	0.394		4	5.4	0.455	
	MF	25	28.8	0.229		2	4.8	0.128		5	7.8	0.199		18	16.2	0.287	
6	MM	85	35.6	<0.001*	99*	14	3	<0.001*	47.1*	46	24.2	<0.001*	44.8*	25	8.4	<0.001*	43.2*
	FF	50	106.8	<0.001*		9	9	0.57		32	72.6	<0.001*		9	25.2	<0.001*	
	MF	221	213.6	0.2		7	18	<0.001*		164	145.2	0.005*		50	50.4	0.626	
7	MM	?	?	?	17.9*	?	?	?	20.6*	?	?	?	26.3*	?	?	?	22.2*
	FF	485	434	<0.001*		46	31.3	<0.001*		373	320	<0.001*		66	41.3	<0.001*	
	MF	166	217	<0.001*		1	15.7	<0.001*		107	160	<0.001*		58	82.7	<0.001*	
8	MM	197	98.6	<0.001*	137.5*	25	8.4	<0.001*	48.2*	144	77.8	<0.001*	96.8*	28	12.4	<0.001*	24.6*
	FF	41	98.6	<0.001*		11	8.4	0.167		22	77.8	<0.001*		8	12.4	0.122	
	MF	255	295.8	<0.001*		6	25.2	<0.001*		223	233.4	0.164		26	37.2	0.004*	

Posição hierárquica

Da tabela 7.13 pode-se concluir que as interacções de acordo com a posição hierárquica dos indivíduos não ocorrem aleatoriamente (6/8 dos grupos para as SIM; 7/8 para as AAI e ABI; e todos os grupos para a soma dos três tipos de interacções). Uma inspecção da figura 7.20 mostra que os indivíduos α participam em mais interacções assimétricas (quer AAI quer ABI) do que o esperado. Como já foi mostrado acima este resultado vem confirmar que os indivíduos α se envolvem num número disproporcionalmente elevado de encontros agonísticos. Inversamente os indivíduos ω participam em menos interacções (para todos os três tipos, *i.e.* SIM, AAI, ABI) do que o esperado. Para as interacções ABI o penúltimo indivíduo na escala de dominância também apresenta um baixo número de interacções. Estes resultados levantam a hipótese de que os indivíduos de posição hierárquica mais baixa evitam activamente o envolvimento em interacções agonísticas.

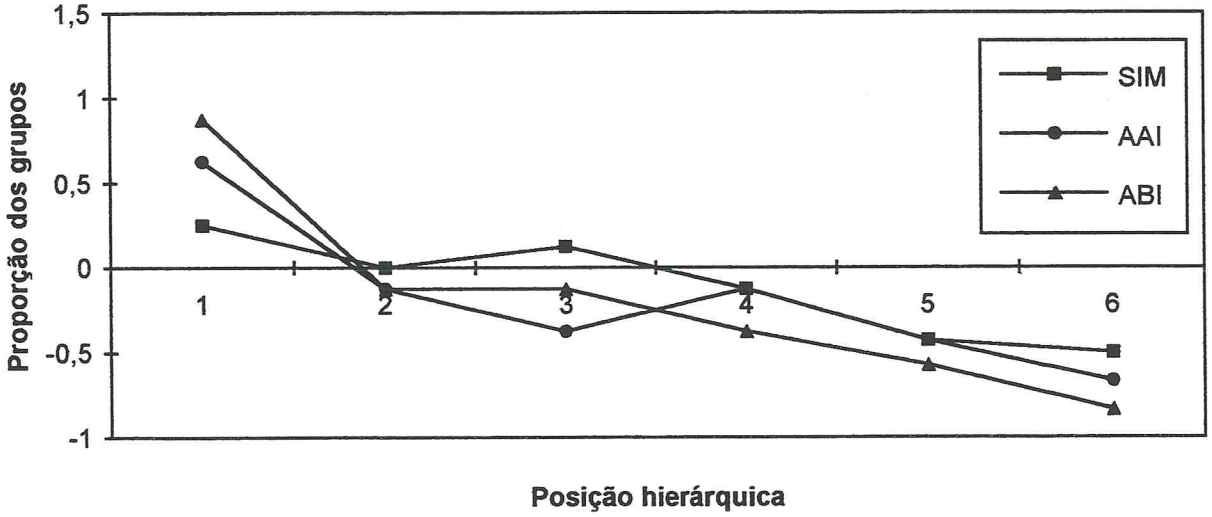


Figura 7.20. Proporção dos grupos para os quais os valores observados para cada posição hierárquica (1,2,..6) são significativamente diferentes, maiores (+) ou menores(-), dos valores esperados.

Distância hierárquica

Os dados apresentados na tabela 7.14 indicam que 6 dos 8 grupos apresentam um padrão não-aleatório de interacções agonísticas em função da distância hierárquica entre os intervenientes para SIM, AAI e a soma dos três tipos de interacções) e 4 de 8 grupos para as interacções ABI. Uma inspecção da figura 7.21 mostra que os vizinhos

Tabela 7.13. Estatística de simulação para o teste de aderência (ADERSIM) para o efeito da posição hierárquica dos participantes na rede de interacções agonísticas. Os resultados significativos estão marcados (*).

		Total				SIM				AHI				ALI			
Grupo	Posição H.	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2
1	1	363	176.3	<0.001*	291.8*	8	5.7	0.244	5.4	305	139.7	<0.001*	275.1*	50	30	0.001*	24.9*
	2	211	176.3	0.003*		7	5.7	0.402		168	139.7	0.006*		36	30	0.125	
	3	146	176.3	0.007*		9	5.7	0.15		104	139.7	<0.001*		32	30	0.378	
	4	100	176.3	<0.001*		2	5.7	0.049*		81	139.7	<0.001*		17	30	0.002*	
	5	92	176.3	<0.001*		4	5.7	0.466		69	139.7	<0.001*		19	30	0.011*	
	6	141	176.3	0.002*		4	5.7	0.398		111	139.7	0.004*		26	30	0.249	
2	1	367	193.3	<0.001*	308*	11	11	0.57	33.6*	308	157.3	<0.001*	265.8*	48	25	<0.001*	37.3*
	2	178	193.3	0.129		10	11	0.46		136	157.3	0.03*		32	25	0.069	
	3	226	193.3	0.006*		17	11	0.62		190	157.3	0.006*		19	25	0.118	
	4	231	193.3	<0.001*		24	11	<0.001*		181	157.3	0.022*		26	25	0.457	
	5	70	193.3	<0.001*		2	11	0.002*		67	157.3	<0.001*		11	25	0.001*	
	6	88	193.3	<0.001*		2	11	0.001*		72	157.3	<0.001*		14	25	0.007*	
3	1	564	299.5	<0.001*	340.6*	26	13.5	<0.001*	20.2*	399	206	<0.001*	261.5*	139	80	<0.001*	64.2*
	2	214	299.5	<0.001*		11	13.5	0.339		148	206	<0.001*		55	80	<0.001*	
	3	276	299.5	0.071		14	13.5	0.555		184	206	0.041*		78	80	0.401	
	4	144	299.5	<0.001*		3	13.5	0.002*		93	206	<0.001*		48	80	<0.001*	
4	1	600	247.7	<0.001*	374.3*	48	22.7	<0.001*	43.1*	378	189.7	<0.001*	286.8*	74	35.3	<0.001*	61.4*
	2	239	247.7	0.289		25	22.7	0.369		173	189.7	0.095		41	35.3	0.194	
	3	247	247.7	0.458		26	22.7	0.288		189	189.7	0.496		32	35.3	0.319	
	4	243	247.7	0.378		14	22.7	0.022*		205	189.7	0.133		24	35.3	0.026*	
	5	146	247.7	<0.001*		16	22.7	0.086		114	189.7	<0.001*		15	35.3	<0.001*	
	6	112	247.7	<0.001*		7	22.7	<0.001*		79	189.7	<0.001*		26	35.3	0.046*	
5	1	22	16	0.071	17.4*	5	2.7	0.161	7.3	7	4.3	0.22	8.7	10	9	0.403	6.7
	2	15	16	0.45		4	2.7	0.36		4	4.3	0.42		7	9	0.287	
	3	14	16	0.348		2	2.7	0.375		4	4.3	0.6		8	9	0.441	
	4	27	16	0.004*		5	2.7	0.173		8	4.3	0.036*		14	9	0.052	
	5	12	16	0.173		0	2.7	0.115		1	4.3	0.062		11	9	0.283	
	6	6	16	0.001*		0	2.7	0.127		2	4.3	0.205		4	9	0.038*	
6	1	227	142.4	<0.001*	98.5*	16	12	0.128	15.7*	163	96.8	<0.001*	66.9*	58	33.6	<0.001*	35.4*
	2	164	142.4	0.018*		19	12	0.029*		103	96.8	0.268		42	33.6	0.072	
	3	65	142.4	<0.001*		11	12	0.435		41	96.8	<0.001*		13	33.6	<0.001*	
	4	129	142.4	0.125		13	12	0.418		85	96.8	0.095		31	33.6	0.312	
	5	127	142.4	0.09		1	12	<0.001*		102	96.8	0.273		24	33.6	0.045*	
7	1	166	217	<0.001*	115.4*	1	15.7	<0.001*	71.8*	107	160	<0.001*	147.2*	58	41.3	0.008*	16.2*
	2	252	217	0.006*		4	15.7	<0.001*		214	160	<0.001*		34	41.3	0.089	
	3	243	217	0.025*		30	15.7	0.001*		170	160	0.211		43	41.3	0.359	
	4	228	217	0.215		37	15.7	<0.001*		163	160	0.297		38	41.3	0.344	
	5	307	217	<0.001*		5	15.7	<0.001*		252	160	<0.001*		50	41.3	0.075	
	6	106	217	<0.001*		17	15.7	0.44		64	160	<0.001*		25	41.3	0.003*	
8	1	394	164.3	<0.001*	401.9*	24	14	0.005*	19.6*	326	129.7	<0.001*	392.3*	44	20.7	<0.001*	35.4*
	2	98	164.3	<0.001*		19	14	0.11		63	129.7	<0.001*		16	20.7	0.148	
	3	102	164.3	<0.001*		14	14	0.546		77	129.7	<0.001*		11	20.7	0.006*	
	4	94	164.3	<0.001*		12	14	0.329		62	129.7	<0.001*		20	20.7	0.449	
	5	157	164.3	0.296		13	14	0.468		122	129.7	0.235		22	20.7	0.344	
	6	141	164.3	0.03*		2	14	<0.001*		128	129.7	0.455		11	20.7	0.013*	

hierárquicos apresentam menos interacções AAI e mais SIM do que seria de esperar. Este resultado confirma a conclusão já expressa acima de que, nos grupos estudados, as relações de dominância são mantidas através de avaliações frequentes das capacidades competitivas dos indivíduos.

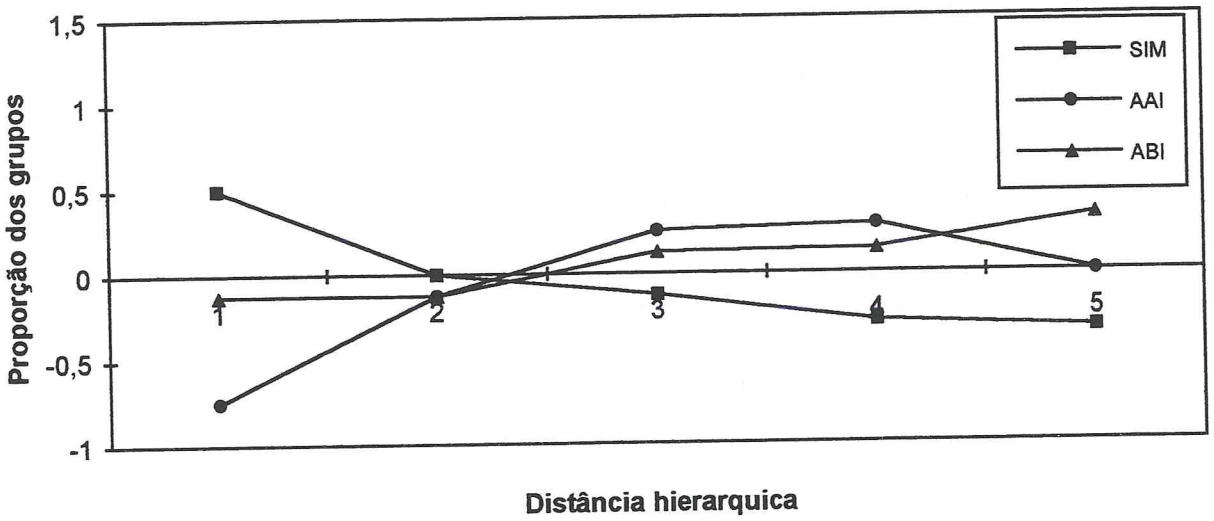


Figura 7.21. Proporção dos grupos para os quais os valores observados para cada distância hierárquica (1,2,..5) são significativamente diferentes, maiores (+) ou menores(-), dos valores esperados.

7.4. DISCUSSÃO

Não parece existir nenhuma variável que por si só expresse as várias facetas das interacções sociais de um grupo (*e.g.* Tomback *et al.*, 1989), e o não reconhecimento desta limitação tem levado a grandes confusões na literatura (ver Bernstein, 1981, Francis, 1988, e Drews, 1993). Um exemplo é a classificação das hierarquias como sendo lineares, não-lineares ou despóticas (*e.g.* Wilson, 1975). Os dados que acabaram de ser apresentados colocam em evidência que grupos cativos de *O. mossambicus* tendem a formar hierarquias lineares nas quais o indivíduo α participa num número desproporcionalmente elevado de interacções agonísticas. Este resultado, que é confirmado para outras espécies de Teleósteos, incluindo outros Ciclídeos (Beaugrand *et al.*, 1984; Nelissen 1985; Andries e Nelissen, 1990), aponta para uma estrutura em que a linearidade aparece associada a um certo grau de despotismo. Este facto não é surpreendente se se tiver em conta que as medidas de dominância têm por

Tabela 7.14. Estatística de simulação para o teste de aderência (ADERSIM) para o efeito da distância hierárquica dos participantes na rede de interacções agonísticas. Os resultados significativos estão marcados (*).

		Total				SIM				AHI				ALI			
Grupo	Posição H.	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2	O	E	P(O=E)	X^2
1	1	363	176.3	<0.001*	291.8*	8	5.7	0.244	5.4	305	139.7	<0.001*	275.1*	50	30	0.001*	24.9*
	2	211	176.3	0.003*		7	5.7	0.402		168	139.7	0.006*		36	30	0.125	
	3	145	176.3	0.007*		9	5.7	0.15		104	139.7	<0.001*		32	30	0.378	
	4	100	176.3	<0.001*		2	5.7	0.049*		81	139.7	<0.001*		17	30	0.002*	
	5	92	176.3	<0.001*		4	5.7	0.466		69	139.7	<0.001*		19	30	0.011*	
	6	141	176.3	0.002*		4	5.7	0.398		111	139.7	0.004*		26	30	0.249	
2	1	367	193.3	<0.001*	306*	11	11	0.57	33.6*	308	157.3	<0.001*	265.8*	48	25	<0.001*	37.3*
	2	178	193.3	0.129		10	11	0.46		136	157.3	0.03*		32	25	0.069	
	3	226	193.3	0.006*		17	11	0.62		190	157.3	0.006*		19	25	0.118	
	4	231	193.3	<0.001*		24	11	<0.001*		181	157.3	0.022*		26	25	0.467	
	5	70	193.3	<0.001*		2	11	0.002*		57	157.3	<0.001*		11	25	0.001*	
	6	88	193.3	<0.001*		2	11	0.001*		72	157.3	<0.001*		14	25	0.007*	
3	1	564	299.5	<0.001*	340.6*	26	13.5	<0.001*	20.2*	399	206	<0.001*	261.5*	139	80	<0.001*	64.2*
	2	214	299.5	<0.001*		11	13.5	0.339		148	206	<0.001*		55	80	<0.001*	
	3	276	299.5	0.071		14	13.5	0.555		184	206	0.041*		78	80	0.401	
	4	144	299.5	<0.001*		3	13.5	0.002*		93	206	<0.001*		48	80	<0.001*	
4	1	600	247.7	<0.001*	374.3*	48	22.7	<0.001*	43.1*	378	189.7	<0.001*	286.8*	74	35.3	<0.001*	61.4*
	2	239	247.7	0.289		25	22.7	0.369		173	189.7	0.095		41	35.3	0.194	
	3	247	247.7	0.468		26	22.7	0.288		189	189.7	0.496		32	35.3	0.319	
	4	243	247.7	0.378		14	22.7	0.022*		205	189.7	0.133		24	35.3	0.026*	
	5	146	247.7	<0.001*		16	22.7	0.086		114	189.7	<0.001*		15	35.3	<0.001*	
	6	112	247.7	<0.001*		7	22.7	<0.001*		79	189.7	<0.001*		26	35.3	0.046*	
5	1	22	16	0.071	17.4*	5	2.7	0.161	7.3	7	4.3	0.22	8.7	10	9	0.403	6.7
	2	15	16	0.45		4	2.7	0.36		4	4.3	0.42		7	9	0.287	
	3	14	16	0.348		2	2.7	0.375		4	4.3	0.6		8	9	0.441	
	4	27	16	0.004*		6	2.7	0.173		8	4.3	0.036*		14	9	0.052	
	5	12	16	0.173		0	2.7	0.115		1	4.3	0.062		11	9	0.283	
	6	6	16	0.001*		0	2.7	0.127		2	4.3	0.205		4	9	0.038*	
6	1	227	142.4	<0.001*	98.6*	16	12	0.128	15.7*	153	96.8	<0.001*	66.9*	58	33.6	<0.001*	35.4*
	2	164	142.4	0.018*		19	12	0.029*		103	96.8	0.268		42	33.6	0.072	
	3	65	142.4	<0.001*		11	12	0.435		41	96.8	<0.001*		13	33.6	<0.001*	
	4	129	142.4	0.125		13	12	0.418		85	96.8	0.095		31	33.6	0.312	
	5	127	142.4	0.09		1	12	<0.001*		102	96.8	0.273		24	33.6	0.045*	
7	1	166	217	<0.001*	115.4*	1	15.7	<0.001*	71.8*	107	160	<0.001*	147.2*	58	41.3	0.008*	16.2*
	2	252	217	0.006*		4	15.7	<0.001*		214	160	<0.001*		34	41.3	0.089	
	3	243	217	0.025*		30	15.7	0.001*		170	160	0.211		43	41.3	0.359	
	4	228	217	0.215		37	15.7	<0.001*		153	160	0.297		38	41.3	0.344	
	5	307	217	<0.001*		6	15.7	<0.001*		252	160	<0.001*		60	41.3	0.076	
	6	106	217	<0.001*		17	15.7	0.44		64	160	<0.001*		25	41.3	0.003*	
8	1	394	164.3	<0.001*	401.9*	24	14	0.005*	19.6*	326	129.7	<0.001*	392.3*	44	20.7	<0.001*	35.4*
	2	98	164.3	<0.001*		19	14	0.11		63	129.7	<0.001*		16	20.7	0.148	
	3	102	164.3	<0.001*		14	14	0.546		77	129.7	<0.001*		11	20.7	0.006*	
	4	94	164.3	<0.001*		12	14	0.329		62	129.7	<0.001*		20	20.7	0.449	
	5	157	164.3	0.296		13	14	0.468		122	129.7	0.235		22	20.7	0.344	
	6	141	164.3	0.03*		2	14	<0.001*		128	129.7	0.465		11	20.7	0.013*	

objectivo a ordenação dos indivíduos no seio de um grupo, e que não expressam o envolvimento relativo dos diferentes indivíduos no conjunto das interacções que ocorrem nesse mesmo grupo.

Enquanto que para outros Teleósteos (*e.g.* Myrberg, 1972), e inclusive para outros Ciclídeos (Nelissen, 1985; Andries e Nelissen, 1990), tem sido descrito que os indivíduos mais próximos na hierarquia de dominância (*i.e.* com uma distância hierárquica de uma unidade) interagem mais frequentemente entre si do que com outros elementos do grupo, em *O. mossambicus* observou-se a situação inversa. Os vizinhos hierárquicos, embora apresentem um número de interacções simétricas (SIM) maior do que seria de esperar, apresentam uma baixa frequência de interacções assimétricas, as quais prefazem mais de metade do número total de interacções. Assim, o valor menor do que esperado de interacções assimétricas de alta intensidade (AAI) entre vizinhos hierárquicos indica que, no conjunto das interacções, estes também se confrontaram menos do que seria de esperar se as interacções ocorressem ao acaso.

O elevado número de interacções simétricas entre vizinhos na hierarquia poderá reflectir o facto destes possuírem capacidades competitivas semelhantes, o que aumenta a probabilidade de retaliarem quando são desafiados. De explicação mais difícil é o facto dos vizinhos hierárquicos se envolverem num número de interacções agonísticas menor do que aquele que seria de esperar.

Freeman *et al.* (1992), numa análise de dados previamente publicados por Appleby (1983a) sobre interacções agonísticas em grupos de machos de veados, chegaram a resultados semelhantes. No caso destes autores, os machos de veado lutavam menos frequentemente com os seus vizinhos hierárquicos e com indivíduos mais distantes na hierarquia, do que com indivíduos situados a dois lugares de distância na hierarquia. Freeman *et al.* (1992) recorreram aos modelos de custos e benefícios desenvolvidos por Maynard Smith e Parker (1976) para explicarem os seus resultados.

Assim, eles consideraram três tipos de encontros agonísticos: a) entre vizinhos hierárquicos; b) entre pares que se encontram a dois lugares de distância; c) entre pares que se encontram a três ou mais lugares de distância. Cada um destes pares possui diferentes relações de "potenciais de manutenção de recursos" (RHP = resource holding potential, *sensu* Parker, 1974) e de recompensas do confronto. Nos pares de vizinhos hierárquicos os indivíduos possuem RHP quase iguais e portanto as probabilidades de o elemento subordinado vencer são de quase 0.5; no entanto, os benefícios para o subordinado são pequenos, pelo que ele deve evitar o conflito. Nos pares do tipo c) é de esperar que os indivíduos possuam uma grande diferença no acesso aos recursos, pelo que os subordinados teriam bastante a ganhar com o conflito. No entanto, como ambos também têm RHP muito diferentes, a probabilidade

do subordinado vencer é demasiado baixa para ele se envolver no conflito. Pelo contrário, em pares do tipo b) o indivíduo subordinado poderá ter um acesso aos recursos consideravelmente menor e simultaneamente possuir um RHP tal que lhe permite desafiar o dominante com fortes possibilidades de vencer.

Appleby (1993) reagiu a este estudo com dois tipos de críticas. Em primeiro lugar Freeman *et al.* (1992) analisaram dados de apenas um grupo de machos, e o padrão que encontraram não se aplica ao conjunto de dados disponíveis para grupos desta espécie; por outro lado, o raciocínio de Freeman *et al.* (1992) pressupõe que os indivíduos teriam que ter um conhecimento preciso não só da sua posição relativa dentro da hierarquia do grupo como também da posição de terceiros. Esta capacidade, que está demonstrada para algumas espécies de Primatas (Seyfarth, 1981; Dasser, 1988; de Waal, 1990), é posta em causa por Appleby (1993) para animais não-primatas com capacidades cognitivas mais limitadas. Appleby (1993) propõe, como modelo mais parcimonioso para animais não-primatas, que cada organismo dispõe apenas de informações que permitem classificar os restantes elementos do grupo como dominantes ou subordinados, havendo eventualmente uma categoria de indivíduos relativamente aos quais a informação sobre o seu estatuto é ambígua. Neste contexto, e se os custos da retaliação forem elevados, os indivíduos devem evitar a confrontação com outros cujo estatuto não é claro, especialmente em situações em que os actos agressivos são iniciados pelos dominantes para manter o seu estatuto (Appleby, 1983b, 1993).

Parece ser este o caso de *O. mossambicus* uma vez que são os indivíduos dominantes de cada par que iniciam um número significativamente maior dos confrontos agonísticos da díade.

Uma outra característica interessante dos grupos de *O. mossambicus* é o facto dos indivíduos ω participarem em menos interacções do que seria de esperar. Este dado pode ser devido ao facto de os indivíduos ω serem usualmente fêmeas e e de estas tenderem a ser menores e menos agressivas do que os machos nesta espécie. Seria importante investigar no futuro se as fêmeas evitam activamente a proximidade dos machos, reduzindo assim as probabilidades de confrontos agonísticos, ou se, alguns traços fenotípicos dos machos são especialmente efectivos como estímulos desencadeadores da agressão por parte de outros machos (*e.g.* coloração e/ou sons, Neil, 1964; Rodman, 1965; Lanzing, 1974).

Os indivíduos α são em todos os grupos machos e em 6 de 8 grupos os de maiores dimensões corporais, o que está de acordo com os dados disponíveis para outras espécies de Ciclídeos (Nelissen, 1985, Andries e Nelissen, 1990). Foi ainda demonstrado que as interacções agonísticas são especialmente comuns entre machos, o que também está de acordo com os dados publicados para outras espécies de

Teleósteos (*e.g. Poecilia reticulata*: Gorlick, 1976; *Xiphophorus helleri*: Beaugrand *et al.*, 1984; *P. velifera*: Bildsoe, 1988). Uma vez que em *O. mossambicus* os machos tendem a ser maiores do que as fêmeas da mesma idade (ver capítulo 10), será necessário no futuro avaliar os contributos relativos dos factores sexo e tamanho para o padrão observado. No entanto, e face ao sistema de acasalamento de *O. mossambicus*, é de esperar que uma das principais funções da agressão nesta espécie esteja relacionada com o estabelecimento e a defesa de territórios de reprodução nas arenas. É assim previsível que os comportamentos agonísticos se encontrem especialmente desenvolvidos nos machos.

O facto de as fêmeas ocuparem os lugares mais baixos das hierarquias e de interagirem menos frequentemente do que seria de esperar pode ser biologicamente relevante nesta espécie uma vez que na fase do desenvolvimento em que os grupos foram observados, logo após os primeiros sinais de maturidade sexual, os machos tendem a congregar-se e a estabelecer territórios em áreas das quais as fêmeas são excluídas, excepto quando estão prontas a desovar (Bruton e Boltt, 1975). O padrão de interacções observado nos grupos experimentais levanta a hipótese de as interacções agonísticas desempenharem um papel determinante na segregação sexual observada na natureza.

Foi ainda demonstrado que o índice de dominância (V/V+D) é um bom preditor da posição hierárquica dos indivíduos, o que permite a sua aplicação nos capítulos subsequentes como indicador do estatuto social dos indivíduos. Este índice tem a vantagem prática de ser fácil de calcular e de dispensar a análise de matrizes sociométricas para ordenar os indivíduos. Mais ainda, em organismos nos quais as interacções não são determinadas por processos cognitivos complexos, este índice poderá ser uma medida mais realista da capacidade competitiva dos indivíduos no interior dos grupos do que a sua posição hierárquica per si. Tal como já foi apontado por diversos autores (*e.g.* Bernstein, 1981; Appleby, 1993) a seriação de indivíduos em ordens de dominância é uma abstracção humana, e para muitas espécies não-primatas pode-se esperar que os padrões de interacções agonísticas se baseiem em factores de tomada de decisão muito mais simples, como seja, por exemplo, o balanço entre os efeitos de vitórias e derrotas prévias e o subsequente ajustamento dos níveis de motivação agressiva.

8.
ORGANIZAÇÃO SOCIAL DOS GRUPOS EM CATIVEIRO: II. DINÂMICA TEMPORAL DAS INTERACÇÕES SOCIAIS

8.1. INTRODUÇÃO

No capítulo precedente procurou-se descrever a organização social dos grupos de *Oreochromis mossambicus* em cativeiro, tendo-se, para o efeito, recorrido à análise das interacções sociais entre os indivíduos de cada um dos grupos num determinado momento. Segundo essa abordagem obtivemos uma imagem da estrutura social dos grupos para um momento restrito de tempo.

No presente capítulo pretende-se estudar a dinâmica temporal das estruturas sociais descritas no capítulo anterior, a dois níveis:

(a) como é que a curto prazo se estabelecem as hierarquias de dominância após a formação de um grupo, e como é que os diferentes tipos de interacções sociais variam com o tempo;

(b) averiguar se as estruturas de dominância descritas são estáveis a longo prazo, e como é que os diferentes tipos de interacções sociais variam numa escala mais ampla de tempo.

Com efeito, a maior parte dos trabalhos sobre a organização social de grupos de peixes utiliza grupos de indivíduos que já permaneciam juntos há algum tempo e em que as relações sociais já haviam estabilizado, existindo uma falta de informação sobre os processos que operam logo após a formação dos grupos (ver Chase, 1985). Estes processos de curto-prazo podem desempenhar um papel importante na dinâmica da formação dos grupos, uma vez que as avaliações que os indivíduos realizam sobre as capacidades competitivas [*i.e.* "resource holding power" (RHP), *sensu* Parker, 1974] dos outros elementos do grupo numa fase inicial podem modular os padrões subsequentes de interacções sociais, e em última análise o sucesso dos indivíduos no estabelecimento em manutenção dos seus territórios. Nelissen (1986b) demonstrou que em *Melanochromis auratus* os acontecimentos cruciais que determinam o estatuto social dos indivíduos ocorrem nas primeiras horas após a formação dos grupos.

Por outro lado, embora a literatura sobre hierarquias de dominância seja bastante extensa (para uma revisão em diferentes *taxa* ver Gauthreaux, 1978; Dewsbury, 1982; e Huntingford e Turner, 1987), existem poucos estudos sobre as variações temporais destas estruturas em animais não primatas (*e.g.* Guhl, 1968; Cain e Baenninger, 1980; Elwood e Rainey, 1983).

As tentativas para quantificar a estabilidade dos grupos sociais têm utilizado diferentes metodologias. Uma das medidas utilizadas consiste no cálculo das correlações existentes entre as posições hierárquicas dos indivíduos em dois pontos de amostragem sucessivos (*e.g.* Keiper e Sambraus, 1986). Por outro lado, Burk (1979) desenvolveu um índice de estabilidade baseado no número de reversões observadas sobre o número de reversões possíveis entre dois pontos de amostragem para um determinado grupo. Burk (1979) aplicou o seu índice a grupos de machos de grilo mantidos em laboratório e verificou que embora ocorressem estruturas lineares em todos os dias de observação, estas eram instáveis de dia para dia.

Outros autores abordaram este problema através da manipulação de grupos experimentais, testando até que ponto as hierarquias são replicadas num mesmo grupo após a sua disrupção (*i.e.* separando e reunindo de novo os elementos do grupo) (Guhl, 1953; Fishelson, 1983; Dugatkin *et al.*, 1994). Os resultados destes estudos são pouco claros, uma vez que numa proporção elevada dos casos (*i.e.* 2/3 em Galinhas, Guhl, 1953; e 4/10 em Baratas, Dugatkin *et al.*, 1994) as hierarquias não foram completamente replicadas. No entanto o que estes autores testaram é mais uma medida de resiliência do que de estabilidade.

As diferentes abordagens acima expostas levantam várias questões:

(a) A primeira diz respeito às relações entre linearidade e estabilidade. Na realidade, estas duas propriedades não estão necessariamente ligadas. Landau (1951b) baseado em considerações teóricas havia já demonstrado que as reversões de dominância em díades não levam necessariamente a mudanças na estrutura do grupo expressas na sua linearidade. Esta conclusão foi desde então suportada pela trabalho já referido de Burk (1979) em grilos, e pelo estudo de Bekoff (1977) sobre a ontogenia dos comportamentos sociais em Coiotes.

(b) O primeiro ponto conduz-nos a um segundo: se a estabilidade e a linearidade não estão necessariamente relacionados então a imagem da estrutura social de um determinado grupo pode ser afectada pela escala de tempo utilizada na amostragem.

(c) Um terceiro ponto relaciona-se com as características biológicas dos elementos que constituem os grupos. Quando os indivíduos atravessam períodos de rápidas mudanças ontogenéticas, como por exemplo durante a maturação sexual, as relações entre os indivíduos podem-se alterar rapidamente. Problemas semelhantes podem-se levantar quando os indivíduos passam por flutuações cíclicas do seu comportamento, como por exemplo com a defesa cíclica de territórios de reprodução.

(d) Por fim, é de referir que a instabilidade pode não afectar todos os indivíduos de um grupo da mesma forma. Por exemplo, Dugatkin e Wilson (1992),

num estudo com o Peixe-sol (*Lepomis macrochirus*) apresentam dados que mostram que os indivíduos dominantes têm uma posição mais estável que os subordinados.

Para tentar responder às questões acima levantadas procedemos a dois estudos:

(a) um estudo de curto-prazo, de uma semana, com observações diárias em grupos de machos adultos e sexualmente activos, para observar a dinâmica de formação de grupo (estudo 3);

(b) um estudo de longo-prazo, de oito semanas, com observações semanais em grupos heterosexuais de juvenis no início da maturação sexual, para avaliar da estabilidade e da dinâmica dos grupos num período mais amplo de tempo (estudo 2).

8.2. MÉTODOS

8.2.1. Estudo de Curto Prazo (estudo 3)

Variação temporal dos padrões de comportamento

No presente estudo foram considerados os dados para os 16 indivíduos em conjunto, tendo sido agrupadas as frequências diárias de cada categoria comportamental para o conjunto dos indivíduos. Na tentativa de detectar padrões de variação nas frequências dos diferentes comportamentos ao longo dos dias, comparou-se os valores observados para cada dia com os valores esperados se o número total de ocorrências observado estivesse igualmente distribuído pelo número de dias (*i.e.* H_0 = invariância temporal dos padrões de comportamento). Assim, o objectivo consiste em detectar potenciais casos em que, para um determinado dia, as frequências são excepcionalmente altas ou baixas em relação à frequência média. A comparação entre as frequências observadas e esperadas baseou-se num teste χ^2 de aderência utilizando estatística de simulação (ADERSIM).

Com vista ao estudo das inter-relações das actividades comportamentais e das interacções agonísticas efectuou-se uma análise de componentes principais (ACP) à matriz de correlações das seguintes nove variáveis: Nadar, Pairar, Pairar no Ninho (Pairar N), Cavar no ninho (Cavar N), Interacções agonísticas (Ago), Cortes (Sex), Ataques (Ataq), Aproximações (Aprox), e interacções simétricas (SIM). Não foram incluídas neste rol variáveis derivadas (*e.g.* linearidade das trajectórias) uma vez que este tipo de variáveis quando analizadas conjuntamente com as variáveis originais

introduzem um enviezamento na matriz de correlações, tornando impossível uma correcta interpretação dos resultados (Short e Horn, 1984).

Estabelecimento das hierarquias de dominância

Foi calculado o índice de dominância V/V+D, número de vitórias sobre o número total de interacções em que o indivíduo participou, para cada indivíduo em cada dia do estudo.

Para avaliar o estabelecimento das hierarquias de dominância foram calculadas correlações não-paramétricas (Spearman) entre as posições hierárquicas dos indivíduos entre cada um dos dias do estudo e a situação final (dia 5).

Foi utilizado o coeficiente de concordância de Kendall (Siegel e Castellan, 1988) para avaliar a consistência dos índices de dominância ao longo dos dias do estudo.

8.2.2. Estudo de Longo Prazo (estudo 2)

Variação temporal dos padrões de comportamento

Foram considerados os dados para os 48 indivíduos em conjunto, tendo sido agrupadas as frequências de cada categoria comportamental em cada semana para o conjunto dos indivíduos. Na tentativa de detectar padrões de variação nas frequências dos diferentes comportamentos ao longo das semanas, comparou-se os valores observados para cada semana com os valores esperados, se o número total de ocorrências observado estivesse igualmente distribuído pelo número de semanas (*i.e.* H_0 = invariância temporal dos padrões de comportamento). Assim, o objectivo consiste em detectar potenciais casos em que, para uma determinada semana, as frequências são excepcionalmente altas ou baixas em relação à frequência média. A comparação entre as frequências observadas e esperadas baseou-se num teste χ^2 de aderência utilizando estatística de simulação (ADERSIM).

Estabilidade das hierarquias de dominância

Foram calculados dois índices de dominância:

(a) V/V+D, número de vitórias sobre o número total de interacções em que o indivíduo participou;

(b) V-D, a diferença entre o número de vitórias e de derrotas para cada indivíduo.

Foi já demonstrado que o primeiro está altamente correlacionado com a posição hierárquica dos indivíduos determinada a partir da análise de matrizes sociométricas (ver capítulo 7). Este índice tem, no entanto, a desvantagem de gerar um número elevado de empates, quando o esforço de amostragem por indivíduo é pequeno (*i.e.* quando não se realizam amostragens focais), uma vez que os indivíduos que não vencem nenhuma interacção em que foram vistos a participar têm um V/V+D igual a zero, independentemente do número de interacções agonísticas recebidas. Para ultrapassar este problema, utilizou-se o segundo índice (V-D), uma vez que os dois índices de dominância apresentam uma correlação elevada entre eles (r_S = 0.956, $p<0.001$, n=48).

A linearidade foi medida pelo índice de linearidade de Landau (h) (Landau, 1951a), com as correcções propostas por Nelissen (1986a) para os casos de empate (ver capítulo 5). A significância estatística da linearidade das estruturas de dominância foi avaliada segundo o processo descrito por Appleby (1983a)(ver capítulo 5).

A estabilidade das estruturas de dominância, entre semanas consecutivas, foi medida através de correlações não-paramétricas (Spearman), entre as posições hierárquicas dos indivíduos na semana i e na semana i+1, e através do índice de Burk (Burk, 1979) (ver capítulo 5). A concordância entre as duas medidas de estabilidade utilizadas foi aferida através do coeficiente de concordância de Cohen (k) (Cohen, 1960).

As variações temporais das medidas de linearidade e de estabilidade foram analisadas através de um procedimento de análise de variância para dados emparelhados ("repeated measures" ANOVA).

Foi utilizada a análise de variância unifactorial ("one-way" ANOVA), seguida de um teste de comparações múltiplas (Tukey HSD), para avaliar a estabilidade relativa das diferentes posições hierárquicas. Com este objectivo, para cada indivíduo foi calculado o índice de dominância (V-D) global para as 8 semanas de observação. Baseado neste índice foi de seguida atribuída a cada indivíduo uma posição hierárquica, que variava de 1 (indivíduo α) até 6 (indivíduo ω). Foram ainda contabilizadas o número total de reversões na ordem de dominância para cada indivíduo, as quais foram utilizadas como variável dependente na ANOVA unifactorial.

Para avaliar se as reversões na ordem de dominância ocorriam diferencialmente entre vizinhos hierárquicos, ou a distâncias hierárquicas maiores do que 1, foi utilizado um teste de χ^2 de aderência. Os valores esperados foram calculados de acordo com o número de reversões possível entre indivíduos contíguos na escala de dominância e entre indivíduos a maiores distâncias nessa mesma escala.

8.3. RESULTADOS

8.3.1. Estudo de Curto Prazo

8.3.1.1. Observações Qualitativas

As observações qualitativas do comportamento sugerem que a dinâmica de formação de grupo pode ser sumarizada nas seguintes cinco fases:

Fase 1 - Imediatamente após terem sido introduzidos nos aquários experimentais, os indivíduos permanecem imóveis na coluna de água ou refugiam-se nos cantos dos aquários, não se verificando quaisquer interacções sociais. A duração desta fase varia de indivíduo para indivíduo, e pode ir de alguns segundos (*ca.* 20s) até alguns minutos.

Fase 2 - Alguns indivíduos começam a escurecer, chegando a atingir o padrão Cinzento 3 na escala de coloração (ver capítulo 6). Estes mesmos indivíduos envolvem-se em interacções agonísticas simétricas, compostas por: combates circulares, combates de bocas e exibições frontais e laterais mútuas. Em três dos quatro grupos esta fase foi protagonizada por um par de indivíduos, enquanto os restantes dois indivíduos permaneciam imóveis nos cantos do aquário ou junto à superfície. No quarto grupo três indivíduos envolveram-se neste tipo de confrontos, permanecendo o quarto elemento imóvel junto à superfície. Esta fase começou pouco tempo após a introdução dos indivíduos nos aquários (de alguns segundo a alguns minutos), e teve uma duração de 1 a 2 horas.

Fase 3 - A frequência das interacções simétricas decresceu gradualmente, tendo estas sido substituidas por interacções assimétricas de alta intensidade envolvendo ataques, perseguições e mordidas. Esta fase emergiu gradualmente da fase anterior, tendo-se iniciado poucas horas após a formação do grupo (*ca.* 2-3 h), e extendeu-se pelo primeiro dia de observação (dia 0).

Fase 4 - As interacções agonísticas assimétricas decrescem mas mantêm-se em níveis relativamente elevados, e altera-se a natureza das poucas interacçõs simétricas que se continuam a observar. Assim, passam a observar-se confrontos ritualizados entre machos territoriais vizinhos, sendo o Vaivém o elemento comportamental predominante neste tipo de interacções. Durante esta fase, os machos iniciam a escavação dos ninhos e começam a defender territórios centrados nos ninhos.

Ainda nesta fase, observam-se as primeiras sequências de corte dirigidas dos machos territoriais aos subordinados. Os machos territoriais adoptam o padrão de coloração Negro da escala de coloração (ver capítulo 6). Esta fase estende-se do dia 1 ao dia 5.

Fase 5 - Após a introdução das fêmeas nos grupos (dias 6 e 7) verifica-se um decréscimo na frequência das interacções agonísticas, acompanhada de um aumento dos comportamentos de corte que são re-direccionados para as fêmeas.

8.3.1.2. Padrões de Variação Temporal das Actividades Comportamentais

Na presente análise serão apenas tidas em conta as variáveis que foram registadas consistentemente ao longo do período de observação, tendo sido ignoradas aquelas que apenas foram observadas esporadicamente ao longo dos diferentes dias (*e.g.* roçar = "chaffing", alimentação, mordiscar a superficie). Após esta triagem, foram analisadas as seguintes actividades comportamentais: nadar, pairar, interacção agonística (AGO), pairar no ninho(Pairar N), cavar o ninho (Cavar N), e cortes (SEX). Foram ainda analisados os dados referentes à quantificação da actividade locomotora e da linearidade das trajectórias.

Nas tabelas 8.1 a 8.7 são apresentados os valores observados e esperados para as diferentes variáveis, a significância estatística da diferença encontrada e o valor de χ^2 encontrado, excepto para a linearidade das trajectórias, por esta ser uma variável derivada. Nas figuras 8.1 a 8.3 são apresentados os valores médios de cada uma das variáveis para os quatro grupos analisados, estando assinalados os valores significativamente altos e os significativamente baixos com uma seta.

Comportamento Locomotor

Verifica-se que nenhuma das variáveis que expressam o comportamento locomotor seguem um padrão uniforme ao longo dos 7 dias de observação (ver tabelas 8.1, 8.2 e 8.3, e figura 8.1).

A partir da figura 8.1 pode-se observar que o Nadar decresce entre o dia 0 e o dia 5, enquanto o Pairar aumenta neste período de tempo. A este respeito, é de referir que os valores significativamente baixos de Nadar se observam nos dias 1, 3 e 5, e apenas um significativamente elevado no dia 2. Em relação ao Pairar apenas se verifica um valor significativamente baixo no dia 1, e um significativamente alto no dia 5.

Após a introdução das fêmeas no dia 6 observa-se um aumento significativo do Nadar (nos dias 6 e 7), não se observando alterações significativas em relação ao

Instituto Superior de Psicologia Aplicada
BIBLIOTECA

Pairar. Este aumento do Nadar poderá estar associado a um aumento das cortes às fêmeas que envolvem a saída mais frequente dos machos territoriais para fora dos ninhos.

Tabela 8.1. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento Nadar. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	23	32	0.039*	47.18*
1	44	32	0.021*	
2	19	32	0.003*	
3	36	32	0.247	
4	25	32	0.110	
5	11	32	<0.001*	
6	53	32	<0.001*	
7	45	32	0.006*	

Tabela 8.2. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento Pairar. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	40	55.375	0.011*	26.72*
1	45	55.375	0.087	
2	68	55.375	0.058	
3	45	55.375	0.079	
4	66	55.375	0.075	
5	81	55.375	<0.001*	
6	52	55.375	0.376	
7	46	55.375	0.115	

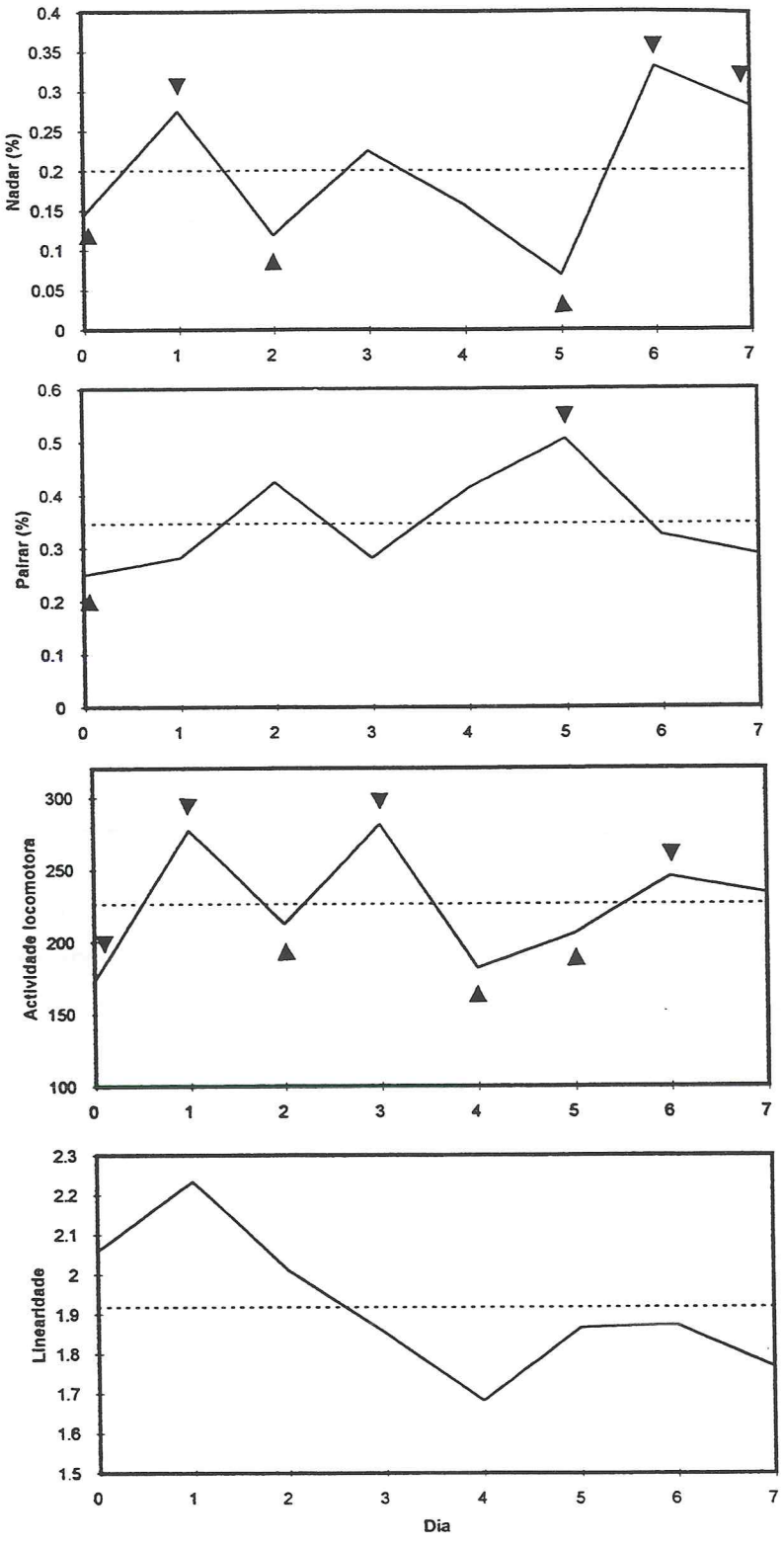


Figura 8.1. Variação temporal dos comportamentos locomotores e associados durante os 8 dias de observação: (a) Nadar; (b) Pairar; (c) Actividade Locomotora; (d) Linearidade dos percursos. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como percentagens do tempo gastas nos diferentes comportamentos, excepto nos casos da actividade

locomotora, com os valores expressos em número de quadrículas percorridas, e da linearidade, com os valores expressos em número de mudanças de direcção/ nº de quadrículas percorridas. Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

Tabela 8.3. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal da Actividade Locomotora. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	639	898.125	<0.001*	232.66*
1	1109	898.125	<0.001*	
2	849	898.125	0.035*	
3	1126	898.125	<0.001*	
4	727	898.125	<0.001*	
5	822	898.125	0.002*	
6	980	898.125	<0.001*	
7	933	898.125	0.100	

A actividade locomotora parece seguir um padrão de subidas e descidas ao longo dos 7 dias de observação, de que resulta que, embora não exista uma tendência para que esta aumente ou diminua ao longo do tempo, a sua distribuição não é uniforme. Este facto é salientado se verificarmos os dias que apresentam valores de actividade locomotora significativamente altos (dias 1, 3, e 6) e baixos (dias 0, 2, 4 e 5).

A linearidade dos trajectos apresenta um decréscimo ao longo do período de observação (linearidade = 2.1 – 0.053 tempo, $r^2 = 0.55$, $n = 8$, $F = 7.29$, $p < 0.05$), o que pode reflectir o facto de que, com o estabelecimento das hierarquias de dominância e de territórios no substrato por parte dos machos dominantes, exista um confinamento dos restantes elementos do grupo a áreas mais restritas, o que por sua vez obriga a uma maior sinuosidade na trajectória destes indivíduos, os quais constituem a maioria do grupo.

Actividades no ninho

As actividades de Cavar no ninho e de Pairar no Ninho apresentam ambas uma distribuição não uniforme ao longo do período de observação (ver tabelas 8.4 e 8.5, e figura 8.2).

Ambas as actividades estão ausentes no primeiro dia (dia 0) e apresentam uma subida nos dias seguintes (dia 1-2) estabilizando de seguida.

Tabela 8.4. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento de Pairar no Ninho. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	0	20.875	<0.001*	37.98*
1	12	20.875	0.017*	
2	33	20.875	0.007*	
3	20	20.875	0.461	
4	24	20.875	0.284	
5	30	20.875	0.034*	
6	27	20.875	0.105	
7	21	20.875	0.426	

Tabela 8.5. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento Cavar o Ninho. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	0	6.25	<0.001*	28.4*
1	10	6.25	0.069	
2	2	6.25	0.052	
3	13	6.25	0.004*	
4	4	6.25	0.155	
5	4	6.25	0.264	
6	4	6.25	0.269	
7	13	6.25	0.004*	

Cavar o Ninho apresenta valores significativamente altos nos dias 3 e 7, e significativamente baixo no dia 0. É de referir a existência de dois picos na distribuição

desta actividade nos dias 1 e 3, que correspondem ao início da construção de ninhos nos grupos 3 e 4, e nos grupos 1 e 2, respectivamente.

Pairar no Ninho apresenta valores significativamente baixos nos dias 0 e 1, e significativamente elevados nos dias 2 e 5.

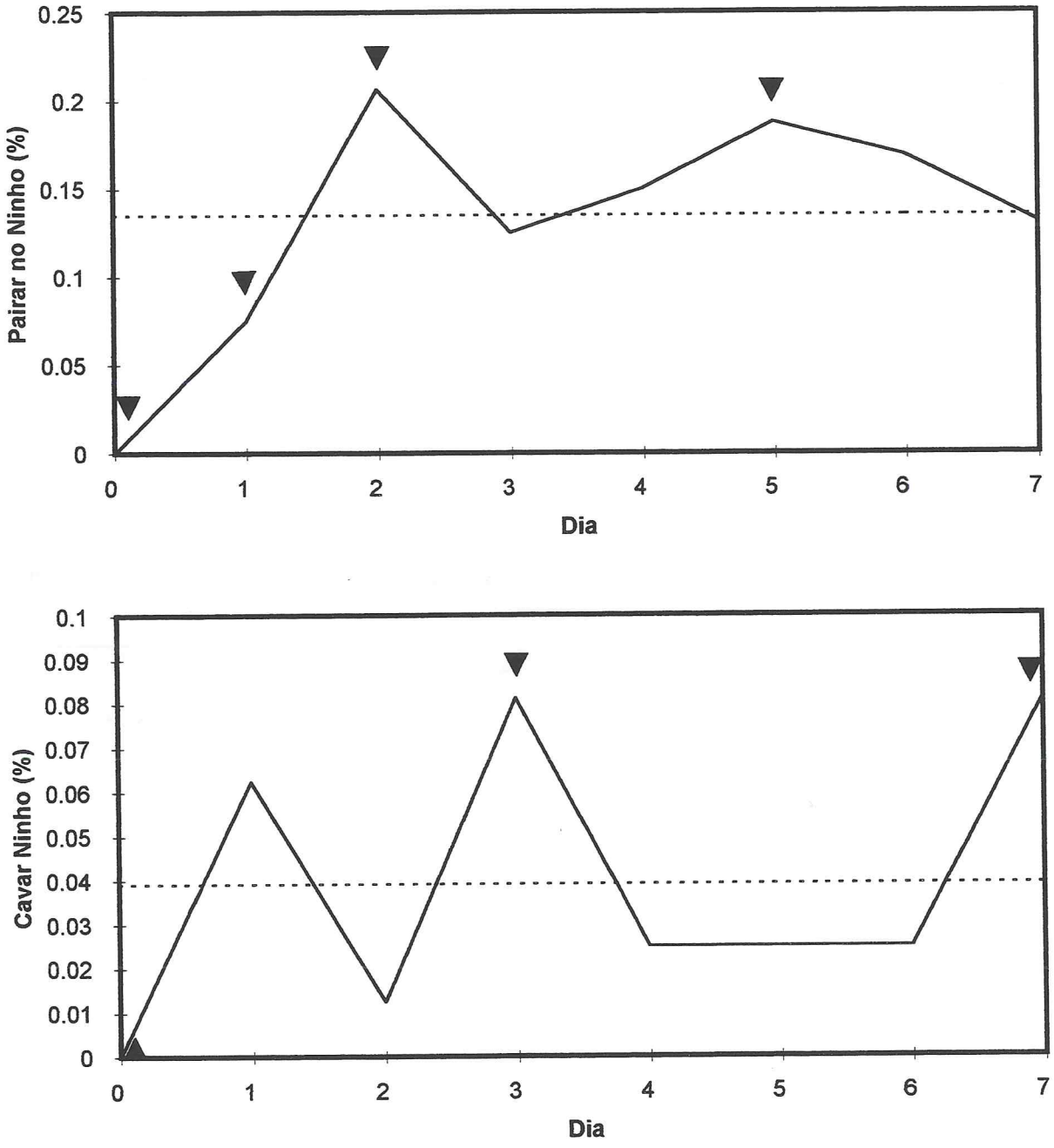


Figura 8.2. Variação temporal das actividades no ninho durante os 8 dias de observação: (a) Pairar no Ninho; (b) Cavar o Ninho. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como percentagens do tempo gastas nos diferentes comportamentos. Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

Comportamentos Sociais

As distribuições do tempo despendido em comportamentos agonísticos e em comportamentos sexuais não seguem a hipótese nula da invariância temporal destes comportamentos (ver tabelas 8.6 e 8.7, e figura 8.3).

Tabela 8.6. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das Actividades Agonísticas. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	95	37.625	<0.001*	118.06*
1	40	37.625	0.414	
2	31	37.625	0.182	
3	40	37.625	0.436	
4	30	37.625	0.081	
5	32	37.625	0.253	
6	9	37.625	<0.001*	
7	24	37.625	0.004*	

As actividades agonísticas decrescem ao longo do período de observação, verificando-se duas descidas acentuadas: uma primeira do dia 0 para o dia 1; e uma segunda do dia 5 para o dia 6, que coincide com a introdução das fêmeas ovuladas nos grupos dos machos. Efectivamente, os dados do teste de aderência vêm confirmar estes dois períodos como pontos de mudança na distribuição das actividades agonísticas: um único valor significativamente elevado ocorre no dia 0, dia da formação dos grupos de machos, e dois valores significativamente baixos ocorrem nos dias 6 e 7, após a introdução das fêmeas nos grupos.

A distribuição temporal dos comportamentos de corte mostra que estes ocorrem entre os machos na ausência das fêmeas, mas que com a introdução destas nos grupos as cortes atingem o seu valor máximo (dia 6), decrescendo de novo um dia após a introdução das fêmeas (dia 7). De facto apenas no primeiro dia (dia 0) se verifica um valor significativamente baixo (não ocorreram cortes entre machos neste dia), sendo o dia 6 o único que se destaca por um valor significativamente elevado de comportamentos sexuais. O tópico das cortes entre machos será retomado mais aprofundadamente no capítulo 12, no qual se discutirá o seu significado adaptativo.

Tabela 8.7. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal dos comportamentos Sexuais. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	0	2.5	0.039*	31.2*
1	0	2.5	0.107	
2	1	2.5	0.169	
3	3	2.5	0.311	
4	1	2.5	0.185	
5	1	2.5	0.380	
6	10	2.5	<0.001*	
7	4	2.5	0.141	

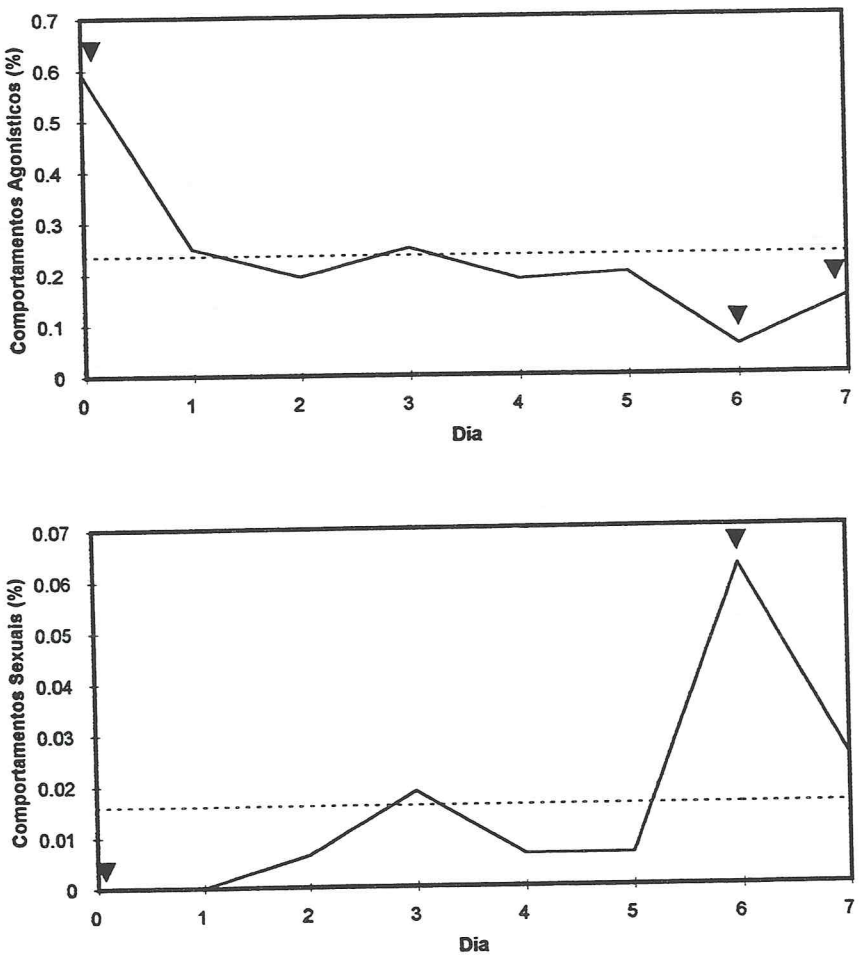


Figura 8.3. Variação temporal dos comportamentos sociais durante os 8 dias de observação: (a) Actividades Agonísticas; (b) Comportamentos Sexuais. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como percentagens do tempo gastas nos diferentes comportamentos. Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

8.3.1.3. Padrões de Variação Temporal das Interacções Agonísticas

Na secção anterior foi analisada a dinâmica temporal das actividades agonísticas expressa pela percentagem de tempo que os indivíduos dos diferentes grupos despenderam neste tipo de actividade. Este tipo de análise oferece-nos uma imagem da importância relativa das interacções agonísticas face a outro tipo de comportamentos na agenda de actividades destes grupos, mas não nos diz nada sobre o tipo de interacções agonísticas que ocorreram.

Na presente secção vamos analisar a distribuição temporal dos diferentes tipos de interacções sociais (*i.e.* SIM, AAI e ABI) ao longo do período de observação.

Nas tabelas 8.8 a 8.10 são apresentados os valores observados e esperados para as diferentes variáveis bem como a significância estatística da diferença encontrada e o valor de χ^2 encontrado. Na figura 8.4 são apresentados os valores médios de cada uma das variáveis para os quatro grupos analisados, estando assinalados os valores significativamente altos e os significativamente baixos por intermédio de uma seta.

Tabela 8.8. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das interacções agonísticas simétricas (SIM). Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	119	37	<0.001*	214.4*
1	60	67	0.182	
2	46	74	<0.001*	
3	56	59	0.372	
4	86	74	0.061	
5	52	59	0.180	
6	50	74	0.002*	
7	34	59	<0.001*	

Tabela 8.9. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das interacções agonísticas assimétricas de alta intensidade (AAI). Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	132	128.75	0.412	212.6*
1	235	231.75	0.450	
2	294	257.5	0.010*	
3	277	206	<0.001*	
4	271	257.5	0.215	
5	313	206	<0.001*	
6	98	257.5	<0.001*	
7	131	206	<0.001*	

Tabela 8.10. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das interacções agonísticas assimétricas de baixa intensidade (ABI). Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Dia	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
0	12	47	<0.001*	113.9*
1	76	85	0.175	
2	81	94	0.086	
3	104	75	<0.001*	
4	154	94	<0.001*	
5	104	75	<0.001*	
6	70	94	0.002*	
7	38	75	<0.001*	

Da análise da figura 8.4 pode-se concluir que o ataque (AAI) é o tipo de interacção mais frequente em qualquer um dos dias de observação, seguido das aproximações (ABI) e por fim das interacções simétricas (SIM). Este padrão de importância relativa dos diferentes tipos de interacções agonísticas é apenas alterado

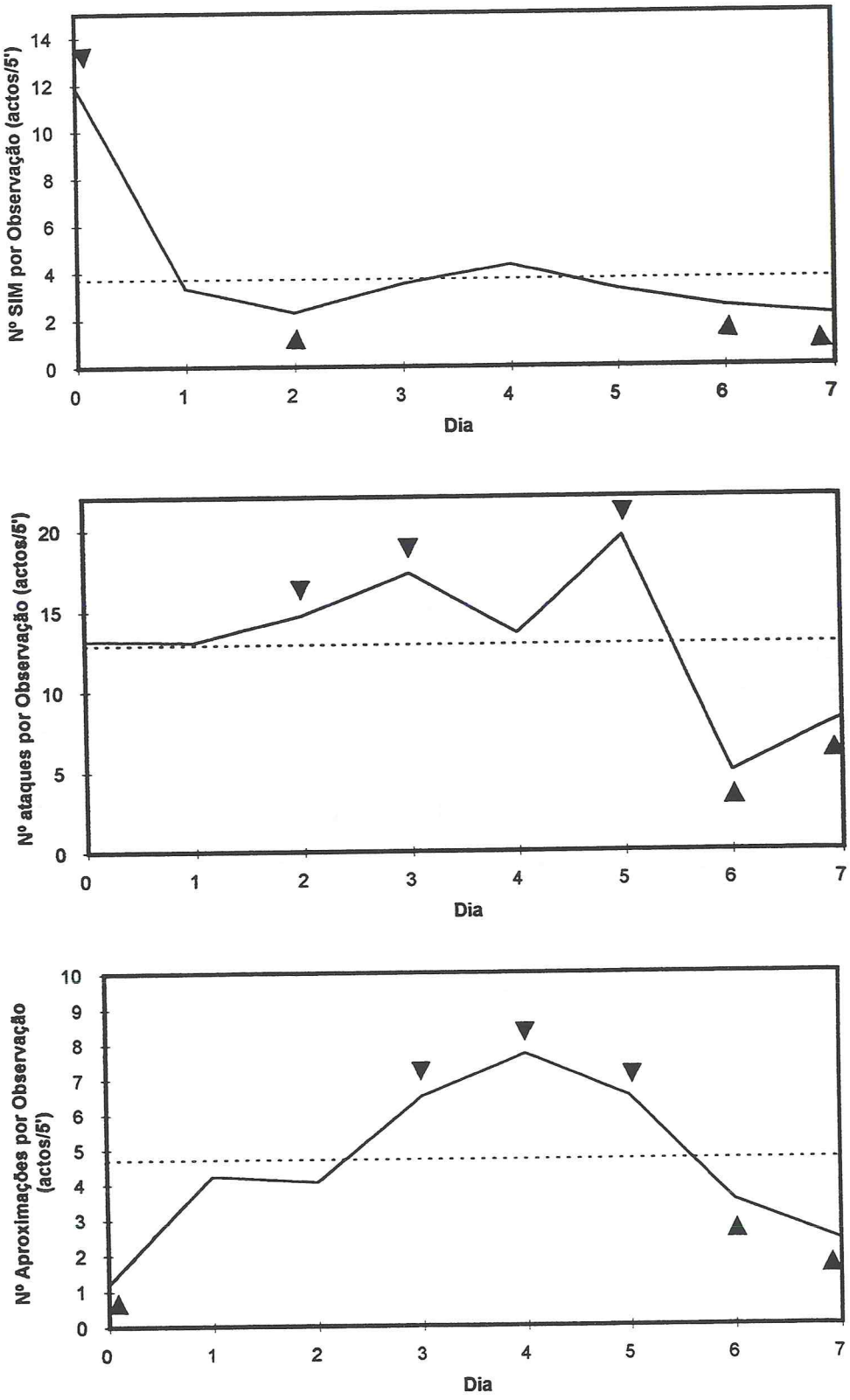


Figura 8.4. Variação temporal das interacções agonísticas durante os 8 dias de observação: (a) SIM; (b) AAI; (c) ABI. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como número médio de interacções por período de observação (5 min). Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

no primeiro dia de observações (Dia 0), no qual existe uma reversão entre as aproximações e as interacções simétricas.

A ocorrência das interacções simétricas decresce ao longo do tempo, tendo um valor significativamente elevado no dia 0, e valores significativamente baixos nos dias 2, 6 e 7. O facto de cerca de 24% das ocorrências deste tipo de interacções surgir no dia 0 sugere que elas podem desempenhar um papel determinante na avaliação mútua das capacidades competitivas entre os indivíduos que integram os diferentes grupos, numa fase inicial da formação dos grupos, após a qual seria de esperar o seu decréscimo e o aumento relativo das ocorrências de interacções assimétricas.

Com efeito apenas *ca.* 7.5% dos ataques e *ca.* 2% das aproximações ocorrem no dia 0, e os valores significativamente elevados dos ataques surgem nos dias 2, 3 e 5, e das aproximações nos dias 3, 4, e 5, sendo ainda detectado, no caso das aproximações, um valor significativamente baixo no dia 0.

Por outro lado, ambos os tipos de interacções assimétricas apresentam um aumento entre o dia 0 e o dia 5, o que para além de apoiar a hipótese exposta pode ainda significar que numa fase subsequente à afirmação do estatuto de cada um dos indivíduos se observam dois fenómenos:

(a) os indivíduos dominantes mantêm o estatuto activamente através de interacções assimétricas de alta intensidade;

(b) existe reconhecimento individual ou de estatuto entre os membros de um grupo, aumentando o número de interacções resolvidas sem recurso a agressão aberta (*i.e.* ataques).

No dia 6, após a introdução das fêmeas nos grupos, observa-se um decréscimo acentuado na frequência de interacções agonísticas dos três tipos, sendo observados valores significativamente baixos nos dias 6 e 7, para qualquer uma delas.

8.3.1.4. Padrões de Associação entre os Comportamentos Sociais

Foi realizada uma análise de componentes principais (ACP) e, de acordo com o método de "scree" (ver figura 8.5) e o critério de Kaiser para determinar o número de factores presentes, foram extraídos três factores a partir da matriz de correlações original , os quais explicam cerca de 70 % da variância (ver tabela 8.11).

Na tabela 8.12 e na figura 8.6 apresenta-se a expressão de cada variável em cada um dos factores extraídos, após uma rotação de varimax normalizada.

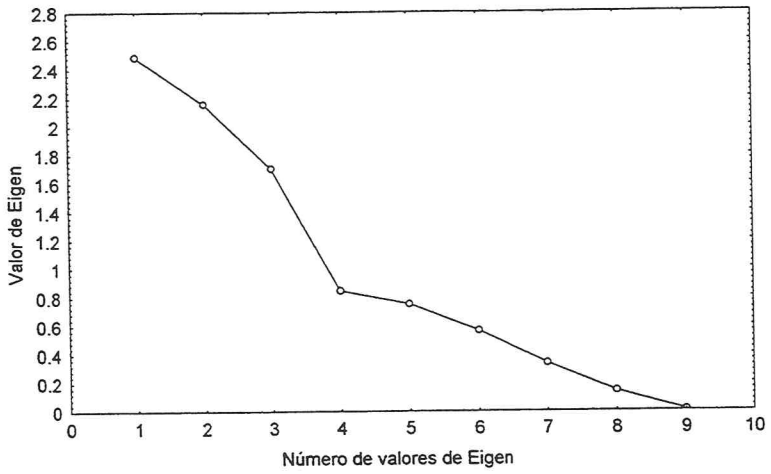


Figura 8.5. Diagrama de "scree" para estimar o número de factores a extrair na Análise de Componentes Principais (ACP).

Tabela 8.11. Resultados da Análise de Componentes Principais (ACP).

Factor	Valor de Eigen	% de variância	Valor de Eigen cumulativo	% de variância cumulativa
1	2.49	27.66	2.49	27.66
2	2.16	23.99	4.65	51.65
3	1.70	18.93	6.35	70.57

Tabela 8.12. Expressão das diferentes variáveis nos factores extraídos, após uma rotação de varimax. As correlações das variáveis com os factores assinaladas com um * indicam coeficientes superiores a 0.63 (ver texto).

Variável	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Nadar	-0.654*	0.445	0.323
Pairar	-0.364	0.071	-0.814*
Cavar no Ninho	0.636*	0.205	0.081
Cortes (Sex)	0.052	0.657*	0.381
Int. Agonísticas	0.144	-0.896*	0.291
Pairar no Ninho	0.791*	0.284	0.239
Aproximação (ABI)	0.140	0.090	-0.767*
Ataque (AAI)	0.859*	-0.218	-0.050
Int. Simétricas (SIM)	-0.292	-0.708*	0.355

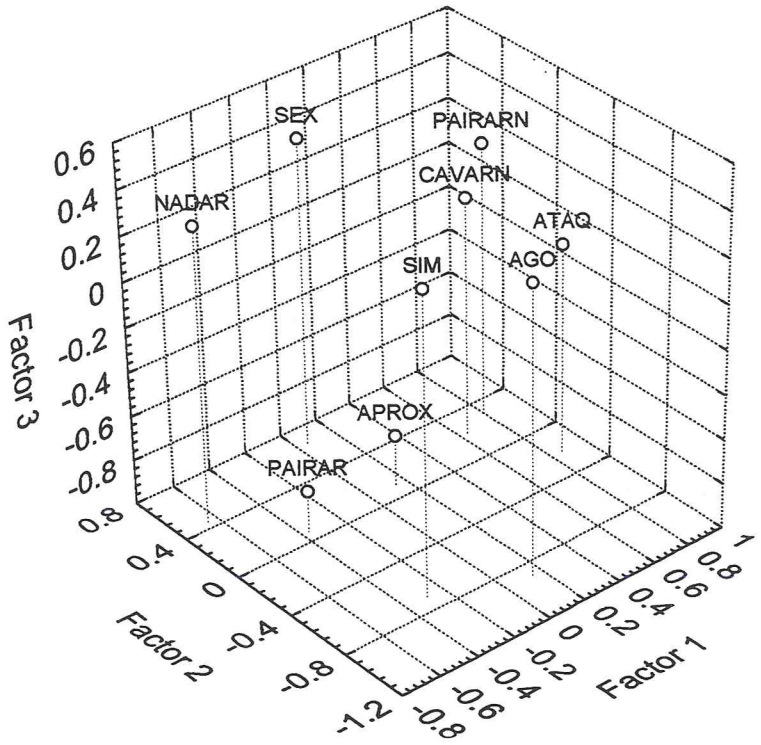


Figura 8.6. Associações entre as diferentes variáveis comportamentais expressas pela seus valores nos três factores extraídos pela ACP.

Os três factores extraídos podem ser interpretados como representando três vectores na organização temporal do comportamento social masculino desta espécie. Utilizando um valor de corte de 0.63, considerado por Aspey e Blankenship (1977) como Muito Bom (*i.e.* a variável e o factor partilham aproximadamente 40% da variância total), podem-se interpretar os resultados apresentados na tabela 8.12 e na figura 8.6 da seguinte forma:

Factor 1 - As variáveis de maior expressão no primeiro factor são as que estão relacionadas com a manutenção do ninho (*i.e.* Pairar no Ninho e Cavar no Ninho), a Natação de forma negativa, e as interacções assimétricas de alta intensidade (*i.e.* ataques), através das quais os indivíduos não territoriais são segregados do substrato, o qual fica de acesso quase exclusivo aos machos territoriais. Parece assim que o Factor 1 corresponde a um vector de territorialidade na organização temporal do comportamento desta espécie. A relação negativa da Natação com este factor pode reflectir a incompatibilidade da territorialidade, que se caracteriza por uma elevada fidelidade espacial, com o carácter ambulatório da natação.

Factor 2 - No segundo factor aparecem-nos expressas três variáveis: O tempo despendido em interacções agonísticas (Ago), a frequência das interacções simétricas (SIM) e, com sinal contrário, a frequência de cortes (Sex). O agrupamento das duas primeiras variáveis mencionadas (*i.e.* Ago e SIM) é de esperar uma vez que as interacções simétricas (*i.e.* combates circulares, combates de boca, vaivém, exibições mútuas) são, dos comportamentos agonísticos, aqueles que têm uma duração temporal considerável, podendo ser os restantes (*i.e.* aproximações, investidas ataques, mordidas) considerados actos discretos. Assim sendo, é natural que uma maior frequência de interacções simétricas seja reflectida num maior tempo despendido em interacções agonísticas. Quanto à expressão dos comportamentos de corte (Sex) neste factor a sua interpretação é menos linear. No entanto, ela pode ser interpretada como um processo de "time-sharing" de dois sistemas comportamentais mutuamente exclusivos: um sistema de avaliações mútuas de capacidades competitivas através de interacções simétricas e um sistema sexual. De acordo com esta interpretação o Factor 2 corresponde a um vector bipolar Dominância social- Comportamentos Sexuais na organização temporal do comportamento de *O. mossambicus*.

Factor 3 - No terceiro factor são expressas as variáveis Aproximação e Pairar, pelo que este parece reflectir um sistema comportamental de interacções de baixa intensidade e de manutenção de proximidade entre os indivíduos, que poderá corresponder a um vector afiliativo na organização temporal do comportamento da espécie. De facto os indivíduos desta espécie são gregários deslocando-se em cardumes, excepto quando defendem territórios reprodutores no caso dos machos e quando incubam posturas no caso das fêmeas.

Embora a maior parte das variáveis apresente uma assimetria notória na distribuição das suas relações com os três factores existindo uma associação preferencial com um deles, é de salientar o facto da Natação apresentar relações consideráveis com mais de um dos factores (r_1 = - 0.654; r_2 = 0.445; r_3 = 0.323), o que poderá reflectir o carácter ubíquo da Natação, que ocorrerá dispersa pelos diferentes vectores de organização do comportamento, encontrando-se apenas menos associada ao vector da territorialidade.

8.3.1.5. Estabelecimento das Hierarquias de Dominância

Para avaliar a hipótese de que os encontros iniciais entre os machos conduzem à formação de hierarquias de dominância nos dias subsequentes, calculou-se a posição

hierárquica de cada um dos indivíduos para cada um dos dias do estudo. Verificou-se que, em todos os grupos, uma ordem de dominância se apresenta já estabelecida no Dia 1, e que esta perdura ao longo dos dias de observação com poucas ou nenhumas alterações. Esta conclusão é suportada pelos coeficientes de correlação elevados entre o índice de dominância de cada indivíduo computados para o Dia 1 quando comparados com os mesmos indíces computados para o Dia 5 (ver figura 8.7). Este índice foi consistente ao longo de todo o período de observação (coeficiente de concordância de Kendall para o indíce de dominância calculado para cada um dos 5 dias: W= 0.881, r médio = 0.852, $p << 0.001$).

Este resultado parece indicar que as posições hierárquicas relativas dos indivíduos se estabelecem numa fase inicial após a fomação dos grupos e que tendem a perdurar ao longo dos dias subsequentes.

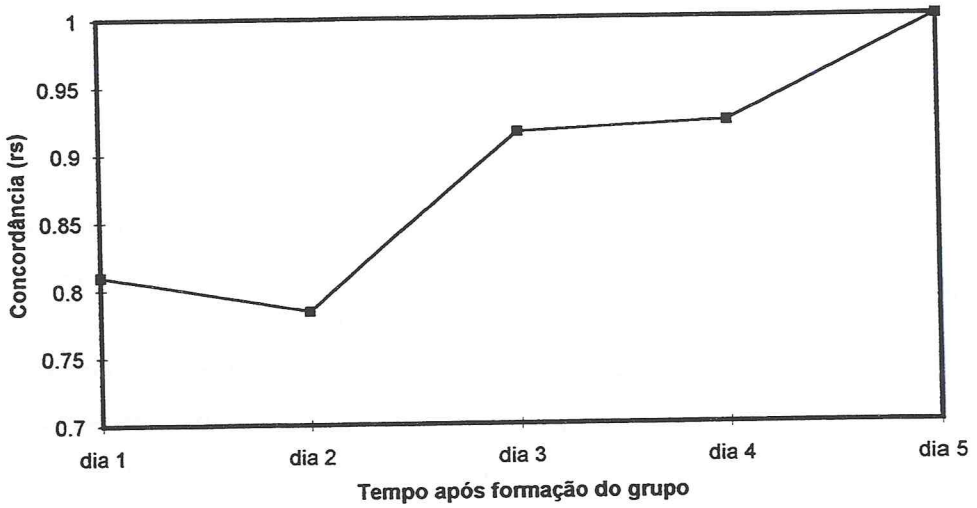


Figura 8.7. Coeficientes de correlação entre os indíces de dominância (V/V+D) calculados para cada dia (Dia 1 a Dia 4) e o mesmo indíce calculado imediatamente antes da introdução das fêmeas nos grupos (Dia5).

8.3.2. Estudo de Longo Prazo

8.3.2.1. Padrões de Variação Temporal das Actividades Comportamentais

Nas tabelas 8.13 a 8.19 são apresentados os valores observados e esperados para as diferentes variáveis, a significância estatística da diferença encontrada e o valor de χ^2 calculado. Nas figuras 8.8 a 8.10 são apresentados os valores médios de cada uma das variáveis para os oito grupos analisados, sendo assinalados com uma seta os valores que foram detectados como significativamente altos ou baixos no teste de aderência.

Comportamento Locomotor

Das três variáveis estudadas, que expressam diferentes aspectos do comportamento locomotor, duas (Pairar e Actividade Locomotora) não seguem um padrão uniforme ao longo das 8 semanas de estudo, enquanto que para a terceira (Nadar) não se rejeita a hipótese da invariância temporal (ver tabelas 8.13, 8.14 e 8.15, e figura 8.8).

Tabela 8.13. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal da Natação ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	193	182.875	0.233	4.88
2	199	182.875	0.111	
3	180	182.875	0.404	
4	165	182.875	0.084	
5	177	182.875	0.340	
6	185	182.875	0.452	
7	191	182.875	0.257	
8	173	182.875	0.250	

Tabela 8.14. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento Pairar ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	117	183.625	<0.001*	30.29*
2	176	183.625	0286	
3	200	183.625	0.093	
4	192	183.625	0.265	
5	187	183.625	0.427	
6	200	183.625	0.107	
7	200	183.625	0.109	
8	197	183.625	0.125	

Tabela 8.15. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal da Actividade Locomotora ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	1817	1798.875	0.313	177.46*
2	2178	1798.875	<0.001*	
3	1886	1798.875	0.014*	
4	1680	1798.875	0.002*	
5	1613	1798.875	<0.001*	
6	1516	1798.875	<0.001*	
7	1721	1798.875	0.031*	
8	1980	1798.875	<0.001*	

No que diz respeito ao Pairar, verifica-se que a rejeição da hipótese da invariância temporal fica-se sobretudo a dever a um único valor observado significativamente menor do que o esperado, na primeira semana. Em relação à actividade locomotora verifica-se que a não uniformidade da sua distribuição temporal se fica a dever à ocorrência de valores significativamente altos nas semanas 2 e 3, e significativamente baixos nas semanas 4, 5, 6 e 7. Este resultado sugere a alternância de períodos de maior actividade (semanas 2 e 3) com períodos de actividade mais reduzida (semanas 4 a 7). Possivelmente a oitava semana marcaria o regresso de um novo período de maior actividade. No entanto, o tempo de duração do presente estudo não permite o esclarecimento da hipótese da existência de períodos cíclicos de actividade locomotora.

Actividades no Ninho

Das actividades no ninho apenas o comportamento de Cavar no Ninho apresenta uma distribuição não uniforme ao longo do período de observação (ver tabelas 8.16 e 8.17 e figura 8.9). Ambas as actividades estão presentes ao longo de todos pontos de amostragem, o que indica que os ninhos são construídos e mantidos logo a partir da primeira semana e até ao final do estudo.

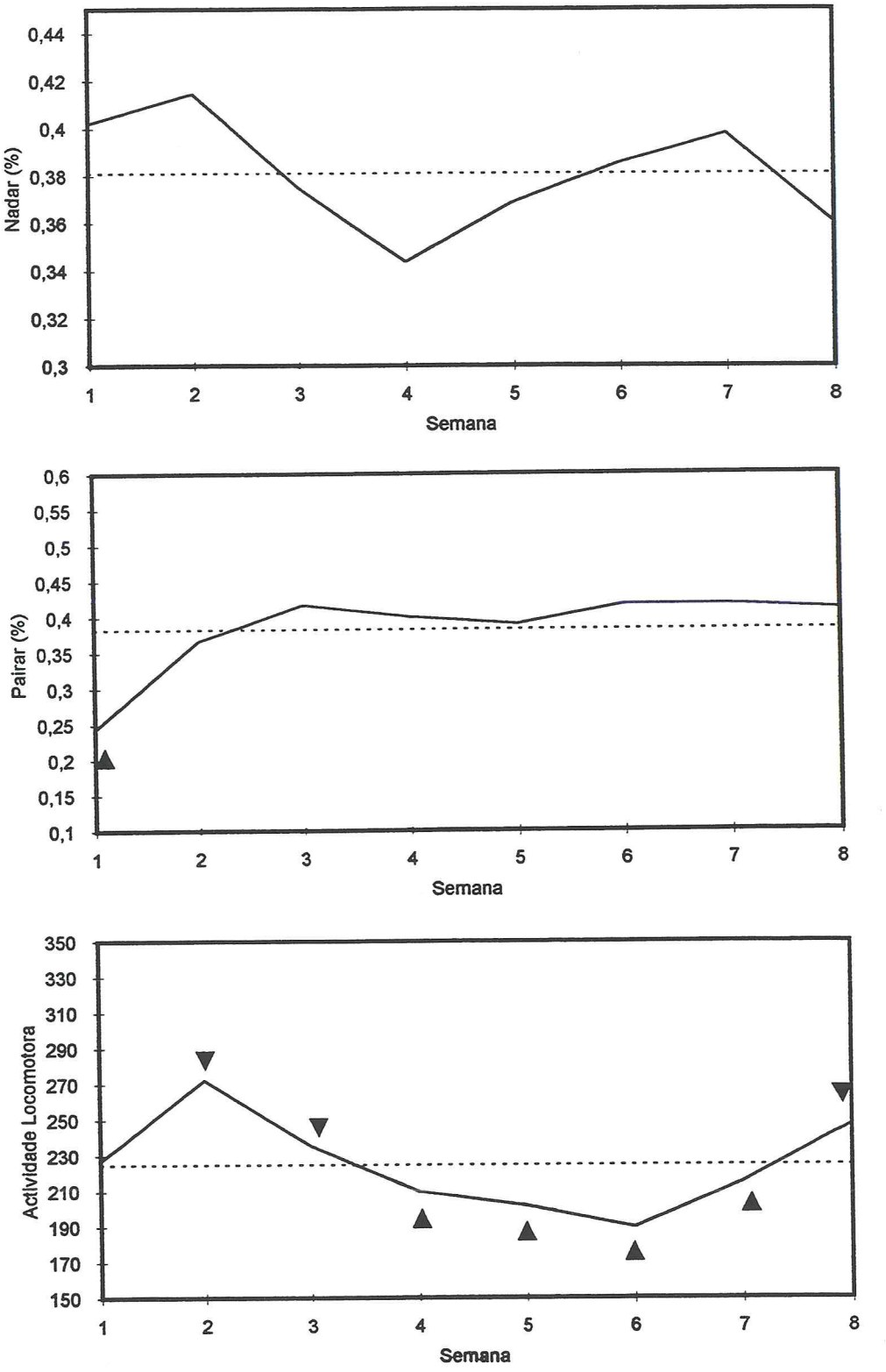


Figura 8.8. Variação temporal dos comportamentos locomotores durante as 8 semanas de observação: (a) Nadar; (b) Pairar; (c) Actividade Locomotora. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como percentagens do tempo gastas nos diferentes comportamentos. Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

Tabela 8.16. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento de Pairar no Ninho ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	28	27.625	0.539	5.79
2	27	27.625	0.474	
3	27	27.625	0.532	
4	30	27.625	0.371	
5	27	27.625	0.454	
6	37	27.625	0.035*	
7	25	27.625	0.329	
8	20	27.625	0.083	

Tabela 8.17. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal do comportamento de Cavar o Ninho ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	21	12.75	0.024*	23.18*
2	10	12.75	0.251	
3	12	12.75	0.429	
4	19	12.75	0.026*	
5	20	12.75	0.038*	
6	5	12.75	0.008*	
7	5	12.75	0.005*	
8	10	12.75	0.361	

O comportamento de Cavar no Ninho, à semelhança da actividade locomotora, apresenta períodos de valores significativamente altos (semana 1 e semanas 4 a 7) que sobressaem do nível de base deste comportamento.

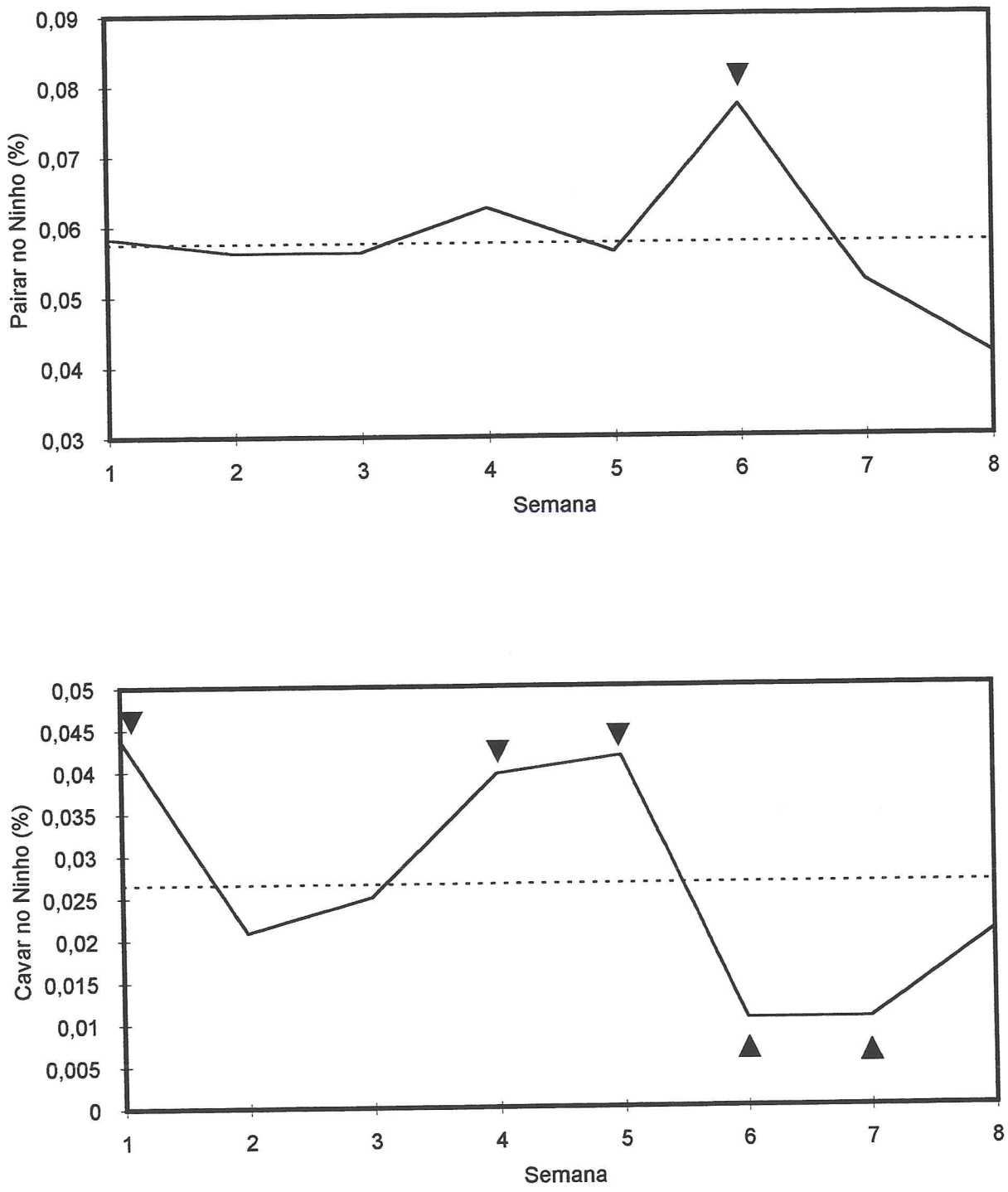


Figura 8.9. Variação temporal das actividades no ninho durante as 8 semanas de observação: (a) Pairar no Ninho; (b) Cavar no Ninho. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como percentagens do tempo gastas nos diferentes comportamentos. Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

Comportamentos Sociais

As distribuições da proporção de tempo despendido em actividades agonísticas e em comportamentos sexuais não são uniformes ao longo das 8 semanas de estudo (ver tabelas 8.18 e 8.19 e figura 8.10).

Tabela 8.18. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das Actividades Agonísticas ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	35	49	0.020*	13.96*
2	60	49	0.060	
3	48	49	0.476	
4	55	49	0.206	
5	45	49	0.319	
6	44	49	0.249	
7	41	49	0.112	
8	64	49	0.018*	

Tabela 8.19. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal dos Comportamentos Sexuais ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	12	4.75	0.002*	26.84*
2	1	4.75	0.031*	
3	0	4.75	0.003*	
4	3	4.75	0.421	
5	10	4.75	0.015*	
6	2	4.75	0.108	
7	5	4.75	0.547	
8	5	4.75	0.383	

As actividades agonísticas apresentam um valor significativamente baixo na primeira semana e um valor significativamente alto na oitava semana. Este resultado contraria a predição de que o tempo despendido em actividades agonísticas diminui com o decorrer do tempo após a formação dos grupos, de acordo com a hipótese da habituação aos estímulos agressivos entre os indivíduos de um grupo (*e.g.* Peeke e Peeke, 1970; Peeke e Veno, 1973). As actividades agonísticas apresentam um valor significativamente baixo na primeira semana e um valor significativamente alto na oitava semana. Este resultado contraria a predição de que o tempo despendido em actividades agonísticas diminui com o decorrer do tempo após a formação dos grupos, de acordo com a hipótese da habituação aos estímulos agressivos entre os indivíduos de um grupo (*e.g.* Peeke e Peeke, 1970; Peeke e Veno, 1973).

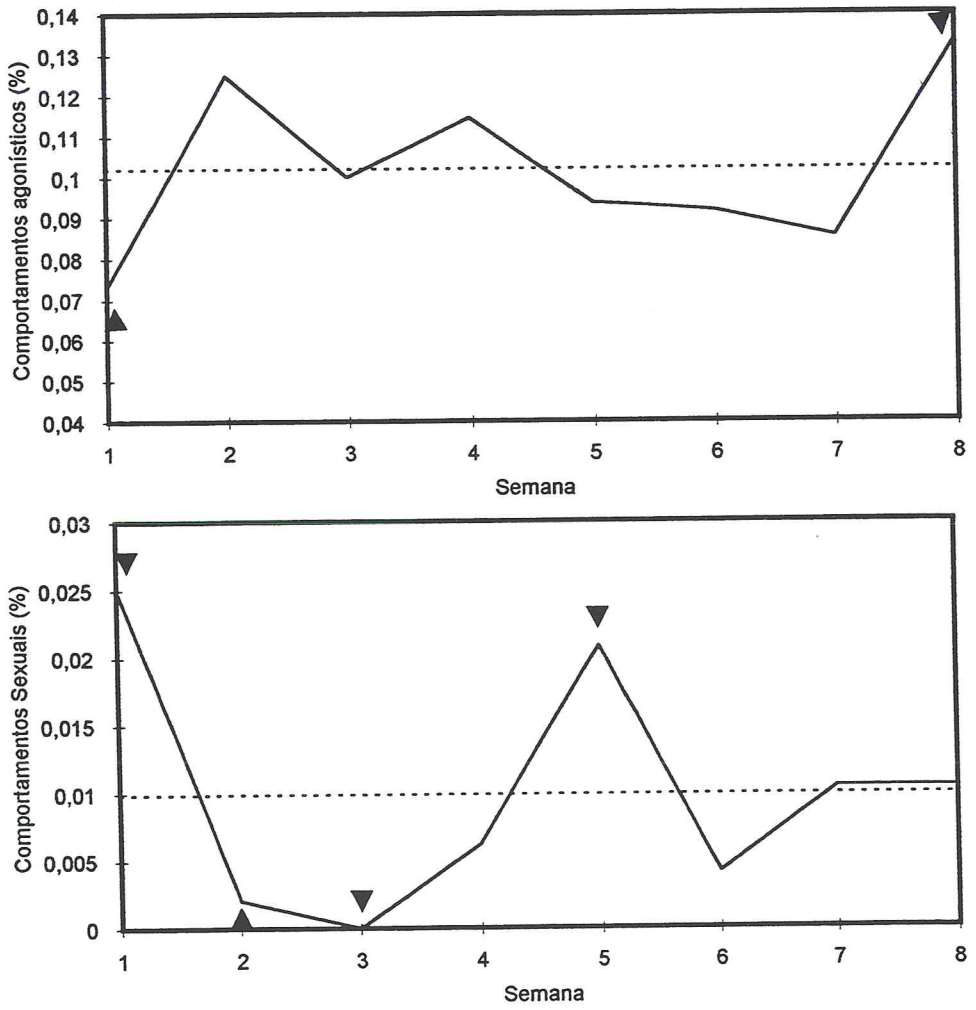


Figura 8.10. Variação temporal dos comportamentos sociais durante as 8 semanas de observação: (a) Actividades Agonísticas; (b) Comportamentos Sexuais. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como percentagens do tempo gastas nos diferentes comportamentos. Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

Os comportamentos sexuais apresentam dois picos: um primeiro valor significativamente alto logo na primeira semana e um segundo valor significativamente alto na semana 5, separados por um período de fraca actividade sexual (valores significativamente baixos nas semanas 2 e 3). Este resultado levanta a hipótese da ciclicidade da actividade sexual nesta espécie, a qual ajudaria a explicar os resultados acima expostos sobre as variações temporais da actividade locomotora e do comportamento de Escavar o Ninho.

8.3.2.2. Padrões de Variação Temporal das Interacções Agonísticas

Nas tabelas 8.20 a 8.22 são apresentados os valores observados e esperados para as diferentes variáveis bem como a significância estatística para a diferença encontrada, e o valor de χ^2 obtido. Na figura 8.11 são apresentados os valores médios de cada uma das variáveis para os 8 grupos analisados, sendo os valores significativos assinalados com uma seta.

Tabela 8.20. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das interacções agonísticas simétricas (SIM) ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	31	17.75	0.001*	28.37*
2	29	17.75	0.011*	
3	11	17.75	0.045*	
4	10	17.75	0.041*	
5	14	17.75	0.195	
6	20	17.75	0.355	
7	9	17.75	0.014*	
8	18	17.75	0.423	

Tabela 8.21. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das interacções agonísticas assimétricas de alta intensidade (AAI) ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	147	371.125	<0.001*	213.76*
2	394	371.125	0.119	
3	305	371.125	<0.001*	
4	425	371.125	0.001*	
5	386	371.125	0.212	
6	403	371.125	0.045*	
7	399	371.125	0.068	
8	510	371.125	<0.001*	

Tabela 8.22. Teste de χ^2 de aderência para a hipótese de invariância temporal das interacções agonísticas assimétricas de baixa intensidade (ABI) ao longo das 8 semanas de estudo. Os valores significativos ($\alpha = 0.05$) encontram-se assinalados com um *.

Semana	Observados (O)	Esperados (E)	P(O≠E)	χ^2
1	49	55.75	0.158	9.21
2	70	55.75	0.032*	
3	49	55.75	0.173	
4	61	55.75	0.196	
5	60	55.75	0.299	
6	43	55.75	0.040*	
7	55	55.75	0.439	
8	59	55.75	0.299	

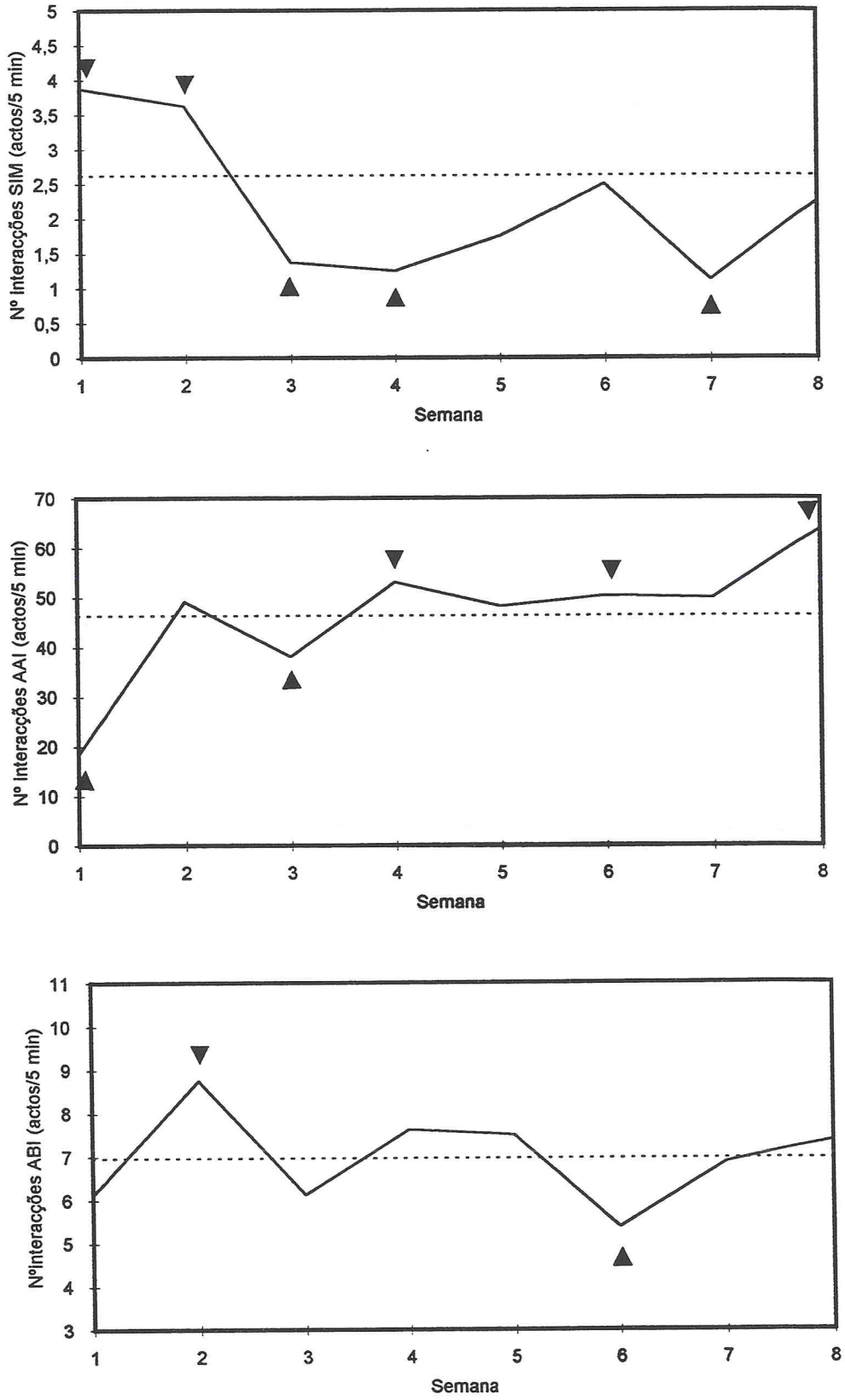


Figura 8.11. Variação temporal das interacções agonísticas durante as 8 semanas de observação: (a) SIM; (b) AAI; (c) ABI. Os valores observados (linha contínua) e esperados (linha a tracejado) são apresentados como número médio de interacções por período de observação (5 min). Os valores significativamente elevados ou baixos estão assinalados com uma seta.

Dos três tipos de interacções agonísticas consideradas (SIM, AAI, e ABI), apenas as interacções ABI seguem um padrão invariante ao longo do período de observação. As interacções simétricas (SIM) apresentam uma tendência para diminuirem com o tempo tendo valores significativamente altos nas duas primeiras semanas e com valores significativamente baixos nas semans 3, 4 e 7. Por outro lado, as interacções AAI apresentam uma tendência no sentido contrário com valores significativamente altos sensívelmente a partir do meio do estudo (semanas 4, 6 e 8). Este resultado vem confirmar numa escala de tempo mais ampla os resultados do estudo de curto-prazo (ver secção 8.3.1.3).

8.3.2.3. Estabilidade das Hierarquias de Dominância

Em todos os grupos estudados foram detectadas hierarquias lineares em 50% ou mais das semanas: 4 grupos nas 8 semanas, 2 grupos em 7 das 8 semanas, 1 grupo em 6 das 8 semanas, e 1 grupo em 4 das 8 semanas. Uma hierarquia foi considerada linear quando o indíce de Landau calculado para esse grupo foi igual ou maior do que 0.9 (critério de Chase, 1974), e quando a significância estatística do resultado foi confirmado através do método de Appleby (1983a).

Na tabela 8.23 e na figura 8.12 são apresentados os dados referentes à variação temporal dos índices de Landau (h) dos diferentes grupos para as 8 semanas de observação.

Tabela 8.23. Linearidade das hierarquias descritas para os diferentes grupos ao longo das 8 semanas de observação; h = índice de linearidade de Landau, d = número de tríades circulares, * valores significativos com $\alpha = 0.05$.

Grupo	Semanas	h	d
1	1	0.686	2.75
	2	0.971	0.25 *
	3	0.943	0.5 *
	4	0.943	0.5 *
	5	0.971	0.25 *
	6	0.886	1
	7	0.886	1
	8	0.886	1
2	1	0.971	0.25 *
	2	0.971	0.25 *
	3	0.971	0.25 *
	4	1	0 *
	5	0.971	0.25 *
	6	1	0 *
	7	1	0 *
	8	1	0 *

Tabela 8.23. (Continuação).

Grupo	Semanas	h	d
3	1	1	0 *
	2	0.886	1
	3	0.971	0.25 *
	4	1	0 *
	5	1	0 *
	6	1	0 *
	7	0.856	1.25
	8	1	0 *
4	1	0.886	1
	2	1	0 *
	3	1	0 *
	4	0.971	0.25 *
	5	0.971	0.25 *
	6	1	0 *
	7	1	0 *
	8	1	0 *
5	1	1	0 *
	2	0.971	0.25 *
	3	1	0 *
	4	0.943	0.5 *
	5	0.971	0.25 *
	6	0.971	0.25 *
	7	1	0 *
	8	1	0 *
6	1	0.971	0.25 *
	2	1	0 *
	3	1	0 *
	4	0.971	0.25 *
	5	1	0 *
	6	1	0 *
	7	0.971	0.25 *
	8	0.971	0.25 *
7	1	0.971	0.25 *
	2	0.971	0.25 *
	3	0.971	0.25 *
	4	1	0 *
	5	1	0 *
	6	1	0 *
	7	1	0 *
	8	0.971	0.25 *
8	1	1	0 *
	2	0.971	0.25 *
	3	0.886	1
	4	1	0 *
	5	1	0 *
	6	1	0 *
	7	1	0 *
	8	1	0 *

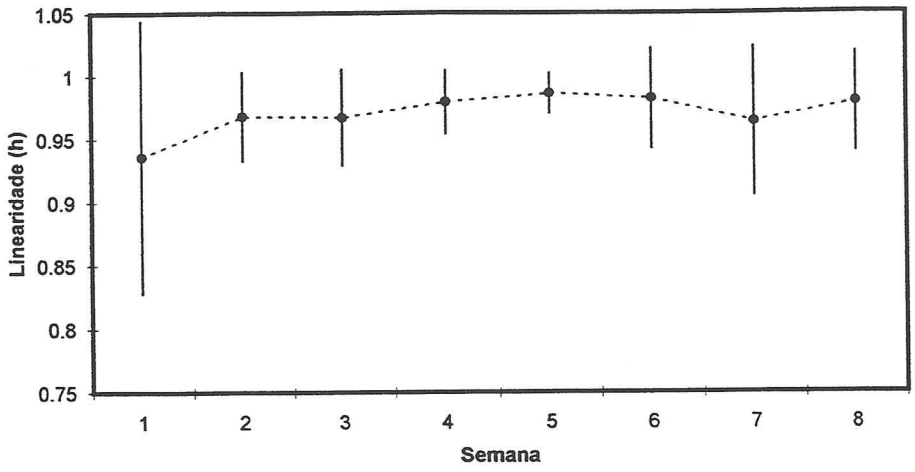


Figura 8.12. Variação temporal do índice de linearidade de Landau (h) (média ± desvio padrão para os 8 grupos).

Uma análise da tabela 8.23 permite-nos verificar que 6 dos 8 grupos apresentam estruturas hierárquicas lineares logo na primeira semana, e que estas tendem a perdurar ao longo das 8 semanas de observação.

A partir da figura 8.12 verifica-se que a média da linearidade das hierarquias tende a aumentar com o tempo. No entanto, uma análise de variância unifactorial para testar o efeito do tempo (*i.e.* semanas) na linearidade das hierarquias, não se revelou significativo ("repeated measures" ANOVA: $F_{7,49} = 0.977$, $p = 0.458$).

Parece assim existir a formação de estruturas lineares logo a partir da primeira semana as quais perduram ao longo das semanas sem variações significativas.

Na tabela 8.24 são apresentados os dados referentes à estabilidade das hierarquias ao longo das 8 semanas. Foram utilizados dois indicadores de estabilidade:

(a) o coeficiente de correlação de Spearman (r_S), para medir a associação entre as posições hierárquicas dos indivíduos de cada grupo em cada duas semanas consecutivas;

(b) o índice de Burk ("bump index", Burk, 1979), que expressa o número de reversões ocorridas nas ordens de dominância de cada grupo entre duas semanas consecutivas.

Considerou-se que uma hierarquia se mantinha estável entre duas semanas consecutivas quando:

(a) o índice de Burk era menor ou igual a 0.2 (Burk, 1979);

(b) os coeficientes de correlação de Spearman eram maiores ou iguais a 0.7, uma vez que estes explicam cerca de 50% ou mais da variância total. Este uso dos coeficientes de correlação de Spearman não pressupõe a utilização das probabilidades

associadas aos índices para avaliar da sua significância, e deve ser visto como uma medida descritiva. Os coeficientes de correlação têm a vantagem de permitirem a utilização de valores de corte que podem ser relacionados com uma percentagem de variância explicada, o que facilita a comparação entre estudos.

Tabela 8.24. Estabilidade das hierarquias ao longo das 8 semanas de observação, expressa segundo o coeficiente de correlação de Spearman (r_S) e segundo o índice de Burk (b). Os valores que indicam estruturas estáveis encontram-se assinalados com um E.

Grupo	Semanas	r_S	b
1	1×2	-0.3151	0.4667
	2×3	-0.1343	0.4000
	3×4	0.9091 E	0.1333 E
	4×5	0.3582	0.3000
	5×6	0.4620	0.2667
	6×7	0.7419 E	0.2000 E
	7×8	0.3548	0.3333
2	1×2	0.8676 E	0.1000 E
	2×3	0.2647	0.3000
	3×4	0.7247 E	0.2333
	4×5	0.5508	0.2000 E
	5×6	0.7827 E	0.1667 E
	6×7	1.0000 E	0 E
	7×8	0.7714 E	0.2000 E
3	1×2	0.5161	0.2667
	2×3	0.7701 E	0.1667 E
	3×4	0.5798	0.2667
	4×5	0.8857 E	0.1333 E
	5×6	0.6000	0.2000 E
	6×7	0.6481	0.2333
	7×8	0.0617	0.3667
4	1×2	0.2732	0.3333
	2×3	0.4286	0.3333
	3×4	0.0580	0.4
	4×5	0.5147	0.2333
	5×6	0.7537 E	0.1667 E
	6×7	0.9429 E	0.0667 E
	7×8	1.000 E	0.0000 E
5	1×2	0.1739	0.2667
	2×3	0.6377	0.2000 E
	3×4	0.5002	0.2667
	4×5	-0.0299	0.3667
	5×6	0.7206 E	0.2000 E
	6×7	0.4638	0.3000
	7×8	0.9429 E	0.0667 E
6	1×2	0.4928	0.3000
	2×3	0.8286 E	0.2000 E
	3×4	0.4928	0.2667
	4×5	0.2899	0.3333
	5×6	0.5429	0.2667
	6×7	0.0870	0.3667
	7×8	-0.4265	0.5000

Tabela 8.24. (Continuação).

Grupo	Semanas	r_s	b
7	1×2	0.4265	0.2333
	2×3	0.3088	0.3000
	3×4	0.8986 E	0.1000 E
	4×5	0.6000	0.2000 E
	5×6	0.6000	0.2000 E
	6×7	0.7143 E	0.2000 E
	7×8	0.7537 E	0.1667 E
8	1×2	-0.1449	0.4333
	2×3	0.4620	0.3000
	3×4	0.1518	0.3333
	4×5	0.8286 E	0.1333 E
	5×6	0.8857 E	0.1333 E
	6×7	0.7714 E	0.1333 E
	7×8	-0.2571	0.4666

Uma análise da tabela 8.24 sustenta as seguintes conclusões:

(a) As duas medidas de estabilidade utilizadas forneceram resultados idênticos (Teste de concordância de Cohen: concordância observada = 89.3% dos casos, n=56; K = 0.780, z = 5.679, p < 0.001), embora os coeficientes de correlação de Spearman sejam mais conservadores do que o índice de Burk [número de casos de estabilidade (E) detectados por cada uma das medidas: E_{rs} = 21/56; E_b = 25/56]. Face a estes resultados decidimos adoptar o estimador mais conservador (r_s) e os dados apresentados de seguida são baseados nesta medida.

(b) As estruturas hierárquicas são pouco estáveis ao longo das 8 semanas de observação, ocorrendo várias reversões nas posições hierárquicas dos indivíduos que constituem os grupos. De acordo com os valores de r_s 3 grupos apresentam estruturas estáveis em 3 das 7 transições entre semanas, 3 grupos em 2 das 7 transições, 1 grupo em 1 das 7 transições e 1 grupo em 5 das 7 transições.

Na figura 8.13 apresenta-se a variação temporal da estabilidade (r_s) média dos grupos ao longo das 8 semanas de observação. Esta figura sugere uma tendência para um aumento da estabilidade dos grupos ao longo do tempo, a qual no entanto não é confirmada por uma análise de variância unifactorial para testar o efeito do tempo (*i.e.* semana) na estabilidade dos grupos ("repeated measures" ANOVA: $F_{6,42}$ = 1.342, p = 0.26).

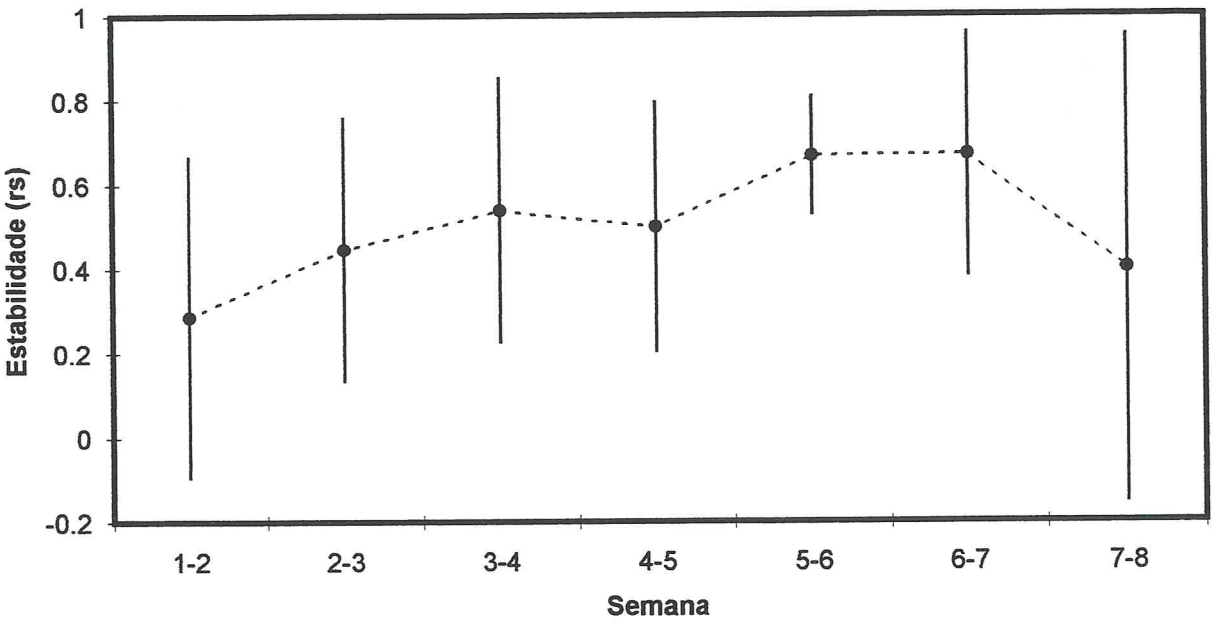


Figura 8.13. Variação temporal da estabilidade dos grupos medida por correlações de Spearman (r_S) (média ± desvio padrão para os 8 grupos) entre semanas sucessivas.

Assim, nos grupos estudados, os níveis elevados de linearidade na organização dos grupos não implica que estes sejam estáveis.

A falta de estabilidade nas estruturas lineares dos grupos estudados é um resultado inesperado que merece uma análise mais detalhada, na tentativa de identificar factores relacionados com a estabilidade social. Analisou-se a ocorrência das reversões nas estruturas hierárquicas em função da posição hierárquica e da distância hierárquica dos indivíduos envolvidos, bem como do sexo dos indivíduos.

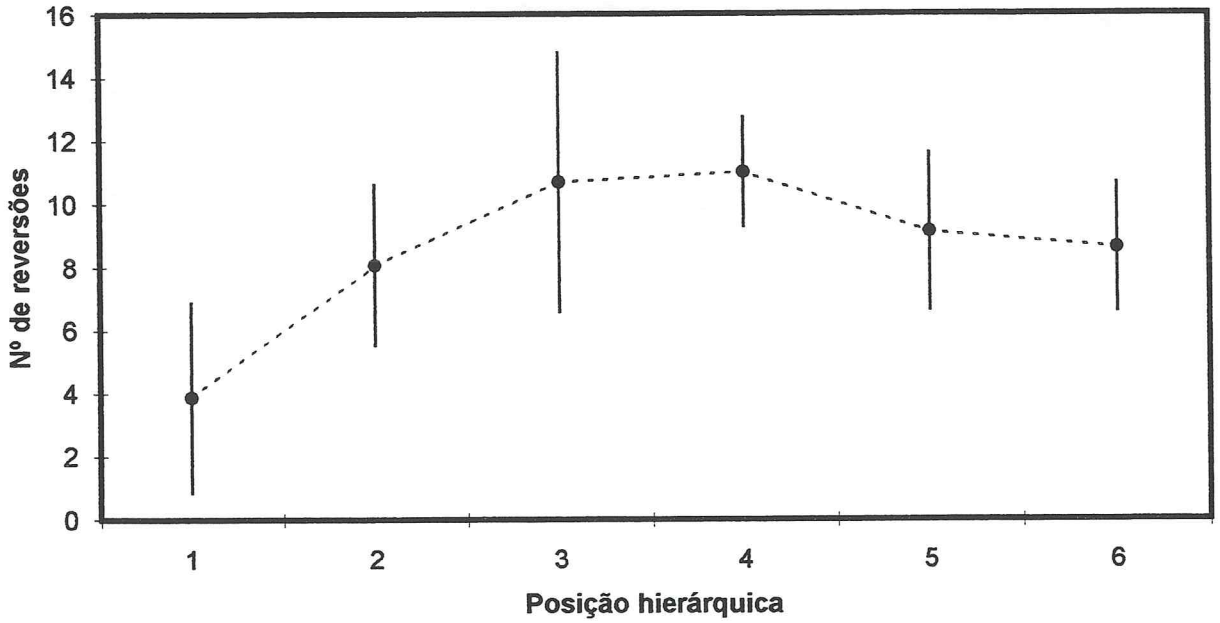


Figura 8.14. Número de reversões (média ± desvio padrão para os 8 grupos) sofridas por indivíduos das diferentes posições hierárquicas (1 = indivíduo α, ..., 6 = indivíduo ω).

Se analisarmos a estabilidade da posição hierárquica para indivíduos de diferente estatuto social, verifica-se que existe um efeito deste na variação da posição hierárquica ao longo das 8 semanas (ANOVA: $F_{5,48} = 7.816$, $p < 0.001$). Uma análise de comparações planeadas, para averiguar *a posteriori* quais as posições hierárquicas mais estáveis (*i.e.* que apresentam um menor número de reversões), revela-nos que a posição α é significativamente mais estável que qualquer outra (maior $p < 0.002$), enquanto que as posições intermédias apresentam uma tendência para uma maior variabilidade (ver figura 8.14), embora esta tendência só seja em parte confirmada estatisticamente (posição 2 < posição 3, $p<0.05$; posição 2 < posição 4, $p < 0.05$).

As reversões hierárquicas foram categorizadas em dois grupos de acordo com a distância hierárquica envolvida na mudança de posição: reversões a uma posição ou menos de distância ($R\leq1$); reversões a mais de uma posição de distância ($R>1$). Uma vez que ocorreram empates (*i.e.* num determinado grupo podem existir indivíduos com a mesma posição hierárquica) e que os grupos são constituídos por 6 indivíduos existem as seguintes 11 posições hierárquicas possíveis:

1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6

Como a uma delas corresponde a posição hierárquica que o indivíduo já detinha na semana anterior, sobram dez posições possíveis no caso do indivíduo mudar a sua posição hierárquica. Destas, 4 encontram-se a uma distância menor ou igual a um da sua posição na semana precedente, e as restantes seis a uma distância superior a uma posição, sendo desta forma as probabilidades de ocorrência para os dois tipos de reversão considerados: $P(R\leq1) = 2/5$; $P(R>1) = 3/5$. Utilizando estas probabilidades de ocorrência como valores esperados, verificou-se que as mudança de posição ocorrem mais frequentemente entre vizinhos hierárquicos do que entre indivíduos distantes na hierarquia [$\chi2$ de aderência: Observados ($R\leq1$) = 120, Esperados ($R\leq1$) = 97.6; Observados ($R>1$) = 124, Esperados ($R>1$) = 146.4; $\chi2 = 8.568$, $p < 0.01$].

Por fim comparou-se o número de reversões na ordem de dominância dos grupos em função do sexo dos indivíduos, não se tendo detectado nenhuma diferença entre os sexos (machos: n = 29, média±desvio padrão = 8±4.13; fêmeas: n = 19, média ±desvio padrão = 9.42±2.66; teste t: t = 1.327, p = 0.191).

8.4. DISCUSSÃO

8.4.1. Estudo de Curto Prazo

Os resultados apresentados sugerem que a existência de um padrão temporal na ordem pela qual as diferentes actividades comportamentais emergem e atingem valores máximos após a formação dos grupos. No Dia 0 os confrontos simétricos atingem o seu valor máximo, e são detectados os primeiros machos com a coloração escura. No Dia 1 observam-se os primeiros vestígios de territorialidade, sendo detectados os primeiros esboços de ninhos no substrato, e sendo observados pela primeira vez comportamentos relacionados com a construção e manutenção dos ninhos (*i.e.* Cavar o Ninho e Pairar no Ninho). Do Dia 2 ao Dia 5, o nível de interacções agonísticas assimétricas (predominantemente ataques e perseguições) atingem os seus valores máximos. Estas interacções são dirigidas pelos machos territoriais a intrusos e parecem ter assim um papel activo na defesa do ninho.

Esta sequência de acontecimentos durante o processo de formação de grupos parece fazer sentido com o que seria de esperar durante o estabelecimento de "leks" na natureza.

Em condições naturais as arenas reprodutoras são estabelecidas em habitats que diferem daqueles nos quais os indivíduos habitualmente se alimentam (ver Bowen, 1984). Assim, no início de cada período reprodutor os machos têm que se deslocar para os substratos nos quais se realiza a reprodução. Nestas circunstâncias, é de esperar que os comportamentos agonísticos que permitem aos machos avaliar as capacidades competitivas dos outros elementos da arena sejam das primeiras actividades a manifestar-se, uma vez que o estatuto de cada indivíduo afecta a qualidade e a localização dos territórios que vão ser estabelecidos, e, em caso de escassez de substrato de nidificação, pode mesmo determinar a aquisição ou não de um território reprodutor. Esta parece ser a função das interacções agonísticas simétricas que ocorrem logo após a formação dos grupos.

O facto de se observarem alguns machos já com a coloração escura no primeiro dia sugere que a posse de um território não é um factor causal deste padrão de coloração.

O grupo de actividades relacionadas com o ninho que se torna predominante de seguida, no processo de formação dos grupos, envolve a manutenção do território e a construção do ninho. Apenas após o estabelecimento de territórios e a construção de ninhos se observam os primeiros comportamentos de corte, dirigidos nesta fase, e na ausência de fêmeas, a machos subordinados não-territoriais. A ocorrência de cortes

entre machos havia já sido descrita para esta espécie (Baerends e Baernds van Roon, 1950; Neil, 1964; Pinheiro, 1980) e será analisada com maior detalhe no capítulo 12.

A introdução das fêmeas no Dia 6 foi imediatamente seguida por um acentuado decréscimo na frequência de interacções agonísticas entre os machos, e por um aumento concomitante dos comportamentos de corte às fêmeas. Este resultado deve, no entanto, ser interpretado com reservas, uma vez que não se dispunha de um grupo de controlo para avaliar a possibilidade de o mesmo padrão ocorrer em grupos só de machos sem introdução de fêmeas. Esta questão merece uma maior atenção no futuro, uma vez que, em outras espécies que se reproduzem em "leks", a presença de fêmeas nos "leks" promove um aumento das interacções agonísticas entre os machos, as quais podem ser utilizadas pelas fêmeas como um critério para a escolha do par (ver Wiley, 1991). Se os resultados apresentados se confirmarem, indicam que este mecanismo de escolha do par não está activo em *O. mossambicus*.

Os resultados da ACP parecem confirmar a interpretação acima exposta da sequência de actividades predominantes durante a formação dos grupos. Assim, no primeiro factor estão agrupados os comportamentos que correspondem à defesa territorial e à construção do ninho, os quais se salientam em conjunto na segunda fase da formação dos grupos. A análise também separou as interacções assimétricas de alta intensidade associadas com a defesa territorial (factor 1), das lutas simétricas, envolvidas nas avaliações mútuas de capacidades competitivas, e na subsequente formação das hierarquias, a qual aparece expressa no factor 2. Assim, a diferença temporal nos picos destes dois tipos de interacções agonísticas reflectiu-se nos resultados da ACP. O posicionamento da corte no factor 2, com sinal contrário relativamente aos combates simétricos, sugere uma incompatibilidade entre estas duas actividades. A associação entre o decréscimo das interacções agonísticas e o aumento dos comportamentos sexuais aponta no mesmo sentido. O terceiro factor contém aproximações (ABI) e Pairar. Sugere-se que este factor possa representar um grupo distinto de comportamentos gregários, provavelmente associados às actividades de cardume típicas da espécie fora dos períodos de reprodução, e com uma função de manutenção da coesão dos grupos.

Diferentes formas de Análise Factorial, incluindo a ACP, têm sido utilizadas em pesquisas etológicas como forma de estudar os mecanismos causais do comportamento (Wiepkema, 1961; Balthazart, 1973; Heiligenberg, 1973; Huntingford, 1976; Baerends, 1984). Nestes trabalhos os dados nos quais a analise é baseada são tipicamente transições entre padrões de comportamento (matrizes de transição) (*e.g.* Baerends, 1984). No presente trabalho, no entanto, os dados dos quais se partiu para a a ACP foram as frequências dos diferentes tipos de interacções para cada um dos

grupos e não as transições entre comportamentos ao nível dos indivíduos. Assim, os resultados apresentados neste capítulo não são directamente comparáveis com os resultados dos trabalhos mencionados acima. Apesar desta diferença metodológica é muito provável que muitas das propriedades que emergem no estudo de grupos são o resultado de mecanismos subjacentes ao comportamento dos indivíduos que constituem o grupo, como foi expresso por Hinde (1976) num contexto mais amplo.

Baerends (1984) num estudo sobre a organização do comportamento reprodutor num Ciclídeo incubador no substrato (*Aequidens portalegrensis*) identificou três grupos de comportamentos causalmente distintos, e que ele designou por agonísticos, transitórios e sexuais, incluindo este último grupo os comportamentos de escavação associados com a construção do ninho. Barlow (1974b) também viu a construção do ninho como parte do comportamento territorial em Ciclídeos incluindo *O. mossambicus*. Heiligenberg (1965) trabalhando com *Pelmatochromis subocellatus kribensis*, tinha também já expresso a ideia de que os comportamentos de escavação do substrato com a boca poderiam ser interpretados como uma forma de agressão re-direccionada. Este ponto de vista foi também expresso por Baerends (1984) para *A. portalegrensis*.

Sugere-se que a maior associação dos comportamentos de escavar o substrato com a defesa territorial em *O. mossambicus*, e a sua maior associação com a corte em *A. portalegrensis*, podem reflectir diferenças evolutivas associadas à mudança da incubação biparental no substrato (*A. portalegrensis*) para a incubação uniparental materna (*O. mossambicus*). De facto, nos incubadores de substrato a corte é um processo complexo e prolongado que envolve a formação de uma ligação forte entre os membros do par, acompanhada de uma mudança gradual de comportamentos agonísticos para comportamentos sexuais (Baerends e Baerends van Roon, 1959; Barlow, 1970; Barlow e Green, 1970; Polder, 1971; Lamprecht, 1973; Baylis, 1974, 1976; Reyer, 1975; Baerends, 1984; Neil, 1984; Schwanck, 1987; Barlow, 1991). Vários comportamentos envolvendo o ninho, tais como o escavar do substrato e a limpeza do ninho, parecem desempenhar um papel importante neste processo de formação do par (Baerends, 1984). Nos Ciclídeos com incubação bucal materna a corte é um processo muito mais simples, que não envolve o estabelecimento de uma ligação entre os membros do par, e em que a a posse de um ninho por parte do macho é um pre-requisito para a corte e para a desova na maior parte dos casos (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Fryer e Iles, 1972; Fishelson, 1983; Trewavas, 1983; Barlow, 1991). Nestas condições seria de esperar uma associação forte entre a construção do ninho e a defesa territorial, e o seu desacoplamento da corte em Ciclídeos com este tipo de sistemas de acasalamento.

8.4.2. Estudo de Longo Prazo

O resultado mais interessante do estudo de longo prazo foi a demonstração de que a linearidade e a estabilidade não se encontram associadas na organização social dos grupos. Embora as estruturas hierárquicas não fossem estáveis ao longo do período de observação, houve uma tendência para a sucessão de estruturas lineares ao longo do tempo. Este resultado levanta as seguintes questões:

(1) É possível que a ordenação dos indivíduos numa escala hierárquica não seja o ponto mais relevante na caracterização de uma estrutura social. O facto de um observador humano ser capaz de seriar os indivíduos de um grupo numa escala ordenada não significa que animais, sem sistemas cognitivos sofisticados, sejam eles próprios capazes de categorizar outros membros do grupo em posições hierárquicas precisas. É mais provável que os animais percepcionem categorias simples como por exemplo: aqueles que são mais fortes, aqueles que são menos fortes e aqueles com os quais as relações são incertas (Appleby, 1993). A este respeito é também provável que a diferença mais relevante entre os membros de um grupo é a de se ser de uma posição hierárquica elevada ou baixa. Bolles (1981) realçou este facto ao referir que, mesmo para um observador humano, é mais fácil detectar qual é o animal dominante e qual o animal subordinado de um grupo, mas é necessária uma observação e uma análise cuidada das interacções que ocorrem no grupo para se atribuirem posições aos indivíduos de estatuto intermédio. Cain e Baenninger (1980) verificaram, também em grupos cativos do Peixe-combatente (*Betta splendens*), que os indivíduos α e ω estão claramente definidos nas estruturas de dominância, enquanto que os indivíduos intermédios têm um estatuto comparável.

Dois dados no presente trabalho parecem suportar esta ideia: a maior estabilidade dos indivíduos dominantes, e o facto das reversões ocorrerem mais comummente entre vizinhos hierárquicos.

(2) Como se pode explicar a permanência da linearidade nas sucessivas estruturas hierárquicas?

A persistência da linearidade em estruturas hierárquicas sucessivas pode ser explicada se as mudanças básicas na estrutura forem devidas a reversões entre vizinhos hierárquicos, como já foi referido acima. Ou seja, se existir uma categoria de indivíduos (vizinhos hierárquicos) para os quais a força relativa não é clara para os sujeitos, e duas outras categorias, de indivíduos claramente dominantes, e de indivíduos claramente subordinados. De facto, os dados já apresentados no capítulo 7

mostram que os confrontos simétricos são mais comuns entre vizinhos hierárquicos, o que também já está descrito para outras espécies de Ciclídeos (Nelissen, 1985; Andries e Nelissen, 1990).

(3) No que respeita ao elevado grau de instabilidade encontrado, é importante relembrar que os sujeitos foram observados no período da maturação sexual, uma fase durante a qual as suas capacidades competitivas (RHP *sensu* Parker, 1974) relativas podem apresentar mudanças rápidas, à medida que um novo indivíduo do grupo amadurece. Em *Xiphophorus variatus* Borowsky (1973, 1978, 1987) descobriu a existência de um fenómeno de controlo social da maturação sexual. Os indivíduos dominantes, que amadurecem primeiro, inibem a maturação dos subordinados, os quais continuam a crescer, atingindo a maturação sexual mais tarde e com tamanhos maiores. Este padrão gera uma espécie de táctica compensatória entre os indivíduos. Seria interessante no futuro investigar a possibilidade de um mecanismo deste género estar também activo em *O. mossambicus*.

Mesmo em machos adultos de *O. mossambicus* cada macho territorial abandona o seu território após alguns dias de ocupação (Neil, 1964), aparentemente quando as reservas energéticas são já muito baixas (ver Bowen, 1984), e os territórios vagos são rapidamente reocupados por outros peixes (Neil, 1966). Estas dinâmica territorial é também um potencial factor responsável pela baixa estabilidade dos grupos.

Os processos acima mencionados realçam a importância de se especificar a escala de tempo utilizada e as peculiaridades biológicas das preparações utilizadas nos estudos sobre hierarquias de dominância.

9.
CORRELATOS COMPORTAMENTAIS DA DOMINÂNCIA SOCIAL

9.1. INTRODUÇÃO

Tem sido amplamente argumentado que o papel adaptativo da dominância social reside no facto dos indivíduos dominantes terem prioridade de acesso a recursos limitantes, quer sejam alimentares (selecção natural), ou parceiros sexuais (selecção sexual). Esta hipótese foi estabelecida para vários Vertebrados gregários, embora, no caso do sucesso reprodutor, sejam raros os estudos que contabilizaram o número de descendentes na geração seguinte, recorrendo a maior parte deles a medidas indirectas (para uma discussão deste tópico ver Dewsbury, 1982).

No caso dos Teleósteos, em todos os trabalhos prévios em que se tentou correlacionar a posição hierárquica dos machos com a reprodução, verificou-se que os indivíduos dominantes superam os subordinados no desempenho de comportamentos sexuais. De facto, são inúmeros os estudos que mostram que os indivíduos dominantes possuem uma taxa de cortes mais elevada que os subordinados (*e.g.* tentativas de cópula em Poecilídeos, Gorlick, 1976; Beaugrand *et al.*, 1984; vocalizações em *Padogobius martensi*, Torriceli *et al.*, 1993), têm um maior acesso às fêmeas, e são em alguns casos preferidos por estas (*e.g. Stegastes rectifraenum*, Hoelzer, 1990; *Poecilia reticulata*, Kodric-Brown, 1992; *Padogobius martensi*, Torriceli *et al.*, 1993; *Stegastes nigricans*, Karino, 1995). Em espécies que se reproduzem em arenas, como é o caso de *Oreochromis mossambicus*, ser dominante pode constituir um condicionante importante do sucesso reprodutor, uma vez que existe a possibilidade de interferências de machos territoriais vizinhos no acasalamento, o que requer da parte do macho residente a capacidade de defesa efectiva da fêmea e da zona de nidificação (Sheppey e Ribbink, 1985; Trail, 1985).

No que diz respeito à competição por recursos alimentares são também vários os exemplos em Teleósteos que demonstram a existência de uma correlação entre o estatuto social e a prioridade no acesso aos alimentos, embora a validade desta conclusão dependa da distribuição e da abundância dos recursos (Robinson e Doyle, 1988, 1990; Metcalfe *et al.*, 1989, 1990).

Para além da tentativa do estabelecimento de relações causais entre a dominância social e o acesso a recursos, alimentares ou sexuais, poucos são os trabalhos em Teleósteos que se debruçaram sobre os correlatos comportamentais da dominância social. Bildsoe (1988) realizou uma abordagem nesta linha ao comportamento social de *Poecilia velifera* e chegou à conclusão de que dominantes e subordinados diferiam unicamente em medidas de agressividade. Budaev (1995)

estudou as relações entre vários parâmetros comportamentais em guppies (*Poecilia reticulata*) em diferentes contextos sociais (*e.g.* inspecção de predadores, resposta a conspecíficos do mesmo sexo e do sexo oposto) e verificou a existência de 2 fenótipos comportamentais: (a) indivíduos "tímidos" com uma tendência para se imobilizarem em situações de desafio e com respostas de stress acentuadas; (b) indivíduos "destemidos" com uma tendência para responderem activamente em situações de desafio. Não seria surpreendente se se viesse a verificar que, num contexto de formação de grupos sociais, os indivíduos "destemidos" assumissem o estatuto de dominantes e os indivíduos "tímidos" o estatuto de subordinados.

No presente capítulo pretende-se estudar os correlatos comportamentais da dominância social, quer a curto prazo (estudo 3), quer a longo prazo (estudo 2), e verificar se dominantes e subordinados apresentam perfis comportamentais próprios.

9.2. MÉTODOS

Nos capítulos anteriores ficou demonstrado que a ordenação dos indivíduos numa escala hierárquica não é a representação mais fidedigna das relações sociais entre os elementos que pertencem ao mesmo grupo. Por um lado, este processo não reflecte a magnitude das diferenças entre os indivíduos, e por outro lado, a sua relevância biológica depende do pressuposto dos indivíduos terem representações mentais da posição hierárquica dos restantes elementos do grupo. Para além destas objecções, foi ainda demonstrado que se analisarmos o sucesso dos indivíduos nas interacções sociais em que participam, eles caiem em três classes possíveis: aqueles que vencem a esmagadora maioria das interacções em que participam; aqueles que perdem a maioria das interacções em que participam; e por fim aqueles que perdem e ganham interacções agonísticas numa proporção semelhante.

De acordo com o acima exposto parece mais plausível que, na tentativa de avaliar o efeito do estatuto social no perfil comportamental dos indivíduos, se deva adoptar uma estratégia de comparar indivíduos de diferentes classes de dominância em vez de se tentar correlacionar a posição hierárquica dos indivíduos no grupo (*i.e.*, 1,2,3,.., n) com as diferentes variáveis comportamentais.

O passo seguinte é pois adoptar um procedimento que nos permita a classificação dos indivíduos em classes de dominância de uma forma não ambígua. Com este objectivo em mente adoptou-se o seguinte procedimento:

(a) Para cada grupo construiu-se uma tabela de contingência, com tantas colunas quantos os elementos do grupo, e com duas linhas, uma destinada ao número de vitórias e a outra ao número de derrotas. Assim, as células da primeira linha contêm

o número de vitórias de cada um dos elementos do grupo, e as células da segunda linha o número de derrotas de cada um dos elementos do grupo.

(b) De seguida analisa-se a tabela de acordo com um procedimento de χ^2 calculando-se os valores esperados para cada célula de acordo com os totais marginais de linha e de coluna; este passo é da maior importância uma vez que desta forma o cálculo do valor esperado de vitórias para o indivíduo (Aij), não vai ser apenas função das interacções em que ele participou (total da coluna j), mas também da sua participação no conjunto de interacções (*i.e.* vitórias) do grupo (total da linha i).

(c) Com o procedimento de análise de tabelas de contingência com estatística de simulação ACTUS (ver capítulo 5), podemos estimar quais as células com valores significativamente altos, e quais as células com valores significativamente baixos. De acordo com este procedimento, os indivíduos foram classificados como dominantes quando apresentavam um valor de vitórias significativamente alto, e como subordinados quando apresentavam um valor de derrotas significativamente alto. Indivíduos que não apresentavam um número significativamente elevado nem de vitórias nem de derrotas, foram classificados como de estatuto intermédio.

A comparação das diferentes variáveis comportamentais entre as classes de dominância foi feita com procedimentos paramétricos sempre que a distribuição das variáveis o permitia, sendo adoptados procedimentos não paramétricos quando os pressupostos de normalidade ou de homogeneidade da variância eram violados.

Assim, no estudo de curto-prazo (estudo 3) utilizou-se uma análise de variância para dados emparelhados ("repeated measures" ANOVA) com duas variáveis independentes:

(a) o estatuto social - para testar as diferenças nos dominantes e subordinados nos grupos só de machos e nos grupos mistos;

(b) o contexto social - para testar o efeito da introdução das fêmeas nos grupos, quer em dominantes, quer em subordinados. Esta variável requer assim o emparelhamento dos dados das duas fases do estudo (grupos de machos vs. grupos mistos).

As diferenças entre as várias sub-amostras (*i.e.* dominantes em grupos de machos vs. dominantes em grupos mistos; subordinados em grupos de machos vs. subordinados em grupos mistos; dominantes vs. subordinados, em grupos de machos; dominantes vs. subordinados em grupos mistos) foram testadas com o procedimento das comparações planeadas (Wiener *et al.*,1991).

Quando as variáveis violavam os pressupostos da análise de variância para dados emparelhados ("repeated measures" ANOVA; ver capítulo 5) adoptaram-se

procedimentos não paramétricos. Assim, as diferenças entre dominantes em grupos de machos e dominantes em grupos mistos, e entre subordinados em grupos de machos e subordinados em grupos mistos, foram testadas com o teste de Wilcoxon (Wilcoxon "matched pairs test", Siegel e Castellan, 1988) e as diferenças entre dominantes e subordinados em grupos de machos, e entre dominantes e subordinados em grupos mistos, foram avaliadas com o teste de Mann-Whitney (Mann-Whitney U test, Siegel e Castellan, 1988). Como a utilização destes dois testes não paramétricos num mesmo conjunto de dados corresponde a uma situação de reteste, com a concomitante inflação da probabilidade de ocorrência de erros do tipo I, foi repartido o α pelos dois testes, tendo-se adoptado um nível de significância de 0.025 para contornar este problema.

As variáveis que não respeitaram os pressupostos da análise de variância para dados emparelhados ("repeated measures" ANOVA) e que portanto foram tratadas com procedimentos não paramétricos foram as seguintes: interacções ABI, proporção de tempo despendido em comportamentos sexuais, proporção de tempo despendido em comportamentos agonísticos, proporção e tempo despendido em comportamentos alimentares, proporção de tempo despendido a Cavar o Ninho, proporção de tempo despendido a Pairar no Ninho, proporção de tempo no fundo, proporção de ocorrências em que apresentava o padrão de Riscas Cruzadas, proporção de ocorrências em que apresentava o padrão de Riscas Verticais, volume do maior ninho, volume médio do Ninho.

No estudo de longo-prazo (estudo 2) utilizou-se uma análise de variância unifactorial ("one-way" ANOVA) para testar as diferenças entre as classes de estatuto social (*i.e.* dominantes vs. intermédios vs. subordinados), seguida de um teste de comparações múltiplas *a posteriori* (teste de Spjotvoll e Stoline; equivalente ao teste HSD de Tukey, mas para amostras de dimensões diferentes, Spjotvoll e Stoline, 1973), para identificar quais os grupos que diferiam significativamente entre si.

Quando as variáveis não respeitam os pressupostos da ANOVA utilizou-se o procedimento de análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis (Siegel e Castellan, 1988), seguido de um teste de comparações múltiplas não paramétricas para amostras de dimensões diferentes (teste de Dunn, Zar, 1984).

Por fim, e para tentar identificar quais os traços comportamentais que mais contribuem para distinguir entre as duas (estudo de curto-prazo - estudo 3), ou três (estudo de longo-prazo - estudo 2), classes de estatuto social, procedeu-se a análises discriminantes "forward stepwise", uma para cada situação experimental. Nestas análises não se puderam no entanto incluir todas as variáveis comportamentais amostradas, uma vez que algumas delas não foram registadas para algumas das classes

de dominância, e, portanto, tinham uma variância igual a zero para esse grupo, o que inviabiliza a sua inclusão na análise. Assim, não foram incluídas as seguintes variáveis nas análises a seguir indicadas:

Grupos de machos no estudo de curto prazo: proporção de tempo despendido em Cavar o ninho, Pairar no ninho, Riscas verticais, Barras horizontais, volume médio do ninho e volume do maior ninho.

Grupos mistos no estudo de curto prazo: proporção de tempo despendido em Cavar o ninho, Pairar no ninho, comportamentos sexuais, alimentação, Riscas verticais, Barras horizontais, Riscas Cruzadas.

Estudo de longo prazo: proporção de tempo despendido em comportamentos sexuais e Riscas Cruzadas.

9.3. RESULTADOS

9.3.1. Estudo de Curto-Prazo (Estudo 3)

No capítulo anterior foi demonstrado que o estatuto social de cada indivíduo estava estabelecido logo no primeiro dia após a formação dos grupos, e que este se mantinha estável ao longo dos 7 dias do estudo.

O índice de dominância (V/V+D) dos indivíduos medido no primeiro dia é já um bom preditor da capacidade dos indivíduos defenderem um território no substrato (teste de Mann-Whitney: n= 16, U= 0 , $p<0.01$, rank médio dos territoriais = 13.5, rank médio dos não-territoriais= 5.5), da dimensão do ninho que vão construir, e da taxa de cortes a fêmeas, após a introdução destas nos grupos experimentais (ver tabela 9.1.).

Assim, no primeiro dia após a formação dos grupos o estatuto social de cada indivíduo está basicamente estabelecido, e influencia fortemente a probabilidade de o indivíduo adquirir um território, o tamanho do seu ninho e ainda a frequência de cortes após a introdução das fêmeas.

Com vista à caracterização dos perfis comportamentais de indivíduos com diferentes estatutos sociais procedeu-se à classificação dos indivíduos em classes de dominância.

Tabela 9.1. Matriz de correlações entre o índice de dominância (V/V+D i) para diferentes dias (i) da estudo e o número de interacções agonísticas em que o indivíduo participou, o número de cortes dirigidas a fêmeas, e o volume máximo dos ninhos para os indivíduos da estudo 3.

	V/V+D 1	V/V+D 5	V/V+D 7	NºInter.	Cortes	Volume do ninho
V/V+D 1	-	0.81***	0.81***	0.40	0.74**	0.76***
V/V+D 5		-	0.98***	0.55	0.92***	0.91***
V/V+D 7			-	0.56	0.88***	0.90***
NºInter.				-	0.58	0.61
Cortes					-	0.88***

A análise das tabelas de contingência, referentes ao número de interacções agonísticas ganhas e perdidas por cada indivíduo num determinado grupo, com o procedimento do ACTUS, permitiu a categorização dos indivíduos do estudo de curto prazo (estudo 3) em duas classes de dominância social: dominantes (n=7) e subordinados (n= 9) (tabela 9.2.). Este resultado é surpreendente, uma vez que, pela natureza conservadora do teste, seria de esperar a categorização de um elevado número de indivíduos como de estatuto social intermédio, o que não aconteceu. Este facto reflecte, sem dúvida, as assimetrias existentes nas relações sociais entre os indivíduos que constituem um grupo.

Tabela 9.2. Classificação dos indivíduos da estudo 3 em classes de dominância (dominante ou subordinado) segundo o procedimento do ACTUS.

Grupo	Vitórias	Derrotas	p	Categoria
1	266	0	<0.001*	Dominante
	5	194	<0.001*	Subordinado
	21	193	<0.001*	Subordinado
	177	82	<0.001*	Dominante
2	617	3	<0.001*	Dominante
	39	247	<0.001*	Subordinado
	29	235	<0.001*	Subordinado
	14	214	<0.001*	Subordinado
3	248	21	<0.001*	Dominante
	468	31	<0.001*	Dominante
	0	819	<0.001*	Subordinado
	209	54	<0.001*	Dominante
4	23	180	<0.001*	Subordinado
	110	166	0.006*	Subordinado
	0	215	<0.001*	Subordinado
	428	0	<0.001*	Dominante

Para comparar os perfis comportamentais dos indivíduos dominantes e subordinados nos dois contextos sociais em causa, *i.e.* antes da introdução das fêmeas (grupos de machos) e após a introdução das fêmeas nos grupos experimentais (grupos mistos), testaram-se as seguintes diferenças: dominantes vs. subordinados em grupos de machos; dominantes vs. subordinados em grupos mistos. Para se avaliar o efeito da introdução das fêmeas no comportamento quer de dominantes quer de subordinados compararam-se as seguintes amostras: dominantes em grupos de machos vs. dominantes em grupos mistos; subordinados em grupos de machos vs. subordinados em grupos mistos.

Os resultados destas análises são apresentados em conjunto nas figuras 9.1. a 9.12.. Nas figuras são apresentadas a média (barra) e o desvio padrão (traço vertical) para cada amostra, e as diferenças significativas entre dominantes e subordinados estão assinaladas com um asterisco. As diferenças entre cada uma das classes de dominância (*i.e.* dominantes ou subordinados) antes e após a introdução das fêmeas está assinalada através de letras. Assim, amostras de uma mesma classe com letras diferentes apresentam diferenças significativas entre si, e amostras de uma mesma classe notadas com a mesma letra referem-se a grupos homogéneos.

Comportamento Locomotor

Na figura 9.1. apresentam-se os dados referentes às variáveis que reflectem o comportamento locomotor dos indivíduos.

Em ambos os contextos sociais os indivíduos subordinados despendem uma proporção maior de tempo a Pairar do que os dominantes (grupos de machos: $F_{1,14}=28.325$, $p<0.0001$; grupos mistos: $F_{1,14}=46.019$, $p<0.0001$) não se verificando qualquer efeito do contexto social neste resultado (dominantes: $F_{1,14}=1.629$, $p=0.223$; subordinados: $F_{1,14}=0.646$, $p=0.435$).

Também em relação à Actividade Locomotora não se observa qualquer efeito do contexto social (grupos de machos vs. grupos mistos; dominantes: $F_{1,14}=4.029$, $p=0.064$; subordinados: $F_{1,14}=0.338$, $p=0.570$), sendo apenas detectada uma diferença entre dominantes e subordinados nos grupos mistos (grupos de machos: $F_{1,14}=8.7\times10^{5}$, $p=0.993$; grupos mistos: $F_{1,14}=5.025$, $p=0.041$).

No que diz respeito à Natação não se observam diferenças entre as duas classes nos grupos de machos ($F_{1,14}=2.732$, $p=0.12$). No entanto, nos grupos mistos observa-se um aumento significativo do Nadar nos subordinados ($F_{1,14}=11.625$, $p=0.004$) passando a existir uma diferença significativa entre estes e os dominantes ($F_{1,14}=4.625$, $p=0.049$). Este resultado parece contradizer os dados da actividade locomotora. Uma explicação possível, para esta aparente contradição nos dados, é

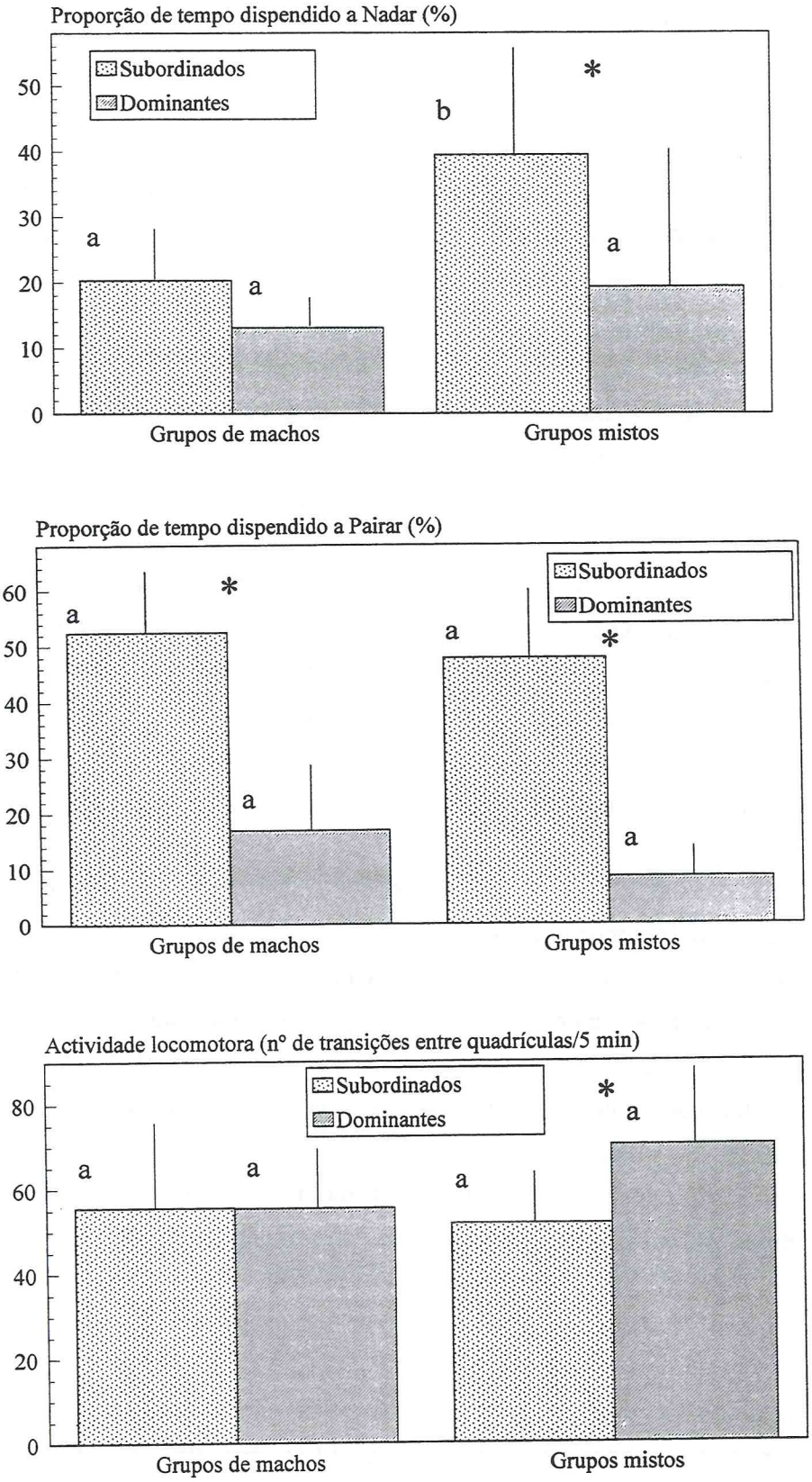


Figura 9.1. Comportamentos locomotores nos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos): (a) proporção de tempo despendido a nadar; (b) proporção de tempo despendido a pairar; (c) actividade locomotora.

que, após a introdução das fêmeas, a actividade locomotora dos dominantes aumenta e torna-se superior à dos subordinados, não porque os indivíduos dominantes despendam mais tempo a nadar, mas porque deixam de permanecer tanto tempo no ninho e gastam mais tempo em comportamentos sexuais, os quais implicam uma maior actividade locomotora.

Territorialidade e Actividades no Ninho

No que diz respeito aos padrões de ocupação espacial dos aquários pelas duas classes de indivíduos, verifica-se que em ambos os contextos sociais (*i.e.* grupos de machos e grupos mistos) existe uma segregação dos indivíduos subordinados em relação ao substrato. Os indivíduos dominantes apresentam uma ocupação do substrato significativamente maior do que os subordinados (grupos de machos: teste de Mann-Whitney: U= 6.0, z=-2.69, p=0.0069; grupos mistos: teste de Mann-Whitney: U= 1.5, z=-3.17, p=0.0014), verificando-se a situação inversa na superfície (grupos de machos: $F_{1,14}$=18.559, p=0.0007; grupos mistos: $F_{1,14}$=7.079, p=0.0186), e não existindo diferenças significativas no tempo despendido a meia água por ambas as classes de dominância (grupos de machos: $F_{1,14}$=0.055, p=0.816; grupos mistos: $F_{1,14}$=4.325, p=0.0563) (ver figura 9.2).

Uma vez que apenas os indivíduos dominantes foram bem sucedidos no estabelecimento e defesa de territórios reprodutores no substrato, apenas eles possuem ninhos.

A introdução das fêmeas nos grupos não parece ter tido qualquer efeito na proporção de tempo gasto pelos dominantes quer a Cavar o ninho (teste de Wilcoxon, T=4.0, z=1.362, p=0.172) quer a Pairar no ninho (teste de Wilcoxon, T=5.0, z=1.521, p=0.128)(ver figura 9.3), nem no volume máximo do ninho (teste de Wilcoxon, T=12.0, z=0.338, p=0.735)(ver figura 9.4). No que diz respeito ao volume médio do ninho, detecta-se um aumento significativo após a introdução das fêmeas (teste de Wilcoxon, T=0.0, z=2.366, p=0.017)(ver figura 9.4). Este resultado deve ficar-se a dever ao facto de ser durante o período dos grupos só de machos que se processa a construção do ninho, não se observando incrementos acentuados no seu volume no período de grupos mistos.

Na figura 9.5 apresentam-se os dados sobre a construção dos ninhos nos 4 grupos experimentais ao longo dos 7 dias do estudo. Nesta figura para além da variação temporal das dimensões dos ninhos estão também representados os indivíduos associados aos ninhos. Excepto para o grupo 3, o indivíduo dominante de cada grupo é o primeiro a construir um ninho, podendo construir e manter mais do que um ninho durante alguns períodos de tempo (*e.g.* grupo 1: indivíduo d1 nos dias 1 e 2; grupo 2:

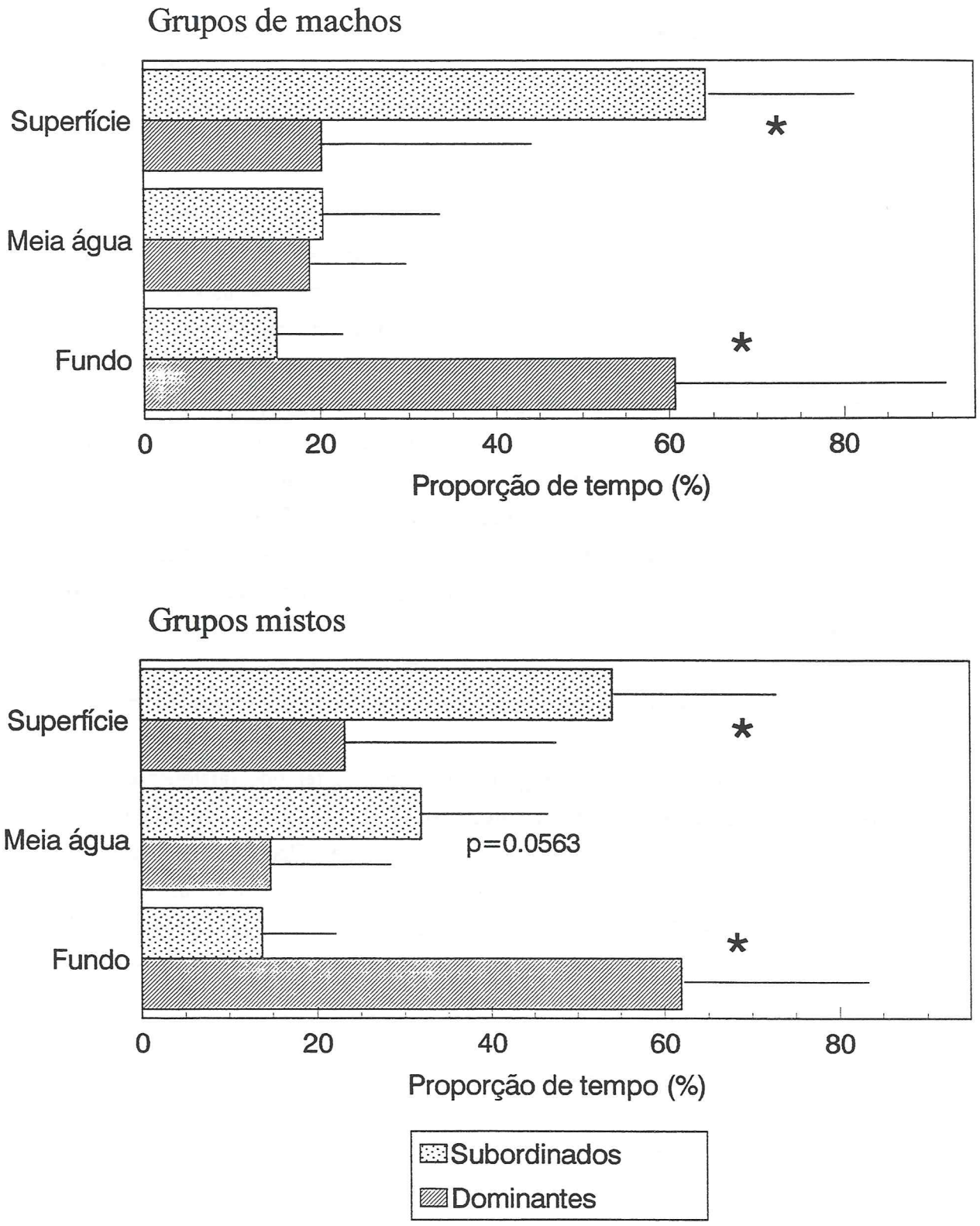


Figura 9.2. Distribuição espacial dos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos).

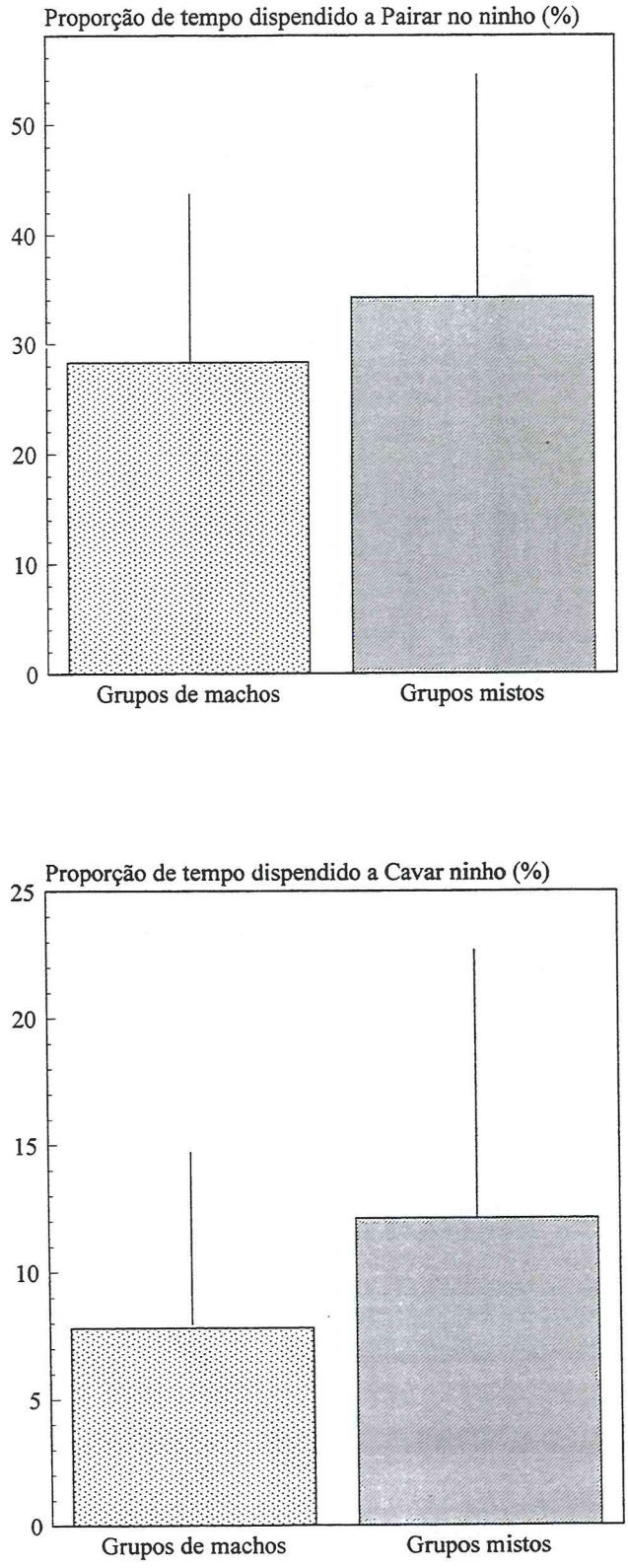
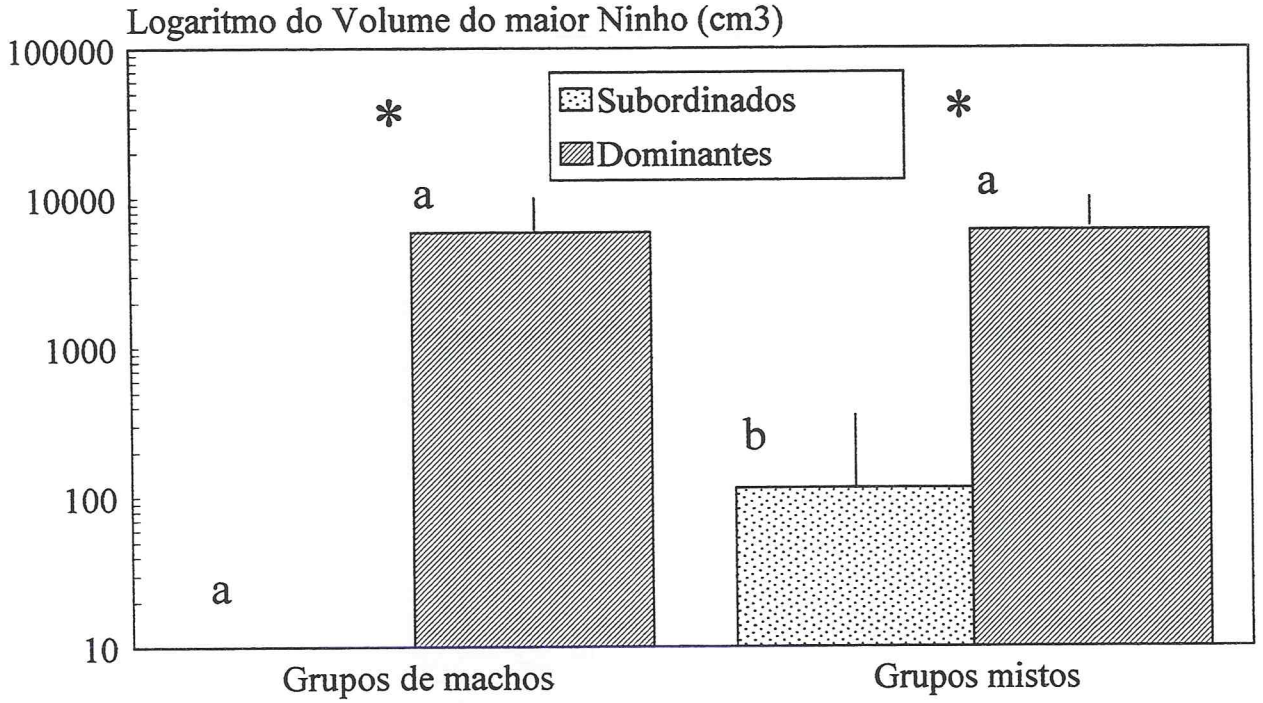


Figura 9.3. Actividades no ninho dos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos): (a) proporção de tempo despendido a pairar no ninho; (b) proporção de tempo despendido a cavar o ninho.



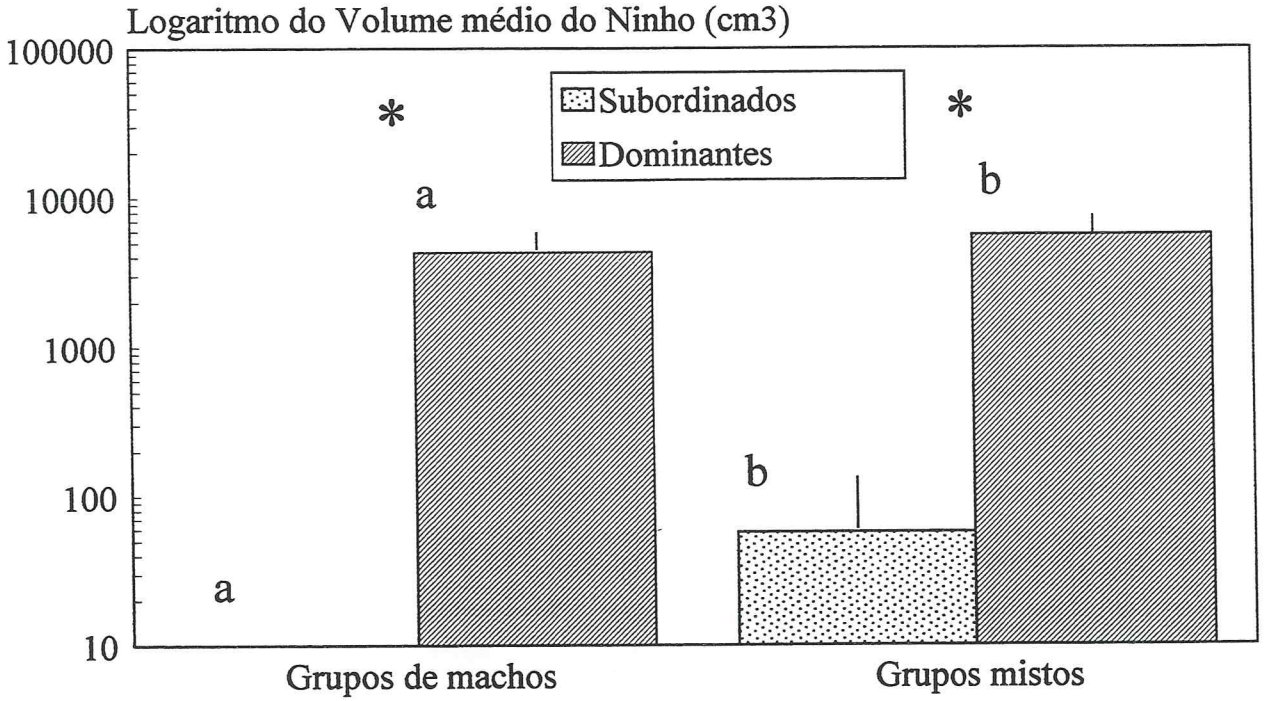


Figura 9.4. Tamanho dos ninhos dos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos): (a) volume máximo do ninho durante a experiência; (b) volume médio do ninho durante a experiência.

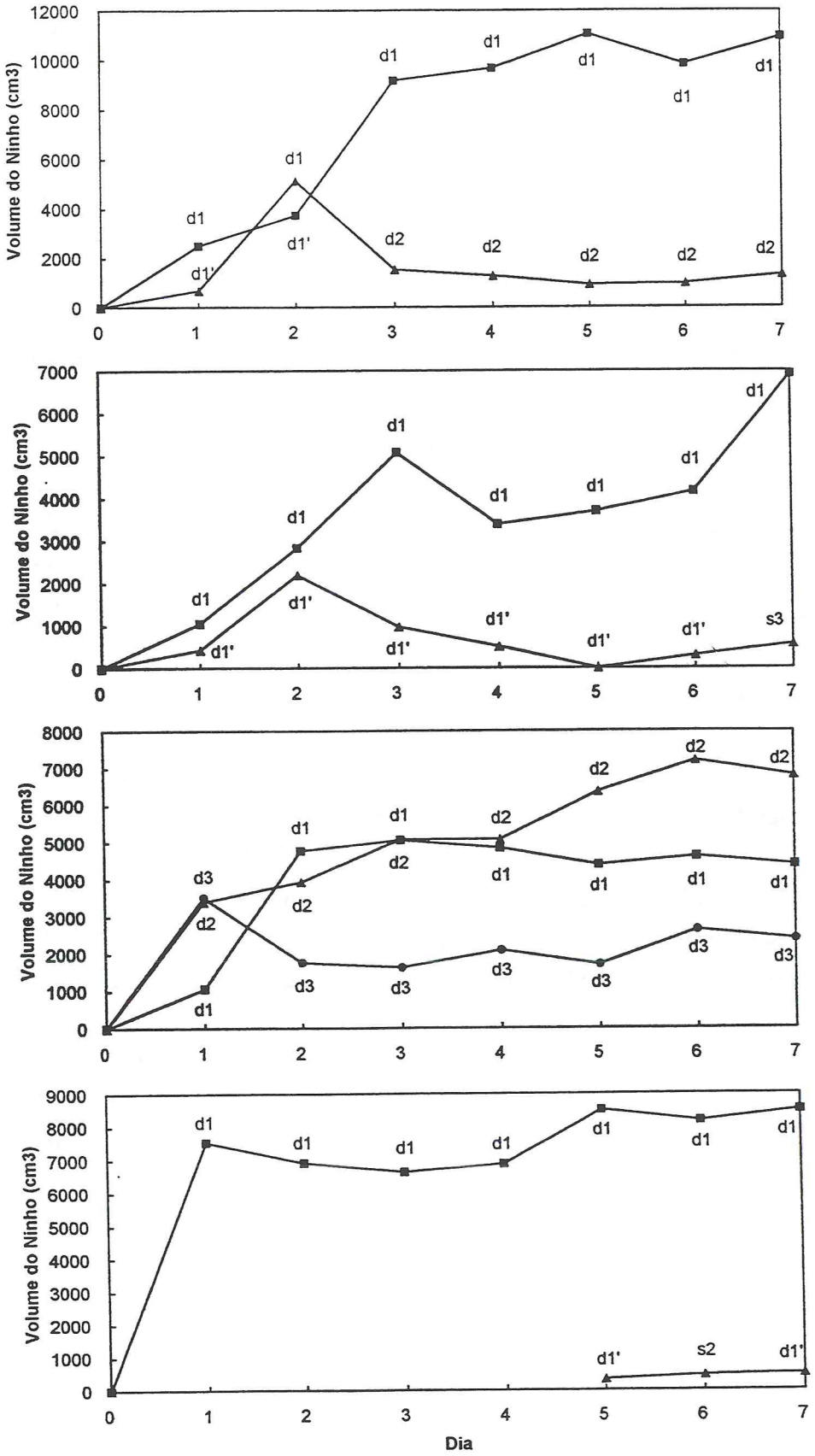


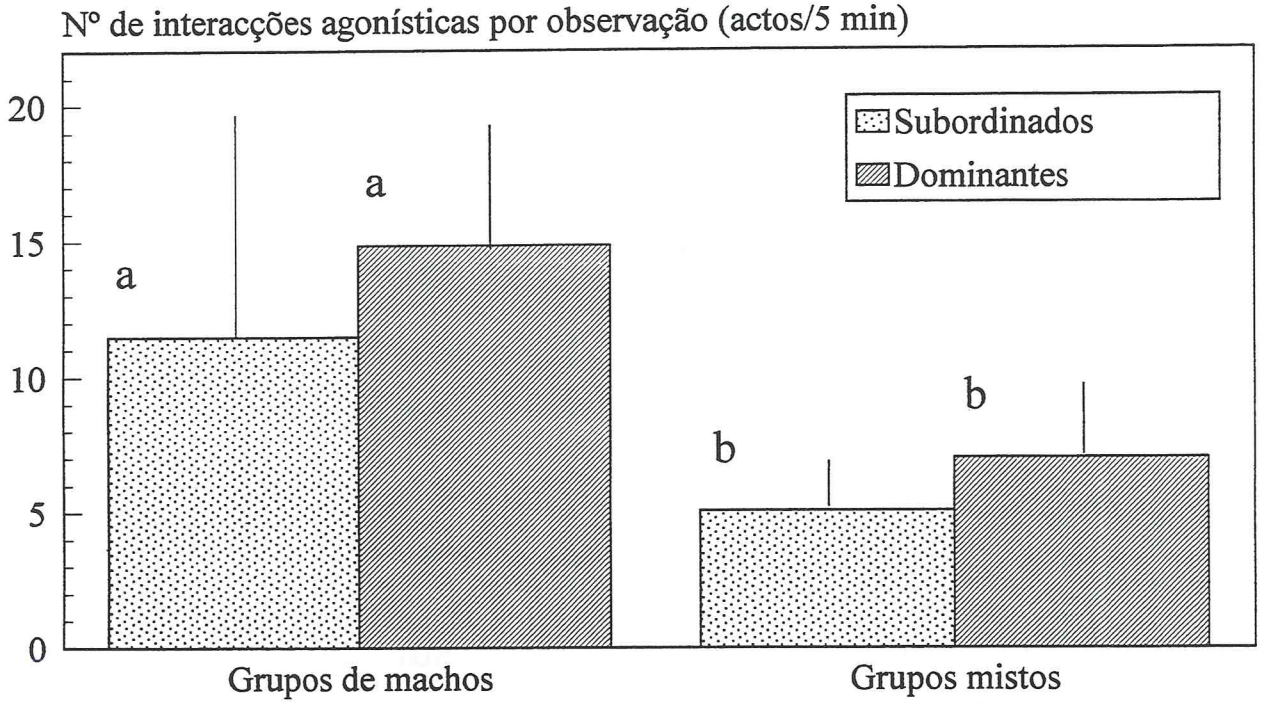
Figura 9.5. Construção dos ninhos ao longo dos 7 dias da experiência 3: (a) grupo1; (b) grupo 2; (c) grupo 3; (d) grupo 4. As letras e os números indicam respectivamente o estatuto social (d = dominante; s = subordinado) e a identidade dos indivíduos associados a cada um dos ninhos em cada um dos dias da experiência.

indivíduo d1 nos dias 1 a 6; grupo 4: indivíduo d1 nos dias 5 e 7). Nestes casos, os segundos indivíduos a obterem ninhos fazem-no a partir de ninhos previamente escavados pelos indivíduos dominantes e que estes deixaram de defender activamente (grupo 1: indivíduo d2 nos dias 3 a 7; grupo 2: indivíduo s3 no dia 7; grupo 4: indivíduo s2 no dia 6). O grupo 3 apresenta uma dinâmica de construção de ninhos diferente, existindo 3 indivíduos dominantes que constroem e defendem, cada um, o mesmo ninho do primeiro ao sétimo dia. O que é interessante verificar neste caso é que o tamanho relativo dos ninhos varia ao longo dos dias do estudo: no primeiro dia os indivíduos d2 e d3 detêm os maiores ninhos, de dimensões aproximadamente iguais; nos dias 2 e 3 o ninho do indivíduo d1 é o maior; do quarto ao sétimo dia o indivíduo d2 expande o seu ninho sendo este o de maiores dimensões nestes dias (ver figura 9.5). Estes resultados sugerem as seguintes conclusões: (a) os indivíduos dominantes são os primeiros a construir e defender ninhos com sucesso; (b) parecem existir duas vias de obter ninhos: adquirir um estatuto social elevado no grupo e construir o ninho de raiz; adoptar um ninho pré-existente que um indivíduo dominante deixou de utilizar.

Comportamento Agonístico

O número de interacções agonísticas em que os indivíduos participam não difere significativamente entre dominantes e subordinados, quer nos grupos só de machos ($F_{1,14}$=0.836, p=0.375), quer após a introdução das fêmeas ($F_{1,14}$=1.505, p=0.240). Verifica-se, no entanto, um decréscimo significativo do número de interacções agonísticas, quer em dominantes ($F_{1,14}$=11.485, p=0.004), quer em subordinados ($F_{1,14}$=9.807, p=0.007) após a introdução das fêmeas nos grupos (ver figura 9.6).

Este mesmo padrão emerge da análise quer do tempo despendido em comportamentos agonísticos (dominantes vs. subordinados em grupos de machos: teste de Mann-Whitney: U=14.5, z= -1.79, p=0.071; dominantes vs. subordinados em grupos mistos: teste de Mann-Whitney: U=16.5, z= -1.58, p=0.100; dominantes grupos de machos vs. grupos mistos: teste de Wilcoxon: T= 1.0, z=2.19, p=0.27; subordinados grupos de machos vs. grupos mistos: teste de Wilcoxon: T= 8.0, z=1.71, p=0.085) (ver figura 9.6), quer das diferentes categorias de interacções agonísticas consideradas- AAI (dominantes vs. subordinados em grupos de machos: $F_{1,14}$=0.292, p=0.597; dominantes vs. subordinados em grupos mistos: $F_{1,14}$=0.598, p=0.452; dominantes grupos de machos vs. grupos mistos: $F_{1,14}$=6.909, p=0.019; subordinados grupos de machos vs. grupos mistos: $F_{1,14}$=6.252, p=0.025), e ABI (dominantes vs. subordinados em grupos de machos: teste de Mann-Whitney: U=31, z= -0.05, p=0.957; dominantes vs. subordinados em grupos mistos: teste de Mann-Whitney:



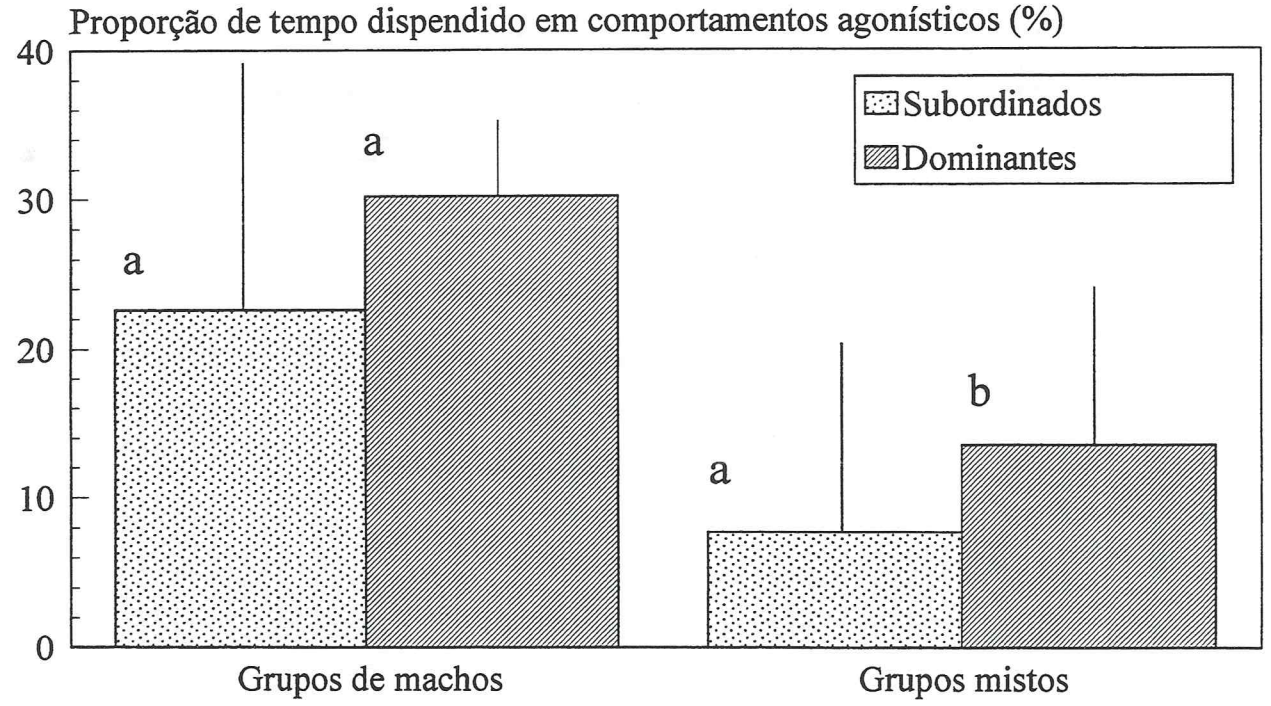


Figura 9.6. Comportamentos agonísticos dos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos): (a) número de interacções agonísticas em que o indivíduo participou; (b) proporção de tempo despendido em interacções agonísticas.

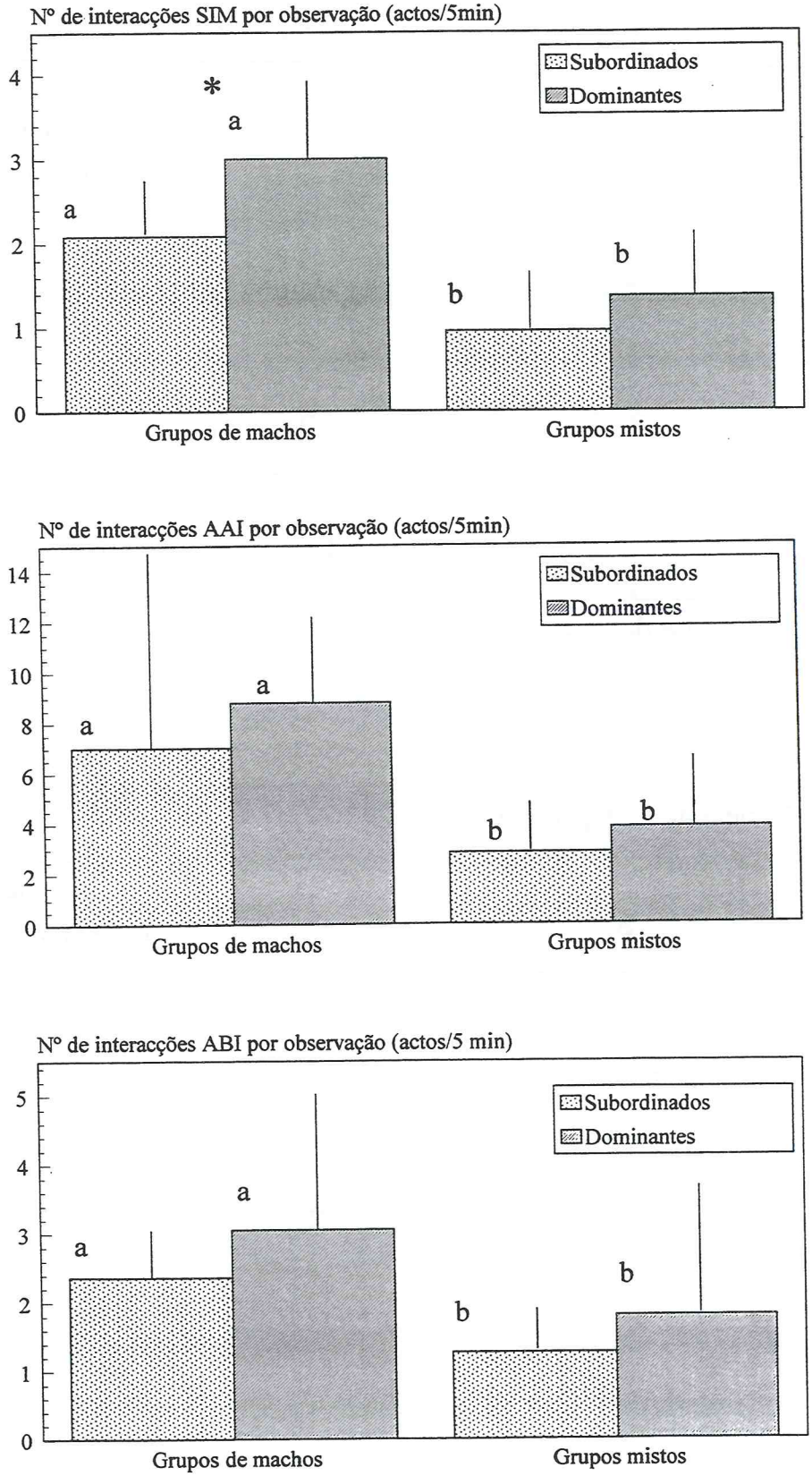


Figura 9.7. Número de interacções agonísticas por observação em que os indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos) participaram: (a) interacções simétricas (SIM); (b) interacções assimétricas de alta intensidade (AAI); (c) interacções assimétricas de baixa intensidade (ABI).

U=28, z= -0.37, p=0.710; dominantes grupos de machos vs. grupos mistos: teste de Wilcoxon: T= 0.0, z=2.36, p=0.017; subordinados grupos de machos vs. grupos mistos: teste de Wilcoxon: T= 0.0, z=2.66, p=0.007)-, excepto no caso das interacções simétricas (SIM), em que os indivíduos dominantes apresentam uma frequência significativamente mais elevada nos grupos de machos (dominantes vs. subordinados em grupos de machos: $F_{1,14}$=4.65, p=0.048; dominantes vs. subordinados em grupos mistos: $F_{1,14}$=1.23, p=0.286; dominantes grupos de machos vs. grupos mistos: $F_{1,14}$=14.335, p=0.002; subordinados grupos de machos vs. grupos mistos: $F_{1,14}$=8.84, p=0.010) (ver figura 9.7). Este resultado deve ser inerente ao processo de aquisição e manutenção do estatuto social por parte dos indivíduos dominantes, o qual requer na fase inicial da formação dos grupos, que corresponde aos grupos de machos, um envolvimento num maior número de "lutas escaladas" para avaliação das capacidades competitivas relativas.

Comportamentos Sexuais

Os comportamentos sexuais eram já observáveis nos grupos só de machos, sendo dirigidos pelos indivíduos dominantes aos subordinados (ver capítulo 12). Este facto está expresso na figura 9.8, em que os comportamentos sexuais são detectados, embora com valores muito baixos, em ambas as categorias de estatuto social nos grupos de machos. Nesta fase não ocorre diferença significativa entre dominantes e subordinados na proporção de tempo despendido em comportamentos sexuais (teste de Mann-Whitney: U= 29, z=-0.264, p=0.791), sendo que os valores para os subordinados dizem respeito a ocorrências em que eles eram os receptores das cortes, e no caso dos dominantes referem-se a episódios de corte em que eram estes que cortejavam os subordinados. Após a introdução das fêmeas verifica-se um aumento acentuado do tempo despendido em comportamentos sexuais pelos indivíduos dominantes (teste de Wilcoxon: T=0.0, z=2.20, p=0.027), deixando os comportamentos sexuais de ser detectados nos indivíduos subordinados. Estes resultados ficam-se a dever à existência de um re-direccionamento das cortes dos dominantes para as fêmeas, deixando de ser detectáveis com este tipo de amostragem as poucas cortes de que os subordinados são receptores.

No que diz respeito ao número de cortes dirigidas às fêmeas verifica-se uma diferença bastante significativa entre dominantes e subordinados, tendo os indivíduos dominantes o acesso quase exclusivo às fêmeas (teste de Mann-Whitney: U= 0.0, z=-3.33, p=0.0008) (ver figura 9.9). Este dado pode ter consequências marcantes na aptidão darwiniana ("fitness") dos indivíduos uma vez que todos os acasalamentos bem sucedidos que foram observados (n = 4) neste estudo foram protagonizados por

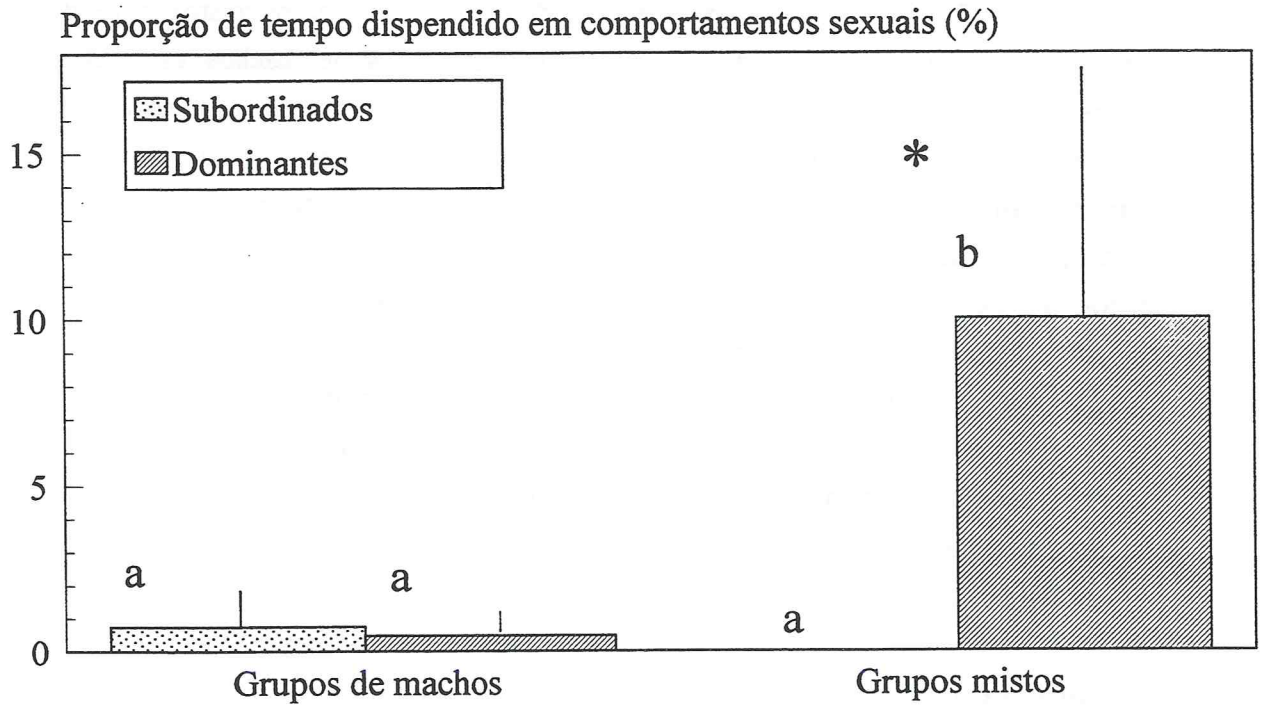


Figura 9.8. Proporção de tempo despendido em comportamentos sexuais pelos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos)

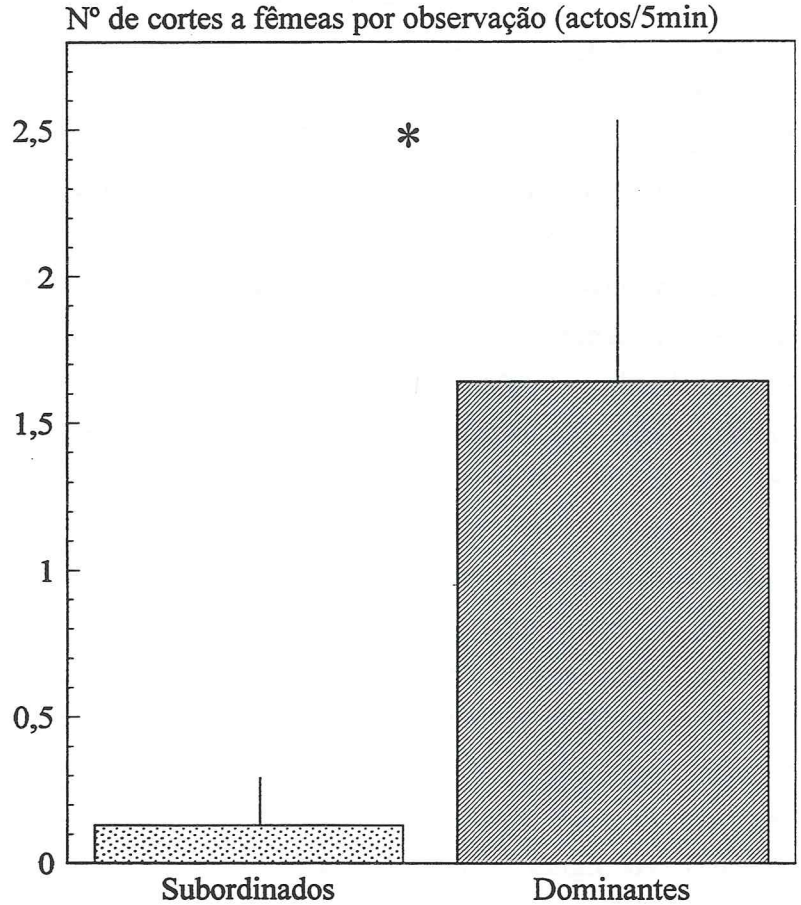


Figura 9.9. Número de cortes a fêmeas efectuadas pelos indivíduos subordinados e dominantes nos grupos mistos da experiência 3.

indivíduos dominantes. No entanto devido à possível existência de tácticas alternativas este resultado deverá ser encarado com cautelas e este assunto e será retomado com maior pormenor no capítulo 12.

Outras Actividades

Foram ainda investigadas as actividades de alimentação e de contacto com a superfície.

Dominantes e subordinados não apresentam diferenças significativas na sua actividade alimentar em nenhum dos contextos sociais (grupos de machos: teste de Mann-Whitney: U= 30.0, z=-0.15, p=0.873; grupos mistos: teste de Mann-Whitney: U= 28.0, z=-0.37, p=0.711). Verifica-se, no entanto, um decréscimo significativo da actividade alimentar em ambas as categorias de indivíduos após a introdução das fêmeas (teste de Wilcoxon, dominantes: T= 0.0, z=2.02, p=0.043; subordinados: T= 0.0, z=2.02, p=0.043), passando a alimentação a não ser detectada com este método de amostragem nos indivíduos dominantes (ver figura 9.10).

O comportamento de contacto com a superfície, que, como já foi referido no capítulo 6, pode estar relacionado com maiores necessidades de consumo de oxigénio, não apresenta diferenças significativas nem em relação ao estatuto social ($F_{1,14}$ = 0.775, p= 0.393), nem em relação aos dois contextos sociais analisados ($F_{1,14}$ = 0.942, p= 0.348) (ver figura 9.11).

Padrões de coloração

Os indivíduos dominantes apresentam sempre uma coloração mais escura do que os seus companheiros de grupo que sejam subordinados. A diferença na intensidade da coloração escura do corpo entre indivíduos dominantes e subordinados observa-se em ambos os contextos sociais estudados (grupos de machos: $F_{1,14}$ = 48.66, p<<0.0001; grupos mistos: $F_{1,14}$ = 66.01, p<<0.0001), e a presença das fêmeas parece promover o escurecimento do corpo, quer em dominantes ($F_{1,14}$ = 10.84, p= 0.005), quer em subordinados ($F_{1,14}$ = 16.86, p= 0.001) (ver figura 9.12).
As Riscas Verticais só foram detectadas em indivíduos subordinados, nos quais não se detectou no entanto nenhum efeito da presença das fêmeas na proporção de tempo em que o padrão de coloração era visível (grupos machos: média= 11.1 ± 22.2 %; grupos mistos: média= 11.1 ± 22.2 %; teste de Wilcoxon: n=9, T=3.0, z= 0.0, p=1.0).

As Barras Horizontais foram apenas detectadas em indivíduos dominantes nos grupos de machos (média± DP = 2.3± 6.7 % de tempo).

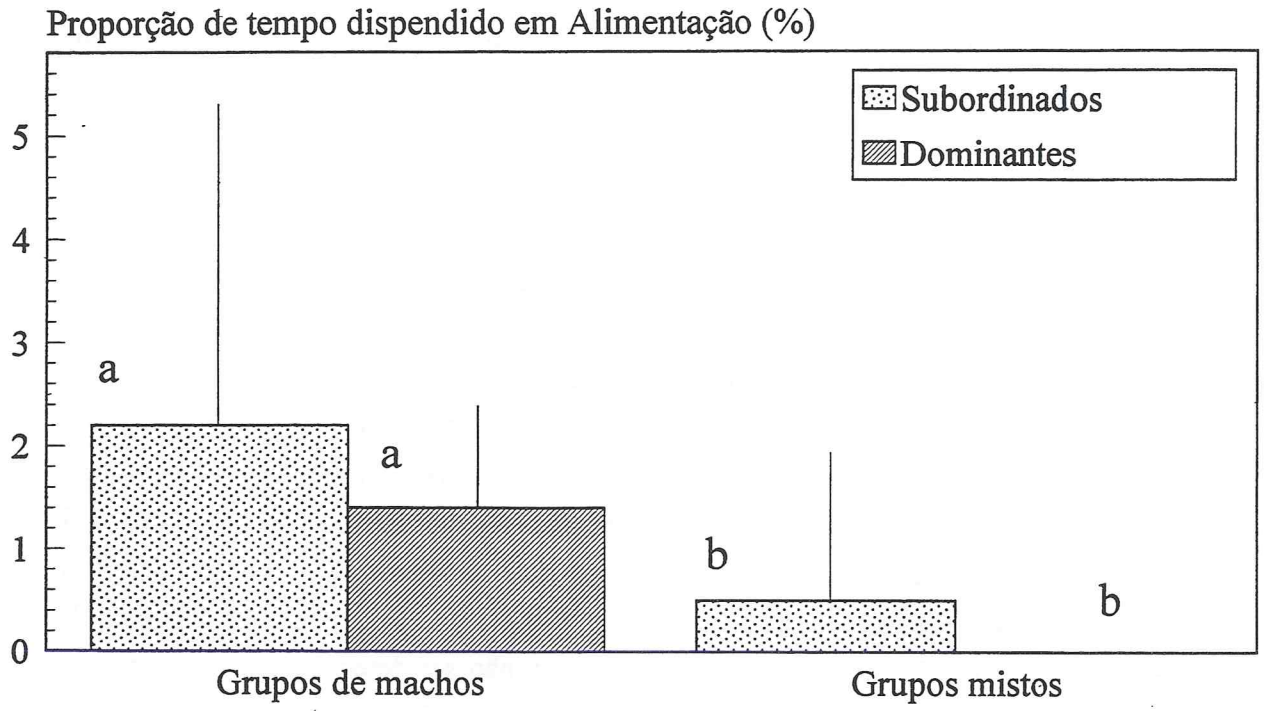


Figura 9.10. Actividade alimentar dos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos).

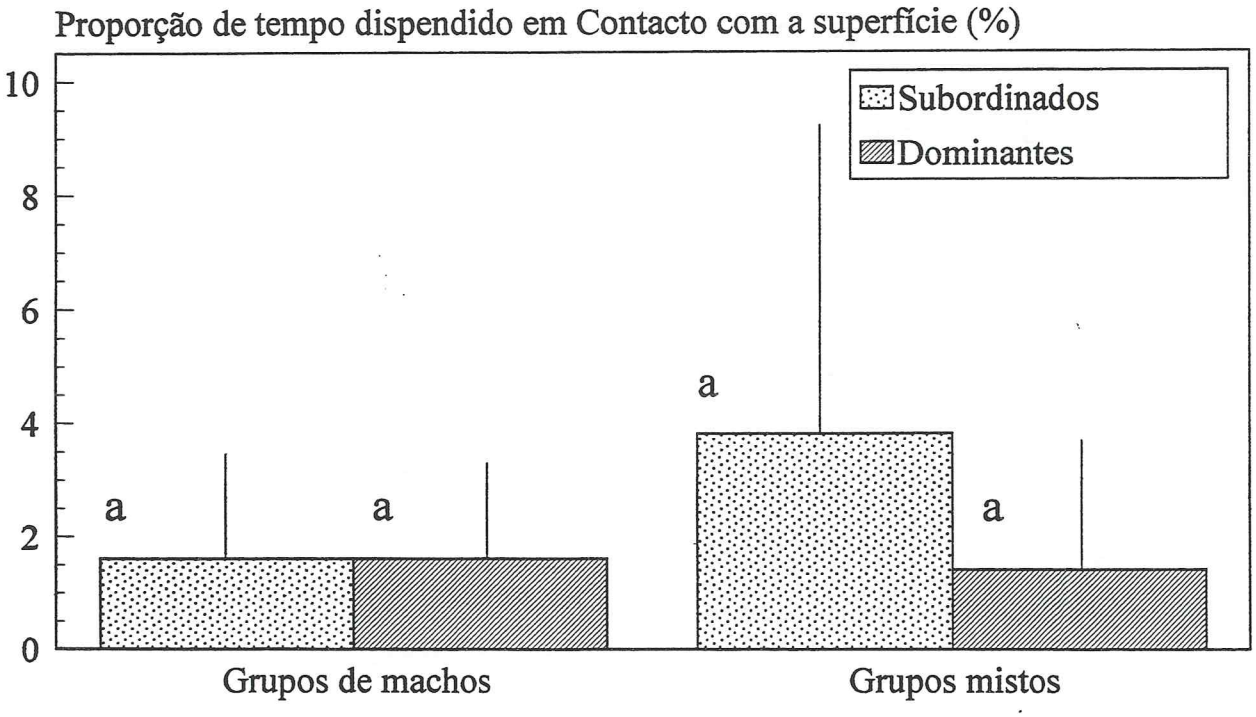


Figura 9.11. Proporção de tempo despendido em contacto com a superfície pelos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos).

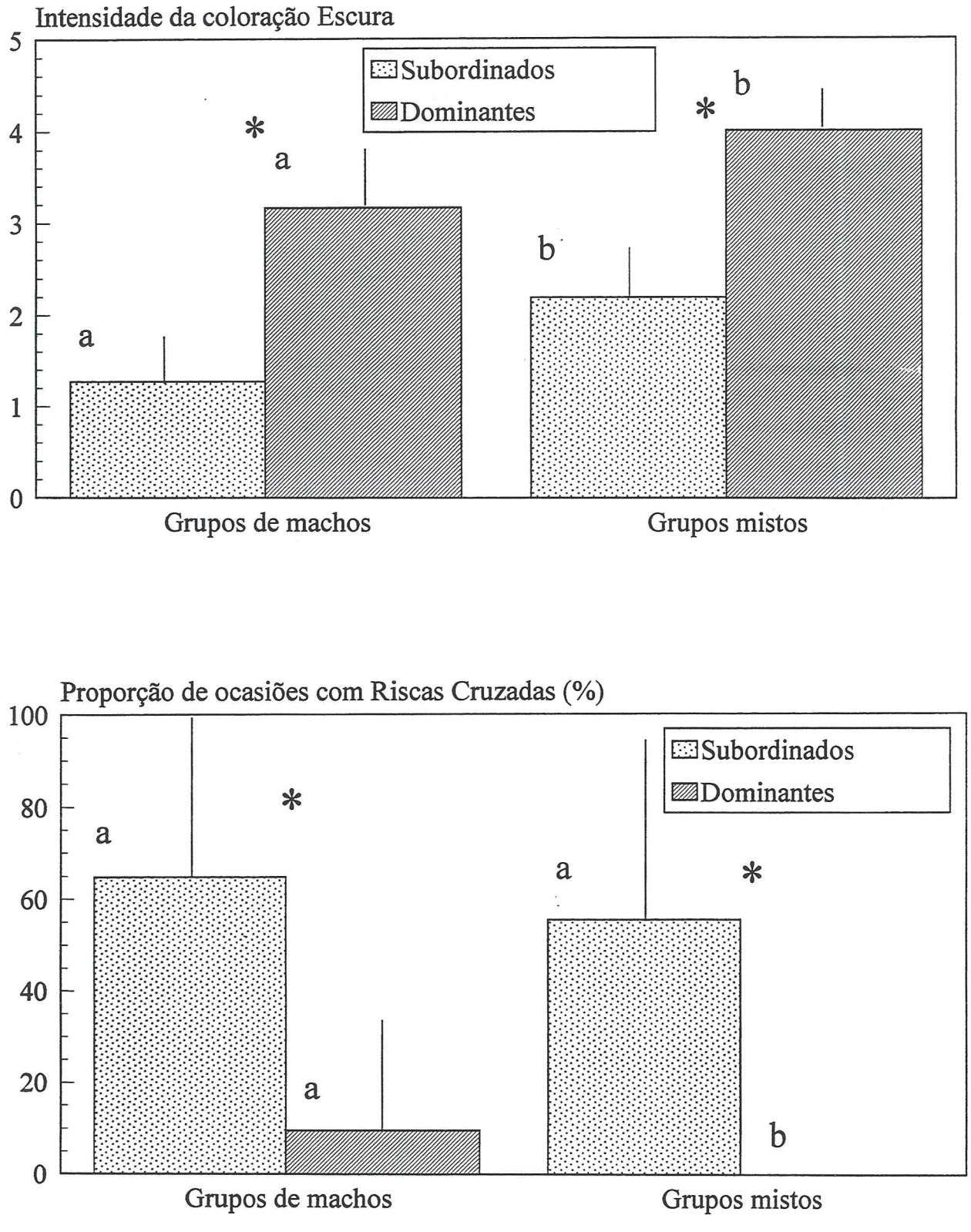


Figura 9.12. Padrões de coloração dos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais (grupos de machos vs. grupos mistos): (a) intensidade da coloração escura; (b) proporção de tempo que apresentam riscas cruzadas (padrão malhado).

O padrão de Riscas Cruzadas (malhado) foi observado em ambas as categorias de indivíduos nos grupos só de machos, embora os indivíduos subordinados apresentassem este padrão numa maior percentagem de ocasiões (teste de Mann-Whitney: U = 6.5, z=-2.64 , p=0.005). Na presença de fêmeas este padrão foi apenas observado em indivíduos subordinados, não sendo significativa a diferença entre os dois contextos sociais na proporção de tempo em que este padrão de coloração está presente nos indivíduos subordinados (teste de Wilcoxon: n = 9, T = 10, z= 0.67, p = 0.498) (ver figura 9.12).

Os resultados acima expostos sugerem as seguintes conclusões:

(a) A introdução das fêmeas nos grupos tem um efeito positivo no escurecimento do corpo quer de dominantes quer de subordinados;

(b) existe um certo dicromatismo entre indivíduos dominantes e indivíduos subordinados no que diz respeito aos padrões de riscas, tendo sido as Barras Horizontais apenas detectadas nos indivíduos dominantes e as Riscas Verticais nos indivíduos subordinados.

(c) nos indivíduos dominantes a presença das fêmeas promove um escurecimento do corpo que se sobrepõe aos padrões de Barras horizontais e de Riscas Cruzadas.

9.3.2. Estudo de Longo Prazo (Estudo 2)

No capítulo anterior foi colocado em evidência o facto de a longo prazo os indivíduos mudarem de posições relativas na hierarquia de dominância do grupo a que pertencem. No entanto nem todos os indivíduos mudam de posições hierárquicas com a mesma frequência, sendo os indivíduos dominantes mais conservadores do que os subordinados. Assim, embora a atribuição de uma posição hierárquica a um indivíduo tenha pouca validade temporal, podemos classificar os indivíduos em classes de dominância de acordo com o desfecho do número total de interacções nas quais eles participaram ao longo das 8 semanas.

Deste modo, a análise das tabelas de contingência, referentes ao número de interacções agonísticas ganhas e perdidas por cada indivíduo num determinado grupo com o procedimento do ACTUS permitiu a categorização dos machos do estudo de longo prazo (estudo 2) em três classes de dominância social: dominantes (n=9), intermédios (n=7), e subordinados (n=12) (tabela 9.3).

A análise da tabela 9.3. mostra que o procedimento do ACTUS, adoptado para a classificação dos indivíduos em classes de dominância, integra a participação do indivíduo no conjunto das interacções do grupo a que pertence. Assim, a classificação do indivíduo em dominante ou subordinado entra em conta não só com o seu sucesso

nas interacções sociais em que participou, que pode ser medido pelo índice de dominância V/V+D, mas também com a sua participação no conjunto das Vitórias e no conjunto das Derrotas do grupo.

Tabela 9.3. Classificação dos indivíduos do estudo 2 em classes de dominância (dominantes, intermédios e subordinados) segundo o procedimento do ACTUS.

Grupo	Vitórias	Derrotas	p	Categoria
1	5	8	0.508	Intermédio
	12	10	0.069	Intermédio
	3	11	0.236	Intermédio
	1	9	0.135	Intermédio
2	128	6	<0.001*	Dominante
	9	64	<0.001*	Subordinado
	28	36	0.013*	Subordinado
3	28	26	0.247	Intermédio
	2	62	<0.001*	Subordinado
	81	8	<0.001*	Dominante
	49	19	0.034*	Dominante
4	24	76	<0.001*	Subordinado
	39	58	0.001*	Subordinado
	224	0	<0.001*	Dominante
5	2	44	<0.001*	Subordinado
	172	0	<0.001*	Dominante
	0	54	<0.001*	Subordinado
	2	66	<0.001*	Subordinado
6	40	47	0.001*	Subordinado
	81	1	<0.001*	Dominante
	59	28	0.351	Intermédio
7	6	106	<0.001*	Subordinado
	99	3	<0.001*	Dominante
	69	34	0.017*	Dominante
8	20	29	0.014*	Subordinado
	67	2	<0.001*	Dominante
	4	36	<0.001*	Subordinado
	40	19	0.211	Intermédio

Mesmo assim, as três categorias de estatuto social encontradas diferem significativamente entre si no que diz respeito ao índice de dominância (V/V+D) dos sujeitos (média±dp: subordinados=19.4±18.3% , intermédios= 44.5±22.3%, dominantes=90.9±12.5%; ANOVA unifactorial: $F_{2,25}$=41.69, p=0.0008; comparações múltiplas, teste de Spjotvoll-Stoline: subordinados vs. intermédios, p=0.036; intermédios vs. dominantes, p= 0.0002; subordinados vs. dominantes, p=0.0001).

Para comparar os perfis comportamentais dos indivíduos pertencentes às três classes de dominância (*i.e.* dominantes, intermédios e subordinados) testaram-se as diferenças entre estas classes no que respeita às diferentes variáveis comportamentais estudadas. Os resultados desta análise são apresentados nas figuras 9.13 a 9.23 , nas

quais são dadas a média e o desvio padrão para cada amostra. As diferenças significativas entre as classes estão assinaladas nas figuras por intermédio de letras; assim, classes diferentes estão notadas com letras diferentes, e classes homogéneas apresentam a mesma letra.

Comportamento Locomotor

Os indivíduos subordinados despendem uma percentagem de tempo significativamente maior quer a Pairar quer a Nadar do que os indivíduos dominantes (teste de Spjotvoll-Stoline: pairar, $p=0.026$; nadar, $p=0.018$) apresentando os indivíduos intermédios valores intermédios para ambas as variáveis, os quais não diferem significativamente de nenhuma das outras duas classes de dominância (teste de Spjotvoll-Stoline: Pairar: intermédios vs. subordinados, $p=0.878$, intermédios vs. dominantes, $p=0.142$; Nadar: intermédios vs. subordinados, $p=0.778$, intermédios vs. dominantes, $p=0.156$) (ver figura 9.13).

No que respeita à actividade locomotora não se observam diferenças significativas entre as classes de dominância consideradas (ANOVA unifactorial: $F_{2,25}= 1.75$, $p=0.194$) (ver figura 9.13).

Esta observação, deve-se ficar a dever ao facto de os indivíduos dominantes terem um repertório comportamental mais rico, com actividades (*e.g.* pairar no ninho, cavar o ninho) que vão competir com os comportamentos locomotores na agenda de actividades dos indivíduos. Ou seja, os indivíduos de diferentes estatutos sociais não diferem em termos de níveis de actividade, no entanto ela é direccionada para diferentes actividades.

Territorialidade e Actividades no Ninho

O estatuto social dos indivíduos tem um efeito significativo sobre os padrões de distribuição vertical dos indivíduos nos aquários. Assim, os indivíduos intermédios e dominantes despendem uma maior percentagem de tempo junto do substrato do que os indivíduos subordinados (comparação planeada: intermédios + dominantes vs. subordinados, $F_{1,25} = 8.04$, $p=0.009$). Esta segregação dos indivíduos subordinados não se observa, quer à superfície (Kruskal-Wallis: $H_{(2,n=28)} = 4.31$, $p=0.116$), quer a meia água (ANOVA unifactorial, $F_{2,25}= 0.539$, $p=0.589$) (ver figura 9.14), e reflecte-se na percentagem de tempo que os indivíduos conseguem manter um território no substrato (Kruskal-Wallis: $H_{(2,n=28)} = 9.92$, $p=0.007$) (ver figura 9.15). Os indivíduos dominantes defendem territórios numa proporção significativamente maior de ocasiões do que os indivíduos subordinados (teste de Dunn, $Q= 2.94$, $p<0.01$), ocupando os

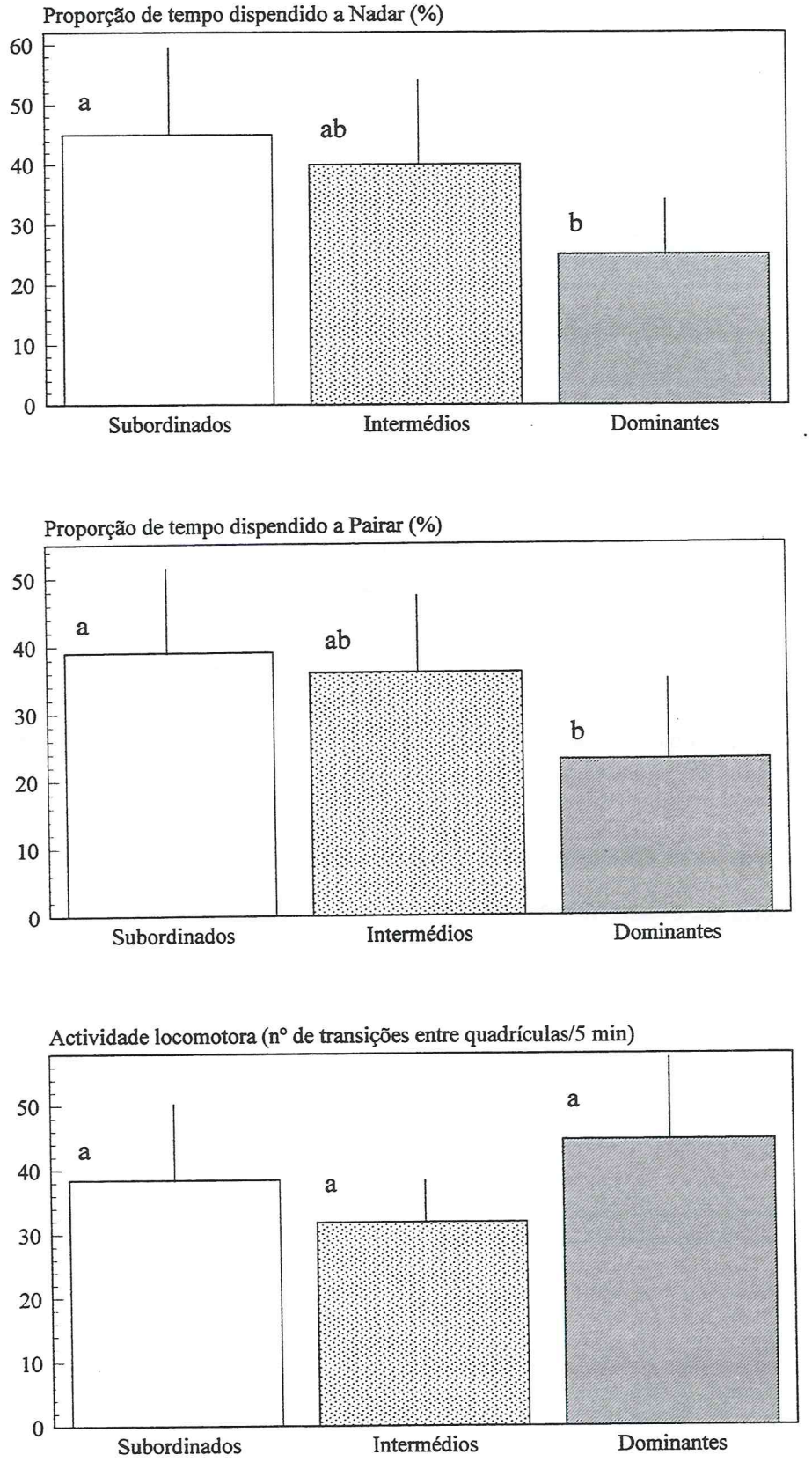


Figura 9.13. Comportamento locomotor dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2: (a) proporção de tempo despendido a nadar; (b) proporção de tempo despendido a pairar; (c) actividade locomotora.

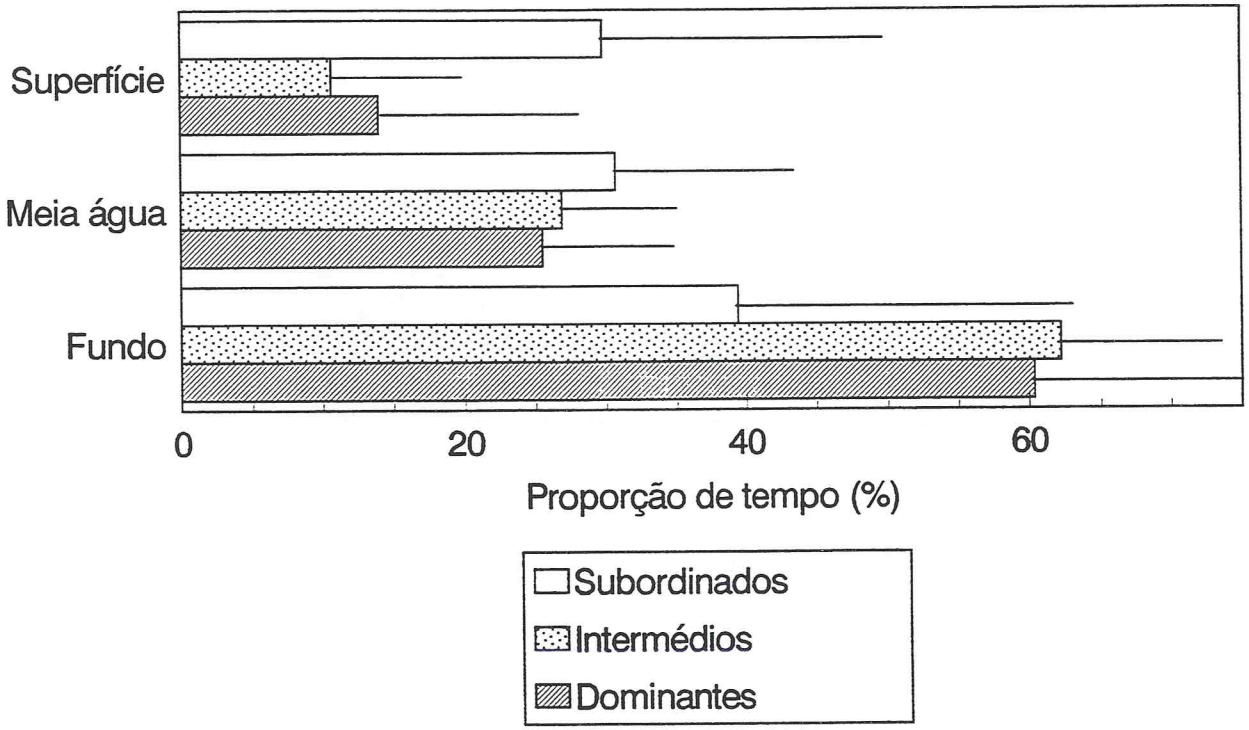


Figura 9.14. Distribuição espacial dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2.

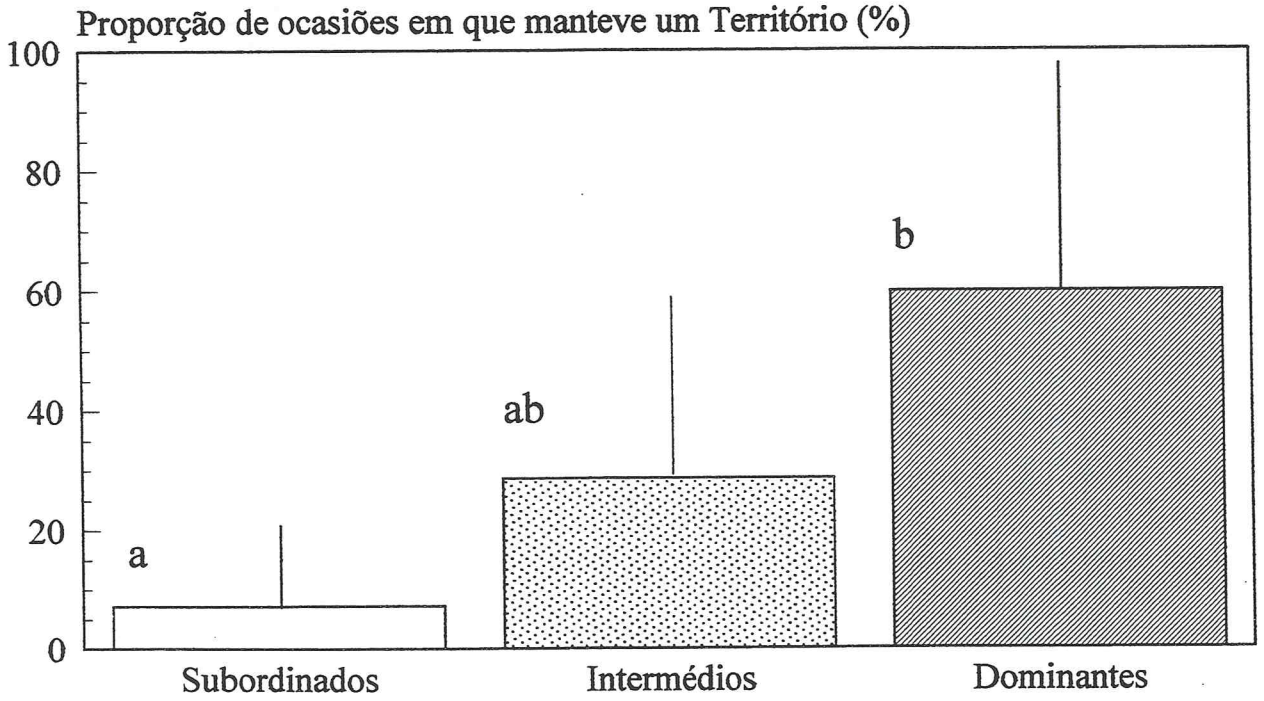


Figura 9.15. Proporção de tempo que os indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2 mantêm um território.

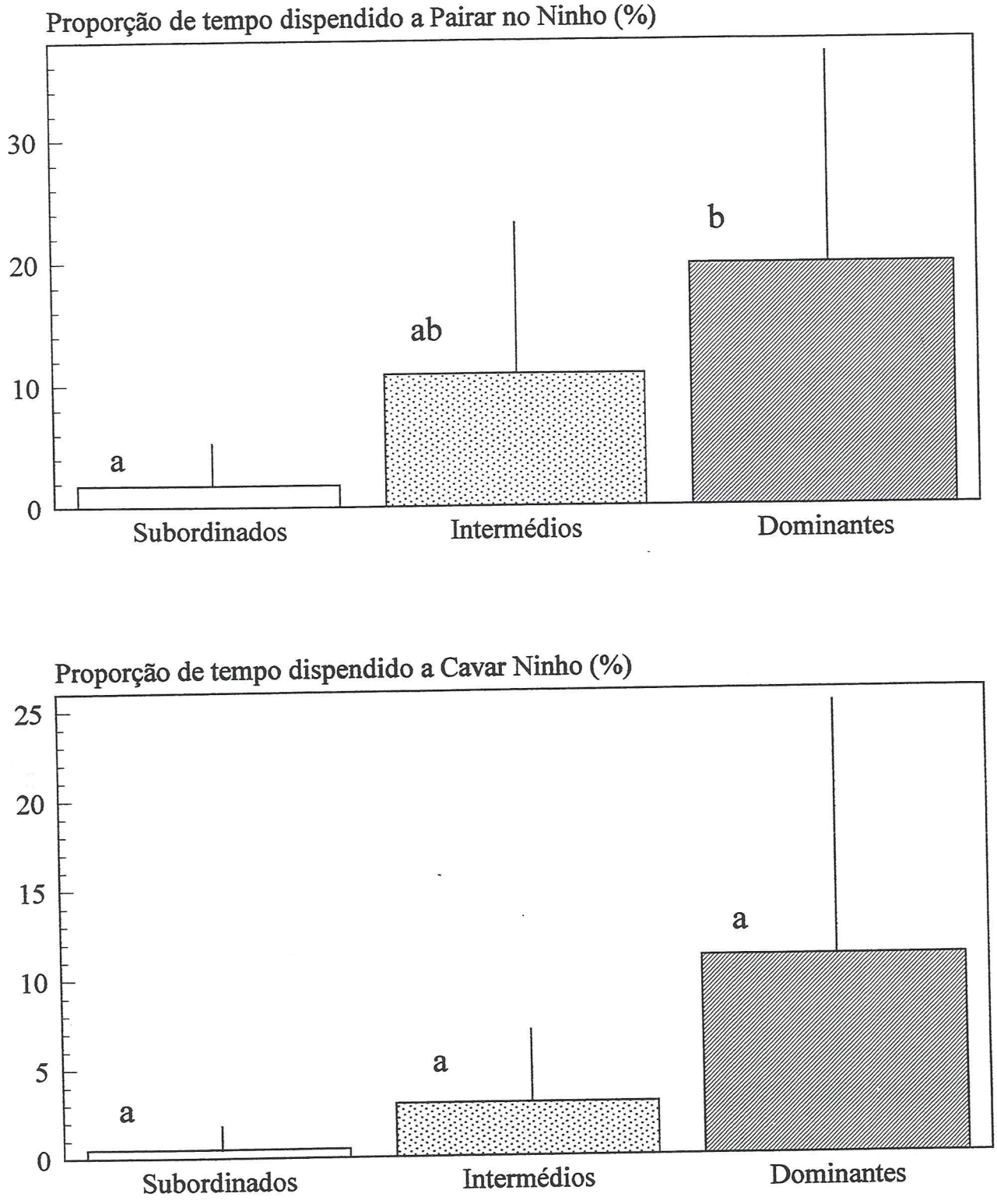


Figura 9.16. Actividades no ninho dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2: (a) proporção de tempo despendido a pairar no ninho; (b) proporção de tempo despendido a cavar o ninho.

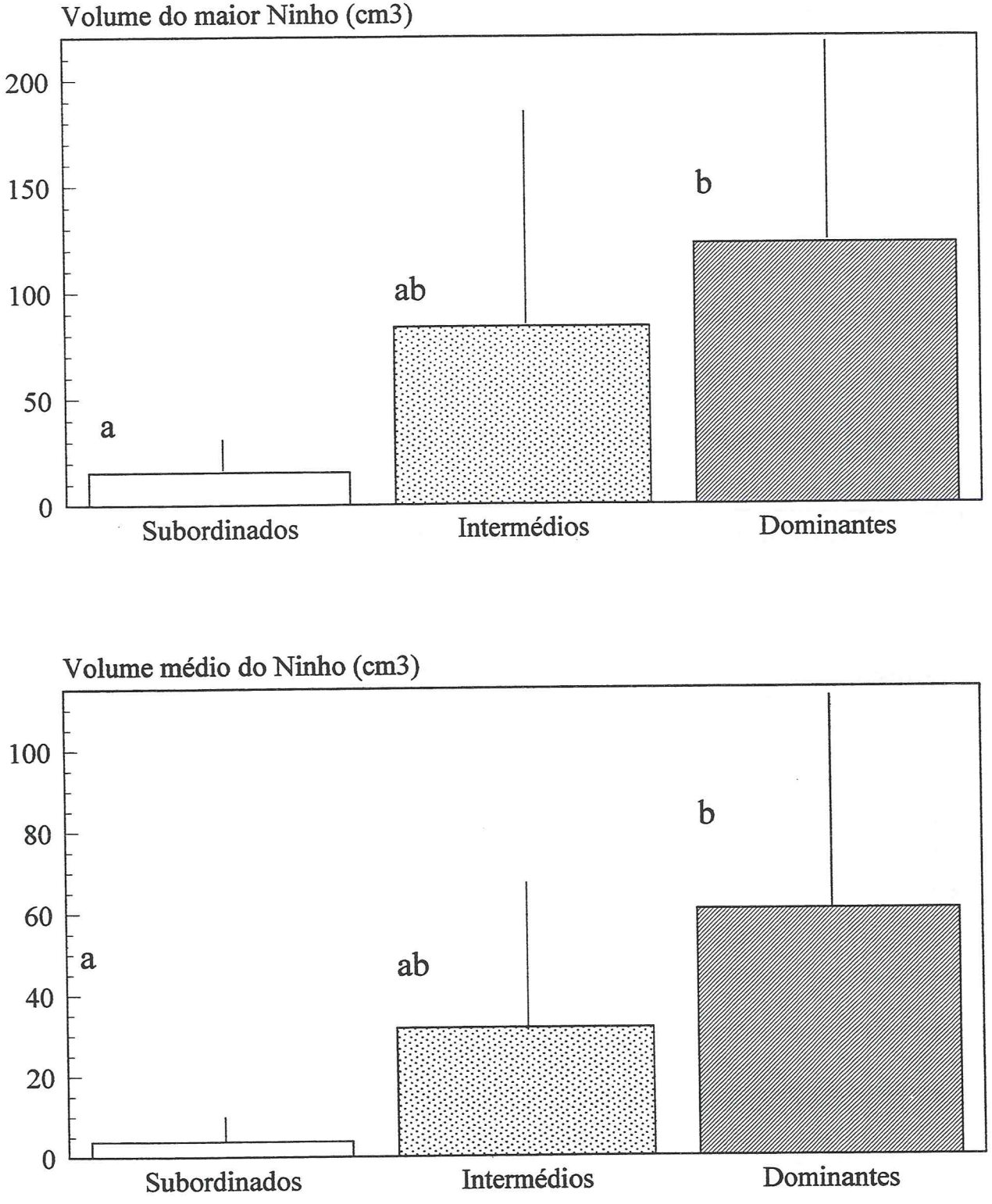


Figura 9.17. Tamanho dos ninho dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2: (a) volume máximo do ninho durante a experiência; (b) volume médio do ninho durante a experiência.

indivíduos intermédios uma posição intermédia sem diferenças significativas em relação às outras duas classes de estatuto social (teste de Dunn, intermédios vs. subordinados: Q= 1.26, p>0.05; intermédios vs. dominantes: Q=1.379, p>0.05).

Quanto ao tempo despendido a Cavar o ninho, embora este seja directamente proporcional à dominância social dos indivíduos, as diferenças observadas não são estatisticamente significativas, ficando-se tal a dever à grande variabilidade sobretudo da classe dos dominantes em relação a esta variável (Kruskal-Wallis: $H_{(2,n=28)} = 4.98$, p=0.082) (ver figura 9.16).

Os indivíduos dominantes despendem uma maior proporção de tempo a pairar no ninho do que os subordinados (teste de Dunn, Q= 2.568, p<0.05) ocupando os indivíduos intermédios mais uma vez uma posição intermédia em relação a esta variável (teste de Dunn, intermédios vs. subordinados: Q= 1.41, p>0.05; intermédios vs. dominantes: Q=0.91, p>0.05) (ver figura 9.16).

Este mesmo padrão de variação pode ser observado nas variáveis que expressam a dimensão dos ninhos: o volume do maior ninho que cada indivíduo alguma vez possuiu (teste de Dunn, dominantes vs. subordinados: Q= 2.585, p<0.05; intermédios vs. subordinados: Q= 1.563, p>0.05; intermédios vs. dominantes: Q= 0.787, p>0.05) e o volume médio do ninho de cada indivíduo (teste de Dunn, dominantes vs. subordinados: Q= 2.738, p<0.05; intermédios vs. subordinados: Q= 1.38, p>0.05; intermédios vs. dominantes: Q= 1.092, p>0.05) (ver figura 9.17).

Estes resultados parecem indicar que os indivíduos estão a competir pela posse de um ninho, sendo esta dependente do estatuto social dos sujeitos.

Comportamento Agonístico

Os indivíduos dominantes participam num número significativamente maior de interacções do que os indivíduos intermédios e subordinados (teste de Spjotvoll-Stoline: p=0.001 e p= 0.039, respectivamente), não existindo diferenças significativas entre estas duas classes (teste de Spjotvoll-Stoline, p=0.205) (ver figura 9.18). Este mesmo padrão de variação pode ser observado em relação ao número de interacções assimétricas de alta intensidade (AAI) (teste de Spjotvoll-Stoline, dominantes vs. intermédios, p=0.002; dominantes vs. subordinados, p= 0.025; intermédios vs. subordinados: p=0.423), as quais, aliás, constituem a maioria das interacções agonísticas registadas, e por isso contribuem fortemente para o padrão de variação do número total de interacções agonísticas (ver figura 9.19).

No que respeita às outras medidas do comportamento agonístico os padrões de variação observados diferem entre elas. Assim, as interacções assimétricas de baixa intensidade (ABI) são mais comuns em subordinados e menos comuns em indivíduos

intermédios (teste de Dunn, Q= 3.017, p<0.01), ocupando os dominantes uma posição intermédia que não difere significativamente, quer dos subordinados (teste de Dunn, Q= 0.792, p>0.05), quer dos intermédios (teste de Dunn, Q= 2.154, p>0.05) (ver figura 9.19). Por outro lado, as interacções simétricas não variam significativamente entre as classes de dominância consideradas (ANOVA unifactorial: $F_{2,25}$= 0.689, p=0.511) (ver figura 9.19).

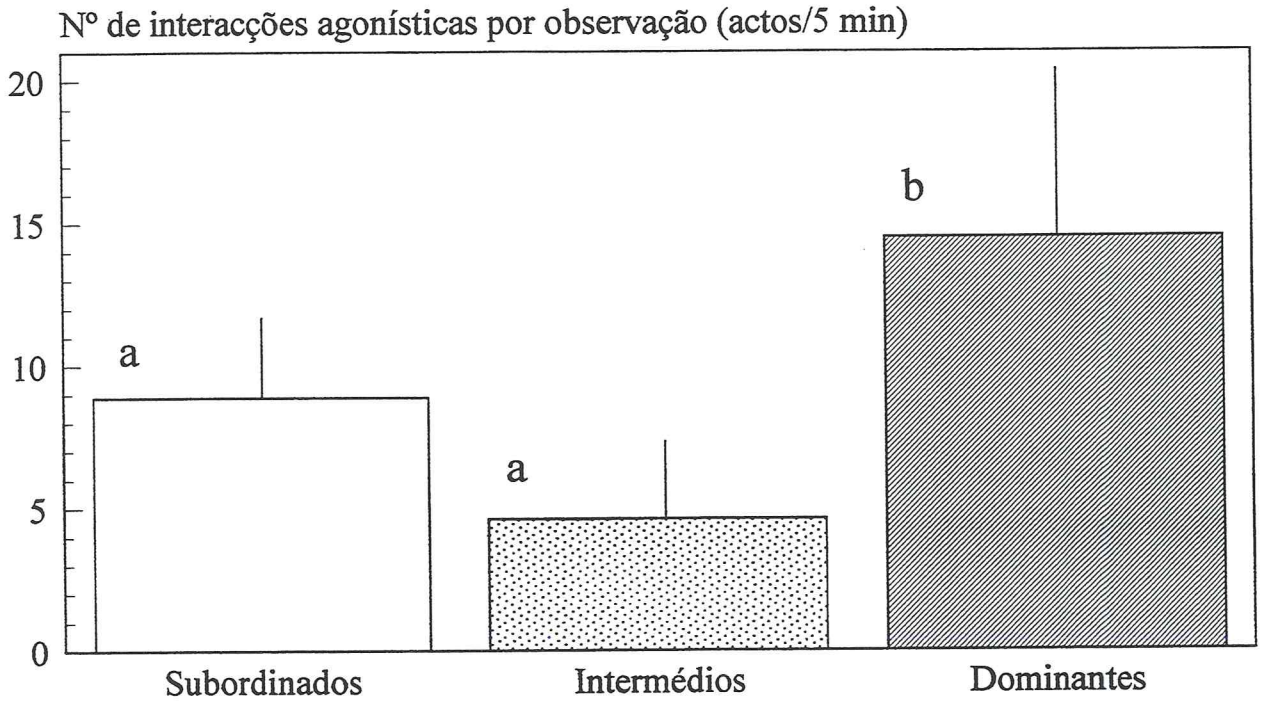
O tempo despendido em interacções agonísticas é significativamente maior nos indivíduos dominantes do que nos indivíduos de estatuto intermédio (teste de Spjotvoll-Stoline, p=0.021), ocupando os subordinados uma posição intermédia que não difere significativamente das outras duas classes de dominância consideradas (teste de Spjotvoll-Stoline: subordinados vs. intermédios, p=0.225; subordinados vs. dominantes, p= 0.393) (ver figura 9.18).

Estes resultados parecem confirmar os dados já apresentados nos capítulos anteriores em que se demonstrou que os indivíduos dominantes monopolizam as interacções agonísticas do seu grupo, que estas são maioritariamente interacções assimétricas de alta intensidade, e que são mais comuns entre indivíduos que estão distantes na escala hierárquica, *i.e.* dominantes e subordinados. Este resultado deixa uma questão em aberto: será que os indivíduos intermédios conseguem o seu estatuto evitando activamente participar em interacções agonísticas, ou será a menor proporção de tempo despendido em interacções agonísticas pelos indivíduos intermédios o resultado da dinâmica de grupo que conduz ao estabelecimento e manutenção de hierarquias de dominância?

Comportamentos Sexuais

O estatuto social parece condicionar fortemente o acesso dos machos às fêmeas. Quer a percentagem de tempo despendido em comportamentos sexuais, quer o número de cortes dirigidos a fêmeas decresce significativamente de dominantes para subordinados (teste de Dunn, Q= 2.435, p<0.05; Q= 2.379, p≈0.05, respectivamente), ocupando os indivíduos de estatuto intermédio uma posição intermédia, não diferindo significativamente, nem de dominantes (teste de Dunn, Q= 0.528, p>0.05; Q= 0.936, p>0.05, respectivamente), nem de subordinados (teste de Dunn, Q= 1.698, p>0.05; Q= 1.214, p>0.05, respectivamente) (ver figura 9.20).

Durante o estudo 2 foram observados 3 acasalamentos bem sucedidos e todos eles envolveram um macho de estatuto dominante.



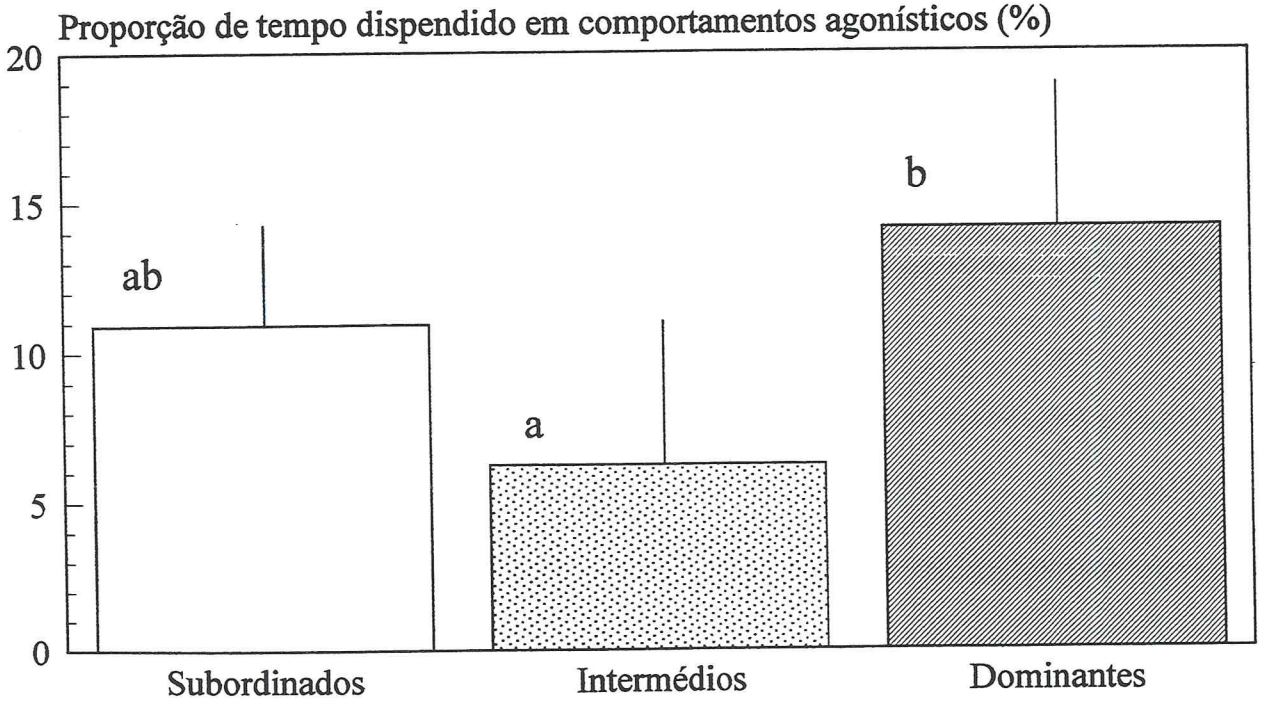


Figura 9.18. Comportamentos agonísticos dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2: (a) número de interacções agonísticas em que o indivíduo participou; (b) proporção de tempo despendido em interacções agonísticas.

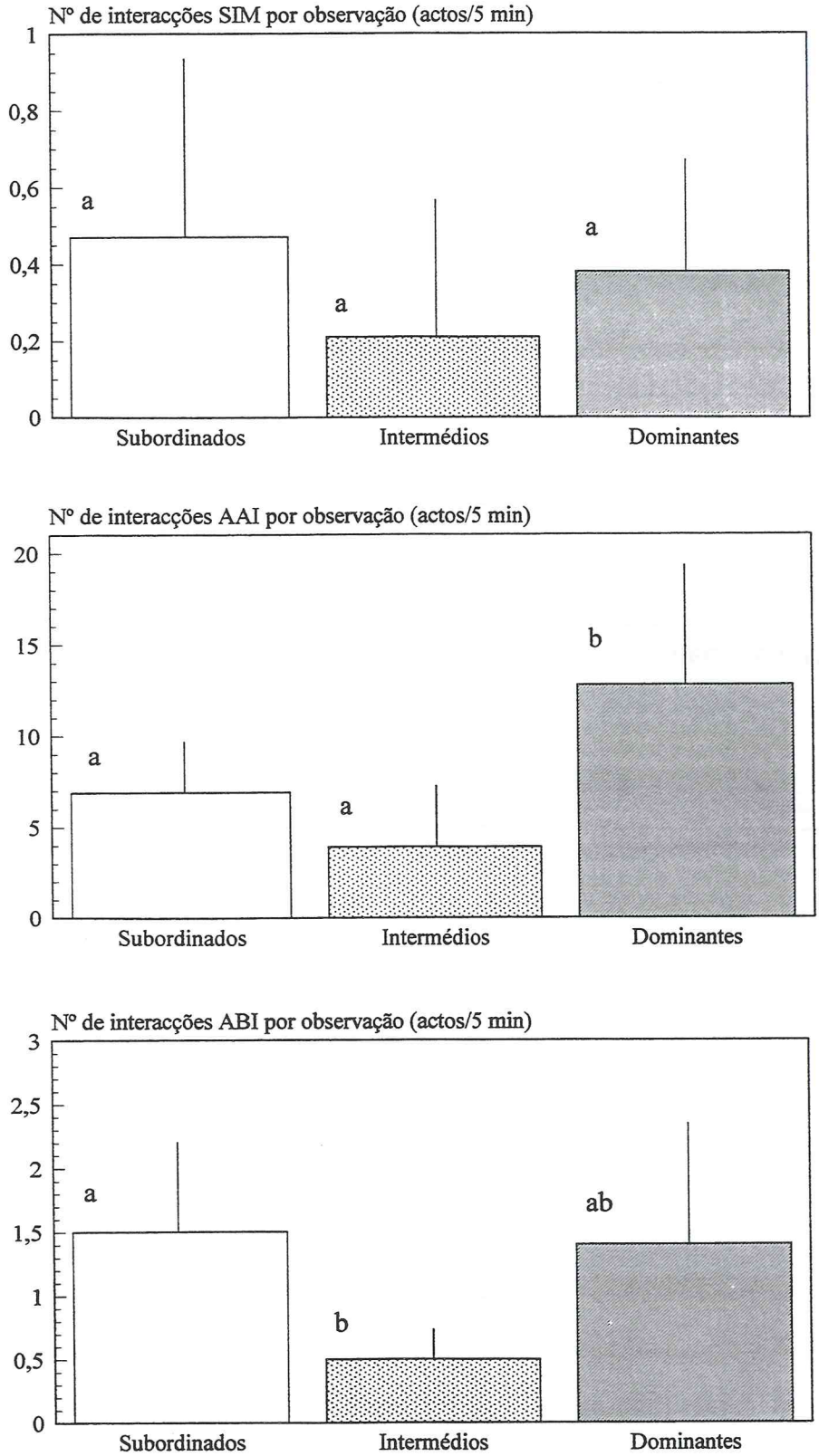


Figura 9.19. Número de interacções agonísticas por observação em que os indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2 participaram: (a) interacções simétricas (SIM); (b) interacções assimétricas de alta intensidade (AAI); (c) interacções assimétricas de baixa intensidade (ABI).

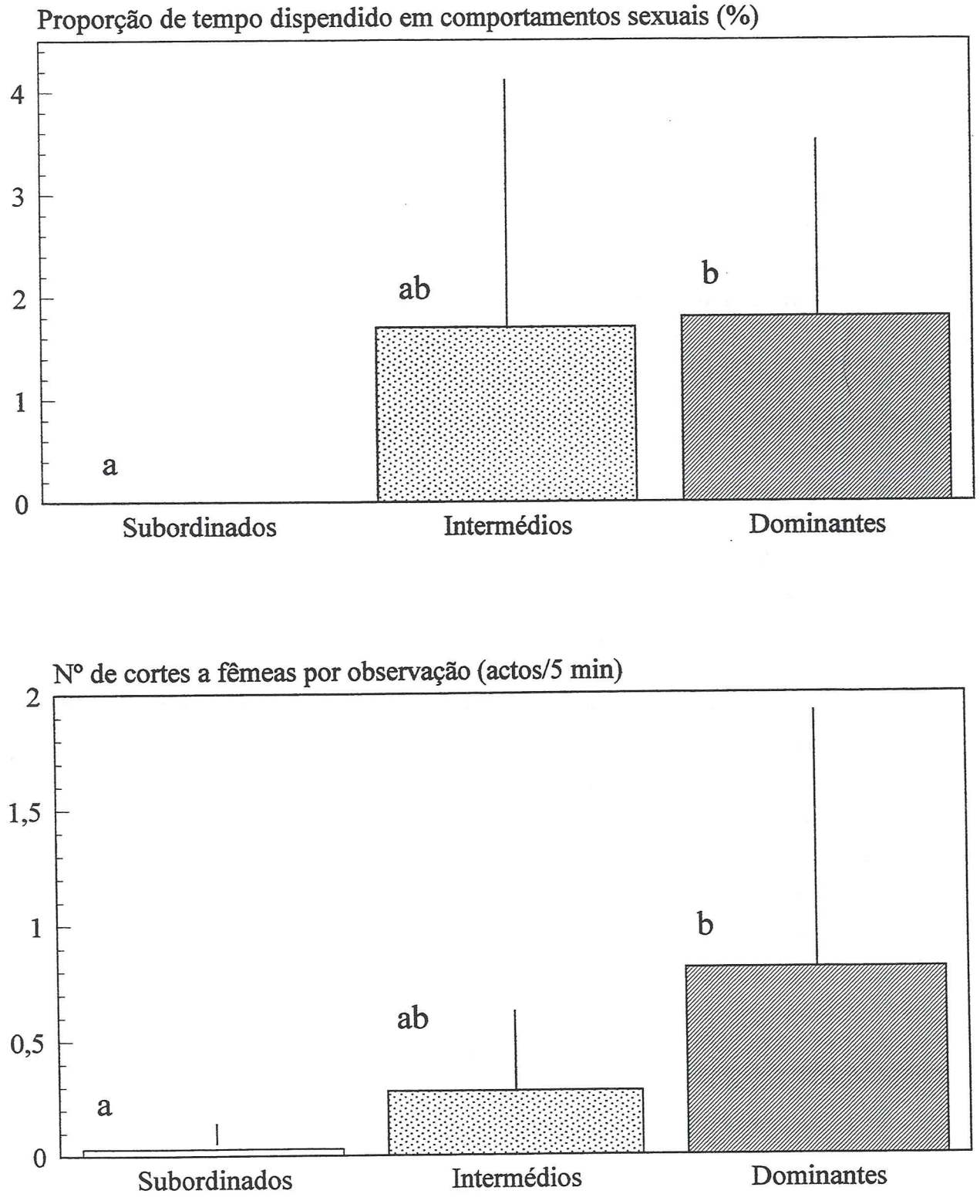


Figura 9.20. Comportamento sexual dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2: (a) proporção de tempo despendido em comportamentos sexuais; (b) número de cortes a fêmeas.

Outras Actividades

O estatuto social parece não ter efeito, quer na proporção de tempo despendido em actividades alimentares (ANOVA unifactorial: $F_{2,25}$= 0.771, p= 0.472) (ver figura 9.21), quer na quantidade de tempo passado em Contacto com a Superfície (Kruskal-Wallis: $H_{(2,n=28)}$ = 1.96, p=0.374) (ver figura 9.22).

Padrões de coloração

Verifica-se um aumento crescente da intensidade da coloração escura com o estatuto social dos indivíduos (ver figura 9.23). Assim, os dominantes possuem uma coloração significativamente mais escura do que os subordinados (teste de spjotvoll-stoline, p=0.042), apresentando os indivíduos intermédios um padrão de coloração intermédio, mas mais próximo do dos subordinados do que dos dominantes (intermédios vs. subordinados, p= 0.987; intermédios vs. dominantes, p= 0.058) (ver figura 9.23).

O padrão de Riscas Verticais é observado num número significativamente mais elevado de ocasiões em subordinados do que em intermédios ou dominantes (comparação planeada: intermédios + dominantes vs. subordinados, $F_{1,25}$ = 7.49, p= 0.011), o que pode indiciar uma função de padrão de submissão (ver figura 9.23).

A proporção de ocasiões em que as diferentes classes de estatuto social apresentam os padrões de Barras Horizontais (média±dp: subordinados= 4.1±6.1%; intermédios= 7.1±9.8%; dominantes= 5.5±9.1%) e de Riscas Cruzadas (média±dp: subordinados= 1.0±3.6%; intermédios= 0.0%; dominantes= 1.3±4.1%) não apresenta diferenças significativas (Kruskal-Wallis: $H_{(2,n=28)}$ = 0.35, p=0.838; $H_{(2,n=28)}$ = 0.75, p=0.687, respectivamente).

Estes resultados sugerem que para os indivíduos nesta fase do ciclo de vida (maturação sexual) existem dois padrões de coloração com um potencial papel de comunicação visual: padrão escuro como sinalizador de dominância/territorialidade; e o padrão de Riscas Verticais como sinalizador de submissão.

9.3.3. Diferenças nos Perfis Comportamentais entre Estatutos Sociais

Nas duas secções anteriores (9.3.1 e 9.3.2) analisámos a variação das diferentes variáveis comportamentais isoladamente em função do estatuto social dos indivíduos.

Na presente secção vamos tentar avaliar quais são as variáveis comportamentais que mais contribuem para a distinção entre as classes de estatuto

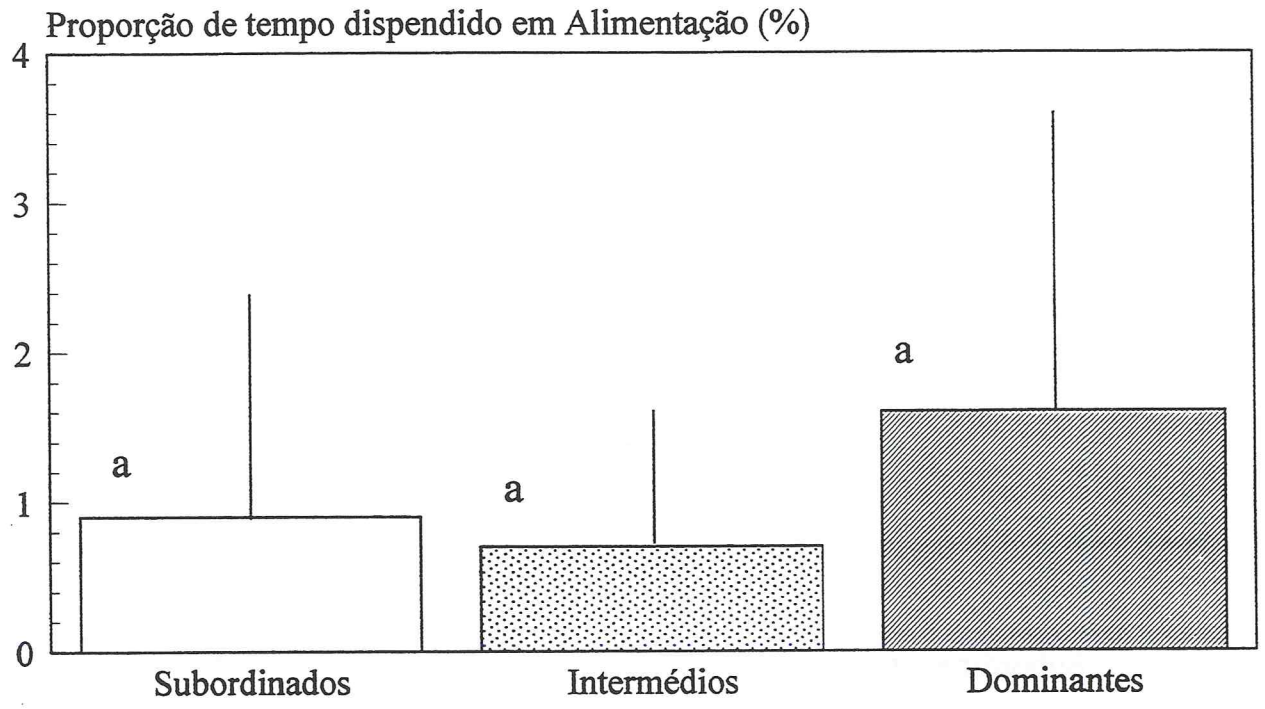


Figura 9.21. Actividade alimentar dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2.

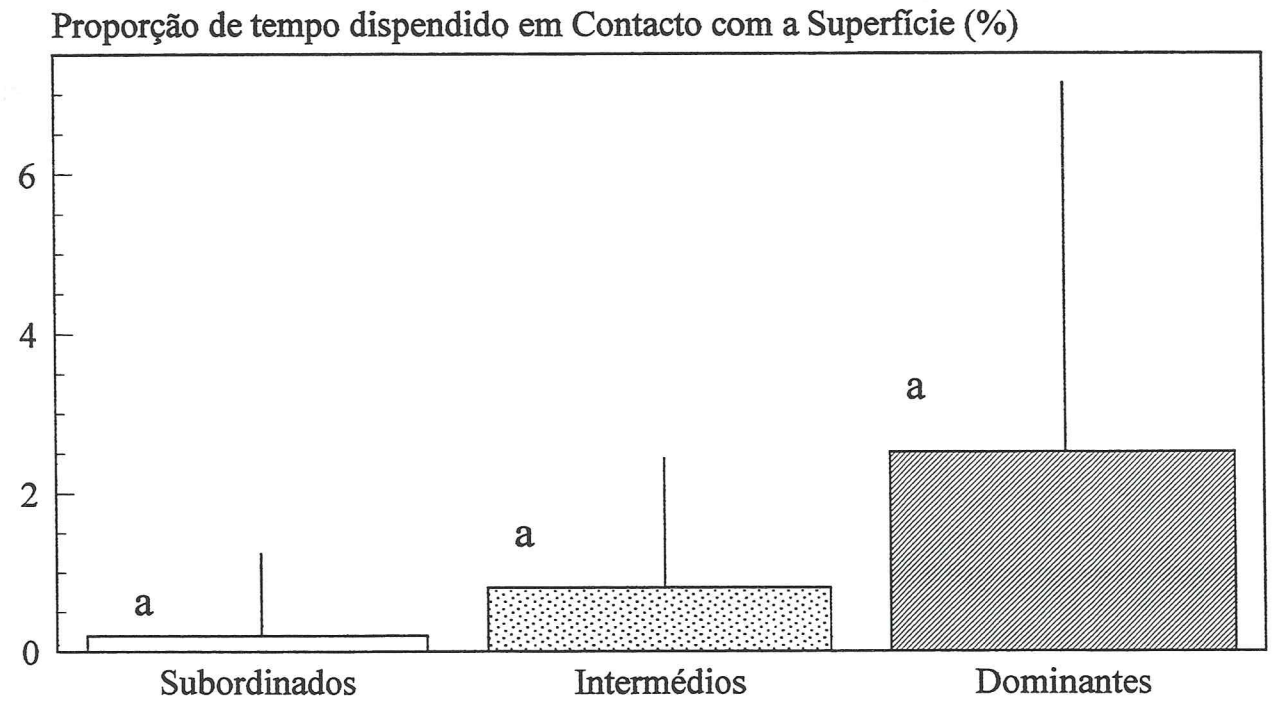
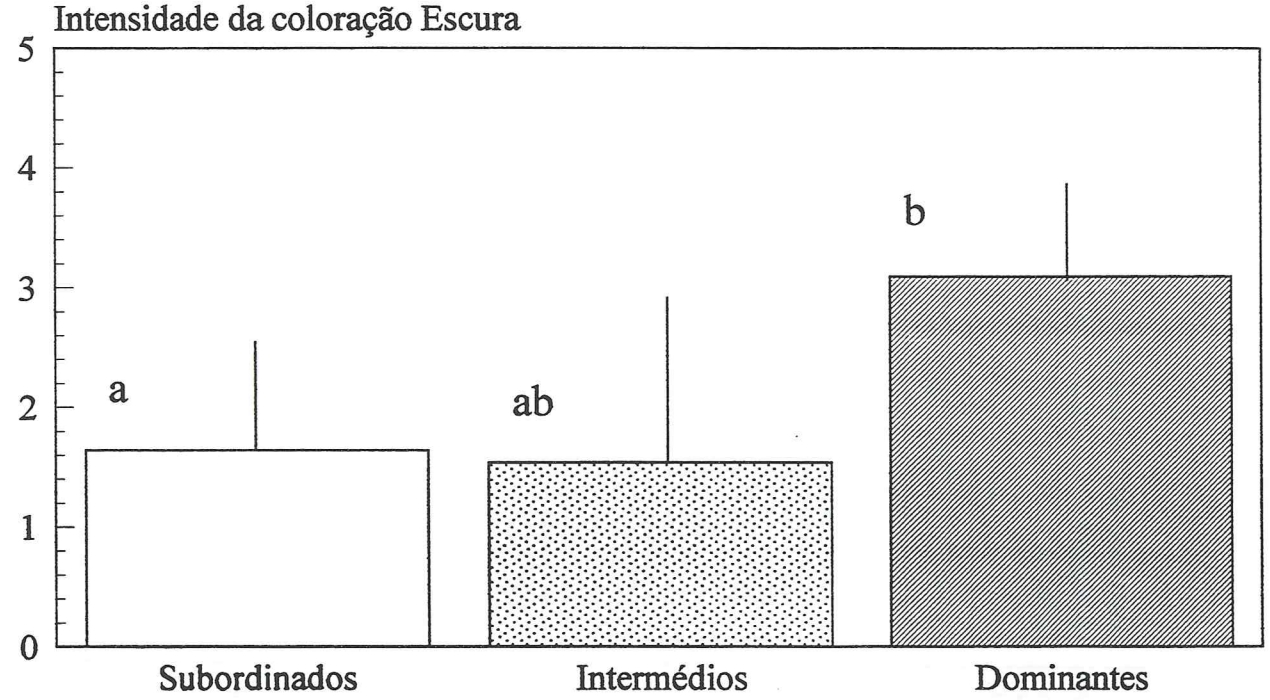


Figura 9.22. Proporção de tempo despendido em contacto com a superfície pelos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2.



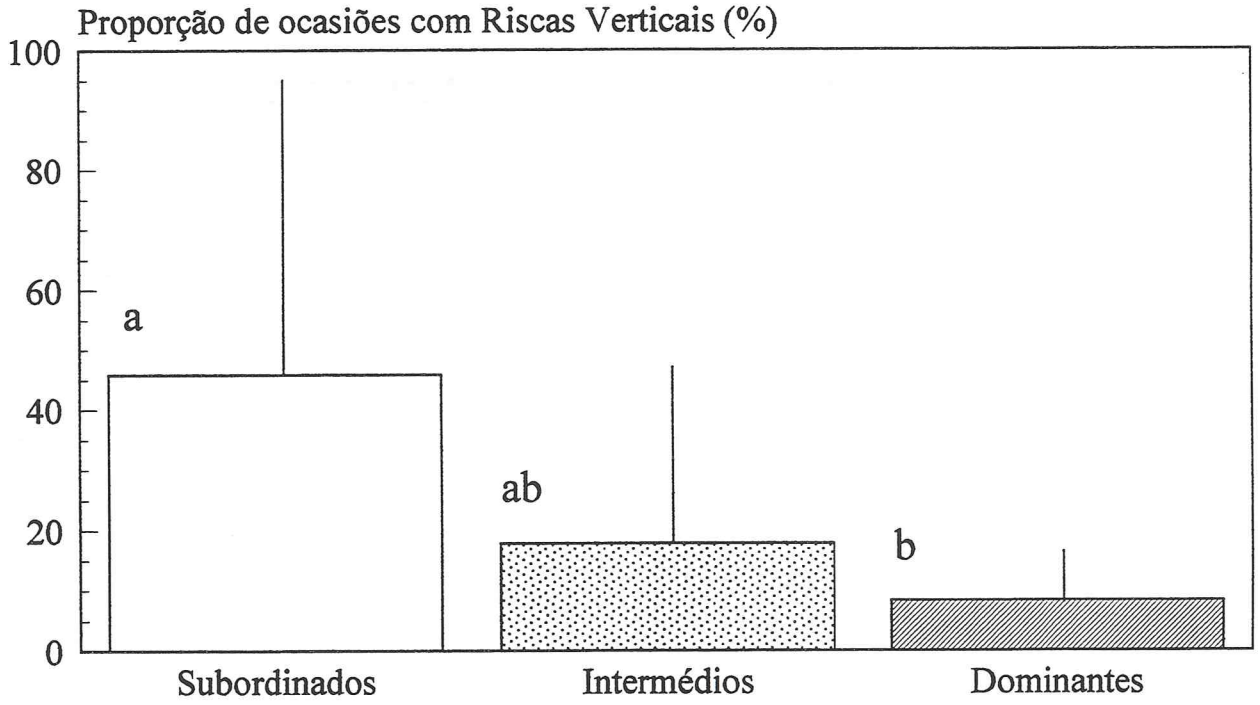


Figura 9.23. Padrões de coloração dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) da experiência 2: (a) intensidade da coloração escura; (b) proporção de tempo que apresentam riscas verticais.

social considerado, recorrendo a um procedimento de análise discriminante "forward stepwise".

Os resultados das análises discriminantes são apresentados nas tabelas 9.4 a 9.6.

Tabela 9.4. Resultados da Análise Discriminante "Forward Stepwise" para o estudo de longo prazo (estudo 2).

Variáveis no modelo	Coeficientes padronizados da função discriminante		Coeficientes das funções de classificação		
	Raiz 1	Raiz 2	Subordinados	Intermédios	Dominantes
Nº de interacções	-0.287	-0.986	0.592	0.172	0.935
Territorialidade	-2.848	-0.831	-28.832	-12.867	27.341
Contacto com a superfície	-1.333	0.081	-172.044	-52.763	92.080
Tempo à superfície	1.366	-0.660	45.221	17.936	3.358
Riscas Verticais	1.038	-0.502	22.766	10.856	4.501
Volume do maior Ninho	1.506	1.363	0.042	0.042	-0.067
Pairar no Ninho	1.112	-0.325	54.571	27.271	5.952
Barras Horizontais	0.399	0.422	25.930	28.095	-0.947
Constante			-15.595	-5.909	-14.078
valor de eigen	6.207	1.426			
Probabilidade acumulada	0.813	1.000			

No estudo de longo prazo (estudo 2) chega-se a uma função discriminante que inclui 8 variáveis, e que classifica correctamente 96,4% dos casos (apenas um indivíduo subordinado é classificado como intermédio) (Wilk's $\lambda = 0.057$, $F_{16,36} = 7.15$, $p<0.0001$)(tabela 9.4 e figura 9.24). Assim, a longo prazo as variáveis que em conjunto melhor diferenciam indivíduos de diferente estatuto social são: o número de interacções agonísticas em que participam, a proporção de tempo em que defendem um território, a dimensão do seu ninho, o tempo despendido a pairar no ninho, o tempo despendido à superfície, e as colorações de Riscas Verticais e de Barras Horizontais.

Tabela 9.5. Resultados da Análise Discriminante "Forward Stepwise" para os grupos de machos no estudo de curto prazo (estudo 3).

Variáveis no modelo	Coeficientes padronizados da função discriminante	Coeficientes das funções de classificação	
		Subordinados	Dominantes
Intensidade da coloração escura	-1.150	4.275	14.212
Interacções ABI	-0.743	0.942	3.236
Actividade locomotora	0.962	0.084	-0.148
comportamentos agonísticos (%)	-0.438	-0.316	15.123
Constante		-6.745	-26.454
valor de eigen	6.057		
Probabilidade acumulada	1.00		

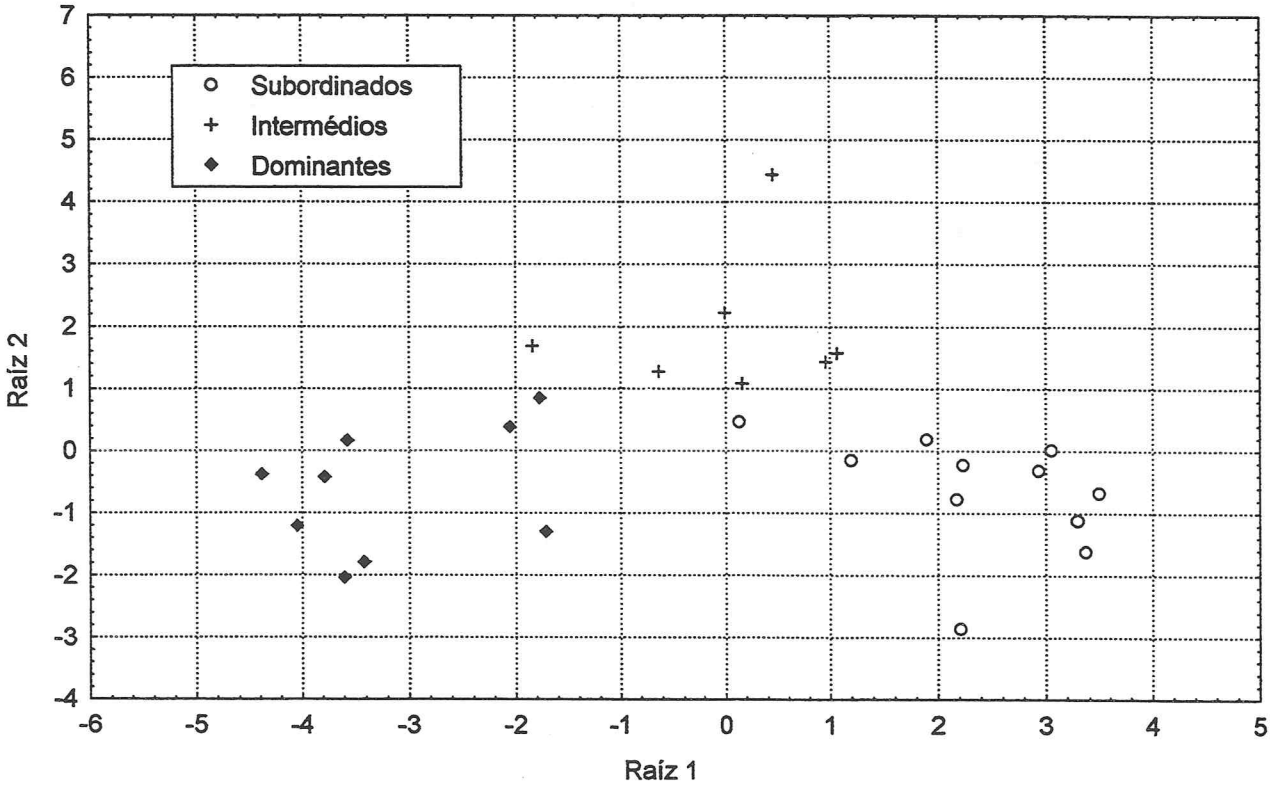


Figura 9.24. Classificação dos indivíduos (dominantes vs. intermédios vs. subordinados) do estudo 2 de acordo com as raízes extraídas pela análise discriminante.

No estudo de curto-prazo (estudo 3) nos grupos de machos o modelo extraído inclui apenas 4 variáveis e classifica correctamente 100% dos casos (Wilk's $\lambda = 0.141$, $F_{4,11} = 16.65$, $p<0.0001$)(ver tabela 9.5). Assim, a curto prazo no contexto de estabelecimento de territórios as variáveis que em conjunto mais contribuem para diferenciar dominantes e subordinados são: a intensidade da coloração escura, a percentagem de tempo despendido em comportamentos agonísticos, a frequência das interacções ABI e a actividade locomotora (para uma imagem da agenda comportamental dos indivíduos ver figura 9.25).

No estudo de curto-prazo (estudo 3) nos grupos mistos a função discriminante encontrada inclui 5 variáveis e classifica correctamente 100% dos casos (Wilk's $\lambda = 0.035$, $F_{5,10} = 54.20$, $p<0.0001$)(ver tabela 9.6). Assim, a curto prazo num contexto de competição por fêmeas as variáveis que em conjunto mais contribuem para distinguir indivíduos dominantes e subordinados são: a intensidade da coloração escura, a frequência de interacções AAI, o tempo despendido a nadar e a pairar, e o tempo despendido a meia água (para uma imagem da agenda comportamental dos indivíduos ver figura 9.25).

Tabela 9.6. Resultados da Análise Discriminante Forward Stepwise para os grupos mistos no estudo de curto prazo (estudo 3).

Variáveis no modelo	Coeficientes padronizados da função discriminante	Coeficientes das funções de classificação	
		Subordinados	Dominantes
Intensidade da coloração escura	0.610	12.012	25.597
Tempo a meia água	-1.677	124.537	23.366
Pairar	-1.328	185.779	72.081
Nadar	-1.174	102.493	40.530
Interacções AAI	-0.652	4.643	2.081
Constante		-104.825	-64.721
valor de eigen	27.101		
Probabilidade acumulada	1.000		

Em relação aos resultados das análises discriminantes que se acabam de apresentar é de realçar que nem todas as variáveis puderam ser incluídas nas análises, uma vez que algumas delas não respeitavam os pressupostos da análise, porque

simplesmente não ocorrem num dos grupos. Ou seja, essas mesmas variáveis podem ser utilizadas com grande fidedignidade na discriminação entre as diferentes categorias de estatuto social nas três situações consideradas (*i.e.* longo prazo, grupos de machos curto prazo, e grupos mistos a curto prazo).

Assim, no estudo de longo prazo o tempo despendido em comportamentos sexuais pelos indivíduos subordinados é zero (ver figura 9.20). Nos grupos de machos no estudo de curto prazo pairar no ninho, cavar o ninho, volume do maior ninho, volume médio do ninho e Barras Horizontais são variáveis que só ocorrem nos indivíduos dominantes, enquanto que o padrão de Riscas verticais é exclusivo de subordinados. Nos grupos mistos do estudo de curto prazo pairar no ninho, cavar o ninho e comportamentos sexuais são variáveis apenas detectadas nos indivíduos dominantes, enquanto que os subordinados apresentam a exclusividade das alimentações e dos padrões de Riscas Verticais, Barras Horizontais e Riscas Cruzadas.

Perante estes resultados pode-se questionar o recurso a uma técnica multivariada para discriminar entre classes de dominância, quando as diferenças se baseiam tão só na presença ou ausência de variáveis facilmente detectáveis. A resposta é que é extremamente interessante verificar que, mesmo não entrando em consideração com estas variáveis, as quais permitem um diagnóstico quase imediato do estatuto social, nas análises discriminantes efectuadas os modelos extraídos classificam correctamente todos os indivíduos (n= 50), excepto um no estudo de longo prazo. Este resultado permite sugerir que, para além da aquisição e manutenção de um território, e da sinalização do estatuto através da intensidade da coloração escura, indivíduos de diferentes estatutos sociais apresentam diferenças significativas de traços comportamentais que isolados são pouco conspícuos para o observador, mas que em conjunto formam perfis comportamentais próprios de um determinado estatuto social.

Quanto ao facto de as três análises discriminantes gerarem resultados discrepantes, isto pode-se ficar a dever a três conjuntos de factores: (a) devido a problemas de violação de pressupostos da análise discriminante, já referidos acima, não foi utilizado exactamente o mesmo conjunto de variáveis nas três análises efectuadas; (b) os estudos de longo prazo e de curto prazo têm um número diferente de entidades a separar (respectivamente 3 e 2); (c) os próprios contextos sociais dos estudos podem conferir diferentes dimensões às mesmas variáveis (*e.g.* comportamentos sexuais a longo prazo, a curto prazo em grupos só de machos e a curto prazo na presença de fêmeas).

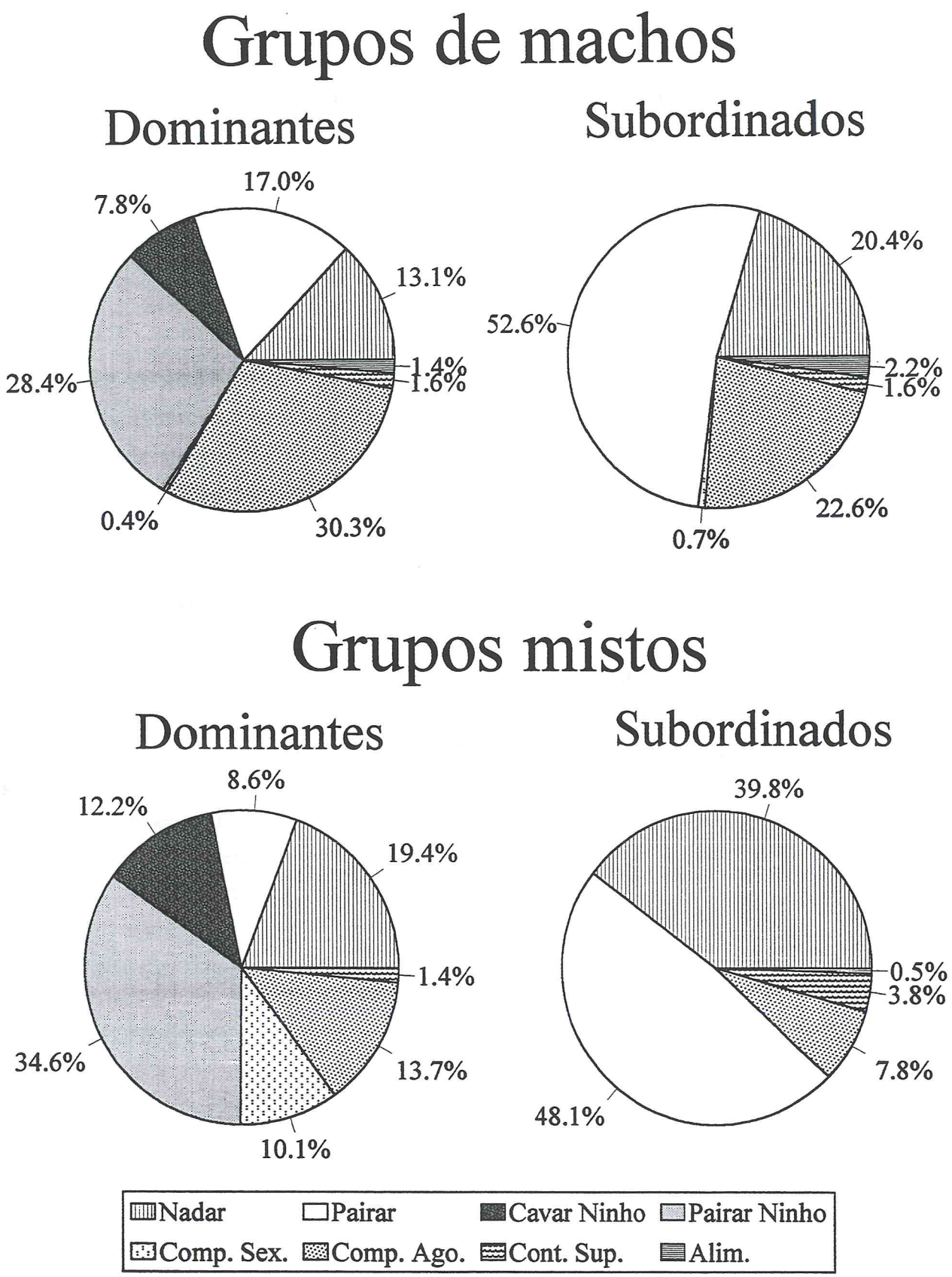


Figura 9.25. Proporção de tempo despendido nas diferentes actividades pelos indivíduos da experiência 3 (dominantes vs. subordinados) em diferentes contextos sociais: (a) grupos de machos; (b) grupos mistos.

9.4. DISCUSSÃO

Os dados acima expostos parecem indicar que o sucesso reprodutor dos machos de *O. mossambicus* está dependente de uma cascata comportamental:

dominância
territorialidade
acesso a fêmeas
sucesso reprodutor

Em cada episódio de reprodução os machos que se deslocam para os substratos de nidificação deverão avaliar as capacidades competitivas relativas através de lutas e estabelecem hierarquias de dominância. Apenas os indivíduos dominantes vão ter acesso ao substrato, onde estabelecem um território reprodutor no qual constroem um ninho. Apenas os indivíduos territoriais, possuidores de ninhos, estão aptos a atrair fêmeas e a acasalar com sucesso. Por outro lado, e devido a ser comum nestes sistemas de acasalamento a ocorrência de intrusões de outros machos durante o acasalamento, os indivíduos mais dominantes, com ninhos maiores e coloração mais escura, devem estar melhor adaptados a manter os intrusos à distância, diminuindo as probabilidades de disrupção do acasalamento por terceiros, e/ou de fertilizações parasitas por outros machos, aumentando assim a sua fertilidade.

Em várias espécies de Vertebrados os indivíduos dominantes/ territoriais anunciam o seu estatuto através de sinais conspícuos específicos usualmente designados por emblemas de estatuto ("status badges") (*e.g.* galões vermelhos nas asas dos melros *Agelaius phoeniceus*, Peek, 1972; babetes negros no pardal-doméstico *Passer domesticus*, Moller, 1987). Estes sinais podem ter a função de mostrar a alguma distância que o recurso está ocupado no caso dos territórios, ou que o indivíduo está disposto a lutar pelo recurso em causa no caso da dominância (Butcher e Rohwer, 1988). Alguns autores sugerem que os emblemas de dominância podem transmitir informação sobre as capacidades competitivas dos indivíduos, como sinais dependentes da condição física do indivíduo, sendo assim difíceis de imitar por indivíduos de condição inferior (Rohwer, 1982; Rohwer e Roskaft, 1989). Peek (1972) demonstrou que a taxa de intrusões territoriais em *Agelaius phoeniceus* é dependente da presença de galões vermelhos nas asas. Indivíduos com os galões escurecidos experimentalmente recebem 5 a 6 vezes mais intrusões territoriais do que indivíduos manipulados, mas com os galões intactos. Estes sinais seriam indicadores honestos do estatuto social dos indivíduos, uma vez que, quanto maior a área do emblema de

estatuto maior é o número de desafios agonísticos recebidos da parte de outros machos dominantes (Hansen e Rohwer, 1986; Moller, 1987), o que parece indiciar a existência de controlo social deste sinal. Em *O. mossambicus* existem 2 comportamentos com potencialidades para anunciar o estatuto de dominância do indivíduo: a intensidade da coloração escura do corpo e a dimensão do ninho. Ambos estes sinais parecem ser honestos (*sensu* Zahavi, 1975, 1977), uma vez que as evidências disponíveis sugerem que estão sob controlo social. Em combates entre machos, o macho derrotado rapidamente clareia a cor do seu corpo, o que parece atenuar a agressividade do dominante. Os ninhos são construídos no substrato, existindo uma competição directa pelo espaço disponível para a sua construção, dando-se mesmo casos em que os machos ao escavarem os seus ninhos despejam a areia para dentro dos ninhos vizinhos, simultaneamente aumentando o tamanho do seu ninho e reduzindo o tamanho dos ninhos vizinhos. É assim de supor que estes sinais (*i.e.* coloração e dimensão do ninho) podem funcionar como indicadores de estatuto entre os machos de *O. mossambicus*. Simultaneamente, e porque são sinais honestos da qualidade dos machos, estes sinais podem estar a ser utilizados pelas fêmeas no processo de escolha do parceiro sexual. O facto das fêmeas basearem as suas escolhas em caracteres que estão envolvidos na competição entre os machos garante-lhes o acesso a indicadores fidedignos das qualidades competitivas dos machos, uma vez que estes sinais são mutuamente controlados pelos próprios machos, sendo difícil fazer "bluff" nestes sistemas (Kodric-Brown e Brown, 1984).

A este respeito é interessante verificar que após a introdução das fêmeas nos grupos de machos (estudo 3) se verificou um aumento da intensidade da coloração escura dos machos, o que pode indiciar um potencial envolvimento deste padrão de coloração na preferência das fêmeas. Esta hipótese é ainda corroborada pelo facto de as interacções agonísticas entre os machos diminuírem após a introdução das fêmeas, o que vem excluir a hipótese alternativa de o escurecimento do corpo na presença das fêmeas se ficar a dever a uma intensificação da competição entre os machos nestas condições. Por outro lado, no que diz respeito aos ninhos, está descrito na literatura que as fêmeas de Ciclídeos com sistemas de acasalamento em arenas semelhantes ao de *O. mossambicus* acasalam preferencialmente com os machos da arena que possuem os ninhos maiores, e que são também os dominantes. Em *O. mossambicus* a ligação entre a dimensão dos ninhos e o estatuto social foi aqui demonstrada, restando saber qual o valor heurístico do ninho no processo de escolha de parceiro sexual pelas fêmeas desta espécie.

A existência de perfis comportamentais característicos de diferentes estatutos sociais vem abrir a possibilidade destes puderem ser percepcionados pelos outros

indivíduos e serem assim utilizados na comunicação quer entre machos quer entre machos e fêmeas. Assim, por exemplo, enquanto uma fêmea pode ser atraída, num primeiro tempo, para um macho devido à sua coloração escura e às dimensões do seu ninho, ela poderá, num segundo tempo, realizar uma reaferição da sua escolha inicial numa escala mais fina de traços comportamentais. Esta reaferição permitiria um controlo mais minucioso da informação em questão (neste exemplo a qualidade de dominância do macho), uma vez que se baseia não numa resposta a um estímulo simples, mas numa avaliação de um sinal composto por um conjunto de caracteres comportamentais. As possibilidades cognitivas de *O. mossambicus* para realizar operações deste género estão por avaliar, sendo no entanto de admitir a sua evolução dada a utilidade aparente de tais operações. A ocorrência de fenómenos deste tipo não é de desprezar e poderia explicar enviezamentos nas escolhas do par, muitas vezes não explicados quando apenas se testam os sinais convencionais. A existência destes perfis comportamentais levanta ainda a questão de se saber se eles são uma consequência ou uma causa do estatuto social do indivíduo.

10.
CORRELATOS MORFO-FUNCIONAIS DA DOMINÂNCIA SOCIAL

10.1. INTRODUÇÃO

A existência de correlatos morfo-funcionais da dominância está amplamente documentada para Teleósteos. São vários os sistemas funcionais que apresentam correlações com o estatuto social do indivíduo, sendo no entanto difícil distinguir em cada um dos casos a causa e o efeito nesta relação. Entre os sistemas estudados existem quatro que são particularmente interessantes:

(a) o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (inter-renais), pelo seu papel determinante na fisiologia do stress, pelo possível envolvimento nos comportamentos de submissão, e ainda por constituir o elo de ligação entre os estímulos sociais e o sistema imunológico;

(b) o eixo reprodutor (hipotálamo-hipófise-gónadas), responsável pela activação dos comportamentos reprodutores, quer sexuais quer agonísticos, pela diferenciação dos caracteres sexuais secundários, e pelo dispêndio de energia e nutrientes na reprodução;

(c) o metabolismo neural, pelas pistas que nos pode oferecer para as bases fisiológicas dos mecanismos motivacionais involvidos no comportamento social;

(d) o metabolismo basal, o qual impõe constrangimentos de primeira ordem às actividades comportamentais dos indivíduos.

Estatuto social e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (inter-renais)

A relação entre a dominância social e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (inter-renais) em Teleósteos tem vindo a ser estudado desde há longa data. Boddingus (1976) colocou em evidência a existência de correlações entre a actividade de células da adenohipófise secretoras de ACTH e a dominância social. Erickson (1967) demonstrou a existência de uma correlação negativa entre o estatuto social e o tamanho da glândula inter-renal em juvenis de Peixe-sol (*Lepomis gibbosus*). Posteriormente outros trabalhos confirmaram a relação negativa entre o estatuto social e a actividade das células intra-renais para outras espécies de Teleósteos (*e.g. Oncorhynchus mykiss*, Noakes e Leatherland, 1977; *Trichogaster trichopterus*, Pollack e Christian, 1977; *Xiphophorus helleri*, Scott e Currie, 1980). A glândula inter-renal dos Teleósteos parece assim estar envolvida na sua biologia social, à semelhança do que acontece com a actividade adrenocortical em Mamíferos (Sapolsky, 1987), podendo exercer um papel na retardação do crescimento ou da maturação

sexual dos indivíduos subordinados, ou ainda regulando a susceptibilidade dos indivíduos a agentes infecciosos, uma vez que se trata do principal orgão hematopoiético em Teleósteos (Faisal *et al.*, 1989). No Gourami, *Trichogaster trichopterus*, os machos dominantes ou detentores de um território têm uma resposta positiva de produção de anticorpos quando infectados com um Protozoário (*Trypanosoma*) a qual não se verifica em indivíduos subordinados (Barrow, 1955). Também em *O. mossambicus* está demonstrada a supressão do sistema imunitário em indivíduos subordinados, com um concomitante aumento da susceptibilidade aos agentes infecciosos. Os indivíduos subordinados, quando comparados com os dominantes, apresentam uma menor produção de leucócitos mononucleares no rim anterior (pro-nefros) e uma maior produção de células polimorfonucleares. Nos subordinados ambas as populações celulares apresentam alterações degenerativas com vacuolização do carioplasma e do citoplasma (Cooper *et al.*, 1989). Os leucócitos do pro-nefros dos subordinados apresentam ainda um decréscimo das suas respostas funcionais (*i.e.* citotoxicidade não específica e proliferação estimulada por mitogénios) quando comparadas com as dos leucócitos dos indivíduos dominantes (Ghoneum *et al.*, 1988). Do ponto de vista causal, estas alterações do sistema imunitário dos indivíduos subordinados parecem ser mediadas por opióides endógenos, uma vez que a administração de um antagonista destas substâncias (naltraxona) a indivíduos subordinados provoca uma reversão do processo imunosupressivo induzido socialmente (Faisal *et al.*, 1989).

Estatuto social e eixo reprodutor

Existem vários exemplos em Vertebrados dos efeitos do estatuto social em vários parâmetros do eixo reprodutor, como sejam a proporção dos sexos da descendência (*e.g. Cervus elaphus*, Clutton-Brock *et al.*, 1984), a fecundidade (Bruce 1966 *in* Borowsky, 1978), e a inibição social da maturação sexual em indivíduos subordinados (Lombardi e Vandenberghe, 1976; Bediz e Whisett, 1979). Em Teleósteos alguns outros aspectos têm sido estudados, nomeadamente a diferenciação dos caracteres sexuais secundários e produção de esperma.

Leitz (1987b) demonstrou em *Betta splendens* que os indivíduos dominantes apresentavam barbatanas dorsais mais alongadas que os subordinados, os quais se assemelham a fêmeas nesta característica. Fraley e Fernald (1982), ao estudarem o desenvolvimento do Ciclídeo *Astatotilapia burtoni*, constataram que os indivíduos dominantes são os primeiros a expressarem os caracteres sexuais secundários (*e.g.* padrões de coloração). Também o grau de desenvolvimento da musculatura sónica do

Charroco-americano (*Porichthys notatus*) depende do estatuto social social dos indivíduos (Brantley e Bass, 1991).

Liley e Kroon (1995) evidenciaram o facto dos machos de Truta Arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) terem uma maior produção de esperma do que os machos subordinados, quando expostos a fêmeas sexualmente activas.

No entanto, o fenómeno mais bem estudado em Teleósteos é a inibição social da maturação sexual em indivíduos subordinados. Em várias espécies dos géneros *Xiphophorus* e *Gambusia* estão documentados casos de inibição da maturação sexual em indivíduos subordinados, os quais continuam a crescer, atingindo a maturidade sexual com maiores dimensões e com uma idade mais avançada (Borowsky, 1973, 1978, 1987). Também em fêmeas do Labrídeo *Pseudolabrus celidotus* se observou um fenómeno de inibição social da maturação sexual (Jones e Thompson, 1980). Para Ciclídeos (*i.e. A. burtoni*), está descrito um efeito de retardamento da maturação sexual, mas não a sua inibição completa, em indivíduos subordinados (Fraley e Fernald, 1982). Nos Teleósteos hermafroditas sequenciais protogínicos (*e.g.* Labrídeos) a presença de machos dominantes inibe a mudança de sexo dos indivíduos subordinados (Robertson, 1972; Shapiro, 1979).

Estatuto social e metabolismo neural

À semelhança dos Mamíferos também nos Teleósteos as vias serotonérgicas e catecolaminérgicas parecem estar envolvidas na regulação dos comportamentos agonísticos (McIntyre *et al.*, 1979; Munro, 1986a,b; Maler e Ellis, 1987; Winberg *et al.*, 1991). No que diz respeito a correlatos no metabolismo neural do estatuto social em Teleósteos, existem dois exemplos conhecidos. McIntery *et al.* (1979) mostraram que os indivíduos dominantes da Truta Arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) possuíam maiores concentrações neurais de noradrenalina e menores concentrações de dopamina do que os indivíduos subordinados. Em *Salvelinus alpinus* Winberg *et al.* (1991) não detectaram diferenças nas concentrações de noradrenalina, dopamina e serotonina entre indivíduos de diferentes posições hierárquicas. No entanto, as concentrações de ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA), o qual é o principal metabolito da serotonina, são mais elevadas nos peixes subordinados e as concentrações de ácido homovanílico (HVA), o qual é o principal metabolito da dopamina, são mais elevadas nos indivíduos dominantes. Estes resultados apontam para uma maior actividade serotonérgica, e uma menor actividade dopaminérgica, nos indivíduos subordinados, possivelmente relacionadas respectivamente com um maior estado de stress e uma diminuição da agressividade.

Estatuto social e o metabolismo basal

Também no que diz respeito ao metabolismo basal existem alguns dados que mostram as consequências do estatuto social neste sistema. Haller e Wittenberger (1988), ao estudarem o metabolismo dos hidratos de carbono em função do estatuto social dos indivíduos em *Betta splendens*, colocaram em evidência o facto de os indivíduos dominantes terem a capacidade de produzir mais energia por unidade de tempo do que os indivíduos subordinados. Para um Ciprinodontídeo americano, *Cyprinodon pecoensis*, foi demonstrada a existência de uma relação entre a condição física dos machos e o seu estatuto social, apresentando os indivíduos dominantes/ territoriais um melhor factor de condição (*i.e.* mais peso por unidade de comprimento)(Kodric-Brown e Nicoletto, 1993).

No presente estudo tentou-se avaliar quais as consequências do estatuto social num conjunto de variáveis do eixo reprodutor e do metabolismo basal, nomeadamente a maturação sexual, a expressão dos caracteres sexualmente dimórficos e a condição física dos indivíduos. O estudo da expressão diferencial dos caracteres sexuais secundários em indivíduos de diferente estatuto social, constituiu um objectivo especialmente aliciante dada a existência de pistas nesse sentido e a ausência quase completa de trabalho empírico neste domínio (*e.g.* Leitz, 1987b).

Dimorfismo sexual

Com vista a alcançar estes objectivos surgiu a necessidade de proceder à caracterização do dimorfismo sexual desta espécie numa primeira etapa. A existência de variação no grau de dimorfismo sexual dentro dos Peixes Tilapíneos, podendo simplesmente estar ausente ou, pelo contrário, expressar-se marcadamente, quer nas dimensões relativas dos dois sexos, quer nos padrões de coloração, quer ainda em caracteres morfológicos, tem suscitado um crescente interesse.

Como neste grupo se encontram três padrões básicos relativos ao comportamento reprodutor e parental (ver capítulo 2) tem-se tentado relacionar o grau de dimorfismo sexual com os diferentes modos de reprodução. Assim, nos géneros *Tilapia* (monogâmicos com incubação biparental no substrato) e *Sarotherodon* (monogâmicos com incubação bucal biparental ou paternal) o dimorfismo sexual é reduzido ou inexistente, enquanto que em *Oreochromis* existem um dicromatismo e um dimorfismo sexuais bem marcados.

Na tabela 10.1 apresentamos um resumo dos caracteres morfológicos referidos na literatura como sendo sexualmente dimórficos em Tilápias.

Tabela 10.1. Caracteres sexualmente dimórficos em Tilápias.

Caracter	Machos	Fêmeas	Espécie	Autor
Barbatanas anal e dorsal	bordo pontiagudo	bordo arredondado	*S. galilaeus* *O. aureus*	Chervinski, 1983
Barbatanas pélvicas	extremidade distal atinge ou ultrapassa o nível do ânus	extremidade distal não atinge o nível do ânus	*T. zilli* *S. galilaeus* *O. aureus*	Chervinski, 1983
Nº de aberturas urogenitais	1	2	*T. zilli* *S. galilaeus* *O. aureus*	Chervinski, 1983
			O.mossambicus	Datta e Roy, 1984
Barbatana dorsal	mais grossa e com margem contínua	fina e em escada	*O. aureus*	Fishelson, 1966b
Maxila	mais grossa	mais fina	*O. mossambicus*	Seitz, 1948

Como nas Tilápias os machos crescem mais rapidamente do que as fêmeas e atingem dimensões maiores, torna-se importante avaliar até que ponto os caracteres sexualmente dimórficos reflectem verdadeiros dimorfismos ou se são apenas o resultado de um crescimento alométrico desses caracteres.

Brzeski e Doyle (1988) trabalhando com uma população de híbridos *O. mossambicus*×*O. urolepis hornorum* estimaram como melhores caracteres discriminadores do sexo a largura do lábio superior e a altura do corpo medida ao nível da órbita e medida ao nível da inserção da barbatana dorsal.

Relativamente à caracterização do dimorfismo sexual pretendemos atingir os seguintes objectivos:

(a) descrever os padrões de crescimento alométrico de um conjunto de variáveis morfométricas, e comparar estes padrões para machos e para fêmeas;

(b) identificar quais as características morfológicas que são mais efectivas na discriminação dos sexos.

10.2. MÉTODOS

10.2.1. Dimorfismo Sexual e Alometria da Morfologia Externa

Os indivíduos utilizados neste estudo variavam em idade entre os 8 e os 14 meses, e em tamanho entre 31 mm e 91 mm de comprimento standard.

Os peixes tiveram duas origens:

(a) indivíduos provenientes de aquários de stock (130 L) , com cerca de 40 indivíduos cada (n=48);

(b) indivíduos provenientes de grupos pequenos, utilizados nas experiências comportamentais, de 6 indivíduos por aquário (60 L) (n=76) (estudo 1 e estudo 2).

O processamento dos indivíduos realizou-se de acordo com o seguinte protocolo:

1. Os peixes foram sacrificados com uma dose letal de anestésico (quinaldina).

2. Medição dos caracteres morfológicos externos (ver tabela 5.5) com uma craveira com uma resolução de 0.1 mm; medição do comprimento da papila genital com ocular micrométrica; pesagem dos indivíduos com balança digital com resolução de 0.1 mg.

3. Avaliação do sexo através das características morfológicas externas: barbatanas dorsal e anal, extensão das barbatanas pélvicas e número de orifícios na papila urogenital.

4. Dissecção da cavidade abdominal e extracção do fígado e gónadas; pesagem do fígado e das gónadas em balança digital com resolução de 0.1 mg.

5. Avaliação do estado de maturação das gónadas segundo uma escala macroscópica (ver tabela 5.6). Nos indivíduos imaturos a identificação do sexo a partir da análise das gónadas realizou-se de acordo com o método proposto por Guerrero e Shelton (1974).

Numa amostra mais restrita procedeu-se ainda à dissecção da cavidade bucal a partir da abertura opercular e extracção da musculatura sónica e placas faringicas, e pesagem do aparelho sónico em balança digital com resolução de 0.1 mg.

Análise dos dados

Com vista à detecção de alometrias segundo a equação $Y= aX^b$, todas as medidas morfométricas foram transformadas nos seus logaritmos, sendo realizadas

regressões lineares sobre o logaritmo do comprimento standard, para os dois sexos separadamente.

As equações de regressão (log Y = a + b log X) obtidas para cada um dos sexos foram comparadas com Análise de Covariância (ANCOVA), segundo o método descrito em Sokal e Rohlf (1981), e utilizando o programa estatístico BIOM (copyrigth F. James Rohlf, 1986-87). Quando nem os declives, nem os pontos de intersecção nas abcissas diferem significativamente (α=0.05) entre os sexos, aglomeraram-se os dados de ambos os sexos e calculou-se uma equação de regressão única para toda a amostra.

Para se detectarem desvios à isometria foram calculados intervalos de confiança unilaterais para os declives a três níveis de significância diferentes (α=0.05; α=0.01; α=0.001). As variáveis foram classificadas como alométricas positivas quando o limite inferior do intervalo de confiança para o seu declive era superior a um, e foram classificadas como alométricas negativas variáveis cujo limite superior do intervalo de confiança para o seu declive era inferior a um.

10.2.2. Variação de Caracteres Sexualmente Dimórficos com o Estatuto Social

Para o estudo da variação dos caracteres morfo-funcionais nos machos com o estatuto social foram utilizados indivíduos do estudo 1 e do estudo 2 para os quais existiam dados simultaneamente sobre o comportamento social e sobre as variáveis biométricas em causa, uma vez que em ambos os estudos os indivíduos cresceram de cada grupo experimental cresceram em conjunto durante um longo período de tempo. Não foram considerados machos de grupos que apenas continham um macho. A validade biológica desta aglomeração de dados das duas experiências não é posta em causa visto se tratarem de indivíduos amostrados na mesma idade, no período de maturação sexual e em grupos de dimensões iguais mantidos em condições padronizadas. A única diferença entre os grupos foi o tempo que os elementos que os constituíam permaneceram juntos (8 meses no caso do estudo 1 e 2 meses no caso do estudo 2).

Foram testadas as diferenças num conjunto de variáveis biométricas entre as classes de dominância determinadas segundo o procedimento do ACTUS, já previamente descrito (ver secção 9.2). O número de indivíduos classificados como dominantes, intermédios e subordinados em cada um dos estudos e para os quais se dispõe de dados biométricos são apresentados na tabela 10.2.

Tabela 10.2. Dimensão das amostras de dominantes, intermédios e subordinados para as diferentes variáveis e contribuição de cada um dos estudos (1 e 2) para o total de indivíduos em cada amostra.

		Estudo 1			Estudo 2			Total		
Variável	N	S	I	D	S	I	D	S	I	D
AD2	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
AA2	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
EPM	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
EM	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
CPM	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
CF	34	5	6	5	7	6	5	12	12	10
CPAP	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
IGS	46	6	6	6	12	8	8	18	14	14
Matur.	36	6	6	6	7	6	5	13	12	11
K	46	6	6	6	12	8	8	18	14	14
IHS	46	6	6	6	12	8	8	18	14	14
Ap. sónico	18	6	6	6	0	0	0	6	6	6

A comparação das diferentes variáveis biométricas entre as classes de dominância foi realizada através de análises de variância unifactoriais, seguida de um teste de comparações múltiplas *a posteriori* para identificar quais os grupos que diferiam significativamente entre si (teste de Spjotvoll-Stoline, Spjotvoll e Stoline, 1973; ver capítulo 5), excepto para o caso do índice de maturação das gónadas que não cumpria os pressupostos da ANOVA. Neste caso a comparação foi efectuada com o procedimento não paramétrico de Kruskal-Wallis (Siegel e Castellan, 1988; ver capítulo 5). Para controlar para efeitos de tamanho utilizou-se para cada variável os resíduos da regressão log-log entre essa variável e o comprimento standard (CS).

Foram calculadas as correlações parciais entre os traços morfológicos sexualmente dimórficos e o índice de dominância (V/V+D) controlando para os efeitos de tamanho (CS).

Foi utilizado o tamanho da papila genital (CPAP) como medida dos níveis de androgénios nos machos. Levy e Aronson (1955) colocaram em evidência, através de castração e terapias de administração exógena de testosterona a castrados, que a papila

genital das Tilápias é um caracter dependente de androgénios cujo desenvolvimento pode ser utilizado como bioensaio para avaliar os níveis de androgénios circulantes. Este procedimento foi mais tarde utilizado por Schwanck (1980) para avaliar o efeito dos níveis de androgénios no estabelecimento de relações de dominância em machos de *Tilapia mariae*. Para validar a utilização do tamanho da papila genital em *O. mossambicus* como indicador dos níveis de androgénios dos machos mediu-se o comprimento das papilas genitais (CPAP) dos indivíduos do estudo 3 no final da experiência ao mesmo tempo que se recolheram amostras de urina para dosear os níveis de 2 androgénios: testosterona (T) e 11-cetotestosterona (KT). As correlações obtidas entre estas medidas foram as seguintes:

(a) CPAP vs. T: $r = 0.536$, $p<0.05$, $n=14$;

(b) CPAP vs. KT: $r = 0.539$, $p<0.05$, $n=14$;

(c) CPAP vs. KT+T: $r = 0.673$, $p<0.01$, $n=14$;

(d) CPAP vs. KT/ T: $r = 0.645$, $p<0.01$, $n=14$.

Estes resultados mostram que o CPAP é um bom indicador dos níveis totais de androgénios, mais do que de um dos androgénios isoladamente, permitindo-nos validar a utilização do comprimento da papila genital como bioensaio para a medição dos níveis de androgénios. É ainda interessante referir a boa correlação existente entre o CPAP e a taxa KT/ T.

Para avaliar a mediação dos androgénios no controlo social da expressão dos caracteres sexualmente dimórficos utilizaram-se dois critérios:

(a) compararam-se os coeficientes de determinação ajustados entre dois modelos de regressão em que o caracter sexual secundário é a variável dependente; um em que as variáveis independentes são o índice de dominância (V/V+D) e o tamanho (CS); um outro igual ao primeiro mas em que se adiciona o CPAP como variável independente. Desta forma pode-se testar se a inclusão do CPAP aumenta a determinação do modelo;

(b) utilizando o método de "path analysis" procedeu-se à decomposição das correlações (Pedhazur, 1982) entre os caracteres sexualmente dimórficos e o índice de dominância nas três vias expressas no modelo de regressão (ver figura 10.1): efeito directo (ED), efeito indirecto (EI) através dos androgénios (CPAP) e o efeito espúrio (S) devido a uma covariação da característica com o tamanho (CS). Ou seja:

$$Rdy = Pdy + PdaPay + RdtPty \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow Rdy = ED + EI + S$$

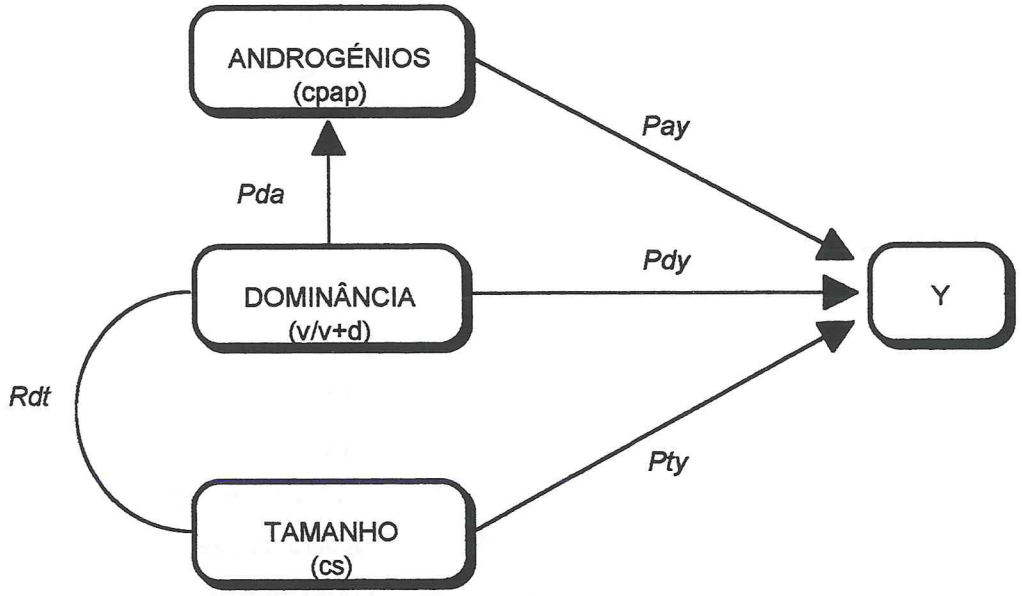


Figura 10.1. Diagrama de percursos ("path diagram") para ilustrar a decomposição da correlação (R_{dy}) entre a dominância e uma variável sexualmente dimórfica (Y), morfológica ou comportamental, nos seus componentes: efeito directo da dominância na variável Y expresso pelo coeficiente de percurso ("path coefficient") P_{dy}; efeito indirecto da dominância na variável Y via androgénios indicado pelos coeficientes de percursos P_{da} e P_{ay} (*i.e.*, $P_{da} \times P_{ay}$); efeito espúrio da dominância na variável Y devido a uma correlação entre a dominância e o tamanho (R_{dt}), e ao efeito deste na variável Y (P_{ty}), expresso pela via $R_{dt} \times P_{ty}$.

10.3. RESULTADOS

10.3.1. Dimorfismo Sexual e Alometria da Morfologia Externa

10.3.1.1. Caracteres Morfológicos com Crescimento Sexualmente Dimórfico

Como é comum para os Peixes Tilapíneos, na nossa amostra os machos são significativamente maiores do que as fêmeas (teste de Mann-Whitney, n=124: CS: z= -3.75, p<<0.001; peso: z= 3.34, p<<0.001). Esta diferença de tamanhos vem salientar a importância de analisar a relação de cada variável morfométrica com o tamanho antes de qualquer interpretação do seu contributo para o dimorfismo sexual observado.

Tabela 10.3. Resultados da ANCOVA para a comparação entre machos e fêmeas das regressões log-log de cada variável morfométrica sobre o comprimento standard.

Variáveis	N	Diferenças entre as médias ajustadas (coordenada na origem)		Diferenças entre os declives	
		F	p	F	p
CT	124	0.252	N.S.	1.340	N.S.
ACA	124	1.194	N.S.	0.349	N.S.
ACO	124	1.804	N.S.	1.202	N.S.
CPD	124	4.240	<0.05	0.280	N.S.
CPA	124	0.321	N.S.	0.637	N.S.
CPP	124	0.409	N.S.	3.849	N.S.
CP	124	2.351	N.S.	0.007	N.S.
APC	124	0.004	N.S.	0.343	N.S.
AD2	122	34.456	<0.001	25.800	<0.001
AA2	124	27.074	<0.001	5.246	<0.05
DO	124	2.724	N.S.	0.503	N.S.
EIO	124	0.989	N.S.	0.691	N.S.
EPM	124	41.457	<0.001	15.606	<0.001
EM	124	5.751	<0.05	18.176	<0.001
CPM	124	14.440	<0.001	7.994	<0.01
CC	118	1.742	N.S.	0.222	N.S.
CF	118	14.512	<0.001	7.963	<0.01
CBC	124	0.003	N.S.	1.675	N.S.

Uma inspecção da tabela 10.3 revela a existência de um conjunto de variáveis cuja variação com o tamanho (CS) difere significativamente entre os sexos (quer no declive, quer no ponto de intersecção do eixo dos YY) (ver figuras 10.2 a 10.7). Adicionalmente o comprimento pré-dorsal (CPD) difere significativamente na origem mas não no declive (ver figura 10.8). As variáveis que apresentam resultados significativos estão relacionadas com dois complexos morfológicos: a estrutura da boca (espessura da pre-maxila - EPM, espessura da mandíbula- EM, comprimento da

pre-maxila - CPM e o comprimento do focinho - CF) e as barbatanas ímpares (AD2 e AA2). Para ambos os complexos morfológicos os machos apresentam alometrias positivas significativas em relação ao tamanho (CS), enquanto que as fêmeas apresentam relações isométricas, excepto para a AA2, e relação à qual as fêmeas também apresentam uma pequena alometria positiva (tabela 10.4). No que diz respeito ao CPD, ambos os sexos apresentam uma alometria negativa significativa com o tamanho (CS) (tabela 10.4).

Tabela 10.4. Equações de regressão do logaritmo de cada variável morfométrica sobre o logaritmo do comprimento standard (CS) ($Y=aX^b$), para os caracteres que revelaram diferenças entre os sexos (quer na coordenada na origem quer no declive). São também apresentados o coeficiente de correlação (r), o valor da estatística de F (F), e o valor crítico para os intervalos de confiança (o limite superior no caso das alometrias negativas e o limite inferior no caso das alometrias positivas). São utilizados três níveis para expressar a significância atingida por cada resultado: (*) $p<0.05$; (**) $p<0.01$; (***) $p<0.001$. O tamanho da amostra é de 63 machos e 61 fêmeas, excepto para a AD2 (62 machos e 60 fêmeas) e o CF (61 machos e 57 fêmeas).

Sexo	Variáveis	a	b	r	F	Lc
Machos	AD2	-1.81	1.63	0.96	614.9***	1.40***
	AA2	-1.41	1.40	0.97	978.5***	1.24***
	EPM	-2.83	1.74	0.95	528.0***	1.48***
	EM	-3.33	1.89	0.93	419.1***	1.57***
	CPM	-1.68	1.41	0.95	506.2***	1.20***
	CF	-1.28	1.22	0.95	516.7***	1.36**
	CPD	-0.19	0.89	0.97	1 142***	0.99***
Fêmeas	AD2	-0.97	1.12	0.90	249.5***	0.98
	AA2	-1.13	1.22	0.92	335.6***	1.08*
	EPM	-1.94	1.18	0.78	92.2***	0.94
	EM	-1.80	0.99	0.53	23.0***	0.58
	CPM	-1.16	1.09	0.83	128.5***	0.90
	CF	-0.86	0.96	0.87	165.6***	0.81
	CPD	-0.16	0.88	0.96	697.7***	0.99***

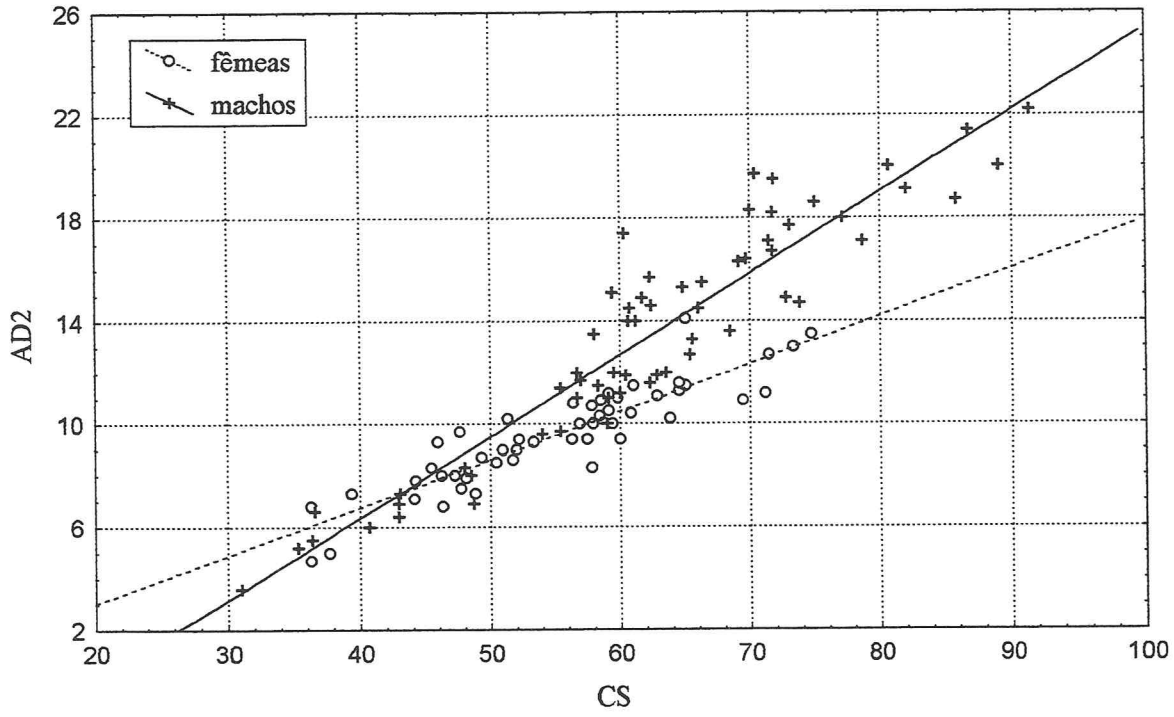


Figura 10.2. Variação da altura da segunda barbatana dorsal (AD2) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

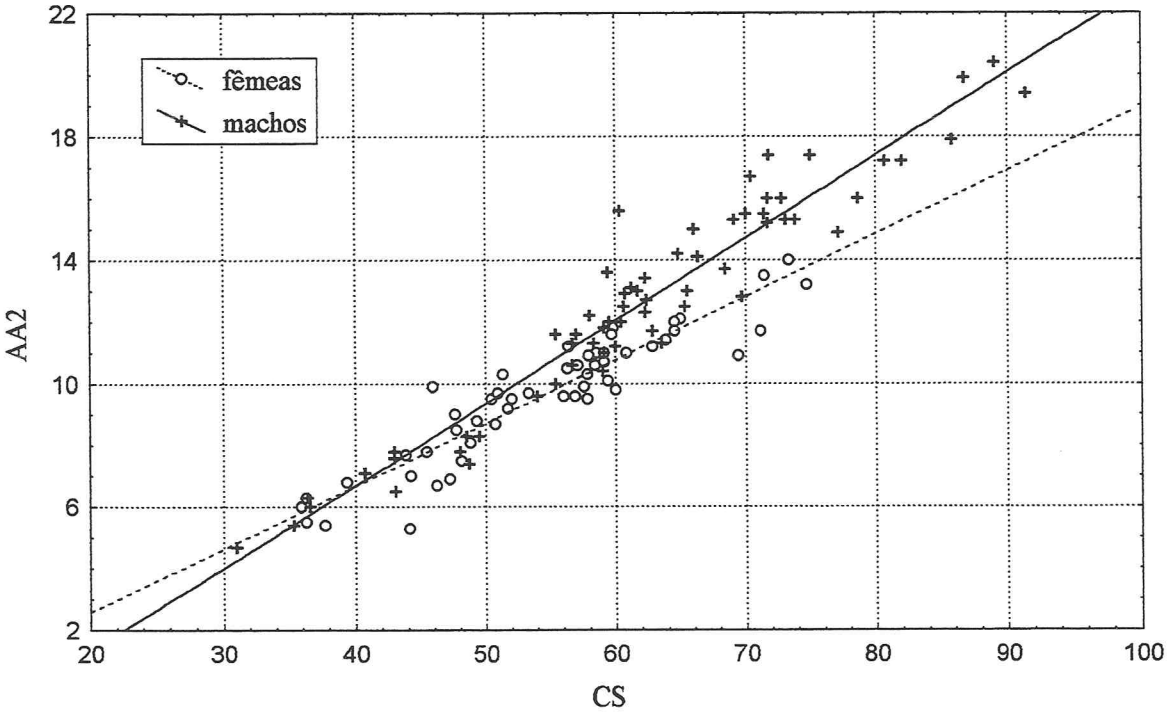


Figura 10.3. Variação da altura da segunda barbatana anal (AA2) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

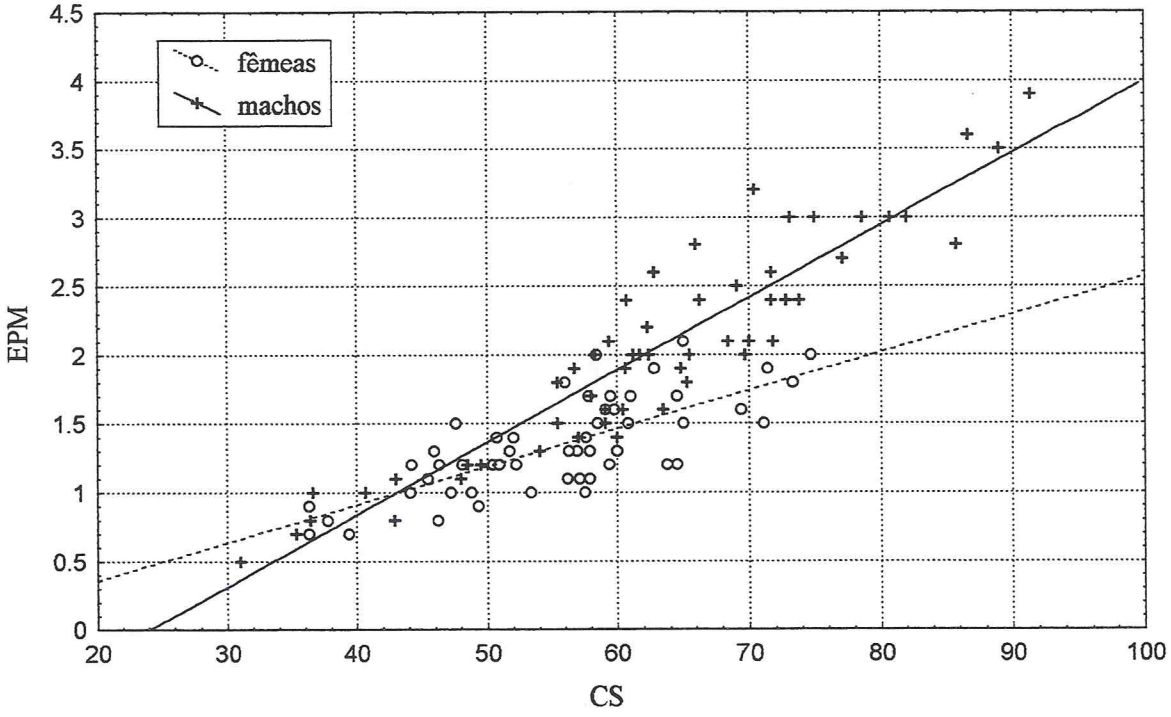


Figura 10.4. Variação da espessura da pré-maxila (EPM) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

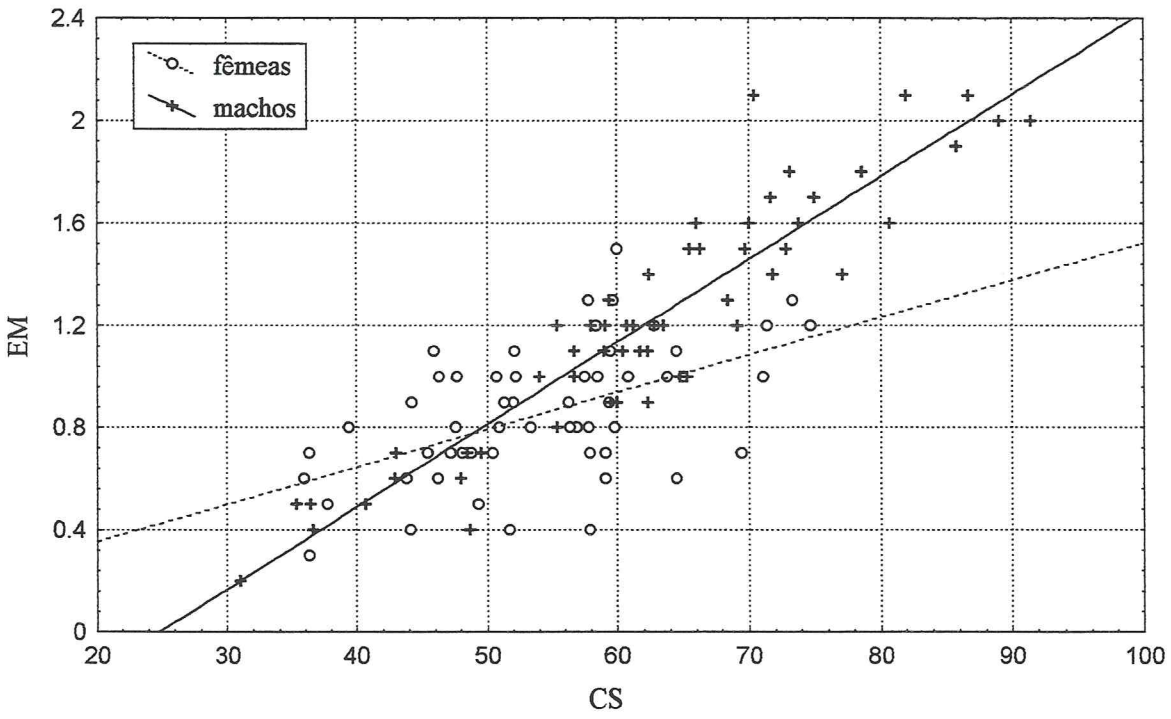


Figura 10.5. Variação da espessura da mandíbula (EM) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

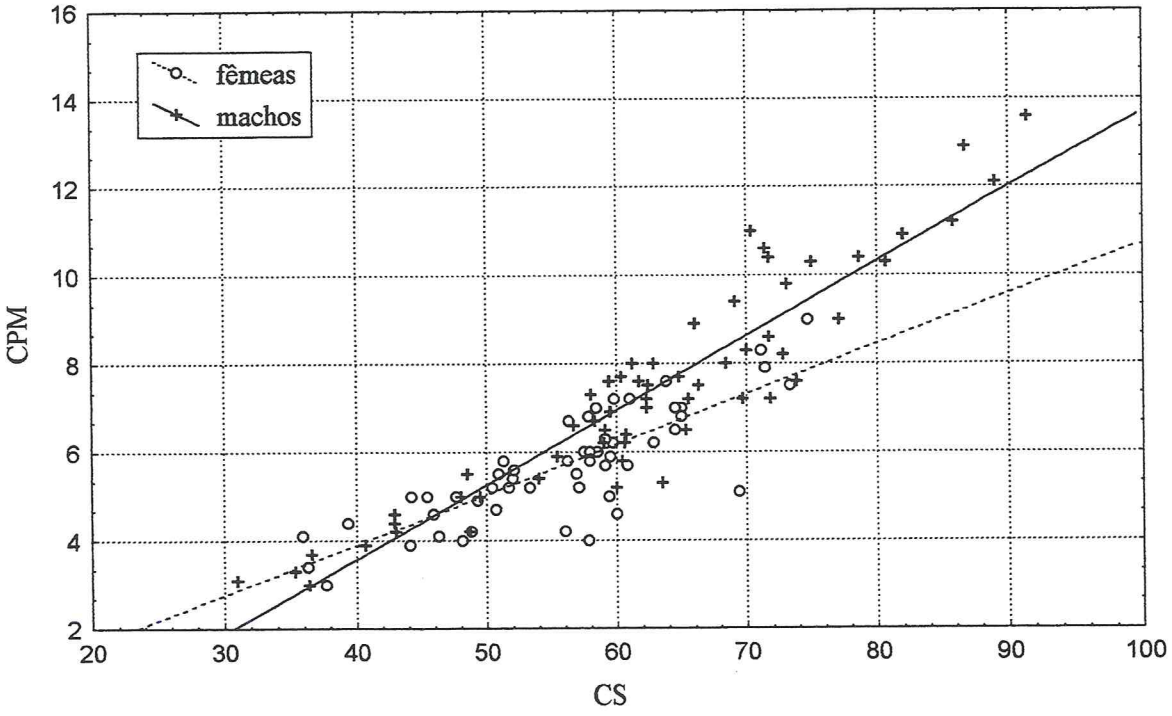


Figura 10.6. Variação do comprimento da pré-maxila (CPM) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

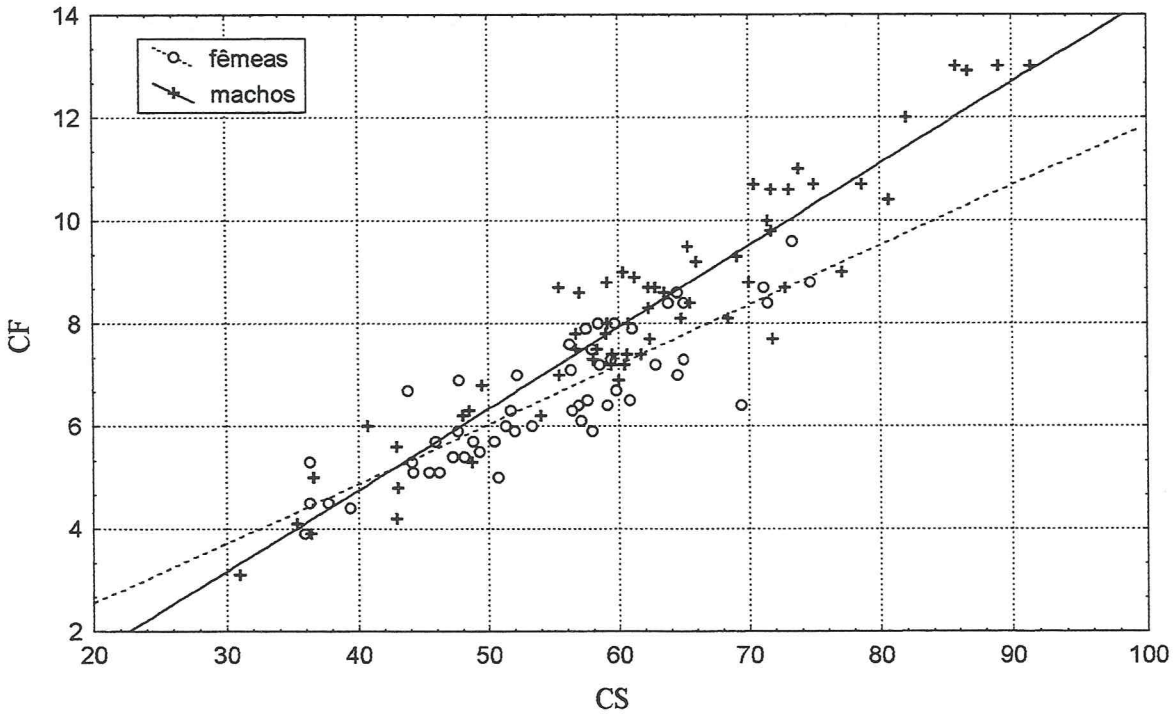


Figura 10.7. Variação do comprimento do focinho (CF) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

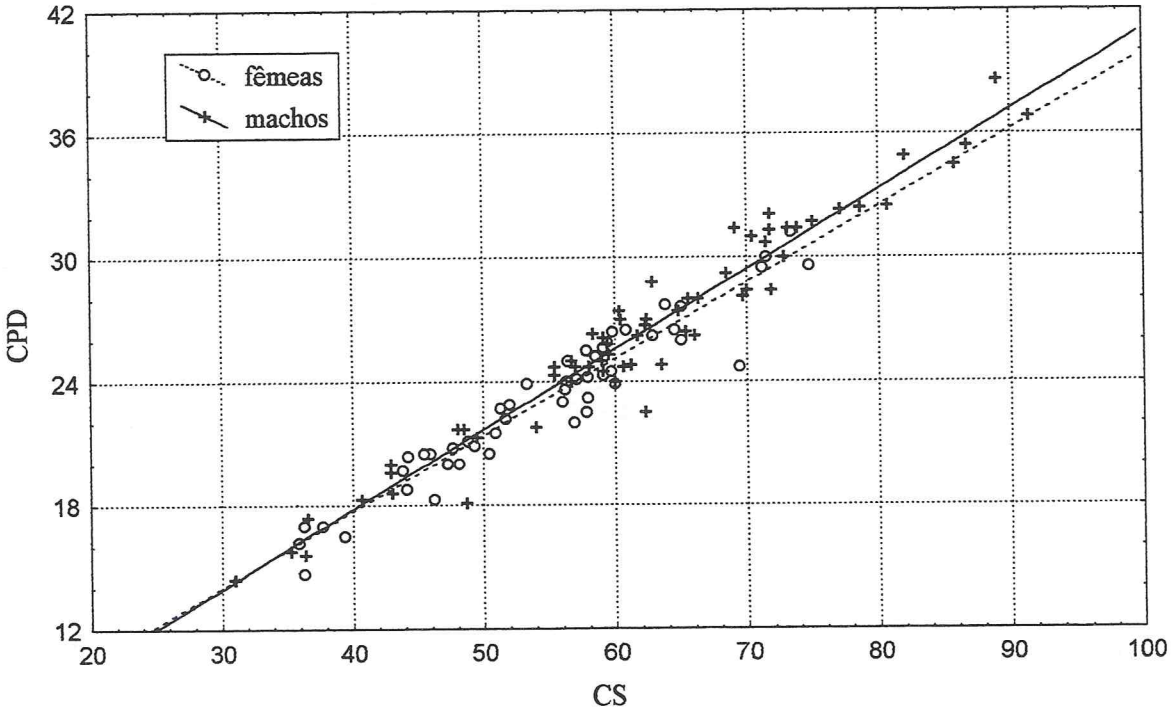


Figura 10.8. Variação do comprimento pré-dorsal (CPD) com o tamanho (CS) para machos e fêmeas de *O. mossambicus*. Ambas as variáveis estão expressas em milímetros.

Entre as variáveis cuja relação como tamanho não difere entre os sexos, o diâmetro do olho (DO) e o comprimento pré-pélvico (CPP) são negativamente alométricos e o comprimento das pélvicas (CP) apresenta uma alometria positiva (tabela 10.5).

A análise de componentes principais (ACP) da matriz de correlações entre os resíduos da regressão linear entre os logaritmos de todas as variáveis, excepto o CBC visto ser uma variável derivada, e os logaritmos do comprimento standard, extraíu dois factores que explicam 40.7% da variância (tabela 10.6). Embora este valor possa parecer baixo para os resultados usuais das ACP, ele não é surpreendente dado o número de variáveis para as quais foi já demonstrada a inexistência de diferenças inter-sexuais e que representam assim fontes adicionais de variância na população. Utilizando um valor de corte de 0.6 para os "factor loadings", o factor 1 expressa caracteres cujo crescimento foi demonstrado pela ANCOVA ser sexualmente dimórfico (AD2, AA2, EPM, EM, CPM), enquanto que o factor 2 expressa variáveis associadas à profundidade do corpo (altura do corpo - ACO, e altura da cabeça - ACA)(Figura10.9). Com o objectivo de confirmar que o factor 1 representa caracteres com crescimento sexualmente dimórfico, foram calculados os valores de cada indivíduo para cada factor e os valores de machos e fêmeas foram comparados

separadamente para cada factor. O factor 1 é bem sucedido na discriminação entre os sexos (one-way ANOVA , n=116, F=46.29, p<0.001), enquanto que para o factor 2 a diferença não é significativa (one-way ANOVA, n=116, F=2.41, p>0.05).

Tabela 10.5. Equações de regressão do logaritmo de cada variável morfométrica sobre o logaritmo do comprimento standard (CS) ($Y=aX^b$), para os caracteres que não revelaram diferenças entre os sexos (nem na coordenada na origem nem no declive). São também apresentados o coeficiente de correlação (r), o valor da estatística de F (F), e o valor crítico para os intervalos de confiança (o limite superior no caso das alometrias negativas e o limite inferior no caso das alometrias positivas). São utilizados três níveis para expressar a significância atingida por cada resultado: (*) p<0.05; (**) p<0.01; (***) p<0.001. O tamanho da amostra é de 63 machos e 61 fêmeas, excepto para o CC (61 machos e 57 fêmeas).

Variáveis	a	b	r	F	Lc
CT	0.11	1.00	0.99	6 949***	0.96
ACA	-0.47	0.98	0.95	1 191***	1.04
ACO	-0.40	0.99	0.94	990.1***	1.05
CPA	-0.12	0.98	0.98	3 747***	1.01
CPP	-0.23	0.91	0.96	1 570***	0.98***
CP	-0.90	1.18	0.95	1 196***	1.07***
APC	-0.84	0.99	0.97	1 785***	1.04
DO	-0.41	0.67	0.84	299.0***	0.79***
EIO	-0.90	0.98	0.95	1 047***	1.04
CC	-0.53	1.05	0.90	492.5***	0.95
CBC	-0.58	1.03	0.75	156.4***	0.87

Tabela 10.6. Resultados da análise de componentes principais (ACP).

Factor	valor de Eigen	% da variância total	Valores de eigen acumulados	% acumulada
1	4.62	28.85	4.62	28.85
2	1.90	11.89	6.52	40.74

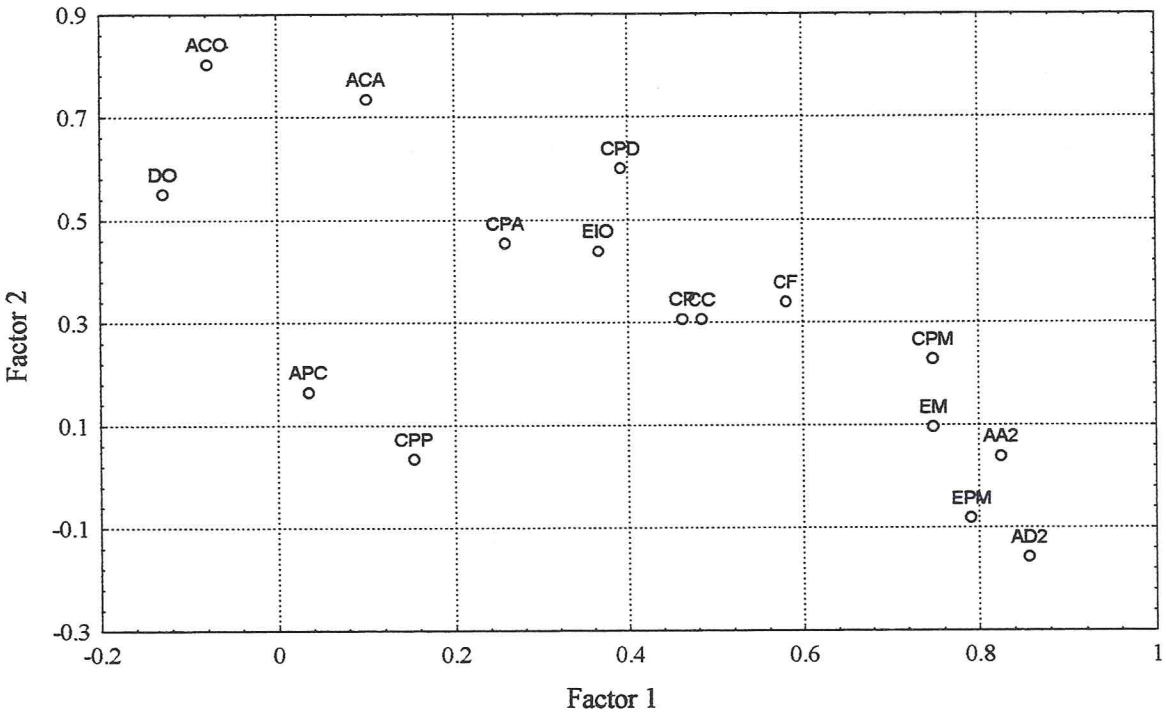


Figura 10.9. Expressão das variáveis morfométricas nos factores extraídos na análise de componentes principais (ACP).

10.3.1.2. Dimorfismo Sexual da Morfologia Externa

A análise que se acaba de apresentar permite a identificação de um único factor que expressa os caracteres que apresentam um crescimento sexualmente dimórfico. Uma vez que os machos podem atingir a maturação sexual com diferentes tamanhos e podem variar também na expressão dos caracteres sexuais secundários, foi realizada uma análise discriminante averiguar a eficácia das diferentes medidas na descriminação entre os dois sexos (tabela 10.7). A análise discriminante classifica correctamente 81% dos casos (Wilk's λ= 0.614, $F_{16,99}$ =3.89, p<<0.001). Restringindo o número de variáveis no modelo àquelas que atingem valores de F significativos obtém-se uma função discriminante reduzida (marca= 0.688 EPM + 0.431 AA2 + 0.209 CF), a qual classifica correctamente 77.6% dos indivíduos (Wilk's λ= 0.696, $F_{3,112}$ =16.32, p<<0.001). Ou seja os traços que melhor segregam os indivíduos dos dois sexos pertencem ao grupo de caracteres associado com o factor 1 da ACP.

Tabela 10.7. Resultados da análise discriminante.

Variáveis	Coeficientes da função discriminante padronizada	Coeficientes das funções de classificação	
		Machos	Fêmeas
ACA	0.32	-8.36	8.96
ACO	0.16	-3.85	4.12
CPD	-0.21	7.87	-8.44
CPA	-0.06	2.71	-2.90
CPP	0.10	-3.26	3.49
CP	0.30	-6.61	7.09
APC	0.03	-1.00	1.08
AD2	-0.18	2.66	-2.85
AA2	-0.55	11.12	-11.91
DO	0.26	-5.14	5.50
EIO	0.01	-0.32	0.35
EPM	-0.49	5.34	-5.72
EM	0.14	-1.06	1.13
CPM	-0.03	0.40	-0.43
CC	0.09	-1.35	1.45
CF	-0.41	7.03	-7.53
Constante		-0.95	-1.06

Existe um conjunto de características que têm sido utilizadas na prática para a identificação visual dos sexos: (a) número de aberturas urogenitais (fêmeas, 2; machos, 1); (b) forma das barbatanas anal e dorsal (fêmeas, arredondada; machos, pontiaguda); tamanho relativo das barbatanas pélvicas (fêmeas, não atingem o ânus; machos, atingem ou ultrapassam o ânus). Para determinar a concordância na identificação dos sexos entre cada um destes critérios e a inspecção directa das gónadas, recorreu-se a estatística de κ para o conjunto da amostra e para três classes de tamanho separadamente (tabela 10.8).

Instituto Superior de Psicologia Aplicada
BIBLIOTECA

Tabela 10.8. Concordância na identificação do sexo entre os caracteres morfológicos e a inspecção directa das gónadas para o total da amostra e para classes de tamanho (n=123, excepto para o número de orifícios urogenitais, n=44).

	Estatística Kappa	Barbatanas anal/dorsal	comprimento relativo das barbatanas pélvicas	Nº de aberturas urogenitais
Total da amostra	concordância observada (%)	79.7	58.5	79.6
	κ	0.596	0.161	0.597
	z	6.65	1.76	5.72
	p	<0.001	<0.05	<0.001
Classe 'pequenos' (31-51 mm SL)	concordância observada (%)	62.5	53.2	77.8
	κ	0.04	0.12	0.40
	z	0.18	2.82	0.92
	p	N.S.	<0.01	N.S.
Classe 'médios' (51-71 mm SL)	concordância observada (%)	83.1	60.6	77.3
	κ	0.66	0.22	0.55
	z	5.56	1.86	2.64
	p	<0.001	<0.05	<0.01
Classe 'grandes' (71-91 mm SL)	concordância observada (%)	95.0	60.0	92.3
	κ	0.86	-0.25	0.81
	z	2.82	-0.77	2.36
	p	<0.01	N.S.	<0.01

Considerando a totalidade da amostra o critério que melhor cumpre a discriminação sexual é a forma das barbatanas anal e dorsal e o número de aberturas urogenitais. A situação é no entanto diferente quando as classes de tamanho são analisadas separadamente. As barbatanas pélvicas são um bom discriminador para aferir o sexo de indivíduos "pequenos" e "médios" mas falham na discriminação de indivíduos "grandes". Por outro lado, quer as barbatanas anal e dorsal quer as aberturas da papila genital são bons preditores do sexo em indivíduos "médios" e "grandes".

10.3.2. Androgenização dos Machos Dominantes

10.3.2.1. Variação dos Caracteres Sexuais Secundários e de Outras Variáveis Biométricas com o Estatuto Social

Na tabela 10.9 são apresentados os resultados da comparação de vários parâmetros morfo-funcionais entre indivíduos de diferentes classes de estatuto social.

Uma inspecção desta tabela permite as seguintes conclusões:

(a) Das variáveis morfométricas diagnosticadas como sexualmente dimórficas na secção anterior apenas duas não apresentam uma tendência de variação com o estatuto social (EPM e CF). As restantes 4 (AD2, AA2, EM e CPM) tendem a ser maiores nos indivíduos dominantes, decrescendo depois com o estatuto social dos machos, sendo que para três delas (AA2, EM e CPM) os dominantes diferem significativamente dos subordinados, ocupando os indivíduos de estatuto intermédio uma posição intermédia não se distinguindo significativamente de nenhuma das outras duas classes de dominância. No caso da AD2 dominantes e intermédios não diferem entre si, sendo ambas estas classes significativamente diferentes dos subordinados. Nas figuras 10.10 a 10.15 são apresentadas as variações de cada uma das características sexualmente dimórficas com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho, para os indivíduos das diferentes classes de dominância.

(b) Em relação ao eixo reprodutor não se observam diferenças significativas no estado de maturação das gónadas entre indivíduos de diferente estatuto social (ver figura 10.17). No entanto, no que diz respeito ao nível de androgénios (medido pelo comprimento da papila genital, CPAP) e ao índice gonado-somático (IGS) verificam-se diferenças significativas em relação ao estatuto social, apresentando os indivíduos dominantes valores mais elevados do que os subordinados (ver figuras 10.16 e 10.17).

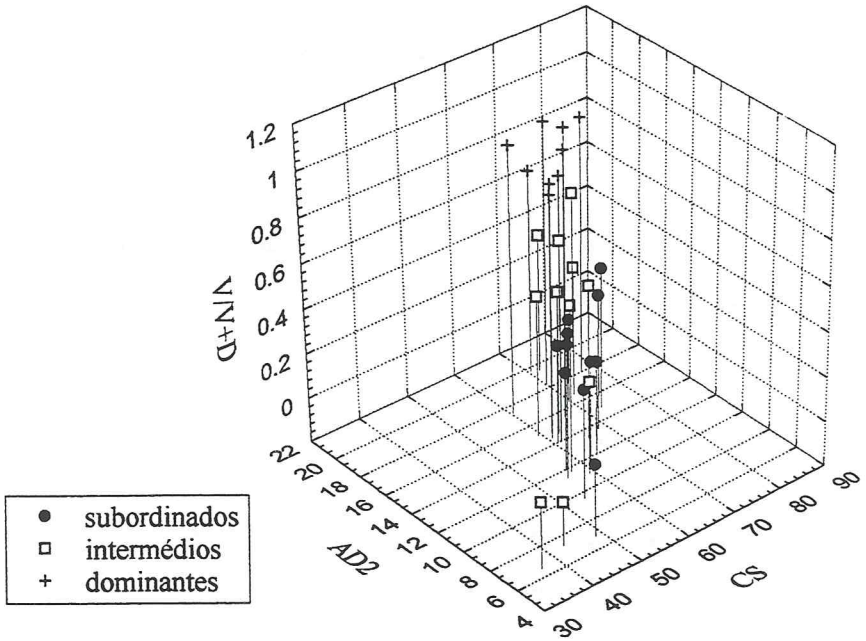


Figura 10.10. Variação da altura da segunda barbatana dorsal (AD2) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

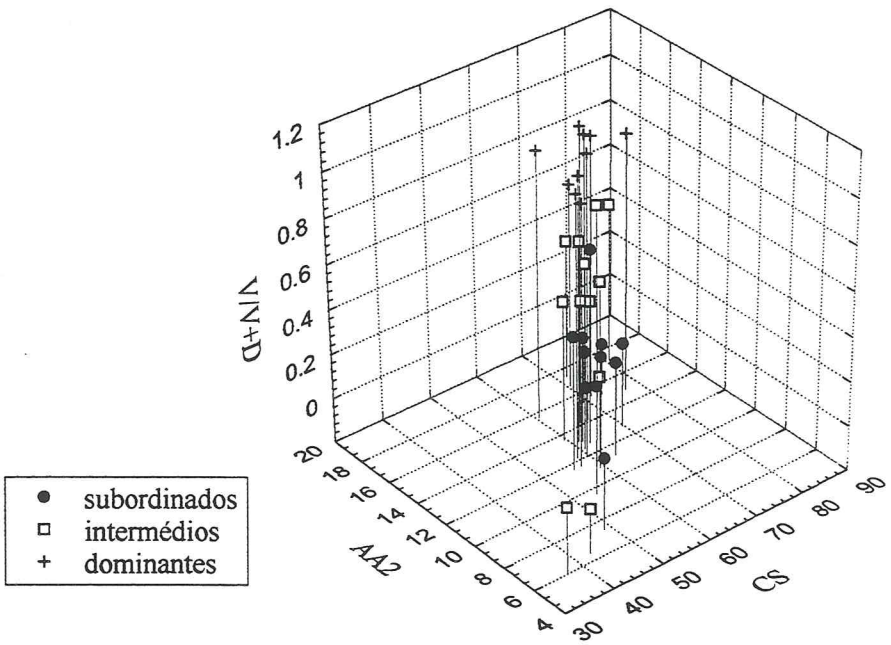


Figura 10.11. Variação da altura da segunda barbatana anal (AA2) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

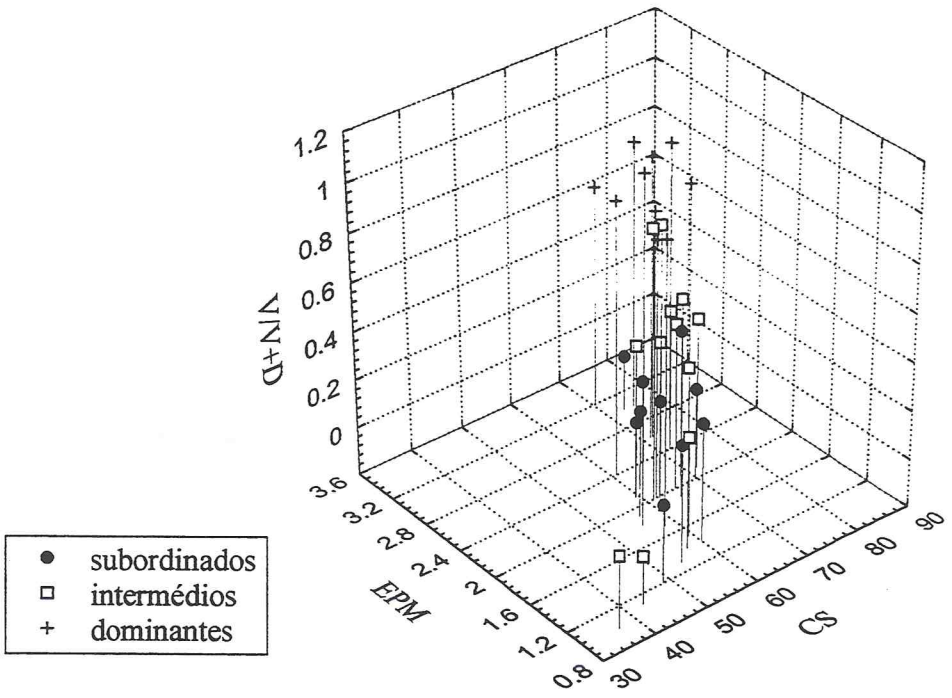


Figura 10.12. Variação da espessura da pré-maxila (EPM) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

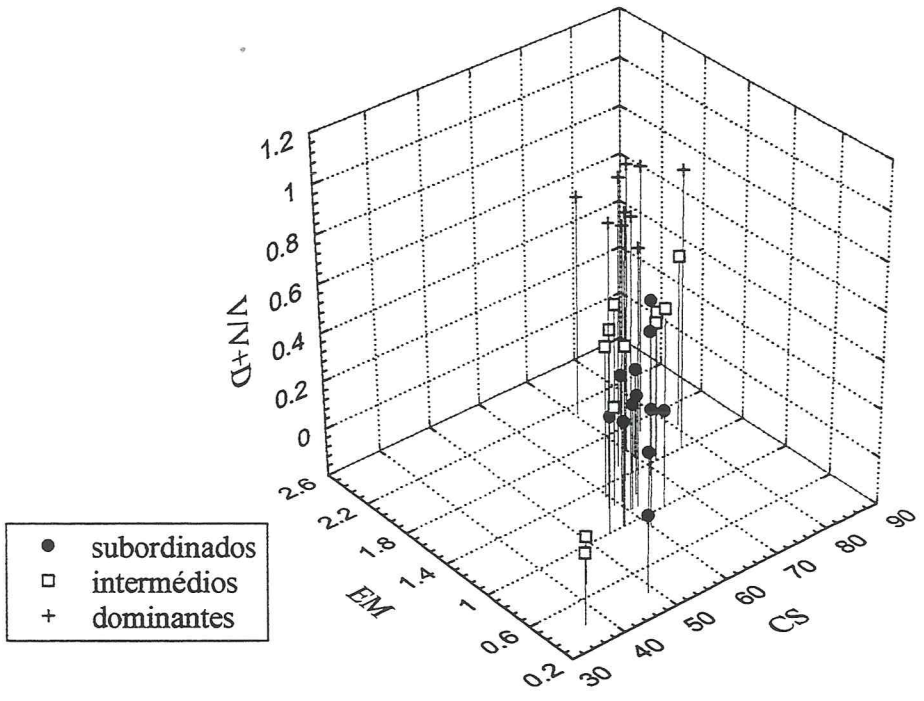


Figura 10.13. Variação da espessura da mandíbula (EM) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

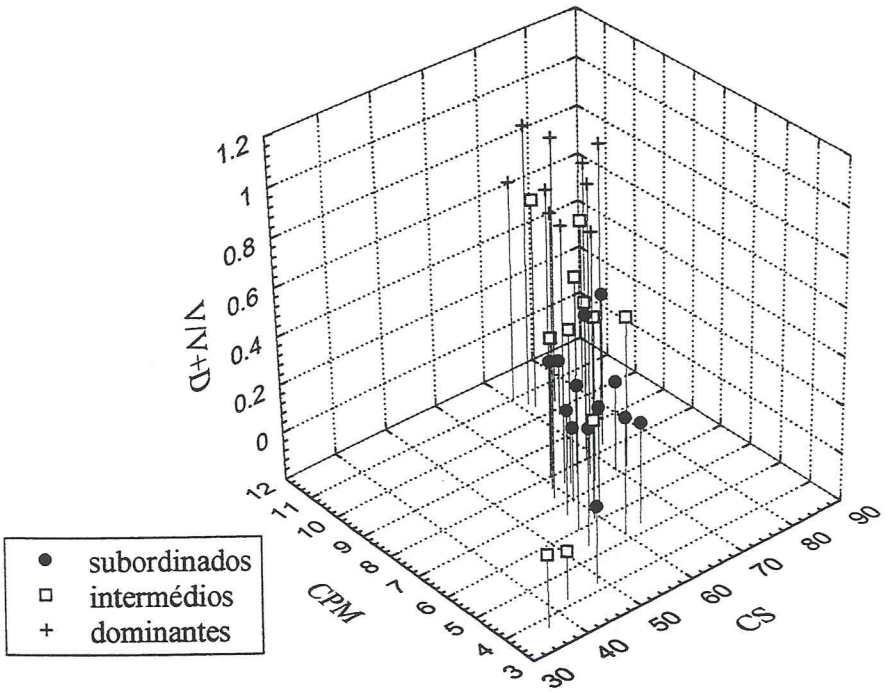


Figura 10.14. Variação do comprimento da pré-maxila (CPM) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

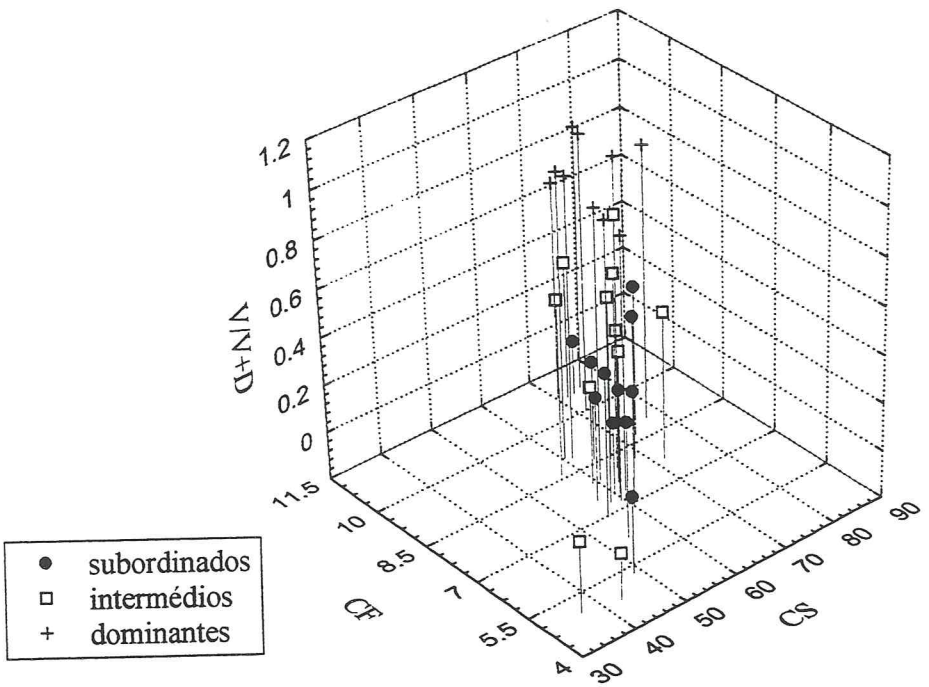


Figura 10.15. Variação do comprimento do focinho (CF) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

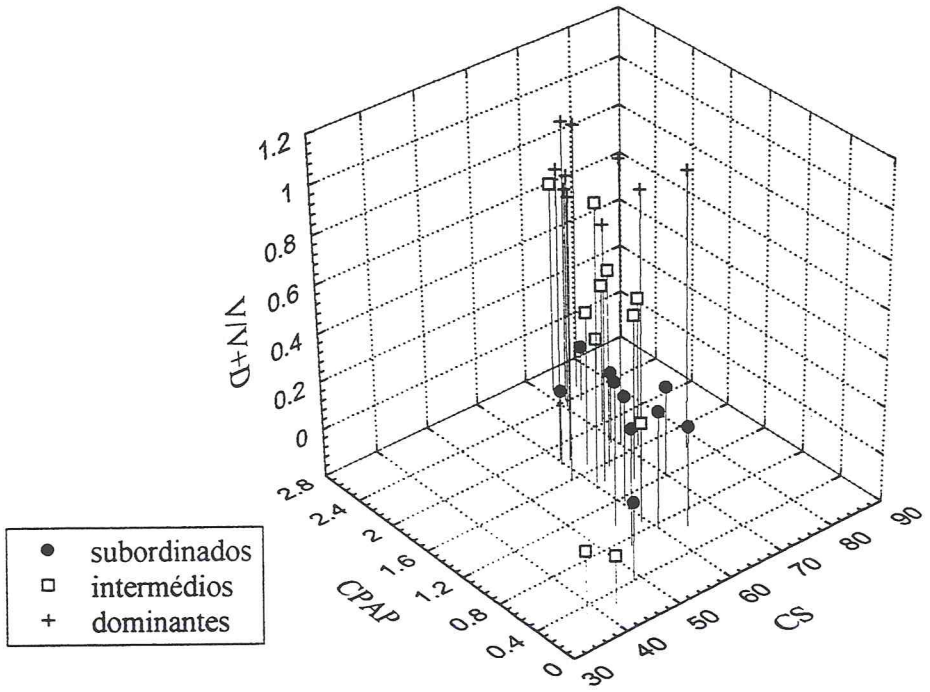


Figura 10.16. Variação do comprimento da papila genital (CPAP) com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (CS), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambas as variáveis morfométricas estão expressas em milímetros.

Os indivíduos de estatuto intermédio ocupam mais uma vez uma posição intermédia entre estas duas classes de dominância não diferindo significativamente de nenhuma delas. Deste modo, embora a dominância social não pareça afectar a maturação das gónadas, os indivíduos dominantes tendem a apresentar níveis mais elevados de androgénios (CPAP) (ver figura 10.16) e a possuírem testículos de maiores dimensões relativas, o que prediz uma melhor competência reprodutora.

(c) No que diz respeito às variáveis que estimam a condição física dos indivíduos não se observam variações significativas com o estatuto social (ver figura 10.18).

(d) O peso das placas faringicas e respectiva musculatura (aparelho sónico), utilizado pelos machos na produção de sons em contexto agonístico e sexual, é maior nos dominantes do que nos subordinados, ocupando mais uma vez os indivíduos de estatuto intermédio uma posição intermédia que não é significativamente diferente de nenhuma das outras duas classes de dominância social. Na figura 10.19 apresenta-se a variação do peso da musculatura sónica com o índice de dominância, controlando para efeitos de tamanho (CS) para indivíduos de diferentes classes de dominância.

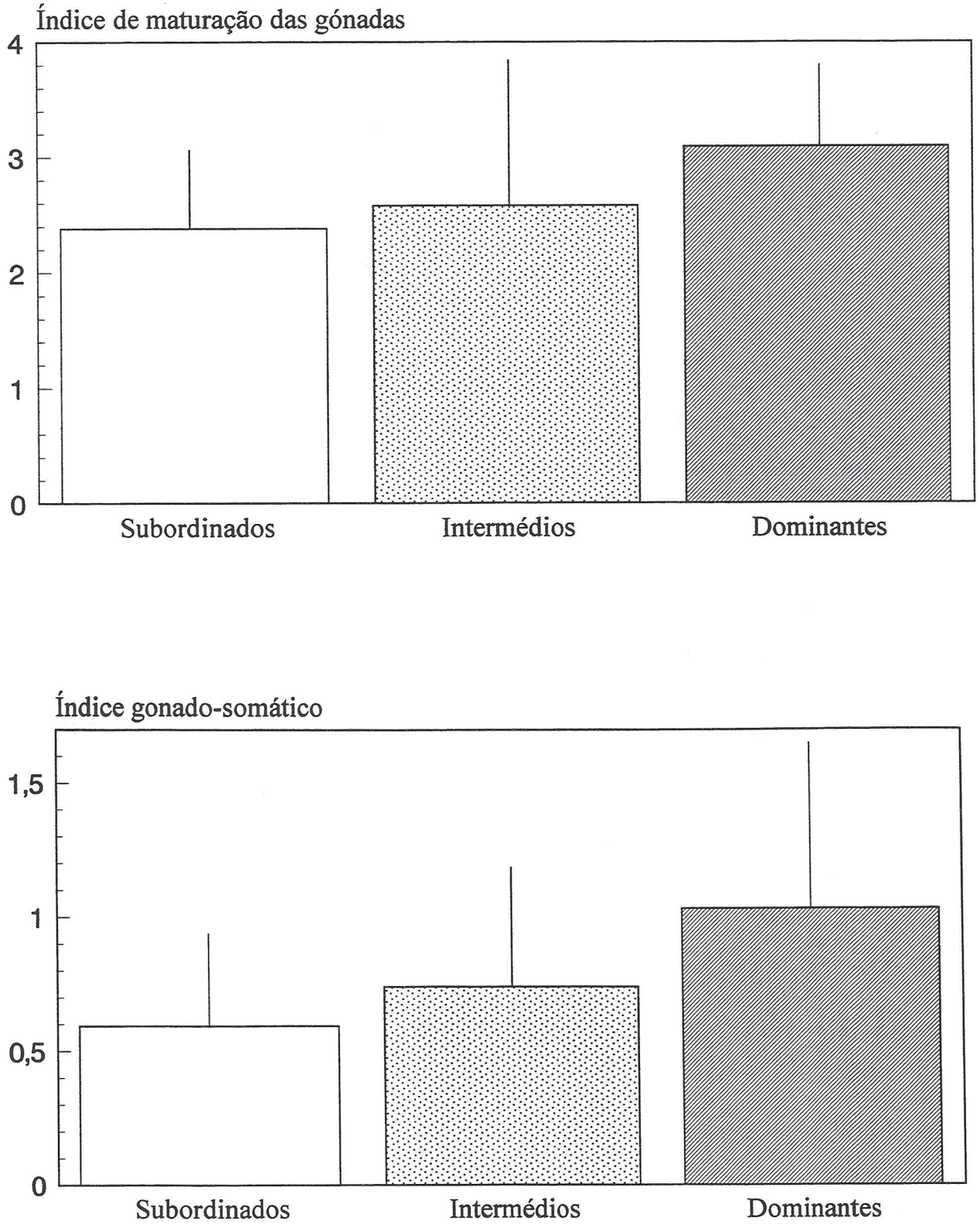
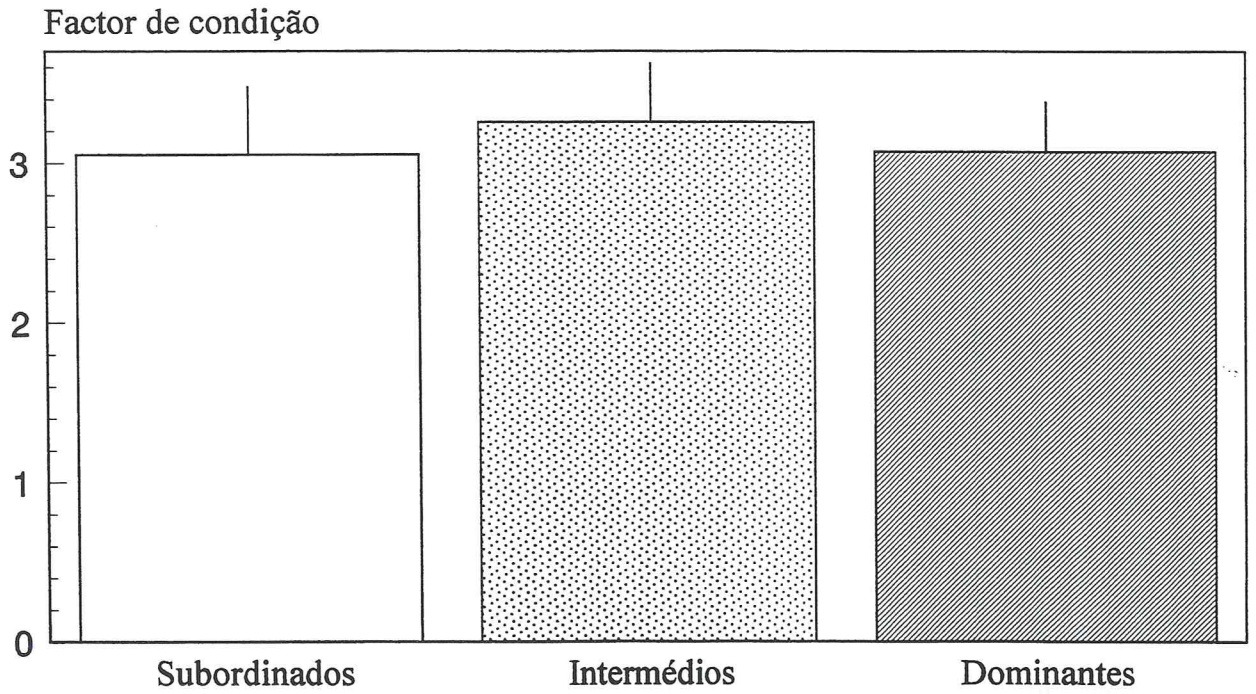


Figura 10.17. Comparação de indivíduos subordinados, intermédios e dominantes em relação a variáveis do eixo reprodutor: (a) índice de maturação das gónadas; (b) índice gonado- somático (%).



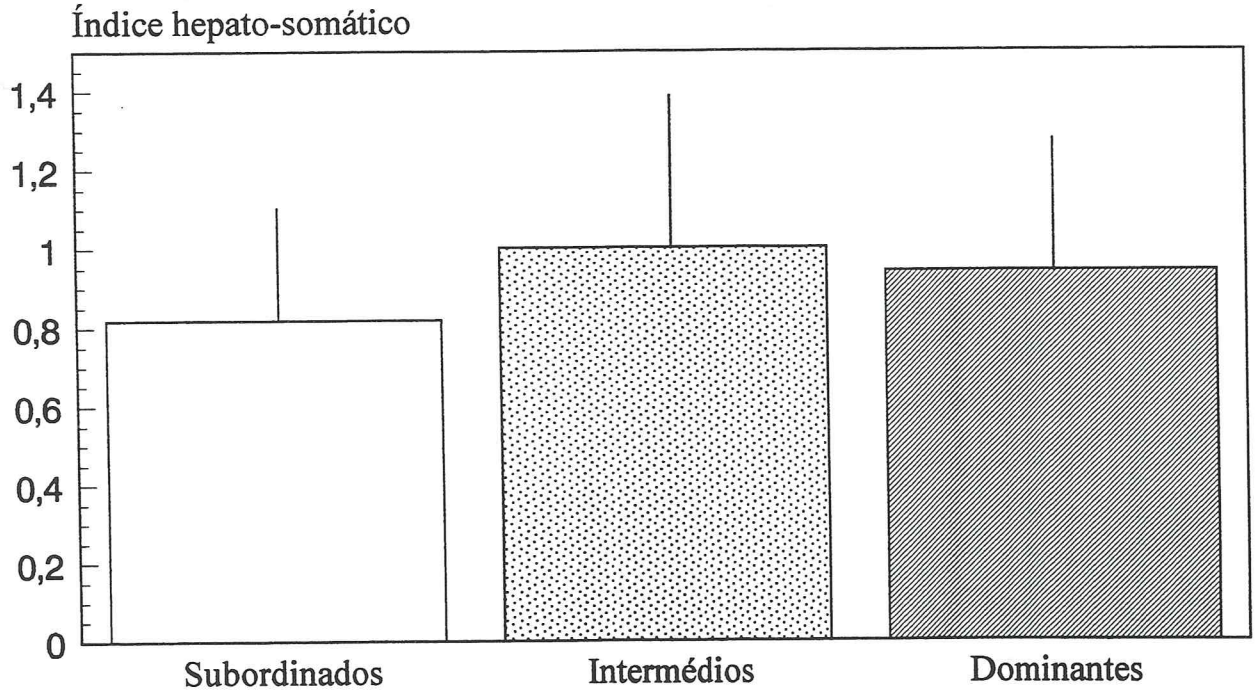


Figura 10.18. Comparação de indivíduos subordinados, intermédios e dominantes em relação a variáveis que expressão a condição física: (a) factor de condição (g/m); (b) índice hepato-somático (%).

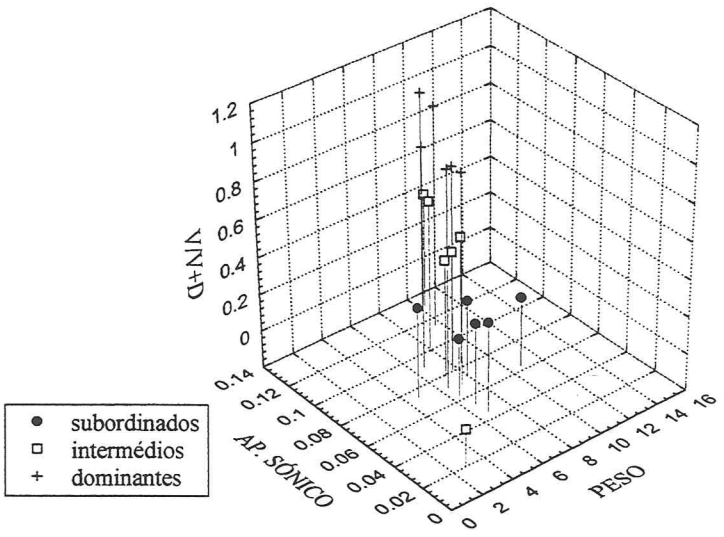


Figura 10.19. Variação do peso do aparelho sónico com o índice de dominância (V/V+D), controlando para o tamanho (peso), em machos subordinados, intermédios e dominantes. Ambos os pesos estão expressos em gramas.

Tabela 10.9. Comparação de vários parâmetros morfo-funcionais entre indivíduos de diferentes classes de estatuto social. No caso das variáveis morfométricas, são utilizados os resíduos da regressão entre cada uma delas e o CS para controlar para efeitos de alometria com o tamanho corporal. São apresentados: a dimensão da amostra (N), o valor da estatística de F (ANOVA unifactorial) e a probabilidade associada (p), e ainda as diferenças entre as três classes de dominância (D, I e S) para níveis de significância de 5% e de 10% (grupos homogéneos são notados com a mesma letra).

Parâmetro	Variável	N	$F_{2, n-3}$	p	D	I	S	α
Dimorfismo sexual	AD2	36	7.75	<0.01	a	a	b	5%
	AA2	36	3.62	<0.05	a	ab	b	5%
	EPM	36	2.31	NS	-	-	-	-
	EM	36	2.82	0.074	a	ab	b	10%
	CPM	36	4.49	<0.05	a	ab	b	5%
	CF	34	1.54	NS	-	-	-	-
Eixo reprodutor	CPAP	36	2.96	0.066	a	ab	b	10%
	IGS	46	3.21	0.050	a	ab	b	5%
	Maturação	36	3.63[A]	NS	-	-	-	-
Condição Física	K	46	1.63	NS	-	-	-	-
	IHS	46	1.17	NS	-	-	-	-
Aparelho sónico	Aparelho sónico	18	3.14	0.072	a	ab	b	10%

(A) Neste caso devido à violação dos prussopostos da ANOVA as classes de dominância foram comparadas com uma análise de variância não-paramétrica (H, Kruskal-Wallis).

10.3.2.2. Caracteres Sexuais Secundários e Acesso a Fêmeas

Na tabela 10.10. são apresentadas as correlações parciais entre vários traços morfológicos sexualmente dimórficos em *O. mossambicus* e o índice de dominância e algumas variáveis comportamentais que lhe estão associadas, controlando para efeitos do tamanho (CS).

Tabela 10.10. Correlações parciais entre as variáveis sexualmente dimórficas, o comprimento da papila, e o índice de dominância e outras variáveis comportamentais nos machos de *O. mossambicus*.

	Dominância V/V+D (n=36)	Tempo a defender território (n=18)	Volume do ninho	Cortes a fêmeas (n=18)	Tempo dispendido em comport. sexuais (n=18)
AD2	0.459**	0.737***	0.715**	0.621**	0.375
AA2	0.441**	0.670**	0.651**	0.641**	0.192
CBC	0.269	0.154	0.119	0.227	0.068
EPM	0.163	0.433	0.363	-0.029	-0.37
EM	0.213	0.425	0.368	0.007	0.061
CPM	0.328*	0.745***	0.659**	0.219	0.319
CF	0.178	0.654**	0.560*	0.339	0.222
CPAP	0.351*	0.825***	0.768***	0.453	0.582*

Uma inspecção da tabela 10.10 mostra que vários traços morfológicos analisados apresentam correlações positivas com a dominância e com um conjunto de variáveis comportamentais que lhe está associada. Destes traços o tamanho da papila genital (CPAP) e a altura das barbatanas dorsal (AD2) e anal (AA2) são os que apresentam um padrão mais consistente de correlações com as variáveis comportamentais. No que diz respeito às barbatanas ímpares é interessante verificar que a barbatana caudal (CBC) não apresenta o mesmo padrão de correlações das barbatanas dorsal e anal. É ainda de salientar que o CPM e o CF, variáveis morfométricas que expressam o tamanho da boca, apresentam as suas melhores correlações com o volume do ninho e com o tempo que os indivíduos defendem um território. Uma vez que nesta espécie o ninho é construído com a boca, um aparelho mandibular de maiores dimensões permite escavar um ninho maior num menor período de tempo. Por outro lado, o aparelho mandibular deve ser também importante em termos sociais na manutenção dos territórios, devido ao papel que as mandíbulas

desempenham no repertório agonístico dos machos desta espécie, nomeadamente nos combates de bocas, nas exibições frontais e nos combates pendulares ("vaivém", ver capítulo 6).

O padrão global de correlações indica que este conjunto de caracteres morfológicos podem desempenhar um papel como sinais sociais de estatuto social e capacidades reprodutivas, disponíveis para os outros machos e para as fêmeas respectivamente. Uma vez que estes caracteres morfológicos (*i.e.* altura das barbatanas dorsal e anal e aparelho mandibular) se apresentam muito correlacionados entre si (ver resultado da ACP na secção 10.3.1.1) é lícito supor que podem partilhar de um mesmo factor causal. Como é sabido para Teleósteos que os caracteres sexuais secundários são traços dependentes de androgénios, tentou-se averiguar até que ponto os níveis de androgénios poderiam desempenhar tal papel causal em *O. mossambicus*.

10.3.2.3. Androgénios e Competição Entre Machos

Existe uma correlação positiva entre os níveis de androgénios medidos pelo tamanho da papila genital (CPAP) e o índice de dominância (V/V+D) após controlar para o efeito do tamanho do corpo (CS) (correlação parcial: $r= 0.351$, $n=36$, $p<0.05$). Com o objectivo de se avaliar qual das duas variáveis correlacionadas é mais plausível de ser causal da outra, foram comparados os coeficientes de determinação (r^2) das equações de regressão quando o CPAP é tido como a variável independente e o V/V+D como variável dependente e vice-versa, controlando em ambos os casos para o CS. Uma vez que a percentagem de variância explicada na variável dependente é maior quando o CPAP é a variável dependente ($r^2=0.655$) do que na situação inversa ($r^2= 0.244$), é mais plausível admitir que seja o estatuto social a modular os níveis de androgénios do que o reverso. Este resultado está aliás de acordo com dados a serem apresentados no capítulo 11, em que se mostra que o estatuto social modela os níveis de 11-cetotestosterona e de testosterona presentes na urina. Assim, é colocada a hipótese de que a relação detectada entre a dominância social e a expressão de caracteres sexuais secundários em machos de *O. mossambicus* é mediada por androgénios. Para testar esta hipótese compararam-se os modelos de regressão seguintes:

$$\text{Dimorfismo sexual} = b1\ V/V+D + b2\ CPAP + b3\ CS + e \quad (1)$$

vs.

$$\text{Dimorfismo sexual} = b1\ V/V+D + b3\ CS + e$$

Se os efeitos forem mediados pelos androgénios é de prever que a inclusão do tamanho da papila genital no modelo (CPAP), aumente a determinação do modelo (*i.e.* o r^2 ajustado). Esta hipótese gera ainda uma segunda predição de que após a decomposição das correlações entre os caracteres sexuais secundários e o índice de dominância (V/V+D) nas três vias possíveis expressas no modelo de regressão (1) (*i.e.* efeito directo, efeito indirecto via CPAP e efeito espúrio devido ao tamanho CS) o efeito indirecto da dominância social na expressão dos caracteres sexuais secundários via tamanho da papila (CPAP) deverá ser maior do que o efeito directo. Uma inspecção da tabela 10.11 permite verificar que ambas as predições são confirmadas, sendo portanto de admitir a mediação androgénica da expressão das características sexuais secundárias em *O. mossambicus*.

Tabela 10.11. Comparação dos dois modelos de regressão linear para avaliar o papel dos androgénios na mediação do controlo social da expressão dos caracteres sexualmente dimórficos; ED, efeito directo da dominância em Y; EI, efeito indirecto da dominância em Y via androgénios (CPAP); S, correlação espúria da dominância com Y devido à covariação com o tamanho (CS); R^2 *Ajt*, coeficiente de determinação ajustado.

Y	$Y = b_1 DOM + b_2 CPAP + b_3 CS + e$					$Y = b_1 DOM + b_2 CS + e$
	r	ED	EI	S	$R^2 Ajt$	$R^2 Ajt$
AD2	0.52	0.14	0.16	0.22	0.869	0.835
AA2	0.50	0.11	0.16	0.23	0.901	0.865
CBC	0.45	0.12	0.10	0.23	0.691	0.685
EPM	0.40	-0.04	0.26	0.17	0.824	0.725
EM	0.42	0.05	0.14	0.22	0.741	0.719
CPM	0.48	0.03	0.33	0.12	0.897	0.736
CF	0.43	-0.02	0.24	0.18	0.821	0.745

Face a este resultado foi decidido aplicar o mesmo procedimento para testar a hipótese de que as relações entre a dominância social e a expressão de traços comportamentais envolvidos na reprodução seriam também mediadas por androgénios (ver tabela 10.12).

Tabela 10.12. Comparação dos dois modelos de regressão linear para avaliar o papel dos androgénios na expressão dos comportamentos reprodutores; ED, efeito directo da dominância em Y; EI, efeito indirecto da dominância em Y via androgénios (CPAP); S, correlação espúria da dominância com Y devido à covariação com o tamanho (CS); R^2 *Ajt*, coeficiente de determinação ajustado.

Y	$Y = b_1 DOM + b_2 CPAP + b_3 CS + e$					$Y = b_1 DOM + b_2 CS + e$
	r	ED	EI	S	$R^2 Ajt$	$R^2 Ajt$
Coloração escura	0.53	0.17	0.51	-0.16	0.598	0.387
Território (%)	0.64	0.35	0.62	-0.33	0.801	0.474
Nº de cortes	0.54	0.51	0.31	-0.28	0.282	0.222
Volume do ninho	0.69	0.43	0.56	-0.30	0.765	0.401
Cavar ninho	0.69	0.60	0.46	-0.37	0.636	0.197
Pairar no ninho	0.54	0.22	0.52	-0.20	0.566	0.375
Comp. agonístico	0.44	0.54	-0.25	0.15	0.097	0.140
Comp. sexual	0.42	0.15	0.48	-0.21	0.333	0.246

A partir da tabela 10.12 pode-se uma vez mais concluir que ambos os critérios são cumpridos na maioria dos casos. A inclusão do CPAP no modelo aumenta a sua determinação em todos os casos excepto para o tempo despendido em interacções agonísticas, e para as restantes variáveis o efeito indirecto via papila genital (CPAP) é maior do que o efeito directo excepto para o número de cortes e o tempo despendido a cavar o ninho (*i.e.* 5 em 7 variáveis).

Assim, a evidência disponível suporta um modelo causal em que o estatuto social vai modular os níveis de androgénios do indivíduo os quais por seu turno afectam quer a expressão dos caracteres sexuais secundários, quer os comportamentos agonísticos e sexuais envolvidos na reprodução.

10.4. DISCUSSÃO

10.4.1. Dimorfismo Sexual

Brzeski e Doyle (1988) num estudo sobre o dimorfismo sexual num híbrido de *O. mossambicus*×*O. urolepis hornorum* mostraram, baseando-se numa análise discriminante, que os melhores critérios para determinar o sexo dos indivíduos eram a espessura da pre-maxila e o comprimento do corpo até ao nível anterior do olho e até à inserção anterior da barbatana dorsal (distâncias A2 e A4 da morfometria de feixes "truss morphometrics", Strauss e Bookstein, 1982). Contrastando com este resultado, no presente capítulo mostrou-se que os caracteres relacionados com a altura do corpo não apresentam um padrão de crescimento sexualmente dimórfico, tendo sido extraídos num factor da ACP sexualmente isomórfico. Da mesma forma não aparecem representados no modelo reduzido da função discriminante para separação dos sexos. Esta contradição aparente pode ser facilmente explicada se se tiver em conta que a altura das barbatanas anal e dorsal e o comprimento do focinho, variáveis não utilizadas nas análises de morfometria de feixes (*i.e.* "truss morphometrics") e portanto ausentes do conjunto de caracteres do estudo de Brzeski e Doyle (1988), são fortemente dimórficas e duas delas encontram-se entre os três caracteres melhores discriminadores do sexo. Este dado está ainda de acordo com o resultado da estatística κ de concordância que mostra que as barbatanas médias são altamente eficazes para a descriminação dos sexos em indivíduos com mais de 50 mm.

A identificação de traços dimórficos que apresentam um crescimento alométrico diferencial em relação ao sexo pode vir a ser utilizada no futuro para avaliar o grau relativo de diferenciação de caracteres sexuais secundários em machos que atingem a maturidade sexual com tamanhos diferentes e/ou que diferem no estatuto social, como é o caso do presente trabalho.

Foi detectado um conjunto de caracteres cujo crescimento tende a acelerar nos machos. Estes caracteres caiem em dois complexos morfológicos: (a) estrutura da boca (EPM, EM, CPM e CF) e (b) altura das barbatanas médias (AA2 e AD2). Estes resultados estão de acordo com a descrição osteológica da cabeça de *O. mossambicus* levada a cabo por Chardon e Vandewalle (1971), que demonstraram que os machos possuem mandíbulas mais largas e mais robustas do que as fêmeas, e com o conhecimento geral dos aquariofilistas de que os machos de Ciclídeos possuem dorsais e anais pontiagudas (*e.g.* Axelrod, 1993), sendo mesmo conhecidos casos extremos do desenvolvimento destes caracteres nos machos em *Microgeophagus ramirezi* da América Central e em *Champsochromis caerulens* do lago Malawi (Axelrod, 1993).

Quanto ao significado adaptativo deste conjunto de caracteres, sugere-se que o padrão de crescimento dimórfico encontrado possa ser explicado por acção da selecção sexual. Em *O. mossambicus* a incubação bucal está restringida às fêmeas e, como foi demonstrado por Chardon e Vandewalle (1971), embora os machos possuam uma boca maior e mais forte, são as fêmeas que dispõe de uma cavidade bucal maior devido a um maior desenvolvimento dos ossos inter-opercular e pre-opercular. Assim, o maior desenvolvimento do complexo estrutural mandibular deve estar relacionado com aspectos específicos da biologia dos machos.

Como vimos, durante a época de reprodução, os machos de *O. mossambicus* agregam-se em arenas reprodutoras nas quais estabelecem e defendem territórios densamente agrupados centrados num ninho que é escavado com a boca (Bruton e Boltt, 1975). As fêmeas são atraídas pelos machos para estas covas (ninho) nas quais se dá a desova, após o que as fêmeas recolhem os ovos na sua cavidade bucal e abandonam os territórios dos machos. Os machos mantêm os seus territórios no interior das arenas através de interacções agonísticas frequentes nas quais a boca é utilizada de duas maneiras: (a) combate de bocas, um padrão comportamental em que os oponentes se agarram mutuamente pelas mandíbulas; (b) e a exibição frontal, na qual a boca amplamente aberta é uma característica proeminente (Baerends e Baerends van Roon, 1950). Adicionalmente a boca é utilizada pelos machos territoriais na construção e manutenção dos ninhos.

Estudos realizados na natureza para outras espécies de ciclídeos africanos revelaram a existência de uma correlação positiva entre as dimensões do ninho e o sucesso reprodutor (McKaye *et al.*, 1990). No presente estudo também foi detectada uma associação entre a dominância, o volume do ninho e o acesso a fêmeas.

Assim, uma boca maior e mais robusta pode ser seleccionada por duas vias: (a) por selecção intra-sexual devido ao seu papel nos comportamentos agonísticos; (b) por selecção inter-sexual, uma vez que uma boca mais forte e de maiores dimensões habilita os machos a uma escavação mais rápida de um ninho maior, o qual pode estar sujeito a escolha por parte das fêmeas. Pode no entanto ser argumentado que, uma vez que se trata de uma espécie oportunista que ocasionalmente se alimenta de pequenos animais (Trewavas, 1983), uma boca maior poderia ser favorecida pela selecção natural uma vez que facilitaria a captura de presas maiores. Esta hipótese não explica no entanto o aumento diferencial da boca observado entre os sexos. De facto, se o alargamento da boca tivesse sido seleccionado para uma maior eficácia na captura de presas, esta seria igualmente importante para as fêmeas, as quais são sujeitas a pesadas exigências nutricionais com vista à produção de ovos. Mais ainda, a literatura disponível indica que esta espécie se alimenta predominantemente de detritos e de plâncton (Bowen, 1982; Trewavas, 1983) e que a morfologia da boca, com placas

ósseas faringicas, limita a eficiência destes peixes no manuseamento de presas de grandes dimensões (Trewavas, 1983).

O complexo morfológico das barbatanas anal e dorsal pode também ter sido sujeito à acção da selecção intra-sexual, uma vez que outro comportamento agonístico do repertório desta espécie é a exibição lateral, na qual os machos maximizam a superfície exibida aos oponentes através da erecção completa das barbatanas dorsal e anal (Baerends e Baerends van Roon, 1950).

Assim, pressões selectivas similares com origem na selecção intra-sexual podem actuar simultaneamente na morfologia das barbatanas e da mandíbula, explicando assim a forte associação encontrada no crescimento destes traços dimórficos. A selecção inter-sexual pode reforçar a selecção intra-sexual destes caracteres, uma vez que, como já foi demonstrado para outros ciclídeos que se reproduzem em arenas, as fêmeas acasalam preferencialmente com machos cujos ninhos não são só maiores mas estão também localizados no centro da arena (McKaye, 1991; Rossiter, 1992) o que por sua vez implica a capacidade por parte dos machos de escavarem e defenderem ninhos nos locais preferidos pelas fêmeas.

Para além da diferenças inter-sexuais nos padrões de crescimento dos caracteres morfológicos acima mencionados, foi também detectada a existência de dimorfismo sexual no tamanho relativo do corpo, quando estimado quer pelo comprimento (CS) quer pelo peso. É de salientar que a amostra analisada provem de um mesmo stock de indivíduos criados nas mesmas condições e com idades semelhantes, pelo que o dimorfismo relativo observado não pode ser imputado a diferenças nas idades médias para os dois sexos, o que aliado a diferenças sexuais na idade com que os indivíduos atingem a maturidade sexual ou a diferentes taxas de crescimento poderia explicar este padrão.

Na maioria dos peixes, tal como para muitos outros animais, as fêmeas são maiores do que os machos (Andersson, 1994). Este facto era já do conhecimento de Darwin (1871), que aliás, no seu texto clássico em que giza os fundamentos da selecção sexual, o refere como sendo a regra para os peixes, não estando então ciente das inúmeras excepções a esta regra.

Com efeito existem vantagens adaptativas de uma maior dimensão corporal quer para machos quer para fêmeas.

Para os machos existem várias vantagens possíveis para um corpo grande:

(a) dominância na competição por fêmeas ou por outros recursos, quando a força é crucial;

(b) melhor desempenho em rivalidades de resistência ("endurance"), permitindo por exemplo que um macho mantenha um território durante um período maior de tempo;

(c) preferência das fêmeas por machos de maiores dimensões;

(d) maior sucesso na competição de esperma, assumindo que machos maiores produzem mais esperma (Andersson, 1994).

Para Teleósteos são inúmeros os exemplos que apoiam estes factores; em várias espécies foram detectadas vantagens do tamanho na competição entre machos (*e.g. Coralliozetus angelica*, Hastings 1988a; *Cottus gobio*, Bisazza e Marconato, 1988; *Glyphidodontops cyaneus*, Thresher e Moyer, 1983; *Padogobius martensi*, Bisazza *et al.*, 1989; *Thalassoma bifasciatum*, Warner *et al.*, 1975, Hoffman *et al.*, 1985, Warner, 1987; ver também Bisazza, 1993 para Poecilídeos), embora existam poucos trabalhos para quaisquer classe de animais que demonstre inequivocamente que a dominância conduz a uma maior produção de descendentes (ver Dewsbury, 1982 e Clutton-Brock, 1988), estando também descrita a preferência das fêmeas por machos de maiores dimensões como um critério na escolha de parceiro sexual (*e.g. Coralliozetus angelica*, Hastings, 1988a; *Acanthemblemaria crockeri*, Hastings, 1988b; *Cichlasoma nigrofasciatum*, Noonan, 1983, Keenleyside *et al.*, 1985; *Cottus bairdi*, Downhower e Brown, 1980, Brown, 1981, Downhower *et al.*, 1983; *Cottus gobio*, Bisazza e Marconato, 1988; *Forsterygion varium*, Thompson, 1986; *Gasterosteus aculeatus*, Rowland, 1989a, 1989b; *Malacoctenus macrops*, Petersen, 1988; *Oncorhynchus nerca*, Foote, 1988, 1989, Foote e Larkin, 1988; *Ophioblennius atlanticus*, Côte e Hunte, 1989; *Padogobius martensi*, Bisazza *et al.*, 1989; *Syngnathus typhle*, Berglund *et al.*, 1986; *Thalassoma bifasciatum*, Warner *et al.*, 1975; Hoffman *et al.*, 1985; Warner, 1987).

No caso das fêmeas as vantagens adaptativas de um corpo de grandes dimensões podem-se ficar a dever aos seguintes factores:

(a) aumento da fecundidade, o que se fica a dever por um lado ao aumento do espaço disponível para os ovos e por outro lado, e quando a reprodução se baseia em reservas energéticas acumuladas durante um longo período de tempo, ao facto de a capacidade de armazenar reservas energéticas aumentar mais rapidamente com o tamanho do que os seus custos energéticos (ver Millar e Hickling, 1990, 1992);

(b) fêmeas maiores fornecerem melhores cuidados parentais, ou seja o sucesso dos descendentes depender do tamanho da fêmea;

(c) preferência dos machos por fêmeas de maiores dimensões;

(d) dominância em competição por recursos (Andersson, 1994).

Destes factores o aumento da fecundidade com o tamanho e a preferência dos machos para se acasalarem com fêmeas de maiores dimensões são os mais bem documentados em Teleósteos (*e.g.* fecundidade: Perrone, 1978 e Loiselle, 1982 para referências adicionais; preferência masculina em espécies sem reversão dos papéis sexuais: *Cyprinodon macularis*, Loiselle, 1982; *Gasterosteus aculeatus*, Rowland, 1982, 1989a, Sargent *et al.*, 1986; *Oncorhynchus kisutch*, Sargent *et al.*, 1986; *Oncorhynchus nerka*, Foote, 1988, 1989, Foote e Larkin, 1988; *Ophioblennius atlanticus*, Côte e Hunte, 1989; *Etheostoma nigrum*, Grant e Colgan, 1983).

Quer para machos quer para fêmeas as vantagens adaptativas de um tamanho pequeno são:

(a) atingir a maturação sexual mais cedo com um menor intervalo entre gerações;

(b) uma reprodução mais rápida quando em condições favoráveis;

(c) e no caso das fêmeas um aproveitamento mais efectivo dos recursos na produção de descendentes (Andersson, 1994).

Assim, para se explicar as maiores dimensões dos machos temos que admitir uma de duas hipóteses: (a) o tamanho do corpo nos machos e nas fêmeas está sujeito a pressões selectivas opostas; nos machos está a ser/foi seleccionado um corpo grande e nas fêmeas está a ser/foi seleccionado um corpo pequeno; (b) em ambos os sexos o corpo grande confere vantagens adaptativas, mas as vantagens aumentam mais fortemente com o tamanho nos machos do que nas fêmeas.

Os dados disponíveis parecem sugerir que a segunda hipótese é a correcta.

Com efeito James e Bruton (1992) demonstraram que em ambientes desfavoráveis populações desta espécie adoptam uma estratégia de história vital altricial, com um menor tamanho na maturidade sexual, um aumento da fecundidade e ovos de menores dimensões. No entanto, não se observa uma resposta diferencial em relação aos sexos sendo em ambos os sexos selecionado um tamanho de corpo pequeno nestas condições.

Por outro lado, nos machos o corpo pode ser um bom preditor da dominância social a qual por sua vez determina quais os indivíduos bem sucedidos no estabelecimento e manutenção de territórios, o que por sua vez limita o acesso às fêmeas (ver capítulos 7 e 9).

Da mesma forma, em Tilápias a fecundidade está directamente relacionada com o tamanho do corpo (Lowe-McConnell, 1955; Trewavas, 1983) pelo que também para as fêmeas o tamanho apresenta vantagens adaptativas.

Deste modo parece que na presente situação ambos os sexos têm vantagens em fenótipos de grandes dimensões, devendo as vantagens ser maiores para os machos, que apresentam maiores dimensões do que as fêmeas nesta espécie. Uma situação semelhante a esta está descrita para o anfípode *Gammarus pulex* e para o caranguejo eremita *Clibanarius digueti*, nos quais o tamanho maior é favorecido nos machos pela selecção sexual e nas fêmeas pelo aumento da fecundidade (Ward, 1988; Harvey, 1990).

A diversidade de condições em que *O. mossambicus* pode ser encontrado presentemente quer no seu habitat natural quer em massas de água nas quais foi introduzido, com diferentes padrões de crescimento e diferentes densidades, fornecem uma boa base comparativa para testar as hipóteses acima expostas com populações naturais.

10.4.2. Correlatos morfo-funcionais do estatuto social

No presente estudo não foram detectadas diferenças significativas no estado de maturação sexual das gónadas em indivíduos de diferente estatuto social, embora se observem diferenças no que diz respeito ao índice gonado-somático e aos níveis de androgénios inferidos pelo comprimento da papila genital. Estes dados sugerem que em *O. mossambicus*, ao contrário do que acontece em *Xiphophorus* (Borowsky, 1973, 1978, 1987) não existe um fenómeno de inibição social da maturação sexual. Os indivíduos subordinados no entanto, apresentam índices gonado-somáticos e níveis de androgénios menores do que os indivíduos dominantes, pelo que do ponto de vista reprodutor apresentam uma menor eficácia. Com efeito, já no capítulo 9 se demonstrou que os machos dominantes monopolizam o acesso a fêmeas e apresentam uma maior expressão dos comportamentos reprodutores, quer sexuais quer agonísticos. Para além destas diferenças comportamentais, a menor eficácia reprodutora dos subordinados pode também ser vinculada por menores taxas de fertilidade se estas estiverem correlacionadas com o tamanho das gónadas (*i.e.* IGS). Neste sentido, Liley e Kroon (1995) demonstraram que os machos dominantes de *O. mykiss* têm uma maior produção de esperma do que os indivíduos subordinados.

Um outro resultado algo inesperado é a não existência de diferenças entre dominantes e subordinados na condição física, quer medida pelo factor de condição quer pelo índice hepato-somático. Turner (1986), ao estudar uma população cativa de *O. mossambicus*, chegou à conclusão que a longo prazo a dominância social apresenta custos energéticos que se traduzem por um menor crescimento dos indivíduos dominantes. Estes dados são ainda mais evidentes na natureza, onde os machos

territoriais de *O. mossambicus* nidificam em zonas de fraca qualidade alimentar, suprimindo a alimentação durante o período reprodutor, o que se traduz por uma condição deteriorada quando comparados com fêmeas ou com machos fora do período reprodutor (Bowen, 1984). O facto de no presente estudo não se observarem diferenças na condição física entre dominantes e subordinados pode ser explicado por dois factores:

(a) não existiam limitações alimentares durante o período da experiência, sendo os indivíduos alimentados diariamente. A este respeito é interessante verificar que do ponto de vista comportamental também não se detectaram diferenças no comportamento alimentar entre dominantes e subordinados (ver capítulo 9).

(b) Os custos energéticos da territorialidade nos indivíduos dominantes deveram ter tido um paralelo nos indivíduos subordinados em termos de stress. Embora no presente estudo não se tenha controlado nenhuma variável indicadora de stress, são vários os trabalhos que demonstram que os indivíduos subordinados se encontram em stress, com hiperactividade do tecido inter-renal (ver introdução 10.1. para referências). O facto deste facto não ter sido detectado no estudo de Turner (1986), acima citado, pode ter a ver com diferenças na constituição dos grupos experimentais entre os dois estudos. No presente estudo os grupos experimentais eram constituídos por 6 indivíduos cada, sendo aproximadamente metade deles machos; no estudo de Turner (1986) o grupo observado era constituído por 20 indivíduos, sendo 7 machos, 7 fêmeas e 6 juvenis. Assim, no grupo de Turner (1986) os machos subordinados têm melhores hipóteses de evitarem o confronto com os dominantes, podendo desse modo evitar situações de stress, enquanto que os indivíduos subordinados do presente estudo estiveram necessariamente sujeitos ao não puderem evitar a confrontação constante com os dominantes.

A ocorrência de diferenças no peso do aparelho sónico entre as diferentes classes de dominância é bastante interessante, e pode estar correlacionada com o papel das vocalizações de *O. mossambicus* no repertório agonístico dos machos desta espécie (ver capítulo 6). Com efeito, está descrita na literatura a produção de sons tipo tamborilar por machos de *O. mossambicus* durante interacções agonísticas e na defesa de territórios (Rodman, 1965; Marshall, 1971)(ver secção 6.1). É também interessante constatar que os indivíduos dominantes não só apresentam um aparelho sónico mais desenvolvido como também possuem uma boca maior, não sendo de desprezar o papel da cavidade bucal como caixa de ressonância na produção de sons com origem na faringe. Se este for o caso, o resultado é a produção de sons mais graves pelos indivíduos dominantes, o que aliás está descrito para um vasto conjunto de espécies com comunicação acústica (*e.g. Bufo bufo*, Davies e Halliday, 1978).

Os dados apresentados neste capítulo sugerem o modelo causal apresentado na figura 10.20.

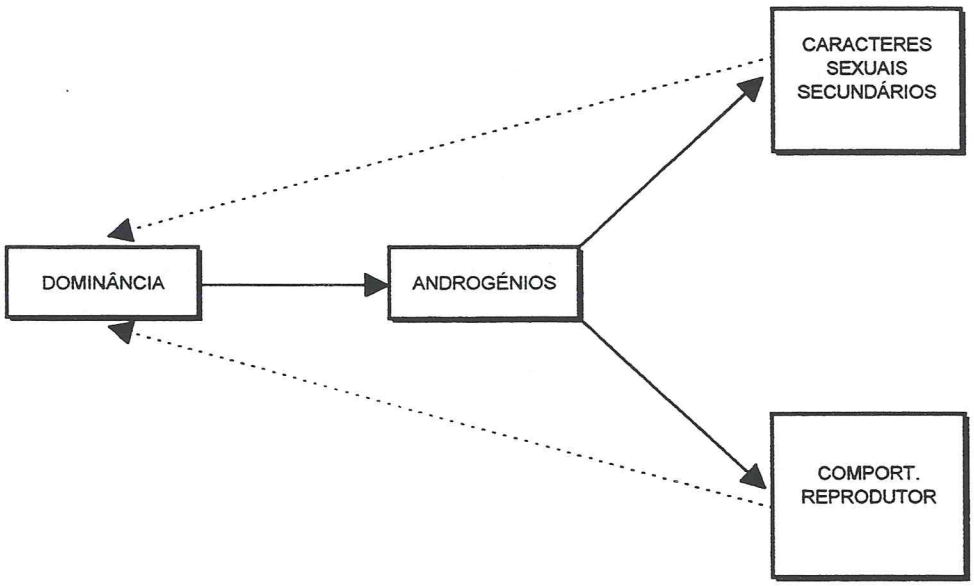


Figura 10.20. Modelo causal para a mediação dos androgénios no controlo social da expressão dos caracteres sexualmente dimórficos e do comportamento reprodutor em machos de *O. mossambicus*. As linhas a cheio representam relações validadas por modelos de regressão linear; as linhas a tracejado representam possíveis mecanismos de retroacção positiva sugeridos, mas não confirmados empiricamente.

O primeiro passo do modelo consiste na modulação dos níveis de androgénios pelo sucesso social do indivíduo nas interacções agonísticas. Os níveis de androgénios, expressos pelo tamanho da papila genital, estão correlacionados positivamente com o estatuto social dos machos, e os coeficientes de determinação, após controlar para os efeitos de tamanho, indicam que o estatuto social explica uma percentagem maior da variância dos níveis de androgénios do que o reverso. É também possível que os níveis de androgénios, por seu turno, afectem directamente o estatuto social dos indivíduos actuando sobre mecanismos motivacionais. A investigação desta relação de causa-efeito entre o estatuto social e os níveis de androgénios será um dos principais objectivos do próximo capítulo (ver capítulo 11).

O segundo passo do modelo sugere para os androgénios um papel como moduladores da expressão dos caracteres morfológicos sexualmente dimórficos e dos comportamentos reprodutores. Ambos os efeitos são suportados pelos dados apresentados.

Propõe-se assim que os androgénios desempenhem um importante papel causal na mediação entre factores sociais, neste caso o estatuto social, e a expressão de caracteres sexuais masculinos, quer morfológicos, quer comportamentais. Existe um vasto corpo de evidências que mostra que os níveis de androgénios são fortemente afectados por factores sociais incluindo o estatuto social (Teleósteos: *Xiphophorus helleri*, Hannes *et al.* 1984; Hannes 1986; *Sparisoma viride*, Cardwell e Liley 1991a; *Astatotilapia burtoni*, Francis *et al.* 1993; *Chromis dispilus*, Pankhurst e Barnett 1993; para outros Vertebrados: Répteis, Greenberg e Crews 1990; Aves, Harding e Follett 1979; Wingfield *et al.* 1987; Mamíferos, Eberhart *et al.* 1980; Sachser e Prove 1984; Creel *et al.* 1993). Por outro lado, a expressão de vários caracteres sexuais masculinos está sob controlo androgénico. No caso dos Teleósteos os androgénios foram implicados na diferenciação de vários caracteres sexuais secundários como por exemplo, os padrões de coloração nupciais (*e.g. A. burtoni*, Fernald 1976; Reinboth 1978; *Gasterosteus aculeatus*, Borg 1981, 1987; *Oncorhynchus nerka*, Idler *et al.* 1961; *Trichogaster trichopterus*, Johns e Liley 1970), o desenvolvimento das barbatanas ímpares (*Betta splendens*, Leitz 1987b; *T. trichopterus*, Johns e Liley 1970; *Xiphophorus helleri*, Baldwin e Goldin 1939), o desenvolvimento do gonopódio nos Poecilídeos (Turner 1942, 1947, 1960), o desenvolvimento dos músculos sónicos em espécies que produzem sons (*Opsanus tau*, Fine e Pennypacker 1986; *Porichthys notatus*, Brantley *et al.* 1993a), e os electrócitos nos orgãos eléctricos dos Mormirídeos e dos Gimnotídeos (Zakon 1993). Para a maior parte destes casos foi demonstrado que a 11-cetotestosterona é o androgénio mais potente nestes processos (Liley e Stacey 1983; Borg 1994). Brantley *et al.* (1993b) numa revisão da literatura sobre os correlatos endócrinos das tácticas alternativas em Teleósteos de diferentes linhagens filogenéticas, descobriu que os machos que cortejam e que expressam os caracteres sexuais masculinos possuem maiores níveis de 11-cetotestosterona do que o fenótipo masculino que não expressa os caracteres sexuais masculinos (*i.e.* "sneakers" ou satélites), mas não descobriu diferenças entre estes dois fenótipos de machos no que diz respeito aos níveis de testosterona. Mais uma vez os nossos dados apontam na mesma direcção, uma vez o tamanho da papila genital, que foi o indicador dos níveis de androgénios utilizado neste estudo, para além de ter boas correlações com os valores absolutos de testosterona e de 11-cetotestosterona na urina, apresenta a sua melhor correlação com o índice 11-cetotestosterona/ testosterona. Assim, a 11-

cetotestosterona parece ser o principal androgénio a desempenhar este papel de mediação da expressão dos caracteres sexuais masculinos.

A operação do modelo acima exposto apresenta 3 vantagens selectivas:

(a) Sinais honestos - os machos regulam a expressão dos caracteres sexuais secundários, quer morfológicos quer comportamentais, de acordo com as suas capacidades competitivas ["resource holding potential" (RHP), *sensu* Parker, 1974]. Num sistema no qual as interacções agonísticas entre machos são frequentes, os machos que exibam caracteres que não correspondem ao seu RHP podem incorrer em grandes custos provocando confrontos com outros machos que não estão aptos a vencer.

(b) Efeito de amplificação da dominância - os machos dominantes, ao sinalizarem o seu estatuto, quer morfologicamente quer comportamentalmente, podem reforçar o seu estatuto social por mecanismos de retroacção positiva (ver figura 10.20). Ou seja, um indivíduo dominante apresenta o caracter X que sinaliza o seu estatuto e lhe confere vantagens na competição entre machos, aumentando o seu sucesso social, o que vai reforçar por sua vez a expressão desse caracter, e assim sucessivamente.

(c) Compartimentalização dos efeitos deletérios - é interessante notar que das três barbatanas médias, apenas a dorsal e a anal respondem aos androgénios. O facto da barbatana caudal desempenhar um papel propulsivo crucial na natação desta espécie deve ter efeitos restritivos na resposta desta barbatana à selecção sexual. Este pode ser um exemplo de compartimentalização evolutiva (*sensu* Ketterson e Nolan, 1994) na resposta das barbatanas médias aos androgénios, de forma a separar os efeitos benéficos dos androgénios nas barbatanas anal e dorsal dos seus efeitos detrimentais na barbatana caudal. De facto, o tamanho da barbatana caudal deve ser um factor importante na "performance" natatória dos indivíduos, quer subordinados quer dominantes, em situações como a fuga a predadores, o que deverá ter inibido a sua resposta à selecção intra-sexual via androgénios.

11.
CORRELATOS ENDÓCRINOS DA DOMINÂNCIA SOCIAL

11.1. INTRODUÇÃO

De acordo com o modelo apresentado no capítulo anterior, os androgénios desempenham potencialmente um papel de relevo na expressão de caracteres morfológicos e comportamentais dependentes do estatuto social. Para tal, foi postulado que os níveis de androgénios são modulados pelo estatuto social do sujeito, e que, por seu turno, os níveis de androgénios circulantes vão activar a expressão dos comportamentos reprodutores e dos caracteres morfológicos masculinos. No presente capítulo pretende-se avaliar se a relação existente entre o estatuto social e os androgénios sustenta o modelo apresentado. Tentar-se-à também avaliar se os androgénios estão envolvidos na activação dos comportamentos reprodutores e, em caso afirmativo, se o mecanismo de acção é semelhante ao descrito para Aves e Mamíferos, *i.e.* via aromatização dos androgénios em estrogénios a nível neural.

As inter-relações entre os esteróides sexuais e o comportamento têm sido amplamente estudadas em Teleósteos, sobretudo do ponto de vista dos efeitos dos androgénios (testosterona e 11-cetotestosterona) no comportamento (ver capítulo 4 para uma revisão da literatura).

Os Ciclídeos são uma das famílias de Teleósteos para as quais existe um vasto conjunto de evidências sobre o papel dos androgénios no controlo do comportamento social, quer em termos de organização (Billy e Liley, 1985; Groothuis e Ros, 1993), quer em termos activacionais (Kramer *et al.*, 1969; Reinboth e Rixner, 1972; Wapler-Leong e Reinboth, 1974; Fernald, 1976). Em *Oreochromis mossambicus* e em outras espécies de Tilápia a administração exógena de androgénios num determinado período sensitivo durante a ontogenia pode mesmo induzir a reversão do sexo dos indivíduos (Clemens e Inslee, 1968; Hunter e Donaldson, 1983).

A castração e a administração de androgénios a peixes castrados e intactos têm sido as principais ferramentas utilizadas para estudar a influência dos esteróides no comportamento social. Foi demonstrado que os comportamentos agonísticos diminuem em indivíduos castrados e que a administração de androgénios restabelece estes comportamentos em castrados e aumenta-os em indivíduos intactos (Aronson *et al.*, 1960; Reinboth e Rixner, 1972; Wapler-Leong e Reinboth, 1974; Fernald, 1976; Francis *et al.*, 1992a).

As concentrações de androgénios podem também ser afectadas pelas interacções sociais entre conspecíficos, o que sugere uma interacção bidireccional

entre os androgénios e o comportamento (para uma discussão sobre este assunto ver capítulo 4). A título de exemplo, pode-se referir que numa população selvagem do Peixe-papagaio, *Sparisoma viride*, os machos territoriais têm concentrações mais elevadas de androgénios do que os machos não territoriais, e durante a fase de aquisição de territórios as concentrações de androgénios atingem valores superiores aos encontrados em machos com territórios já estabelecidos. Picos de androgénios são também induzidos nos machos territoriais através de intrusões territoriais experimentais, o que indica que as interacções agonísticas podem *per si* afectar o estado endócrino dos indivíduos (Cardwell e Liley, 1991a).

Também estão descritas na literatura alterações nas concentrações do progestogénio 17α, 20β-dihidroxi-4-pregneno-3-ona (17,20β-P) em machos de Truta Arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) induzidas socialmente (Liley *et al.*, 1986). Foi demonstrado o papel desta hormona na maturação do esperma (Miura *et al.*, 1992) e como feromona sexual feminina (Sorensen *et al.*, 1989; Liley *et al.*, 1991). No entanto, não foi ainda demonstrado para os progestogénios nenhum papel directo sobre o comportamento reprodutor masculino em Teleósteos.

Em Vertebrados superiores, o papel causal desempenhado pelos androgénios sobre o comportamento parece ser mediado pela sua conversão em estrogénios nos tecidos alvo, a qual é catalisada pelo complexo enzimático da aromatase (hipótese da aromatização). Um exemplo paradigmático da mediação estrogénica dos efeitos comportamentais dos androgénios é a activação do comportamento de cópula nos machos de Aves (para uma revisão ver Balthazart e Foidart, 1993). Esta mediação é sugerida pelos seguintes dados experimentais:

(a) os estrogénios *per si* são efectivos no restabelecimento do comportamento masculino em machos castrados (Adkins e Pniewski, 1978; Adkins *et al.*, 1980; Schumacher e Balthazart, 1983; Balthazart *et al.*, 1985);

(b) androgénios aromatizáveis (testosterona ou androstenediona) activam o comportamento de cópula nos machos, enquanto que os androgénios não aromatizáveis (*e.g.* 5α-di-hidro-testosterona) não têm efeitos ou os efeitos são de fraca intensidade (Adkins e Pniewski, 1978; Adkins *et al.*, 1980; Schumacher e Balthazart, 1983; Balthazart *et al.*, 1985);

(c) os inibidores da aromatase (*e.g.* ATD, R76713) inibem ou bloqueiam por completo os efeitos comportamentais da testosterona (Adkins *et al.*, 1980; Balthazart *et al.*, 1990a, 1990b);

(d) anti-estrogénios (*e.g.* tamoxifen, CI-628) bloqueiam os comportamentos masculinos induzidos pela testosterona (Adkins e Nock, 1976; Alexandre e Balthazart, 1986).

A função da aromatase pode residir no facto de ela se tornar o passo limitante que determina a ocorrência e a magnitude ou intensidade de uma resposta neural, ao regular *in situ* a quantidade de estrogénio disponível para se ligar aos receptores nucleares. Este mecanismo poderia explicar as variações inter-sexuais, sazonais e individuais nas respostas neurais aos níveis circulantes de androgénios (Callard *et al.*, 1990). É de realçar que a aromatase neural tem sido detectada em todas as espécies testadas, as quais abrangem todos os grupos de Vertebrados existentes, desde os Elasmobrânquios aos Mamíferos, o que lhe sugere uma função importante na reprodução dos Vertebrados e um valor adaptativo inegável.

Nos Teleósteos a actividade da aromatase neural atinge valores muito superiores aos encontrados nas estruturas homólogas das Aves e dos Mamíferos (*e.g.* Mamíferos: 1-5 fmol/ mg tecido/ h vs. Teleósteos: 50-200 fmol/ mg tecido/ h; Callard *et al.*, 1981a). A actividade da aromatase nos Teleósteos está correlacionada com o sexo e com o estado de maturação sexual dos indivíduos. Em espécies com reprodução sazonal, a actividade da aromatase atinge um pico durante a época de reprodução quando os níveis circulantes de esteróides sexuais são elevados, e fora da época de reprodução os indivíduos não-reprodutores apresentam níveis de esteróides sexuais e de actividade da aromatase baixos (*Gasterosteus aculeatus*, Borg *et al.*, 1987; *Carassius auratus*, Pasmanik e Callard, 1988a), verificando-se nesta altura uma actividade máxima do enzima 5α-reductase, o qual compete com a aromatase para a inactivação dos androgénios (Pasmanik e Callard, 1988a).

Nas espécies até agora estudadas as fêmeas apresentam regra geral níveis mais elevados de actividade da aromatase neural do que os machos (*Gasterosteus aculeatus*, Borg *et al.*, 1987; *Myoxocephalus octadecimspinsus*, Callard *et al.*, 1981; *Carassius auratus*, Pasmanik e Callard, 1985; *Opsanus tau*, Pasmanik e Callard, 1985), o que se poderá ficar a dever em algumas espécies ao facto de as fêmeas possuírem níveis de testosterona iguais ou superiores aos dos machos, não sendo contudo de excluir a hipótese de a maior actividade da aromatase neural nas fêmeas inibir a expressão dos comportamentos reprodutores masculinos. A avaliação desta hipótese, recorrendo a inibidores da aromatase e/ou a anti-estrogénios, não foi ainda levada a cabo em Teleósteos. No entanto, os dados disponíveis indicam que a 11-cetotestosterona, um androgénio não aromatizável típico dos Teleósteos, é mais efectiva do que a testosterona na activação do comportamento sexual masculino e na expressão dos caracteres sexuais secundários dos machos (ver capítulo 4), pelo que o papel activacional da aromatase sobre o comportamento social masculino dos Teleósteos não parece ser pelo menos tão importante como nas Aves e nos Mamíferos.

O principal objectivo do presente estudo é o de investigar até que ponto o estatuto social dos machos de *O. mossambicus* pode ser predito pelas concentrações *a*

priori de androgénios (testosterona e/ou 11-cetotestosterona), ou se pelo contrário é o desfecho das interacções sociais que vai modular as concentrações de androgénios. Com este objectivo foi realizado o estudo 3 cujo protocolo experimental se encontra descrito no capítulo 5. Adicionalmente, foi avaliado o possível envolvimento da 17α, 20α-dihidroxi-4-pregneno-3-ona (17,20α-P) e/ou da 17,20β-P no comportamento social, utilizando a mesma metodologia (estudo 3) que se utilizou para os androgénios.

Para se avaliar do envolvimento da aromatização neural dos androgénios na activação do comportamento social, foram doseados os níveis de actividade da aromatase em encéfalos de machos de diferente estatuto social (estudo 2 - grupos 5, 6 e 7). Paralelamente, procedeu-se à caracterização da actividade da aromatase neural em *O. mossambicus* no que respeita aos seguintes parâmetros: (a) existência de diferenças inter-sexuais; (b) variação da actividade com a maturação sexual; (c) localização neuroanatómica da actividade da aromatase.

11.2. MÉTODOS

11.2.1. Modulação Social dos Esteróides Sexuais

O estudo 3 descrita na secção 5.3. foi desenhada investigar a existência de relações entre os níveis de esteróides sexuais (*i.e.* testosterona, 11-cetotestosterona, 17,20β-P e 17,20α-P) e o estatuto social dos indivíduos. O facto de se dosearem os níveis de esteróides antes e depois da formação dos grupos sociais permite averiguar a relação de causalidade entre estas duas variáveis. Assim, um dos principais objectivos deste capítulo é o de se saber se os níveis de esteróides sexuais no início do estudo são bons preditores do estatuto social que o indivíduo virá a adquirir após a formação dos grupos; ou se, pelo contrário, é o estatuto social que os indivíduos adquirem após a formação dos grupos que determina os níveis de esteróides sexuais no final do estudo.

Outro objectivo deste estudo foi o de avaliar o efeito do estabelecimento de um território reprodutor nos níveis de esteróides sexuais. Para tal os indivíduos foram classificados em territoriais ou não territoriais, sendo um peixe classificado como territorial se ele próprio escavava um ninho no substrato que defendia activamente com sucesso nos dias subsequentes. Os indivíduos classificados como territoriais (n= 6: 1 do grupo 1, 1 do grupo 2, 3 do grupo 3 e 1 do grupo 4) possuíam todos eles a coloração negra descrita no capítulo 6.

Para se avaliar os efeitos do estatuto social e os níveis de esteróides sexuais nas diferentes fases do estudo, utilizou-se o coeficiente de correlação não-paramétrica de Spearman (r_S). Este mesmo coeficiente foi utilizado para avaliar as correlações existentes entre os níveis de esteróides sexuais e a expressão de diferentes variáveis do

comportamento reprodutor dos machos. Devido ao grande número de correlações calculadas utilizou-se um nível de significância de 1% para evitar a obtenção de correlações significativas devido ao acaso.

Utilizou-se uma análise de variância bifactorial para dados emparelhados (two-way repeated measures ANOVA) para comparar as concentrações dos diferentes esteróides em machos territoriais e não-territoriais ao longo das três fases do estudo. Para cumprir os pressupostos de normalidade e homogeneidade da variância duas das variáveis (T e 11-KT) foram transformadas nos seus logaritmos decimais. Os dois factores considerados na ANOVA foram: (a) territorialidade: territoriais vs. não-territoriais; (b) contexto social (fase do estudo): isolamento social vs. grupos de machos vs. grupos mistos. Para comparar as diferentes subamostras entre si (*e.g.* machos territoriais em isolamento vs. machos territoriais em grupos de machos vs. machos territoriais em grupos mistos) utilizou-se o procedimento das comparações planeadas (planned comparisons, Wiener *et al.*, 1991; ver secção 5.3).

As concentrações dos esteróides não-conjugados na urina são muito baixas, predominando as fracções de sulfatos e glucoronidos. No entanto estas fracções apresentam uma variabilidade muito elevada entre si e em relação às variáveis comportamentais. Optou-se assim por utilizar as concentrações totais (*i.e.* livres + sulfatos + glucoronidos) dos esteróides na urina.

A determinação dos esteróides na urina foi realizada sem o conhecimento prévio do estatuto social de cada indivíduo.

11.2.2. Actividade da Aromatase Neural

Com o objectivo de averiguar a existência de correlações entre a dominância social e actividade da aromatase no encéfalo, foi desenvolvido o ensaio radiométrico descrito na secção 5.2.6. Dada a inexistência de estudos prévios sobre a aromatização neural de androgénios em *O. mossambicus*, excepto para a pituitária (Callard *et al.*, 1988), foi necessário numa primeira fase caracterizar a actividade da aromatase neural nesta espécie. Para isso procuraram-se atingir os seguintes objectivos:

(a) validação do ensaio radiométrico - Utilizou-se uma fêmea em vitelogénese retirada de um tanque de manutenção. A fêmea foi anestesiada com quinaldina, após o que foi sacrificada por decapitação. Procedeu-se à remoção do encéfalo e à dissecção da cavidade abdominal para remoção dos ovários. As amostras de encéfalo foram homogeneizadas de acordo com o procedimento descrito no capítulo 5. Os ovários foram cortados em secções, as quais foram incubadas directamente sem se proceder a homogeneização dos tecidos. Para se avaliar a dinâmica temporal da actividade da

aromatase incubaram-se ambos os tecidos durante 20 horas tendo-se recolhido amostras nos seguintes tempos: 1/2 hora, 1 hora, 2 horas, 4 horas e 20 horas.

(b) localização neuroanatómica da actividade da aromatase - Utilizaram-se três machos adultos territoriais (*i.e.* com coloração escura e a defenderem activamente um ninho no substrato) retirados de tanques de manutenção do stock. Os indivíduos foram anestesiados com quinaldina, após o que foram decapitados. Após a remoção do encéfalo este foi dissecado, sobre uma placa refrigerada, nas suas principais regiões anatómicas: bolbos olfactivos, telencéfalo/ lobos ópticos, tálamo, cerebelo/ medula oblongata, hipotálamo, e pituitária. Juntaram-se as amostras de cada uma destas regiões dos três indivíduos, as quais foram homogenizadas e incubadas durante 2 horas de acordo com o procedimento descrito no capítulo 5.

(c) Diferenças inter-sexuais na actividade da aromatase neural e sua relação com a maturação das gónadas - Foram utilizados 10 machos e 8 fêmeas provenientes de três grupos de seis indivíduos cada (grupos 5, 6 e 7 do estudo 2). No final do estudo 3 estes indivíduos foram anestesiados com quinaldina e sacrificados por decapitação, tendo-se removido o mediatamente o encéfalo, o qual foi homogeneizado e incubado durante 2 horas de acordo com o procedimento descrito no capítulo 5. Os indivíduos foram também dissecados para remoção das gónadas as quais foram pesadas e às quais foi atribuído um valor de maturação segundo a escala apresentada em 5.2.4.

O estudo da variação da actividade da aromatase neural com o estatuto social foi também realizado com os machos dos grupos 5, 6 e 7 do estudo 2, para os quais se dispunha simultaneamente de dados comportamentais e da actividade do enzima.

11.3. RESULTADOS

11.3.1. Modulação Social dos Esteróides Sexuais nos Machos

11.3.1.1. Androgénios e Estatuto Social

Um dos principais objectivos do presente estudo era o de investigar a relação de causa-efeito entre o estatuto social e os níveis de androgénios. Isto é, serão as concentrações de androgénios antes da formação dos grupos um bom preditor do estatuto social alcançado pelos indivíduos após a formação dos grupos, ou será o estatuto social a modular as concentrações de androgénios apresentadas após a formação dos grupos?

Com vista a responder a esta questão, calcularam-se as correlações entre os níveis de ambos os androgénios em estudo (testosterona e 11-cetotestosterona) e os índices de dominância nas diferentes fases do estudo (tabela 11.1).

Da análise da tabela 11.1 pode-se verificar que, nem a concentração de testosterona, nem de 11-cetotestosterona, medidas imediatamente antes da formação dos grupos (final do isolamento), estão correlacionadas com os índices de dominância medidos entre o dia 1 e o dia 5. Por outro lado os índices de dominância medidos logo no primeiro dia após a formação dos grupos estão já correlacionados com as concentrações de ambos os androgénios medidas no dia 5.

Tabela 11.1. Coeficientes de correlação de Spearman (r_S) entre as variáveis comportamentais e as concentrações de esteróides na urina (N=16 excepto para os pares de variáveis que envolvem T_5, $11KT_5$, $17,20\alpha P_5$ ou $17,20\beta P_5$ em cujos casos N=13, e aqueles que envolvem T_7, $11KT_7$, $17,20\alpha P_7$ ou $17,20\beta P_7$ em cujos casos N=14). Os níveis de significância são: $p<0.01$ (**), e $p<0.001$ (***). $V/V+D_{1, 5, 7}$ são os índices de dominância respectivamente para os dias 0, 5 e 7 do estudo. Nº INTER é o número total de interacções nas quais cada indivíduo participou durante o período de grupos só de machos. CORTES é o número total de episódios de corte após a introdução das fêmeas ovuladas nos grupos experimentais. VOLUME DO NINHO foi o medido ao 5º dia do estudo. $T_{0,5,7}$, $11KT_{0,5,7}$, $17,20\alpha P_{0, 5, 7}$ e $17,20\beta P_{0, 5, 7}$ são as concentrações dos esteróides sexuais na urina respectivamente nos dias 0, 5 e 7 do protocolo experimental.

	V/V+D 1	V/V+D 5	V/V+D 7	Nº INTER.	CORTES	VOLUME DO NINHO
T0	0.23	0.003	-0.04	-0.17	-0.01	-0.13
T5	0.71**	0.80**	0.80**	0.47	0.79**	0.85***
T7	0.53	0.61	0.64	0.67**	0.60	0.75**
11KT0	0.18	0.27	0.19	-0.15	0.34	0.17
11KT5	0.7**	0.80**	0.83***	0.37	0.70**	0.91***
11KT7	0.49	0.55	0.53	0.39	0.62	0.68**
17,20αP0	0.13	0.09	0.02	0.09	0.15	-0.11
17,20αP5	0.81***	0.73**	0.71**	0.37	0.64	0.78**
17,20αP7	0.45	0.66**	0.70**	0.57	0.60	0.68**
17,20βP0	-0.23	-0.44	-0.42	-0.21	-0.41	-0.53
17,20βP5	0.69**	0.54	0.59	0.61	0.51	0.71**
17,20βP7	0.37	0.36	0.49	0.12	0.26	0.47

Os níveis de ambos os androgénios aparecem também correlacionados com a frequência de cortes e com o volume dos ninhos (ver tabela 11.1). No entanto, como estas variáveis comportamentais também estão correlacionadas com a dominância (ver capítulo 9), é possível que a relação detectada entre elas e as concentrações de androgénios se fique a dever a ambos os conjuntos de variáveis estarem correlacionados com a dominância social.

Uma vez que os indivíduos que estabeleceram territórios apresentavam também consistentemente os índices de dominância mais elevados do que os não-territoriais (ver capítulo 9), decidiu-se comparar as concentrações de androgénios destas duas categorias de machos nos diferentes contextos sociais.

Nas figuras 11.1 e 11.2 apresentam-se os valores das concentrações de testosterona e 11-cetotestosterona na urina de machos territoriais e não-territoriais ao longo das três fases do estudo.

A ANOVA detectou um efeito da territorialidade para ambos os androgénios e do contexto social para a testosterona (tabela 11.2 e 11.4).

No final do isolamento social os indivíduos que virão a ser territoriais e não-territoriais não diferem significativamente nem em relação à testosterona nem em relação à 11-cetotestosterona (tabelas 11.3 e 11.5).

Após a formação dos grupos só de machos, a concentração de testosterona na urina aumenta quer em territoriais quer em não-territoriais, verificando-se uma diferença significativa entre estes dois grupos de machos (figura 11.1 e tabela 11.3); a concentração de 11-cetotestosterona tem um grande incremento nos indivíduos territoriais e uma descida não-significativa em não territoriais, observando-se uma diferença significativa entre estes dois tipos de machos (figura 11.2 e tabela 11.5).

Após a introdução das fêmeas ovuladas nos grupos experimentais verifica-se um decréscimo das concentrações de ambos os androgénios nos indivíduos territoriais (tabelas 11.3 e 11.5), e uma aumento da 11-cetotestosterona acompanhado de um decréscimo da testosterona nos indivíduos não-territoriais (figuras 11.1 e 11.2). As diferenças entre indivíduos territoriais e não-territoriais nesta fase do estudo são significativas apenas para a testosterona (tabelas 11.3 e 11.5).

Tabela 11.2. Comparação das concentrações de testosterona na urina de machos territoriais e não-territoriais e das três fases do estudo (contexto social) através de uma ANOVA bifactorial para dados emparelhados. Os níveis de significância utilizados são: α=0.05 (*); α=0.01 (**); α=0.001 (***).

Efeito	gl efeito	MS efeito	gl erro	MS erro	F
Territorialidade	1	0.539	11	0.088	6.118*
Contexto social	2	1.121	22	0.130	8.622**
Interacção dos dois efeitos	2	0.124	22	0.130	0.958

Tabela 11.3. Comparações planeadas entre as subamostras para as concentrações de testosterona na urina; os números indicam o dia do estudo a que diz respeito a amostra (*e.g.* NT_7, machos não territoriais no dia 7). Os níveis de significância utilizados são de 5% (*), 1% (**), e 0.1 %(***).

Comparação	$F_{1\ 11}$	p
$Territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_0$	0.12	0.733
$Territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	10.81	0.007**
$Territoriais_7$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	13.47	0.004**
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_5$	7.03	0.022*
$Territoriais_5$ vs. $Territoriais_7$	7.07	0.022*
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_7$	1.79	0.207
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	7.23	0.021*
$Não\text{-}territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	46.25	<0.001***
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	0.0001	0.991

Tabela 11.4. Comparação das concentrações de 11-cetotestosterona na urina de machos territoriais e não-territoriais e das três fases do estudo (contexto social) através de uma ANOVA bifactorial para dados emparelhados. Os níveis de significância utilizados são: α=0.05 (*); α=0.01 (**); α=0.001 (***).

Efeito	gl efeito	MS efeito	gl erro	MS erro	F
Territorialidade	1	2.677	11	0.191	13.986**
Contexto social	2	0.323	22	0.104	3.089
Interacção dos dois efeitos	2	0.573	22	0.104	5.472*

Tabela 11.5. Comparações planeadas entre as subamostras para as concentrações de 11-cetotestosterona na urina; os números indicam o dia do estudo a que diz respeito a amostra (*e.g.* NT_7, machos não territoriais no dia 7). Os níveis de significância utilizados são de 5% (*), 1% (**), e 0.1 %(***).

Comparação	$F_{1\ 11}$	p
$Territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_0$	0.47	0.507
$Territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	62.37	<0.001***
$Territoriais_7$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	3.47	0.089
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_5$	17.30	0.002**
$Territoriais_5$ vs. $Territoriais_7$	2.19	0.166
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_7$	3.72	0.080
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	0.93	0.355
$Não\text{-}territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	3.16	0.103
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	0.56	0.469

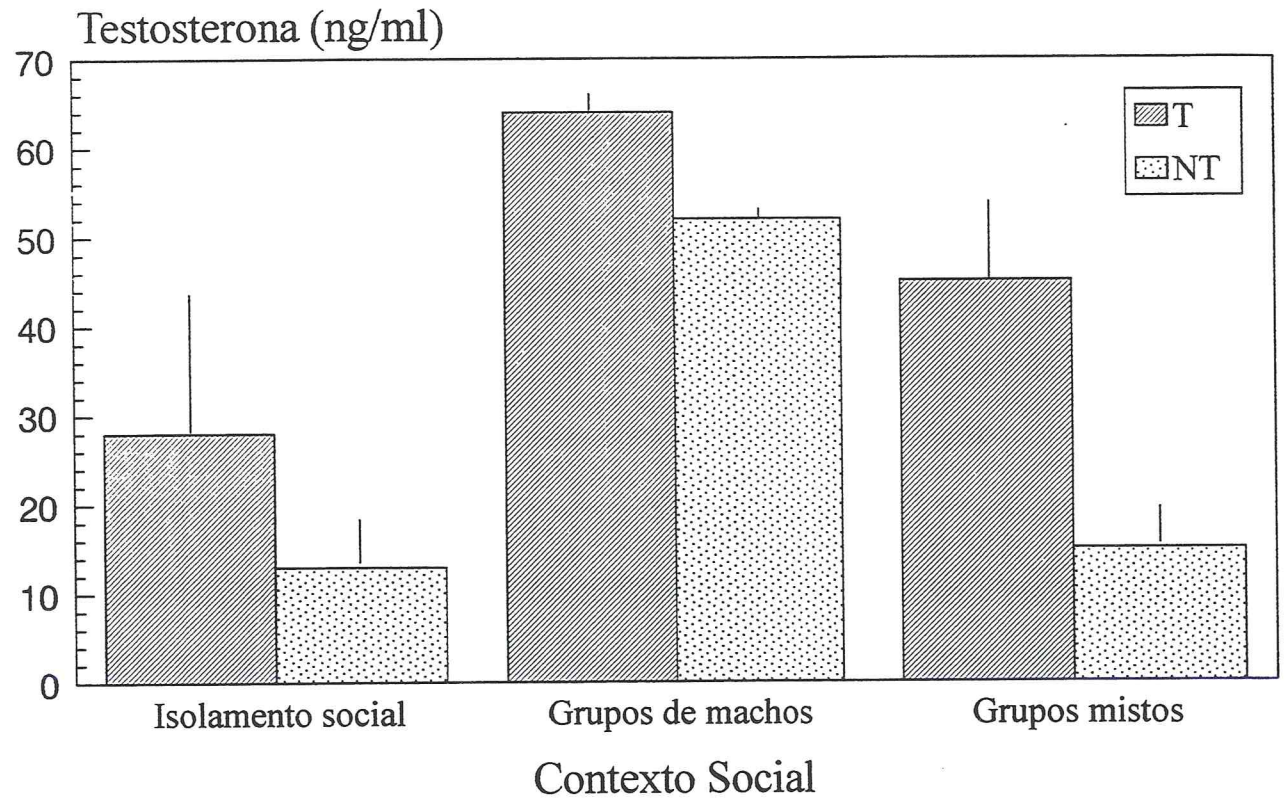


Figura 11.1. Diferenças nas concentrações de testosterona na urina (média ± dp) entre indivíduos territoriais (T) e não territoriais (NT) ao longo das três fases do estudo.

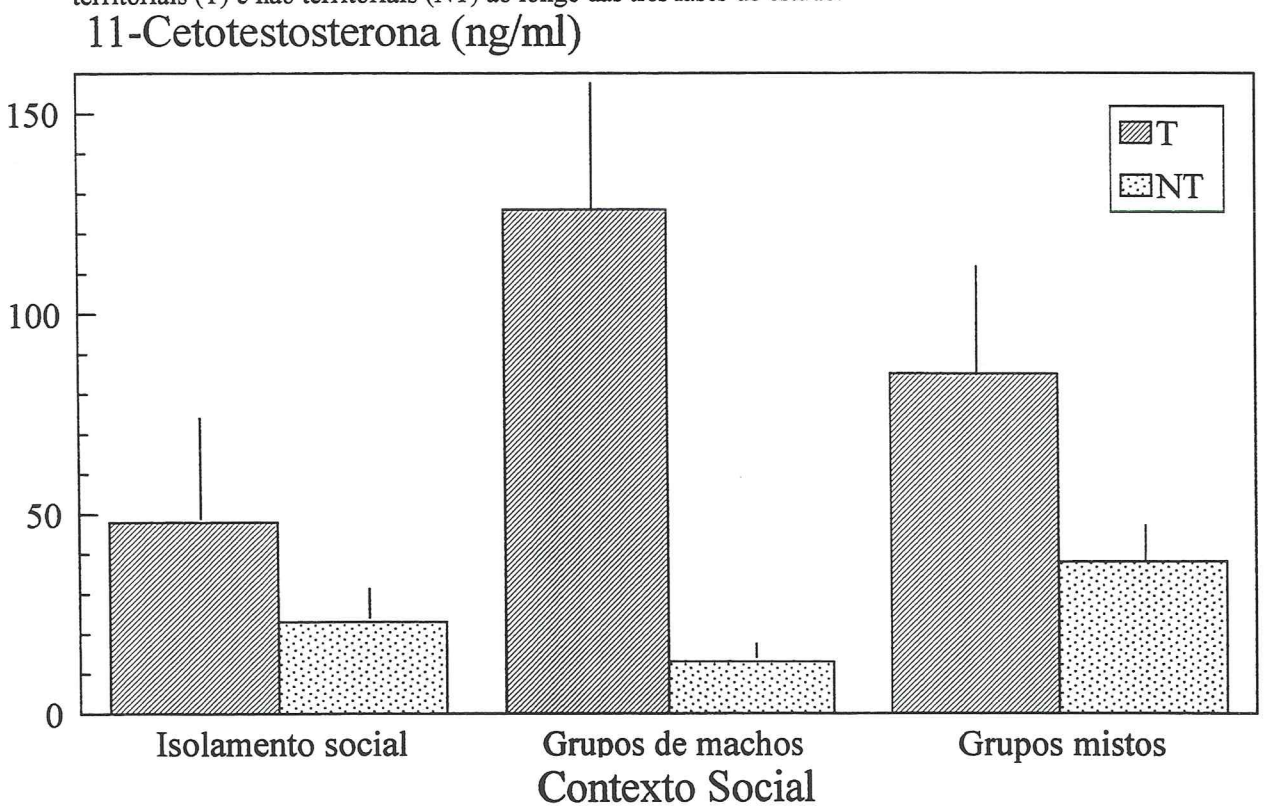


Figura 11.2. Diferenças nas concentrações de 11-cetotestosterona na urina (média ± dp) entre indivíduos territoriais (T) e não territoriais (NT) ao longo das três fases do estudo.

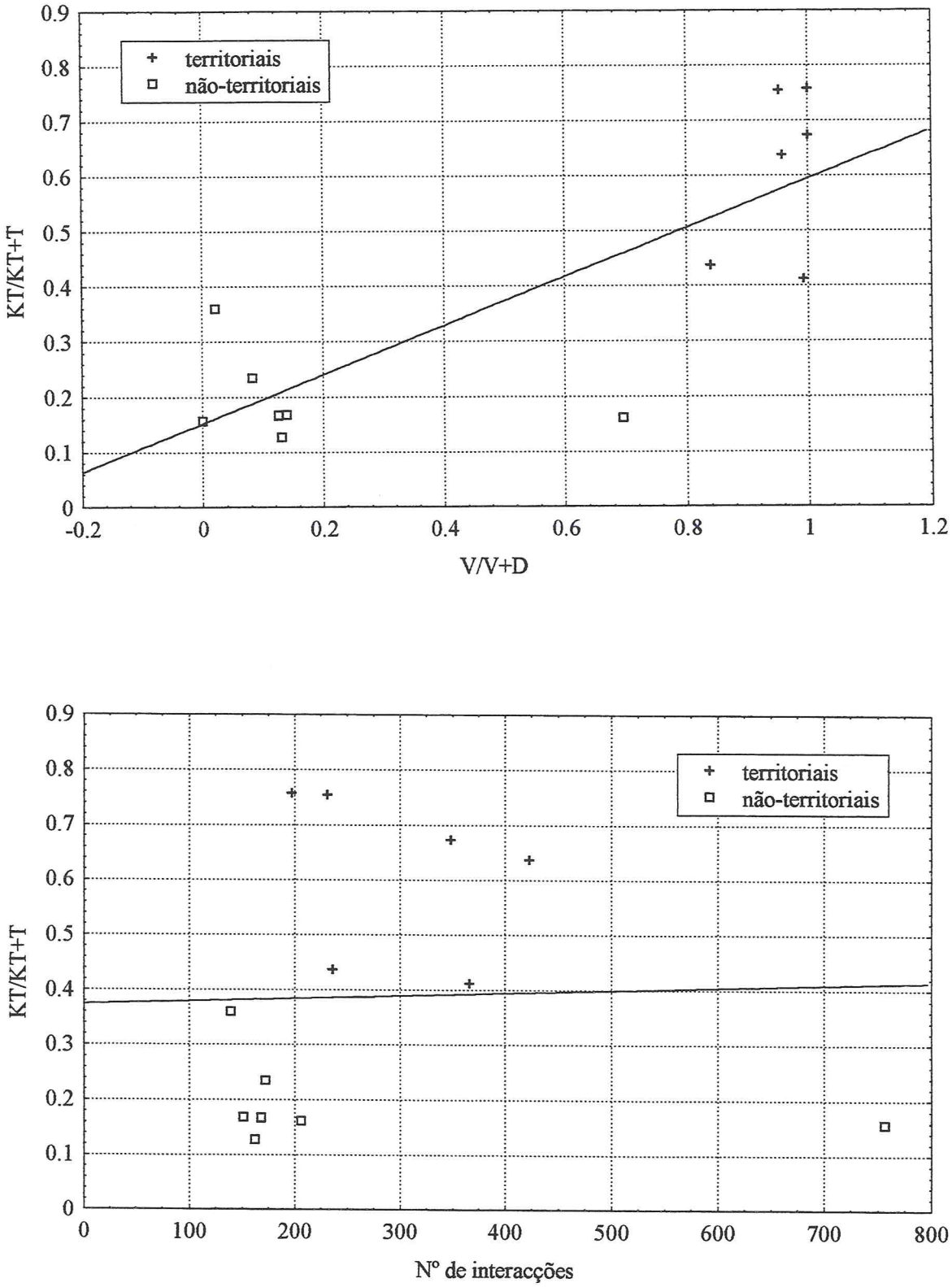


Figura 11.3. Influência do ambiente social na taxa de conversão de testosterona em 11-cetotestosterona, expressa pelo índice KT/KT+T: (a) variação de KT/KT+T com o índice de dominância (V/V+D); (b) variação de KT/KT+T com o número de interacções agonísticas em que o indivíduo participou.

Encontrando-se a testosterona na via biosintética da 11-cetotestosterona decidiu-se averiguar a existência de uma relação entre a concentração relativa destes dois androgénios e o estatuto social. É interessante verificar que nos grupos só de machos o índice de dominância apresenta uma correlação positiva elevada com a quantidade relativa de 11-cetotestosterona (expresso como KT/KT+T) (n= 13, r_S = 0.76, p<0.01)(ver figura 11.3). Este resultado sugere que um estatuto social elevado pode promover a conversão de testosterona em 11-cetotestosterona, o que aliás foi já demonstrado para outra espécie de Teleósteo (*Betta splendens*, Leitz, 1987b). Os indivíduos territoriais apresentam taxas de conversão de testosterona em 11-cetotestosterona, medidas pelo índice KT/KT+T, mais elevadas do que os não territoriais (teste de Mann-Whitney: U= 0, z= -3, p= 0.003; ver figura 11.3), apresentando uma quantidade relativa de 11-cetotestosterona nunca inferior a 40%, enquanto que os valores de KT/KT+T dos indivíduos não-territoriais são sempre inferiores a 40% (ver figura 11.3). Uma inspecção da figura 11.3 sugere ainda que os indivíduos territoriais e não-territoriais possuem diferentes tendências de variação da taxa de metabolização da testosterona em 11-cetotestosterona com o índice de dominância. Nos não-territoriais parece existir uma variação inversa da quantidade relativa de 11-cetotestosterona e da dominância social, enquanto que nos indivíduos territoriais a quantidade relativa de 11-cetotestosterona aumenta directamente com a dominância social O tamanho reduzido da amostra (7 e 6 indivíduos respectivamente) não nos permite no entanto testar esta hipótese com os dados disponíveis.

A variação da quantidade relativa de 11-cetotestosterona com o número de interacções em que o indivíduo participa não apresenta nenhum padrão consistente (n= 13, r_S = 0.27, p> 0.10) (ver figura 11.3).

11.3.1.2. Progestogénios e Estatuto Social

Nas figuras 11.4 e 11.5 apresentam-se os valores das concentrações de 17,20α-P e 17,20β-P na urina de machos territoriais e não-territoriais ao longo das três fases do estudo e nas tabelas 11.6 e 11.8 apresentam-se os resultados das ANOVA para avaliar o efeito da territorialidade e do contexto social nos níveis dos progestogénios.

No final do período de isolamento social não foram detectadas diferenças entre os indivíduos territoriais e não-territoriais nem em relação à 17,20α-P nem em relação à 17,20β-P (ver tabelas 11.7 e 11.9). Quando se formam os grupos só de machos as concentrações de progestogénios aumentam nos territoriais e decrescem nos não territoriais (figuras 11.4. e 11.5). No entanto, devido ao elevado grau de variabilidade apenas o decréscimo na 17,20β-P é estatisticamente significativo (p<0.05)(ver tabelas 11.7 e 11.9). Quando se adicionam as fêmeas aos grupos as concentrações urinárias de

ambos os progestogénios aumentam ligeiramente nos não-territoriais (figuras 11.4. e 11.5), e nos territoriais observa-se um aumento significativo nas concentrações de 17,20α-P (ver tabela 11.7) e pouca mudança nos níveis da 17,20β-P (ver tabela 11.9). Tal como no caso dos androgénios, as concentrações de ambos os progestogénios medidas no final do período de isolamento social não estão correlacionadas com os índices de dominância após a formação dos grupos (ver tabela 10.1). O índice de dominância calculado 1 dia após a formação dos grupos só de machos está altamente correlacionado com as concentrações de ambos os progestogénios no dia 5 do estudo (tabela 10.1). As concentrações de 17,20α-P e de 17,20β-P estão também correlacionadas com o volume dos ninhos (tabela 10.1).

Tabela 11.6. Comparação das concentrações de 17,20α-P na urina de machos territoriais e não-territoriais e das três fases do estudo (contexto social) através de uma ANOVA bifactorial para dados emparelhados. Os níveis de significância utilizados são: α=0.05 (*); α=0.01 (**); α=0.001 (***).

Efeito	gl efeito	MS efeito	gl erro	MS erro	F
Territorialidade	1	46249	11	4514	10.244**
Contexto social	2	30224	22	4338	6.966**
Interacção dos dois efeitos	2	15128	22	4338	3.486*

Tabela 11.7. Comparações planeadas entre as subamostras para as concentrações de 17,20α-P na urina; os números indicam o dia do estudo a que diz respeito a amostra (*e.g.* NT_7, machos não territoriais no dia 7). Os níveis de significância utilizados são de 5% (*), 1% (**), e 0.1 %(***).

Comparação	$F_{1\ 11}$	p
$Territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_0$	0.04	0.839
$Territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	8.38	0.014*
$Territoriais_7$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	6.54	0.027*
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_5$	1.18	0.301
$Territoriais_5$ vs. $Territoriais_7$	10.06	0.009**
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_7$	9.79	0.009**
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	2.55	0.138
$Não\text{-}territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	1.55	0.239
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	0.09	0.767

Tabela 11.8. Comparação das concentrações de 17,20β-P na urina de machos territoriais e não-territoriais e das três fases do estudo (contexto social) através de uma ANOVA bifactorial para dados emparelhados. Os níveis de significância utilizados são: α=0.05 (*); α=0.01 (**); α=0.001 (***).

Efeito	gl efeito	MS efeito	gl erro	MS erro	F
Territorialidade	1	5438	11	3136	1.734
Contexto social	2	3985	22	3228	1.234
Interacção dos dois efeitos	2	17863	22	3228	5.533*

Tabela 11.9. Comparações planeadas entre as subamostras para as concentrações de 17,20β-P na urina; os números indicam o dia do estudo a que diz respeito a amostra (*e.g.* NT_7, machos não territoriais no dia 7). Os níveis de significância utilizados são de 5% (*), 1% (**), e 0.1 %(***).

Comparação	$F_{1\ 11}$	p
$Territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_0$	1.99	0.185
$Territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	7.46	0.019*
$Territoriais_7$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	2.64	0.132
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_5$	1.35	0.269
$Territoriais_5$ vs. $Territoriais_7$	1.45	0.253
$Territoriais_0$ vs. $Territoriais_7$	0.12	0.740
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_5$	7.84	0.017*
$Não\text{-}territoriais_5$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	1.04	0.330
$Não\text{-}territoriais_0$ vs. $Não\text{-}territoriais_7$	8.54	0.014*

11.3.1.3. Correlação entre os Padrões de Variação dos Esteróides

Para avaliar até que ponto as concentrações dos diferentes esteróides (*i.e.* testosterona, 11-cetotestosterona, 17,20α-P, e 17,20β-P) poderiam reflectir padrões comuns de variação foram calculadas as correlações entre eles. No final do período de isolamento as correlações entre todos os esteróides não eram significativas excepto para a correlação entre a testosterona e a 17,20α-P (r_S= 0.625, n= 15, $p<0.05$). No entanto após a formação dos grupos de machos (dia 5) as concentrações dos 4

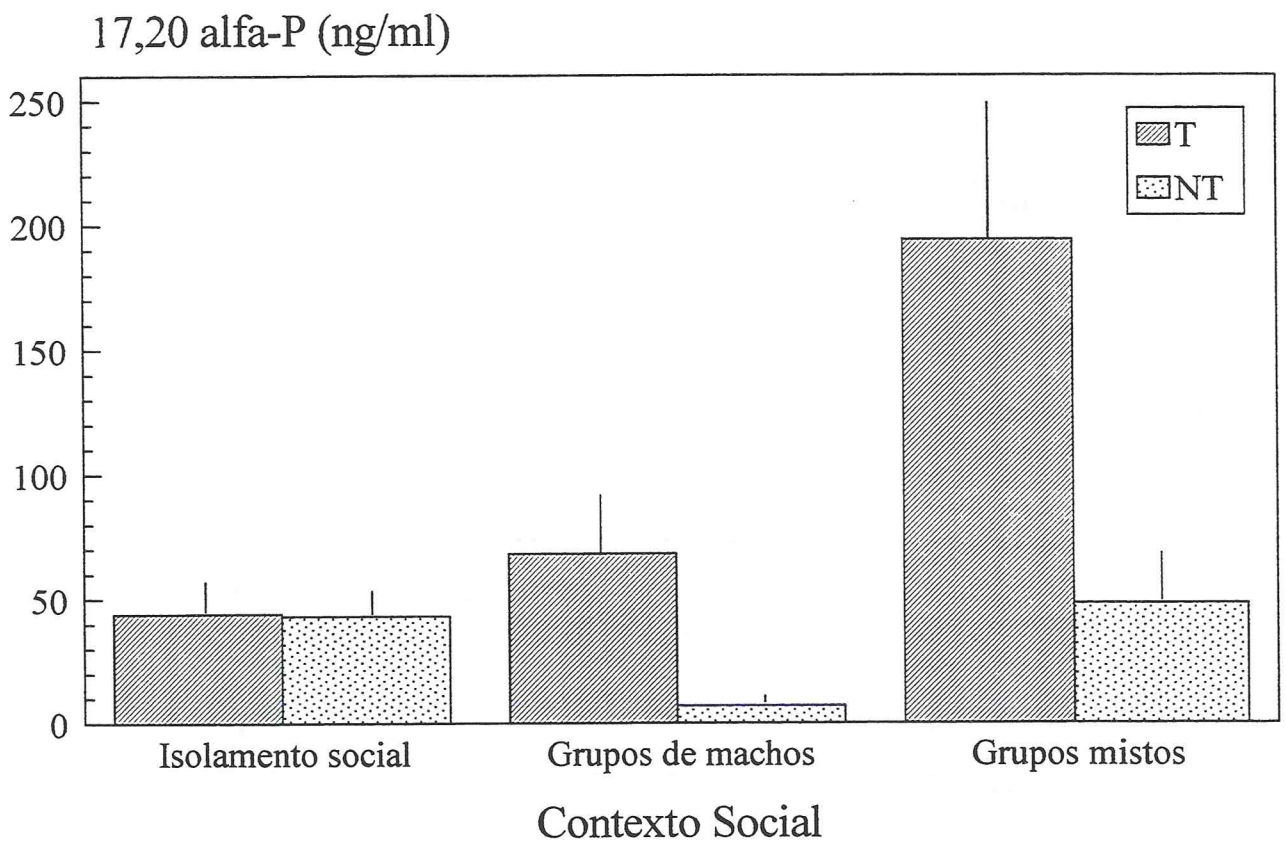


Figura 11.4. Diferenças nas concentrações de 17,20α-P na urina (média ± dp) entre indivíduos territoriais (T) e não territoriais (NT) ao longo das três fases do estudo.

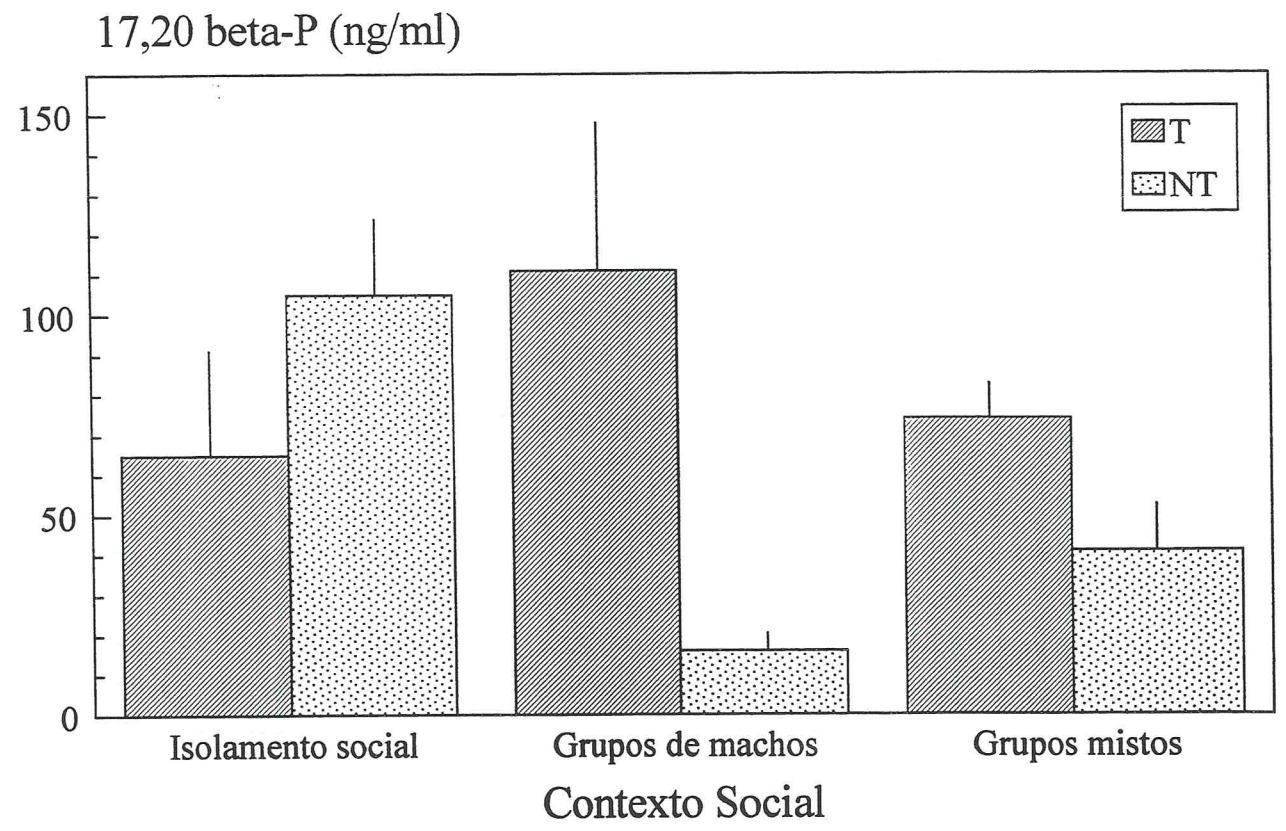


Figura 11.5. Diferenças nas concentrações de 17,20β-P na urina (média ± dp) entre indivíduos territoriais (T) e não territoriais (NT) ao longo das três fases do estudo.

esteróides passam a apresentar-se altamente correlacionadas entre si (ver tabela 11.10), o que sugere um efeito de sincronização da resposta endócrina aos estímulos sociais.

Tabela 11.10. Matriz de correlações não-paramétricas (Spearman) para as concentrações de esteróides na urina no dia 5 do estudo. Todas as correlações são significativas com $\alpha = 0.01$ e com n=13.

	17,20α-P	17,20β-P	T	11KT
17,20α-P	-	0.831	0.803	0.867
17,20β-P		-	0.786	0.808
T			-	0.846

11.3.2. Aromatização Neural dos Androgénios

11.3.2.1. Validação do Ensaio Radiométrico

Os resultados da experiência de validação do ensaio radiométrico são apresentados na figura 11.6. Uma inspecção desta figura mostra que quer os homogenados de encéfalo quer os fragmentos ováricos de uma fêmea vitelogénica apresentam níveis elevados de actividade da aromatase, a qual pode ser quase completamente abolida pela adição ao meio de incubação de um inibidor da aromatase (4-hidroxi-androstenediona), ou de um competidor inerte do esteróide radioactivo (androstenediona). Estes resultados confirmam que a radioactividade medida no sobrenadante da experiência após a remoção do esteróide radioactivo, é uma medida da actividade da aromatase.

11.3.2.2. Localização Neuroanatómica da Actividade da Aromatase Neural

Os resultados da incubação de diferentes tecidos neurais de machos territoriais são apresentados na figura 11. 7. Uma inspecção desta figura revela que a actividade da aromatase neural é maior no tálamo (128.5 fmol/ mg de proteína/ h), seguida pelo telencéfalo (105.5 fmol/ mg de proteína/ h) e pelo hipotálamo (71.4 fmol/ mg de proteína/ h). Os bolbos olfactivos praticamente não apresentam quaisquer actividade enzimática (0.24 fmol/ mg de proteína/ h).

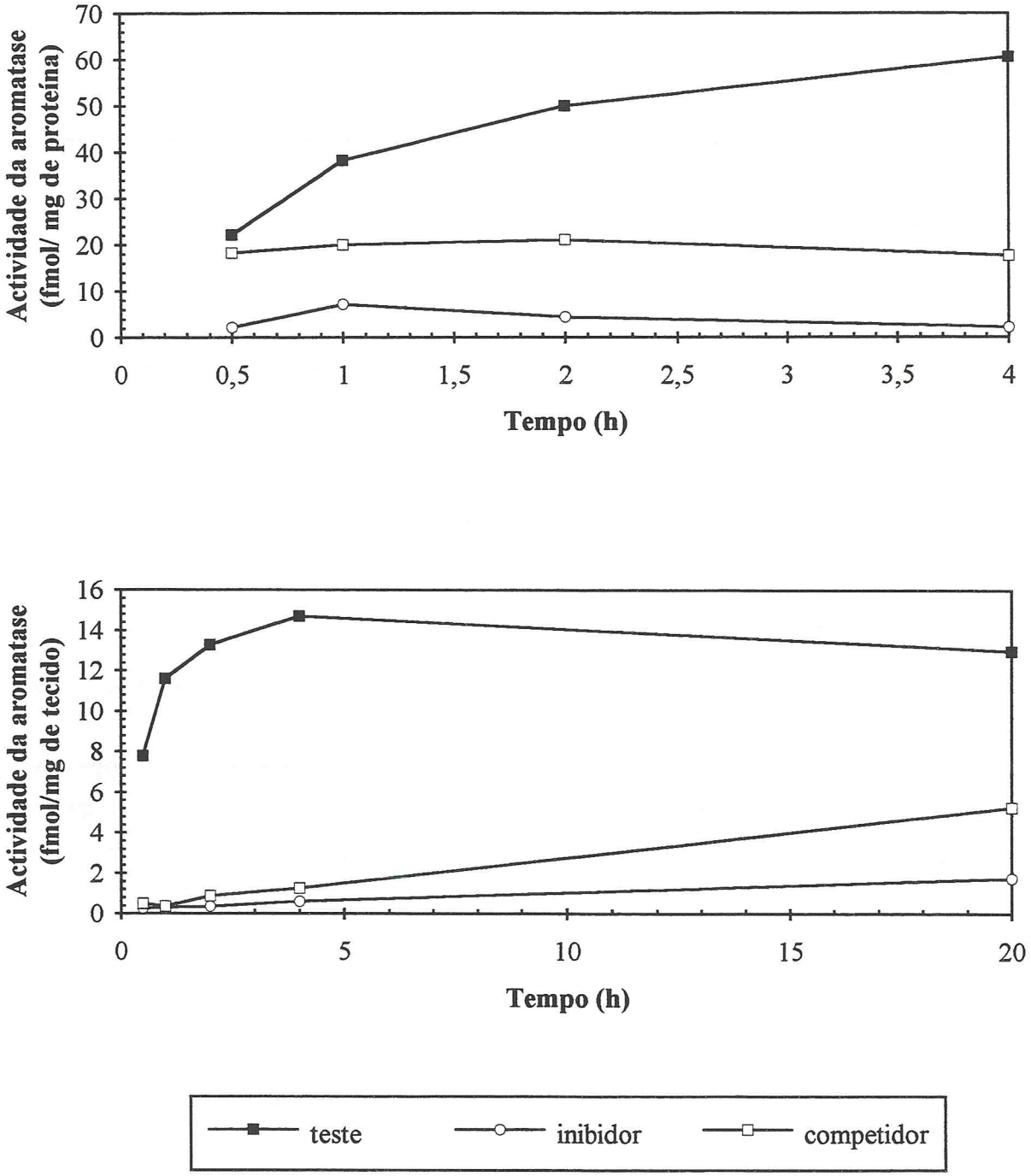


Figura 11.6. Validação do ensaio radiométrico da aromatase com incubações de encéfalo (a) e ovário (b) de uma fêmea vitelogénica na presença de um inibidor e de um competidor do substrato.

11.3.2.3. Diferenças Inter-Sexuais e Variação com a Maturação Sexual da Actividade da Aromatase Neural

Os dados da actividade da aromatase neural para os indivíduos do estudo 2 indicam a existência de diferenças entre machos e fêmeas na actividade deste enzima (teste de Mann-Whitney: n_{machos}=10, $n_{fêmeas}$=8, U=9, z=-2.67, p<0.01), possuindo os machos uma maior actividade (ver figura 11.8). A relação entre a actividade da aromatase e a condição reprodutora, aferida pelo índice gonado-somático, apresenta padrões diferentes para machos e fêmeas. Nas fêmeas a actividade da aromatase não apresenta nenhum padrão de variação consistente com o IGS (r= 0.15, n=8, p>0.10). Nos machos pelo contrário existe uma relação inversa entre o IGS e actividade da aromatase (r = -0.54, n= 10, p<0.10; aromatase= 24.3 – 1130 IGS, $F_{1,8}$= 3.61, p<0.10)(ver figura 11.9).

11.3.2.4. Estatuto Social e Actividade da Aromatase Neural

Para averiguar a relação possível entre o estatuto social dos indivíduos e os seus níveis de actividade da aromatase neural adoptaram-se dois procedimentos: (a) calculou-se a correlação existente entre o índice de dominância (V/V+D) e a actividade da aromatase; (b) testou-se a diferença entre indivíduos dominantes e subordinados, tendo-se considerado o único indivíduo da amostra com estatuto intermédio, determinado pelo procedimento do ACTUS (ver capítulo 9), como dominante uma vez que possuía um índice de dominância acima dos 60% formando um agrupamento natural com os restantes indivíduos de estatuto dominante desta amostra (ver figura 11.10). Calculou-se ainda a correlação entre o número de interacções em que o indivíduo participou e a actividade da aromatase para avaliar possíveis efeitos de stress social na actividade deste enzima. Nenhuma das correlações calculadas apresenta valores significativos:

(a) aromatase vs. V/V+D: r_S= 0.103, n=10, p>0.10;

(b) aromatase vs. número de interacções: r_S= -0.134, n=10, p>0.10.

Do mesmo modo não se encontraram diferenças significativas entre indivíduos de diferente estatuto social (teste de Mann-Whitney: $n_{dominantes}$=5, $n_{subordinados}$=5, U=10, z=-0.52, p>0.10).

Estes resultados indicam a inexistência de quaisquer influência quer do estatuto social quer do stress social na conversão neural de androgénios em estrogénios.

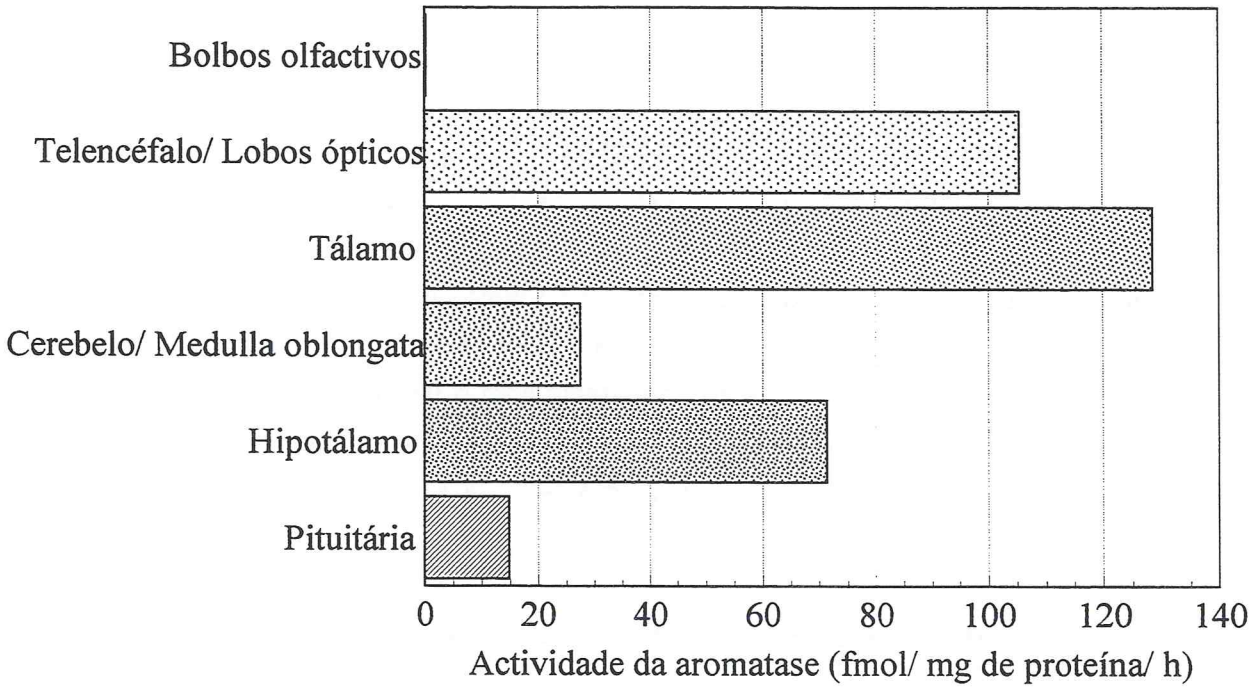


Figura 11.7. Distribuição neuroanatómica da actividade da aromatase neural em *O. mossambicus*.

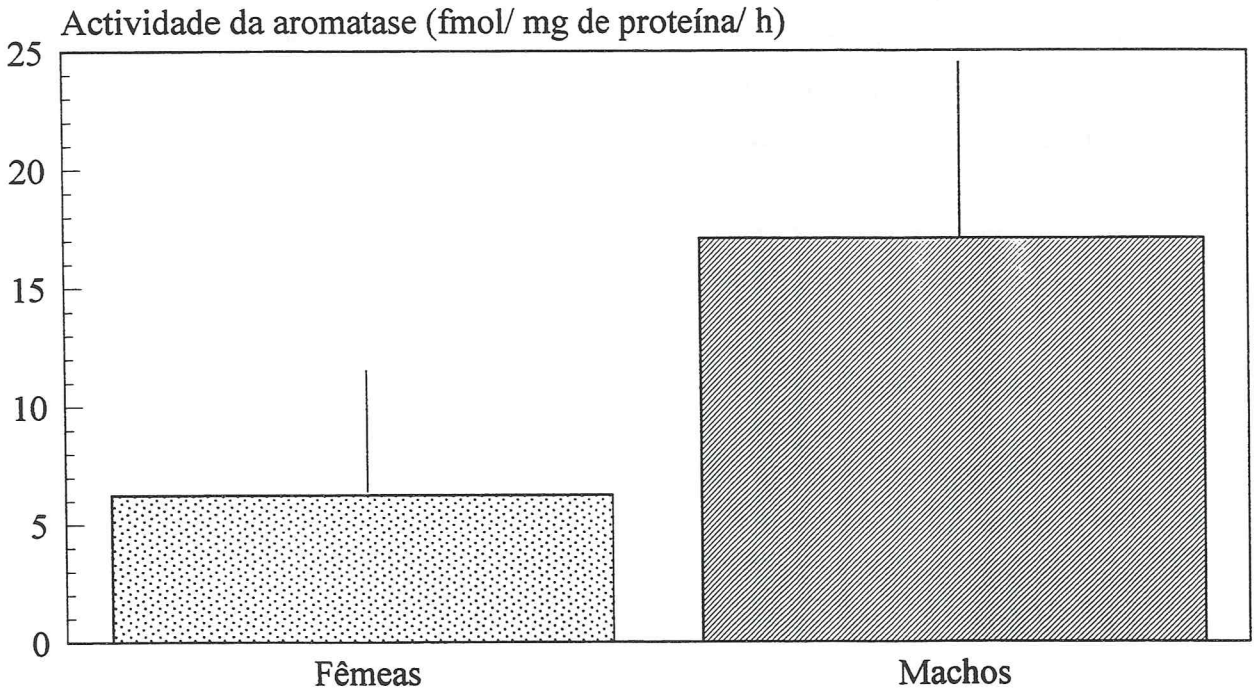


Figura 11.8. Diferenças inter-sexuais na actividade da aromatase neural em *O. mossambicus*.

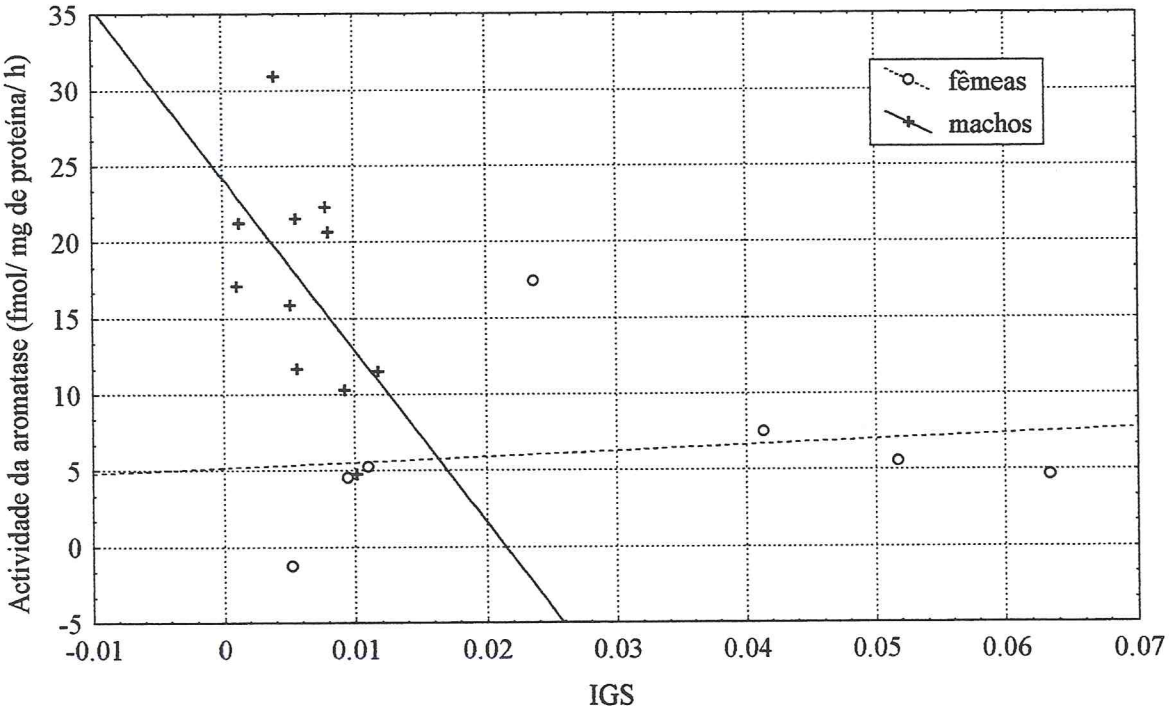


Figura 11.9. Variação da actividade da aromatase neural em machos e fêmeas de *O. mossambicus* com o índice gonado-somático (IGS).

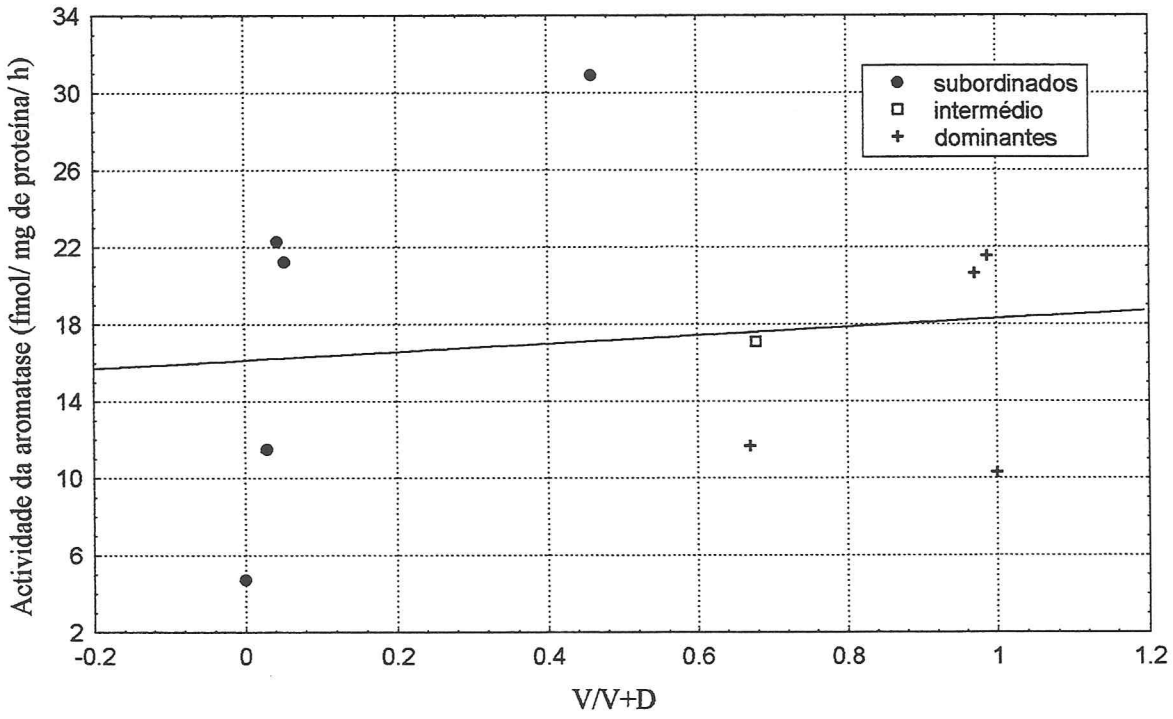


Figura 11.10. Variação da actividade da aromatase neural em machos de *O. mossambicus* com o índice de dominância (V/V+D).

11.4. DISCUSSÃO

11.4.1. Androgénios e Estatuto Social

O principal objectivo deste capítulo era o de esclarecer a relação de causa-efeito entre os níveis de androgénios e a dominância social. Seriam os níveis de androgénios dos indivíduos antes da formação dos grupos bons preditores do estatuto social que os indivíduos viriam a adquirir, ou pelo contrário seria o estatuto social a modular as concentrações de androgénios?

Os níveis de androgénios imediatamente antes da formação dos grupos não estão nem correlacionados com os índices de dominância nem com os níveis de androgénios após a formação dos grupos. No entanto, o índice de dominância calculado para o primeiro dia após a formação dos grupos é já um bom preditor das concentrações de androgénios medidas no quinto dia do estudo. Estes resultados mostram claramente que os níveis de androgénios são modulados pelo estatuto social dos indivíduos, e que não existe qualquer relação entre os níveis androgénicos prévios e a posição dos indivíduos na ordem de dominância após a formação dos grupos.

Francis e Fernald (1993) haviam também chegado a resultados semelhantes através da manipulação experimental do estatuto social de indivíduos de *Astatotilapia burtoni*. No entanto, neste estudo Francis e Fernald (1993) não eliminaram variáveis parasitas que estavam correlacionadas com a dominância, como sejam as dimensões corporais relativas, o desenvolvimento sexual dos indivíduos e a residência prévia, factores que se sabe serem bons preditores da dominância em Ciclídeos (Figler *et al.*, 1986; Enquist *et al.*, 1987; Figler *et al.*, 1988; Wazlavek e Figler, 1989; Holder *et al.*, 1991; Turner, 1994). No presente estudo estes dois tipos de variáveis foram cuidadosamente controladas:

(a) os indivíduos foram sujeitos a um período de isolamento social prévio à formação dos grupos de forma a eliminar possíveis efeitos de experiência prévia, e foram colocados no aquário experimental simultaneamente de forma a não existir quaisquer efeito de residência no desenrolar do processo de formação da estrutura social do grupo;

(b) foram escolhidos indivíduos de dimensões corporais semelhantes e no mesmo estádio de maturação sexual, avaliado através da papila genital, de forma a controlar os efeitos do tamanho e da maturidade sexual no desenlace dos confrontos agonísticos.

Assim sendo, estes são os primeiros resultados que demonstram inequivocamente a modulação social dos níveis de androgénios em Teleósteos. No

entanto fica uma questão por responder: o que terá determinado o estatuto social dos indivíduos após a formação dos grupos?

Para responder a esta pergunta temos que considerar dois cenários:

(a) embora tendo nós tentado controlar as variáveis parasitas acima mencionadas, os indivíduos podem ser especialmente sensíveis a alguma delas de modo que continuam a responder a pequenas variações dessa variável (*e.g.* pequenas diferenças de tamanho). Este cenário não é o mais provável uma vez que por exemplo em relação ao tamanho, foi testada e recusada a hipótese de o CS (que variava no máximo 10% entre os indivíduos do mesmo grupo) estar correlacionado com o estatuto que os indivíduos alcançavam após a formação do grupo (teste de Mann-Whitney: $n_{dominantes} = 7$, $n_{subordinados} = 8$, $U = 12.5$, $z = -1.79$, $p > 0.05$);

(b) as variáveis preditoras do estatuto social foram efectivamente controladas e a hierarquia de dominância estabeleceu-se por um processo dinâmico, em que ganharam vantagem os indivíduos que tomaram a iniciativa nos primeiros confrontos agonísticos e/ou que os venceram. Este cenário é apoiado por diversos estudos que se debruçam sobre a dinâmica da formação de hierarquias sociais, e foi já discutido nos capítulos 7 e 8.

Francis (1990) colocou em evidência a existência de uma variabilidade considerável nos traços agonísticos individuais em *A. burtoni*, os quais se mantêm ao longo do desenvolvimento. Ele demonstrou ainda que os indivíduos mais agressivos não são necessariamente os dominantes, o que vem também pôr em evidência a natureza dinâmica da formação das hierarquias e a importância que podem ter vitórias ou derrotas em interacções agonísticas numa fase inicial do estabelecimento das relações entre os indivíduos.

Turner (1994) mostrou que os vencedores e os vencidos de encontros agonísticos induzidos experimentalmente em *O. mossambicus* apresentavam perfis comportamentais diferentes. Na primeira metade do confronto os vencedores exibiram um maior número de actos agonísticos mais arriscados (*e.g.* investidas com toques e/ou mordidas, combates de boca), enquanto que os vencidos apresentaram um maior número de comportamentos agonísticos de baixo risco (*e.g.* batimentos de cauda, investidas sem toque). Estas diferenças entre vencedores e vencidos encontravam-se já documentadas para outras espécies de Ciclídeos e ocorrem noutros grupos animais já estudados (Aracnídeos: Riechert, 1978; Ciclídeos: Enquist *et al.*, 1990; Libélula: Harvey e Corbet, 1986; Chapim-boreal: Popp *et al.*, 1990).

Parece ser admissível que na ausência de assimetrias *a priori* o desenlace dos confrontos agonísticos em *O. mossambicus* seja um processo sujeito a efeitos de ordem, em que vencedores ou dominantes são aqueles que através da execução de actos agonísticos de maior risco em fases iniciais do confronto criam assimetrias que

os vencidos não conseguem superar. Estas assimetrias acentuam-se com o tempo, através dos efeitos de vencedor e de derrotado (Rasa, 1981; Chase, 1993), segundo os quais a probabilidade de um indivíduo vencer um encontro agonístico depende do resultado que obteve no último confronto em que participou. Esta relação tem uma componente temporal bastante forte , e é mais duradoura no efeito de derrota do que no efeito de vitória (Rasa, 1981; Chase, 1993; Chase *et al.*, 1994).

No presente estudo os indivíduos com os níveis mais elevados de androgénios eram também os que apresentavam os índices de dominância mais elevados, os que defendiam activamente um território, tinham ninhos de maiores dimensões e cortejavam mais activamente as fêmeas. Poderia ser argumentado que o número de interacções agonísticas em que cada indivíduo está envolvido e não o sucesso nessas interacções, é que estaria a modular as concentrações dos androgénios. No entanto não parece ser este o caso uma vez que não se verificam correlações significativas entre o número total de interacções e as concentrações de androgénios, excepto para a testosterona no dia 7. Assim, e na escala de tempo utilizada neste estudo, o estatuto social de cada indivíduo influencia fortemente as suas concentrações de androgénios.

Existe, deste modo, uma relação correlacional entre os níveis de androgénios, a dominância social e um conjunto de traços comportamentais envolvidos na reprodução (*i.e.* território, ninho, cortes). Parece provável que o estatuto social dos indivíduos, através da modulação dos níveis de androgénios, actue sobre a activação dos diferentes componentes do comportamento reprodutor. Como também já foi demonstrado no capítulo 10, nesta espécie os machos de estatuto social mais elevado apresentam índices gonado-somáticos mais elevados e um maior desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Em *A. burtoni*, obtiveram-se também resultados semelhantes, quando se comparam machos dominantes com machos subordinados ou mantidos em isolamento. Os machos dominantes apresentam IGS maiores, células de Leydig com núcleos de maior diâmetro, uma maior quantidade de espermatozóides nos testículos (Fraley e Fernald, 1982), e corpos celulares maiores numa população de neurónios da área pre-óptica (POA) envolvida na secreção do factor de libertação da gonadotropina (GnRH) (Davis e Fernald, 1990). Pelo contrário, quer os subordinados quer os machos isolados socialmente apresentaram um desenvolvimento mais lento das gónadas (Fraley e Fernald, 1982). Foi posteriormente colocado em evidência o controlo social desta população de neurónios, a qual por sua vez controla o eixo reprodutor hipotálamo-hipófise-gónadas (Francis *et al.*, 1993). Através da manipulação do estatuto social dos machos foram detectadas variações nas dimensões dos corpos celulares desta população de neurónios: quando um animal passa de territorial para não territorial estas células diminuem de tamanho, e quando um não-

territorial adquire um território estas células aumentam de tamanho (Francis *et al.*, 1993). Foi ainda demonstrada a relação causal entre esta população de neurónios e o desenvolvimento das gónadas em *A. burtoni*, através da castração de machos territoriais. Machos castrados apresentam uma redução marcada dos níveis de androgénios circulantes e um aumento das dimensões do soma destes neurónios, pelo que os androgénios actuam como inibidores do crescimento somático desta população de neurónios da POA em machos maduros (Francis *et al.*, 1992b).

11.4.2. Androgénios e a "Hipótese do Desafio"

Os dados obtidos com o presente estudo fornecem novas evidências que vêm reforçar a hipótese do desafio ("Challenge hypothesis", Wingfield, 1984b), segundo a qual os níveis de androgénios respondem a curto-prazo às interacções sociais, o que resulta num ajustamento da prontidão e da intensidade do comportamento agonístico em função das alterações no ambiente social em que o animal se encontra. O aumento dos níveis de androgénios verificado em *O. mossambicus* durante o estabelecimento dos territórios pode ser interpretado como respondendo a uma necessidade de manter uma agressividade elevada durante os confrontos agonísticos. Em *A. burtoni*, um Ciclídeo com um sistema de acasalamento semelhante ao de *O. mossambicus*, os machos mantidos em isolamento apresentam baixos níveis de agressividade (Heiligenberg e Kramer, 1972) e baixas concentrações de androgénios, as quais aumentam rapidamente após um "estímulo de desafio" por exposição visual a um macho territorial (Hannes e Franck, 1983). Concentrações elevadas de androgénios em machos territoriais de *Chromis dispilus* (Pomacentridae) parecem estar também primariamente envolvidas na manutenção de elevados níveis de agressividade inerentes à defesa dos territórios. Isto foi particularmente evidente durante o estabelecimento das fronteiras dos territórios e foi demonstrado ser uma função da densidade populacional e da frequência das intrusões territoriais (Pankhurst e Barnett, 1993; Barnett e Pankhurst, 1994). Numa população natural do Peixe-papagaio (*Sparisoma viride*) os machos territoriais apresentam níveis mais elevados de androgénios do que indivíduos não-territoriais e durante a aquisição dos territórios as concentrações de androgénios atingem valores acima daqueles que são encontrados em machos com territórios já estabelecidos (Cardwell e Liley, 1991a). Aumentos a curto-prazo dos níveis de androgénios podem também ser induzidos através de intrusões territoriais promovidas experimentalmente, o que indica que as interacções agonísticas *per si* podem afectar o estado hormonal dos indivíduos (Cardwell e Liley, 1991a).

É interessante o facto de após as diferenças detectadas na primeira fase do estudo (grupos só de machos), os níveis de androgénios entre territoriais e não-

territoriais se tornarem mais parecidos na segunda fase do estudo (após a introdução das fêmeas). Este facto pode ter duas explicações, as quais são indissociáveis com o plano experimental utilizado:

(a) Concomitantemente com a introdução das fêmeas verificou-se um decréscimo significativo dos confrontos agonísticos o que se poderia reflectir numa descida dos níveis de androgénios nos territoriais e numa subida nos não-territoriais;

(b) As diferenças entre indivíduos dominantes e subordinados são mais acentuadas na fase de estabelecimento das hierarquias, após o que se dá um desacoplamento entre a agressividade e os níveis de base dos androgénios. Este última hipótese estaria de acordo com a hipótese do desafio, podendo ser considerada como um dos seus postulados possíveis.

Hannes *et al.* (1984) ao compararem os níveis de androgénios entre dominantes e subordinados de *X. helleri* mantidos em tanques comunitários não encontraram diferenças significativas. Os indivíduos utilizados nesta experiência eram provenientes dos aquários de manutenção de stocks da Universidade de Hamburgo (Hannes *et al.*, 1984), pelo que é de supor a existência de hierarquias estáveis nestas condições, o que de acordo com a hipótese do desafio explicaria a não detecção de diferenças entre dominantes e subordinados uma vez que ambos deveriam apresentar níveis basais de androgénios nesta situação. A correlação existente entre a predisposição agonística e os níveis de androgénios demonstrada para esta espécie em testes de agressividade padronizados, em que o sujeito é exposto a um oponente padronizado (Hannes, 1986) numa situação que se pode considerar de desafio, vem reforçar a ideia da modulação social dos níveis de androgénios em períodos de instabilidade nos quais os indivíduos têm que responder com maior prontidão à presença de intrusos.

Em Ciclídeos em que, tal como em *O. mossambicus*, os machos formam agregados de territórios reprodutores contíguos ("leks"), tem sido demonstrado que os indivíduos dominantes ocupam posições mais centrais nas arenas, escavam ninhos maiores e têm um sucesso reprodutor maior do que os machos subordinados que ocupam territórios periféricos na colónia (McKaye *et al.*, 1990; McKaye, 1991; Rossiter, 1992). Embora não existam estudos na natureza sobre o sucesso reprodutor em *O. mossambicus*, dados de trabalhos em laboratório apontam para resultados semelhantes (Falter e Foucart, 1991). Em sistemas sociais deste género deve ser de grande valor adaptativo responder à presença de machos estranhos com um aumento rápido na motivação agonística a qual pode ser mantida por níveis elevados de androgénios. Dado que os peixes maiores tendem a ser dominantes, os mais pequenos devem ajustar o seu comportamento agonístico a um nível que maximize o seu sucesso reprodutor sem promover um confronto excessivo com os machos dominantes. Este

compromisso pode ser regulado através da modulação social dos níveis de androgénios.

Se níveis elevados de androgénios têm vantagens adaptativas em períodos de instabilidade social, porquê a existência de respostas rápidas às situações de instabilidade e porque não a manutenção constante de níveis elevados de androgénios?

A resposta a esta questão parece residir nos custos associados à manutenção de níveis elevados de androgénios. Em situações experimentais de campo em que se colocaram implantes silásticos de testosterona em machos territoriais de Aves e de Lacertídeos verificou-se, paralelamente à subida dos níveis de androgénios circulantes, um aumento da agressividade com custos associados. Por um lado as taxas de sobrevivência para o ano seguinte são reduzidas significativamente nos indivíduos implantados (Lacertídeos: Marler e Moore, 1988; Aves: Dufty, 1989), por outro lado em espécies com cuidados parentais masculinos estes são reduzidos em indivíduos tratados com testosterona (Aves: Silverin, 1980; Hegner e Wingfield, 1987b).

A redução da sobrevivência em indivíduos mais agressivos parece estar associada a custos energéticos por um lado (Marler e Moore, 1989, 1991) e a uma maior conspicuidade que leva a uma maior exposição aos predadores (Marler e Moore, 1988). Recentemente foi demonstrado o efeito de depressão do sistema imunitário causado pelo tratamento crónico de testosterona (Slater e Schreck, 1993), o que associado a uma maior exposição a infecções causadas por ferimentos, os quais são também mais frequentes em indivíduos mais agressivos (observações pessoais), vem constituir mais um custo associado à manutenção de níveis elevados de androgénios.

11.4.3. Função Diferencial para a Testosterona e a 11-Cetotestosterona

Em *O. mossambicus* os indivíduos territoriais, que são também os dominantes, têm em geral maiores concentrações de esteróides do que os indivíduos não-territoriais. No entanto o padrão de variação das concentrações individuais dos esteróides sexuais de acordo com as mudanças de contexto social foi diferente para cada um dos quatro esteróides doseados.

Em relação aos androgénios observou-se após a formação dos grupos só de machos um aumento da concentração de testosterona quer em territoriais quer em não-territoriais, enquanto que em relação à concentração de 11-cetotestosterona se verificou um grande incremento em territoriais e um decréscimo em não-territoriais. Por outro lado, após a introdução das fêmeas nos grupos observa-se uma diminuição do número de interacções agonísticas e verifica-se um decréscimo de ambos os androgénios em indivíduos territoriais e um aumento de 11KT acompanhado por um decréscimo de testosterona em não-territoriais. Uma explicação possível para estes

factos pode ser a de que uma das consequências fisiológicas do estatuto de subordinado seria a inibição do enzima 11β-hidroxilase, o qual está envolvido na síntese de 11KT a partir de testosterona. Assim, nos grupos só de machos, os territoriais apresentariam elevados níveis de 11KT o que corresponderia a uma elevada actividade deste enzima e os não-territoriais (subordinados) uma redução da produção de 11KT acompanhada de uma acumulação de testosterona. Por outro lado, após a introdução das fêmeas com a redução do número de confrontos agonísticos seria de esperar uma diminuição da 11-cetotestosterona nos dominantes e um aumento de 11-cetotestosterona nos subordinados acompanhado de um decréscimo mais acentuado de testosterona nos subordinados do que nos dominantes. Estes pressupostos foram verificados na íntegra pelos dados acima expostos.

Esta hipótese é apoiada pelos trabalhos sobre o metabolismo testicular de esteróides no Peixe-combatente (*Betta splendens*)(Leitz, 1987b) e no Esgana-gata-de-três-espinhos (*Gasterosteus aculeatus*) (Borg *et al.*, 1989).

Leitz (1987b), através da comparação de indivíduos mantidos isolados ou em grupos, verificou que a manutenção de indivíduos em elevadas densidades inibia o comportamento agonístico e sexual e bloqueava a conversão de testosterona para 11-oxi-androgénios. Foi ainda demonstrado que, de entre os indivíduos mantidos nos grupos, os subordinados produziam esteróides 5β-reduzidos e tinham uma aparência externa semelhante à das fêmeas e os dominantes tinham activa a via dos 11-oxi-esteróides e apresentavam uma masculinização das características morfológicas.

Borg *et al.* (1989) ao comparar o metabolismo dos esteróides nas gónadas dos machos de *G. aculeatus* dentro e fora da época de reprodução verificou que nos machos sexualmente activos (territoriais) o principal produto das incubações testiculares (precursor = [^{3}H]pregnenolona) é a 11-Cetoandrostenediona, e que a taxa de síntese deste esteróide é muito inferior fora da época de reprodução, numa altura em que os machos não defendem territórios.

Sugere-se com o presente trabalho papéis diferentes para os dois androgénios estudados. A testosterona poderá estar envolvida na manutenção do indivíduo num estado de alerta comportamental, permitindo uma mudança rápida para comportamentos mais agressivos se se verificarem oportunidades para que tal aconteça, e a 11-cetotestosterona poderá estar mais envolvida no desenvolvimento dos gâmetas e na diferenciação e manutenção dos caracteres sexuais secundários, papel que lhe tem sido classicamente atribuído em machos de Teleósteos (Fostier, Le Gac e Loir, 1987). O aumento de testosterona em indivíduos não-territoriais pode ser explicado por uma estimulação do ambiente social em que o animal está envolvido, incluindo as disputas territoriais em que os subordinados se abstêm de participar mas às quais estão expostos.

Existem algumas evidências que suportam a diferenciação de papéis funcionais entre a testosterona e a 11-cetotestosterona:

(a) Cardwell e Liley (1991b) haviam já proposto uma diferenciação para o papel destes dois androgénios, tendo sugerido que no Peixe-papagaio (*S. viride*) os níveis elevados de testosterona estariam associados com o estatuto e o comportamento dos machos e que a 11-cetotestosterona teria um papel na activação do processo de mudança de sexo, no controlo dos caracteres sexuais masculinos e em alguns aspectos do comportamento sexual masculino.

(b) Skoufas *et al.* (1993) verificaram que os machos dominantes (*i.e.* aqueles que apresentam um padrão de coloração escuro) de *Oreochromis aureus* apresentam níveis mais elevados de 11-cetotestosterona no plasma do que os machos subordinados, não encontrando diferenças em relação à testosterona e ao estradiol. Por outro lado, as fêmeas dominantes apresentam níveis significativamente mais elevados de testosterona do que as fêmeas subordinadas, e existe uma relação correlacional entre a ocorrência de cinco padrões agonísticos nas fêmeas e os níveis séricos de testosterona.

(c) Brantley *et al.* (1993b), numa revisão sobre as bases hormonais das tácticas alternativas de reprodução em machos de Teleósteos, colocaram em evidência que o morfotipo masculino que corteja activamente e que expressa os caracteres sexuais secundários tem quantidades mais elevadas de 11-cetotestosterona do que o morfotipo passivo (*i.e.* "sneaker" ou satélite). Contrastando com este padrão, não existem diferenças consistentes entre os dois morfotipos de machos em relação às concentrações de testosterona para as diferentes espécies examinadas (*Porichthys notatus, Salmo salar, Lepomis macrochirus, Sparisoma viride, Thalassoma duperrey* e *Coris julis*).

(d) Existe um pico de 11-cetotestosterona no início da reprodução no Peixe-sol (*L. macrochirus*) (Kindler *et al.*, 1989) e no Esgana-gata (*G. aculeatus*)(Mayer *et al.*, 1990a), e implantes de 11-cetotestosterona são mais efectivos na estimulação do comportamento reprodutor destas espécies (*i.e.* cortes em ambas as espécies e construção do ninho em *G. aculeatus*) do que implantes de testosterona (Borg, 1987; Kindler *et al.*, 1991).

(e) No Garibaldi (*Hypsypops rubincundus*) detectaram-se concentrações elevadas de testosterona e de 11-cetotestosterona na fase inicial do ciclo reprodutor, estando estas concentrações correlacionadas positivamente com o comportamento sexual. Após a postura e durante o período de guarda parental dos ovos detecta-se um abaixamento drástico dos níveis de androgénios correlacionado com uma diminuição do número de cortes e com um aumento dos comportamentos parentais (Sikkel, 1993).

11.4.4. Progestogénios e Estatuto Social

As concentrações de Progestinas também mostraram boas correlações com o comportamento sexual e agonístico. Este facto fica-se provavelmente a dever a uma aceleração do desenvolvimento das gónadas nos indivíduos dominantes concomitantemente com um papel activo destes esteróides na reprodução masculina.

A 17,20β-P é uma hormona associada à aquisição de mobilidade do esperma e à espermiação em machos de Salmonídeos (Miura *et al.*, 1992) e de Ciprinídeos (Asahina *et al.*, 1990, 1993) nos quais também já se demonstrou actuar como feromona (Dulka *et al.*, 1987).

As concentrações de 17,20β-P são mais elevadas em machos territoriais do que em não-territoriais nos grupos só de machos. A introdução de fêmeas nos grupos nivelou os níveis de 17,20β-P entre indivíduos territoriais e não-territoriais. Estes dados estão em desacordo com o que se conhece para o Salmão-vermelho (*Oncorhynchus nerka*) no qual, em grupos só de machos, não se encontra qualquer relação entre os níveis séricos de 17,20β-P e os comportamentos agonísticos, apesar de existir um nível elevado de interacções agonísticas entre os machos. Quando as fêmeas estão presentes os dominantes e os subordinados apresentam níveis de esteróides indiferenciáveis, mas os dominantes têm uma maior concentração de gonadotropina e um maior volume de esperma (Liley *et al.*, 1993). Machos de Truta Arco-íris e de Salmão-vermelho têm níveis de 17,20β-P mais elevados na presença de fêmeas sexualmente activas do que na sua ausência (Olsén e Liley, 1993; Rouger e Liley, 1993).

Num trabalho recente sobre a influência do estatuto social nas respostas endócrinas dos machos a fêmeas sexualmente activas, Liley e Kroon (1995) mostraram que os níveis de gonadotropina (GtH II), 11-cetotestosterona, testosterona e 17,20β-P aumentam nos machos dominantes de uma díade que se encontra a competir pelo acesso a uma fêmea ovulada. Os machos subordinados das díades não apresentam nenhuma destas respostas; no entanto, após a remoção do macho dominante da díade os níveis de gonadotropina e dos esteróides aumentam no indivíduo subordinado mantido na presença da fêmea. Este resultado parece indicar uma inibição social da resposta à presença da fêmea nos indivíduos subordinados.

Ambos os progestogénios se correlacionam positivamente com o volume do ninho, mas apenas a 17,20α-P e os androgénios se correlacionam com a taxa de corte. Também as variações observadas na 17,20α-P com as mudanças de contexto social estão mais de acordo com o que está descrito para a 17,20β-P em machos de Salmonídeos e de Ciprinídeos, *i.e.* um grande aumento como resposta à presença de

fêmeas ovuladas, uma resposta que deve mediar o aumento do volume de esperma verificado nestas situações (Liley *et al.*, 1993). No nosso caso este aumento da 17,20α -P é mais elevado em territoriais e é um indicador de que a 17,20α-P deve ter um papel na espermiação e activação do esperma e/ou no comportamento sexual dos machos de *O. mossambicus*, e provavelmente na generalidade dos machos de Peixes Ósseos Não-Salmonídeos.

O significado funcional desta resposta seria assim uma aceleração ou sincronização da espermiação nos machos na presença de fêmeas ovuladas.

Embora existam algumas evidências que apontam para a existência de comunicação química em *O. mossambicus*, não foi possível esclarecer com o nosso desenho experimental se o incremento nos níveis de 17,20α-P de machos expostos a fêmeas foi mediado por estímulos visuais ou químicos. No entanto, machos de *O. mossambicus* com acesso ilimitado a fêmeas apresentam um aumento da taxa de corte no período de ovulação das fêmeas, o que não acontece em machos que apenas têm acesso visual às fêmeas (Silverman, 1978b). Os machos desta espécie também evidenciam uma preferência por água na qual foi mantida uma fêmea ovulada em oposição a água de manutenção de fêmeas não-ovuladas ou a água pura (Falter e Dolisy, 1989). Estes dados parecem indicar a existência de feromonas sexuais femininas em *O. mossambicus*.

11.4.5. Aromatização Neural dos Androgénios

A actividade da aromatase neural nos machos de Tilápia não apresenta nenhuma correlação com o estatuto social, existindo no entanto diferenças inter-sexuais, com os machos a apresentarem quase o dobro de actividade da aromatase neural em relação às fêmeas.

As diferenças sexuais na actividade da aromatase estão bem documentadas para Vertebrados superiores, nos quais o sexo masculino é o que apresenta valores mais elevados (Aves: Pombos, Hutchison e Steimer, 1981; Codorniz, Schumacher e Balthazart, 1986; Schlinger e Callard, 1987; Perdiz-nival escocesa, Sharp *et al.*, 1986; Mamíferos: Coelhos, Reddy *et al.*, 1973; Murganhos, Naftolin *et al.*, 1975; Hamsters, Callard *et al.*, 1979; Morcegos, Callard *et al.*, 1983). Estas diferenças sexuais têm sido interpretadas como derivadas de uma resposta da aromatase a diferentes níveis circulantes de testosterona, a qual se encontra em níveis mais elevados nos machos sexualmente activos. Este facto foi primeiro posto em evidência através de uma correlação entre as taxas de formação de estradiol no encéfalo e a actividade reprodutora (Callard *et al.*, 1983; Sharp *et al.*, 1986; Pasmanik e Callard, 1988a), e confirmado experimentalmente através da manipulação do ciclo reprodutor com

fotoperíodo artificial (Callard *et al.*, 1979; Schlinger *et al.*, 1984; Schlinger e Callard, 1989a), e de castração e subsequente administração de testosterona (Hutchison e Steimer, 1981; Roselli *et al.*, 1984; Roselli e Resko, 1986; Schumacher e Balthazart, 1986; Pasmanik *et al.*, 1988). Ao contrário dos Vertebrados superiores, e como já foi referido na introdução, nos Teleósteos, em todas as espécies estudadas excepto numa (*Thalassoma duperrey*, Kincl *et al.*, 1987), as fêmeas apresentam níveis mais elevados de actividade da aromatase neural do que os machos. *O. mossambicus* é assim a segunda espécie estudada de Teleósteos a apresentar maiores níveis de actividade da aromatase em machos. As razões para estas variações nas diferenças inter-sexuais não são claras, podendo no entanto uma análise mais pormenorizada de aspectos particulares da biologia da reprodução de cada uma das espécies esclarecer melhor este ponto.

O facto de nos machos de *O. mossambicus* se ter observado uma correlação negativa entre a actividade da aromatase e o índice gonado-somático sugere a participação da aromatase no mecanismo de autocontrole do eixo reprodutor masculino. Este resultado está aliás em concordância com o mecanismo de retroacção negativa proposto na literatura para explicar a acção dos esteróides sexuais sobre a libertação de gonadotropinas (Breuer et a., 1981; Knuppen, 1981). Segundo esta hipótese os androgénios provenientes das gónadas seriam aromatizados localmente no hipotálamo e o estrogénio resultante seria metabolizado também no hipotálamo em catecol-estrogénio por acção do enzima 2-hidroxilase (*e.g. Oncorhynchus mykiss*, Lambert e Van Oordt, 1982; *Clarias gariepinus*, Timmers *et al.* 1988). Os catecol-estrogénios por seu turno podem ser transformados em 2-metoxi-estrogénios por acção do enzima catecol-O-metil-transferase (COMT) (*e.g. Clarias gariepinus*, Timmers e Lambert, 1989), o qual é o mesmo enzima que metaboliza a dopamina em 3-metoxi-tiramina, desactivando-a. No entanto, a afinidade do enzima é maior para o metoxi-estrogénio do que para a dopamina, o que quer dizer que na presença de catecol-estrogénios a dopamina não é inactivada (*e.g. Clarias gariepinus*, Timmers e Lambert, 1988). Este facto torna-se bastante relevante dado a dopamina ser nos Teleósteos considerada como o factor hipotalâmico de inibição da libertação de gonadotropinas (Peter, 1983; Van Oordt, 1987). Assim, na presença de catecol-estrogénios a dopamina não é metabolizada, podendo exercer o seu efeito inibitório sobre as células gonadotrópicas da pituitária. Na ausência de catecol-estrogénios a dopamina é metabolizada, desaparecendo o seu efeito inibitório sobre a secreção de gonadotropinas.

No presente estudo verificou-se ainda que nos machos a aromatase é detectada sobretudo no telencéfalo/ lobos ópticos, no tálamo e no hipotálamo. Este resultado está de acordo com os dados disponíveis para outros Teleósteos, segundo os quais as

regiões neuroanatómicas com actividades mais elevadas de aromatase são o telencéfalo, o hipotálamo e o tecto óptico (*e.g. Oncorhynchus mykiss*, Lambert *et al.*, 1982, 1984; *Carassius auratus*, Callard, 1983, Pasmanik e Callard, 1985; *Opsanus tau*, Pasmanik e Callard, 1985; *Gasterosteus aculeatus*, Borg *et al.*,1987; *Clarias gariepinus*, Timmers *et al.*, 1987). É interessante verificar que estas regiões estão envolvidas no controlo da reprodução e da expressão dos comportamentos reprodutores em Teleósteos.

O telencéfalo, sobretudo a sua região ventral, tem associações anatómicas fortes com o sistema olfactivo (Bass, 1981a, 1981b), e aparece paralelamente envolvido no controlo de alguns elementos do comportamento reprodutor. Efectivamente, a ablação do telencéfalo elimina o comportamento reprodutor masculino em Teleósteos (Noble, 1936; Noble e Borne, 1941), incluindo os comportamentos de corte, de escavação do ninho e de incubação dos ovos em Ciclídeos (Noble, 1937; Aronson, 1948; Ribbink, 1972). Em *O. mossambicus* a remoção do telencéfalo inibe a construção do ninho pelos machos e diminui o sucesso dos acasalamentos dos machos hemisferoctomizados (Overmier e Gross, 1974). No entanto, a função do telencéfalo no controlo comportamental parece ser múltipla, existindo núcleos anatómicos específicos para o controlo de determinados comportamentos. Foi demonstrado através de lesões telencefálicas localizadas que no Peixe-combatente (*Betta splendens*) o comportamento sexual é afectado selectivamente por lesões dorsomediocaudais (de Bruin, 1980). Do mesmo modo, foi demonstrado no Esgana-gata (*G. aculeatus*) que os comportamentos masculinos de atracção das fêmeas para o ninho (dança em zig-zag) aumentam com lesões dorsomediocaudais e decrescem com a ablação dos pólos rostral ou caudal, o que sugere a existência de circuitos neurais excitatórios e inibitórios envolvidos no controlo do comportamento reprodutor pelo telencéfalo (Segaar, 1961, 1965; Segaar e Nieuwenhuys, 1963). Esta hipótese é confirmada por estudos que recorrem à estimulação eléctrica de áreas específicas do telencéfalo, e em que a estimulação de núcleos neuroanatómicos diferentes acciona diferentes elementos comportamentais. Por exemplo, em *Lepomis macrochirus* a construção do ninho é provocada pela estimulação da área dorsomediana e os movimentos de corte e a libertação de esperma nos machos são elicitados pela estimulação do núcleo pré-óptico (Demski e Knigge, 1971, Demski *et al.*, 1975).

O hipotálamo, nomeadamente a região pré-óptica e a área tuberal, têm sido envolvidos no controlo do comportamento sexual e da secreção de gonadotropinas pela pituitária. O hipotálamo é considerado como um dos elementos do eixo reprodutor dos Vertebrados, constituindo o núcleo pré-óptico um sistema neurosecretor em Teleósteos que controla o funcionamento da pituitária na secreção

de gonadotropinas, corticotropinas e prolactina, entre outras hormonas (Peter, 1977). Evidências para o envolvimento de núcleos hipotalâmicos no controlo do comportamento reprodutor vêm de estudos que recorrem a lesões experimentais (*e.g.* Peter e Crim, 1979; Kyle e Peter, 1982; Satou *et al.*, 1982; Koyama *et al.*, 1984) e à estimulação eléctrica (Demski e Knigge, 1971, Demski *et al.*, 1975; Satou *et al.*, 1982, 1984; Koyama *et al.*, 1985). Por exemplo, em *L. macrochirus* a estimulação da região dorso-mediana do hipotálamo provoca a libertação de esperma nos machos e acciona alguns elementos do repertório agonístico da espécie (Demski e Knigge, 1971, Demski *et al.*, 1975).

O tecto óptico é uma região neural envolvida na recepção e processamento da informação visual (Northcutt, 1983). O papel activo desta região na reprodução é colocado em evidência pela presença de neurónios que concentram androgénios na sua região basal (*e.g. Opsanus tau*, Fine *et al.*, 1982) e de neurónios imunoreactivos para a LHRH (*e.g. Xiphophorus* sp., Munz *et al.*, 1981; *Carassius auratus*, Kah *et al.*, 1984; *Anguilla japonica*, Nozaki *et al.*, 1985; *Solea solea*, Nunez-Rodriguez, 1985). Recentemente, a descoberta de níveis relativamente elevados de actividade da aromatase na retina e no tracto óptico do Teleósteo *Carassius auratus* (*i.e.* células bipolares, células ganglionares, células horizontais e células amácrinas da retina e algumas fibras do nervo óptico) (Gelinas *et al.*, 1991; Callard *et al.*, 1993), veio levantar a hipótese de os estrogénios poderem modular a integração, transmissão e/ou processamento da informação visual. A este propósito é interessante referir que nem todos os elementos celulares da retina apresentam uma resposta positiva para a aromatase. Do mesmo modo, nem todas as células de um determinado tipo apresentam actividade da aromatase. No entanto, os elementos celulares imunoreactivos apresentam-se interligados sugerindo a existência de redes neurais com a capacidade de aromatização de androgénios (Callard *et al.*, 1993).

A possibilidade da actividade da aromatase estar correlacionada com o estatuto social era preconizada por dois factos:

(a) na Codorniz-japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) foi descrita a existência de correlações entre a actividade da aromatase no hipotálamo anterior (área pré-óptica) e no hipotálamo posterior, e a agressividade, medida segundo testes padronizados (Schlinger e Callard, 1989b). Deste modo, para um determinado nível de androgénios circulantes são produzidos mais estrogénios em regiões específicas do encéfalo em animais que apresentam níveis mais elevados de agressividade, do que em indivíduos menos agressivos, o que pode constituir um factor determinante no grau de resposta dos circuitos neurais à testosterona;

(b) em *O. mossambicus* os indivíduos dominantes são também aqueles que apresentam uma maior expressão do comportamento reprodutor masculino (ver

capítulo 9), pelo que se a aromatase estivesse envolvida na activação do comportamento sexual masculino seria de prever que ocorressem diferenças na sua actividade entre indivíduos dominantes e subordinados.

A inexistência de uma correlação prevista entre o estatuto social e a actividade da aromatase neural em *O. mossambicus* pode ser explicada por uma das seguintes hipóteses:

(a) Os comportamentos reprodutores masculinos, que são mais frequentes em indivíduos dominantes/ territoriais, não estão sob controlo de mecanismos estrogénicos neurais, sendo activados directamente pela acção dos androgénios. Esta hipótese estaria de acordo com as taxas mais elevadas de conversão de testosterona em 11-cetotestosterona, um androgénio não aromatizável, encontradas nos machos dominantes. No entanto, não existem até à data evidências na literatura da ocorrência de receptores neurais para a 11-cetotestosterona, pelo que o seu modo de acção sobre os mecanismos centrais permanece ainda uma incógnita.

(b) Os comportamentos reprodutores masculinos são efectivamente activados por estrogénio em determinados núcleos neurais, sendo a sua expressão posteriormente inibida por outros núcleos neurais que recebem informação de outro sistema, por exemplo um mecanismo inibitório central das hormonas inter-renais activado pelo stress social em indivíduos subordinados. A suportar esta hipótese está o facto de em condições favoráveis os machos subordinados apresentarem os comportamentos reprodutores masculinos, como é o caso da remoção de machos dominantes dos aquários, ou das tentativas de atracção de fêmeas para ninhos abandonados pelos dominantes (ver capítulo 12).

(c) O facto de se ter incubado um homogenado do encéfalo para testar as diferenças entre indivíduos dominantes e subordinados pode ter diluído a existência de diferenças entre estas classes de indivíduos em regiões mais circunscritas do encéfalo (*e.g.* área pré-óptica). De facto, Schlinger e Callard (1989a,b), encontraram diferenças entre indivíduos mais e menos agressivos quando compararam regiões específicas do hipotálamo, não estando estas diferenças presentes noutras regiões neuroanatómicas.

Com os presentes dados e sem o recurso à microdissecção do encéfalo de *O. mossambicus* nos seus núcleos essenciais não é possível esclarecer definitivamente qual o papel da aromatase neural na activação dos comportamentos sociais masculinos nesta espécie.

12.
PLASTICIDADE DO COMPORTAMENTO SOCIAL DOS MACHOS: TÁCTICAS ALTERNATIVAS E CORTES ENTRE MACHOS

12.1. INTRODUÇÃO

Na visão tradicional do sistema de acasalamento das Tilápias incubadoras bucais o comportamento típico de cada um dos sexos é descrito como algo pouco flexível, cabendo aos indivíduos papéis comportamentais bem determinados (*e.g.* Fryer e Iles, 1972). No entanto, nos últimos anos a ocorrência de variabilidade intraespecífica nos modos de reprodução adoptados pelos indivíduos foi colocada em evidência. Para os Teleósteos não pára de aumentar o número de espécies para as quais são descritas tácticas alternativas de acasalamento, estando a sua ocorrência distribuída por um vasto conjunto de linhagens filogenéticas (ver Taborsky, 1994).

Uma revisão das tácticas alternativas em Ciclídeos pode ser encontrada no capítulo 2. Em Tilápias a ocorrência de tentativas de fertilização parasita de ovos por machos não-territoriais foi primeiro descrita para *Oreochromis niloticus* (Heinrich, 1967). Em *Oreochromis mossambicus* Turner (1986) havia já descrito a existência de interferências de outros machos durante o acasalamento, as quais este autor interpretou, também, como tentativas de fertilizar ovos. No entanto, estas descrições são pouco elaboradas, limitando-se a registar a ocorrência de tentativas de fertilização de ovos por outros machos que não o cortejador, não tendo sido realizada uma análise mais pormenorizada destes episódios (*e.g.* intrusos são outros machos territoriais ou são indivíduos não-territoriais? e qual é o seu estatuto social? qual o sucesso destas tentativas de fertilização de ovos? etc).

Para além das tentativas de fertilização parasita de ovos, outros aspectos do sistema de acasalamento desta espécie são ainda pouco conhecidos. Por exemplo, nas espécies que nidificam em "leks", os machos nunca utilizam os seus territórios no interior das colónias para se alimentarem, pelo que podem ocorrer dois padrões de ocupação territorial: (a) os machos abandonam os territórios todos os dias para se irem alimentar noutras áreas, regressando posteriormente a estes; (b) os machos mantêm-se nos territórios durante uma série de dias seguidos sem se alimentarem, ou restringindo os actos alimentares, após o que os abandonam por um período mais ou menos longo de tempo, para se alimentarem e recuperarem a condição física. Para *O. mossambicus* os dados disponíveis não são conclusivos sobre qual deste padrões ocore na natureza.

Outro aspecto pouco investigado é o de se saber se as fêmeas desta espécie procuram um só macho para fertilizar cada uma das suas posturas, ou se apresentam um padrão poliandrico, com a mesma postura a ser fertilizada por vários machos

territoriais. Mais uma vez, os dados disponíveis na literatura não são conclusivos sobre este aspecto do sistema de acasalamento desta espécie.

Finalmente, a própria existência de comportamentos masculinos e femininos exclusivos de cada um dos sexos é posta em causa por relatos de cortes dirigidas de machos a outros machos, os quais adoptam comportamentos pseudo-femininos (Baerends e Baerends van-Roon, 1950). No entanto, a ocorrência de cortes homossexuais nesta espécie tem sido encarada mais como uma curiosidade, não se tendo tentado perceber qual o possível papel adaptativo dos comportamentos pseudo-femininos nos machos.

No presente capítulo procurou-se, com os dados acumulados dos diferentes estudos do projecto de investigação, responder, mesmo que parcialmente, a algumas das questões acima levantadas. Assim, investigaram-se os seguintes aspectos:

(a) se os machos de *O. mossambicus* abandonam e reocupam os seus territórios diariamente, ou se pelo contrário permanecem nos territórios durante um período longo de tempo intervalado depois com um período de repouso reprodutor;

(b) qual a pressão de tentativas de fertilizações parasitas de ovos nas desovas observadas e qual o possível sucesso dessas tentativas;

(c) são as tentativas de fertilização parasita de ovos tácticas alternativas ou complementares da territorialidade;

(d) existe ou não poliandria, com as fêmeas a procurarem activamente mais do que um macho para fertilizar cada postura;

(e) Qual o contexto social e a possível função das cortes entre machos.

12.2 MÉTODOS

Para se responder às diferentes questões acima enunciadas foram aglomerados todos os dados disponíveis dos três estudos (1, 2 e 3), e por vezes utilizaram-se também dados de aquários de manutenção nos quais se tinham observado episódios relevantes para as questões levantadas.

Para o tratamento estatístico dos dados recorreu-se, na maior parte dos casos, a testes de aderência com estatística de simulação (ADERSIM)(ver capítulo 5), por estes permitirem identificar qual a(s) classe(s) responsável(eis) pelas diferenças quando estas são detectadas.

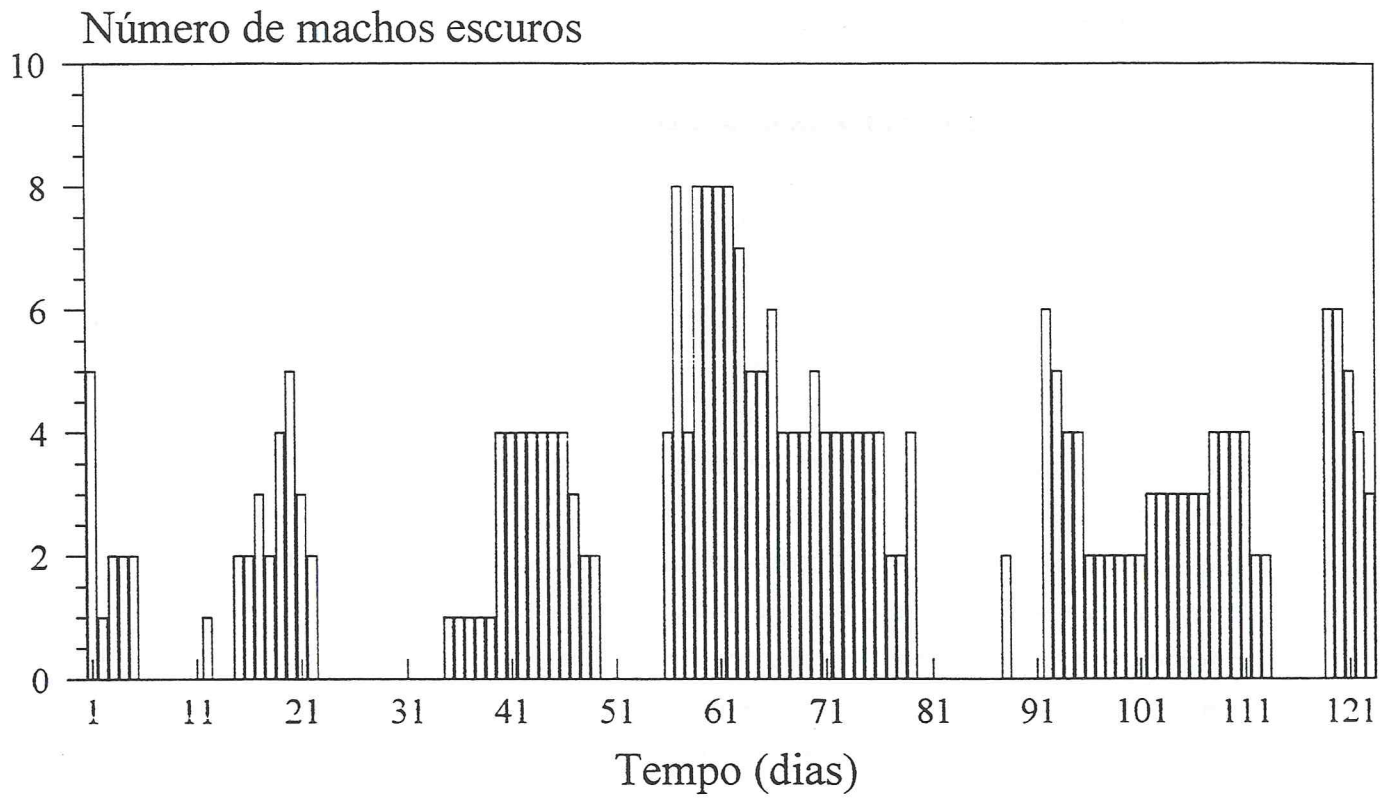


Figura 12.1. Variação diária do número de machos com coloração cinzenta ou negra num tanque comunitário seguido ao longo de 123 dias.

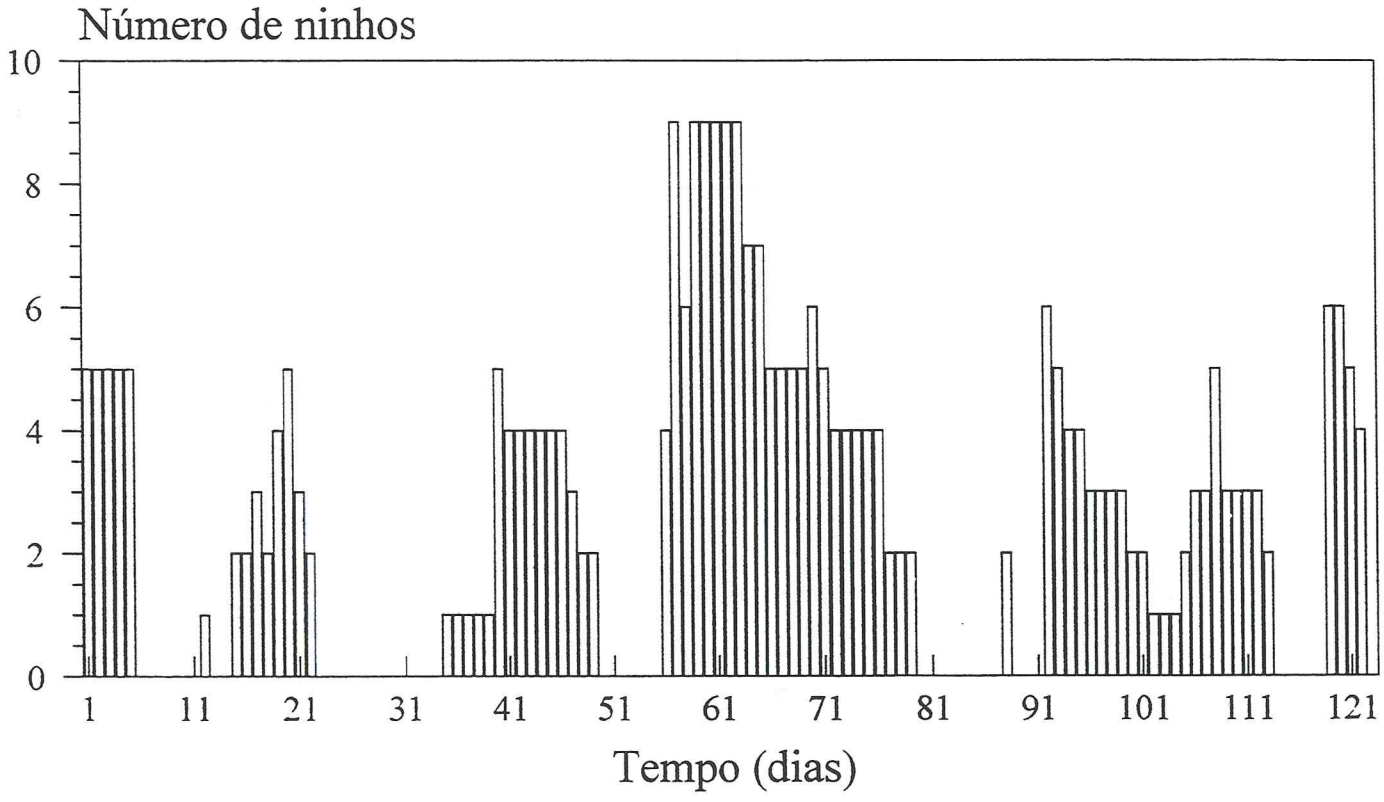


Figura 12.2. Variação diária do número de ninhos presentes num tanque comunitário seguido ao longo de 123 dias.

12.3.RESULTADOS

12.3.1. Sincronização da Reprodução nos Machos

Para se verificar a existência de um padrão temporal dos episódios de reprodução de *O. mossambicus* foi seguido um tanque comunitário com 38 indivíduos (23 machos e 15 fêmeas) durante 123 dias consecutivos, entre Janeiro e Maio de 1993. Em cada dia era registado o número de machos negros e o número de ninhos presentes no aquário. Os resultados destas inspecções são apresentados nas figuras 12.1 e 12.2. Pode-se verificar que o número de ninhos presentes no aquário está correlacionado com o número de machos negros ($r=0.94$, $n=123$, $p<0.01$), existindo em alguns dos dias, mais ninhos do que machos negros. A presença de ninhos sem machos pode-se ficar a dever a dois fenómenos observados: (a) machos que constroem e defendem por um curto período de tempo mais do que um ninho; (b) machos que constroem um ninho mas que não conseguem, numa fase subsequente, manter o território, sendo desalojados por outros machos territoriais. Neste segundo caso o ninho mantém-se ainda por algum tempo até ser destruído, ou então é ocupado por outro macho.

Com base na presença de machos negros e de ninhos, estabeleceram-se períodos de actividade reprodutora no aquário, cuja sequência é apresentada no cronograma da figura 12.3. A duração média de cada episódio de reprodução é de 13.2±8.5 dias (n=6) estando separados por períodos de repouso de 8.8±3.3 dias (n=6).

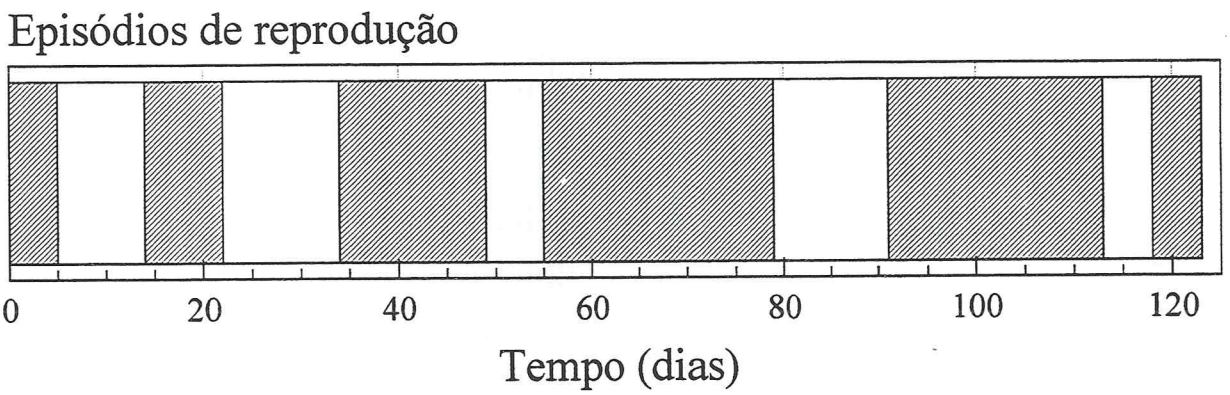


Figura 12.3. Cronograma dos episódios de reprodução (sombreado) observados no tanque comunitário observados durante 123 dias de seguimento.

12.3.2. Tácticas de Acasalamento nos Machos

No capítulo 9 foi demonstrado que a posse de um território era uma condição essencial para o acesso às fêmeas e consequentemente era um factor determinante do sucesso reprodutor dos machos de *O. mossambicus*. Por sua vez a posse de um

território era função do estatuto social dos indivíduos, sendo um recurso quase exclusivo dos machos dominantes.

Na tabela 12.1 são apresentados os dados relativos a todos os acasalamentos bem sucedidos em que se observaram as desovas.

A interferência de terceiros no acasalamento dos pares é a seguir descrita para cada um dos casos assinalados na tabela 12.1.

(a) Um macho subordinado com coloração neutra aproxima-se do par e recebe uma investida do macho residente.

(b) Macho subordinado com coloração neutra entra no ninho e junta-se ao par, colocando-se ao lado da fêmea numa posição paralela a esta; o macho residente reage com uma exibição lateral e batimentos da barbatana caudal; o intruso adopta postura de submissão e fica numa posição de pivot enquanto o intruso o circunda em exibição lateral, acabando o residente por investir no intruso que foge.

(c) Macho subordinado tenta-se colocar entre os dois elementos do par dentro do ninho, sendo atacado pelo residente.

(d) Dois machos subordinados entram no ninho no momento da desova; um dos intrusos tenta apanhar com a boca alguns ovos que se encontravam ainda no substrato, e o outro executa estremecimentos do corpo (para descrição deste padrão de comportamento ver capítulo 6) junto do local da postura.

(e) Dois machos subordinados entram no ninho, sendo atacados pelo macho residente.

(f) Dois machos, um não-territorial com coloração neutra e o outro territorial com coloração escura, penetram no ninho no momento da postura, executando estremecimentos do corpo dentro do ninho; fogem de seguida perante a investida do macho residente.

(g) Com o par dentro do ninho, um peixe não-territorial com coloração cinzento 3 junta-se ao par, colocando-se ao lado da fêmea e paralelo a esta. O macho residente executa um exibição lateral com batimentos da caudal, seguida de um ataque ao intruso expulsando-o do ninho. Pouco tempo depois, com o par novamente dentro do ninho outro indivíduo não-territorial com coloração cinzento 3 entra no ninho e coloca-se paralelo à fêmea executando estremecimentos do corpo, aos quais a fêmea responde aproximando a boca da papila genital do intruso, o qual aumenta a intensidade dos estremecimentos do corpo. O macho residente reage com uma exibição lateral acompanhada de batimentos da caudal, após o que investe sobre o intruso que foge. Um pouco mais tarde, quando o mesmo par tinha retomado o acasalamento e a fêmea se encontrava a desovar, dois machos entram no ninho, tentando-se aproximar da fêmea e apresentando comportamentos de estremecimento do corpo. Um dos machos era não territorial e apresentava um padrão de coloração

Tabela 12.1. Caracterização dos acasalamentos em que se observaram desovas . Os dados indicam: o grupo em que foi observado o acasalamento; a sua duração; a data e a hora da ocorrência; o "sex-ratio" (MM:FF) do grupo; a composição do grupo em termos de categorias de estatuto social (D= dominante, I= intermédio, S= subordinado); ocorrência de interferências por terceiros. A descrição de cada um dos episódios em qe ocorreram interferências é feita no texto (a, b, ..., h).

Grupo	Duração	Data/ Hora	Características do grupo					Interferências
			MM:FF	D	I	S	fêmeas	
exp.1 aq. 4	45min	19MAI92 11,45	4:2	1	1	2	2	Sim (a)
exp.2 aq.3	?	05MAR93 13,00	4:2	2	1	1	2	Sim (b)
exp. 2 aq.8	2 min	04MAR93 16,00	4:2	1	1	2	2	Não
exp. 2 aq.8	?	23MAR93 15,00	4:2	1	1	2	2	Sim (c)
exp. 3 aq.2	6 min	31MAI93 16,17	4:2	1	0	3	2	Sim (d)
exp. 3 aq.2	2 min	02JUN93 15,43	4:2	1	0	3	2	Não
exp.3 aq.2	?	02JUN93 16,11	4:2	1	0	3	2	Sim (e)
exp.3 aq.4	?	05JUL93 11,06	4:2	1	0	3	2	Não
Aquário de stock	?	19MAI94 13,00	9:5	2	2	5	5	Sim (f)
Aquário de stock	?	28NOV94 15,00-17,00	9:5	3	2	4	5	Sim (g)
Aquário de stock	?	28NOV94 15,00-17,00	9:5	3	2	4	5	Sim (h)
Aquário de stock	?	10FEV95 18,00	4:5	2	1	1	5	Sim (i)

cinzento 3; quanto ao segundo macho, tratava-se de um macho territorial vizinho. O macho residente atacou os intrusos que fugiram. Após esta sucessão de interferências a fêmea deixou de se mostrar interessada neste macho residente, tendo ido acasalar de seguida com outro macho territorial.

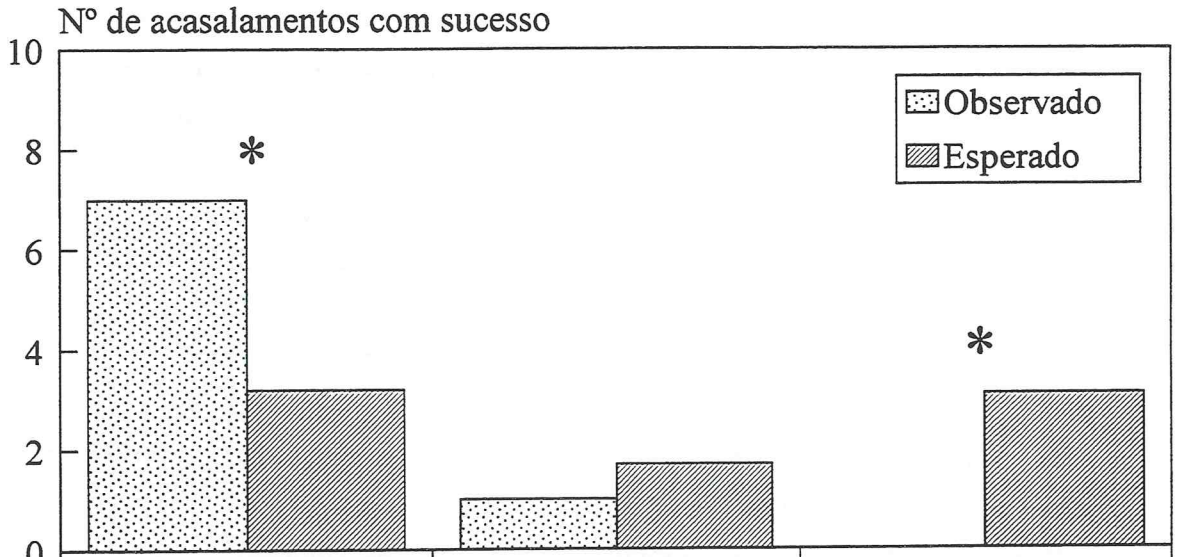
(h) Durante o acasalamento da mesma fêmea da alínea anterior com outro macho territorial, observou-se a entrada de um macho não territorial com um padrão de coloração cinzento 3, que se tenta aproximar da fêmea. O macho residente responde com exibição lateral, após o que investe no intruso que foge.

(i) Dois machos entraramm no ninho quando a fêmea se encontrava a desovar, e na vizinhança da fêmea executaram movimentos de estremecimento do corpo. Um dos machos era territorial e apresentava um padrão de coloração escuro; o segundo intruso não era territorial e apresentava um padrão de coloração neutro. Ambos os elementos do par reagiram à presença dos intrusos: o macho residente investiu e mordeu um deles e a fêmea investiu no segundo, tendo ambos os intrusos fugido do ninho.

Uma análise da tabela 12.1 permite as seguintes conclusões:

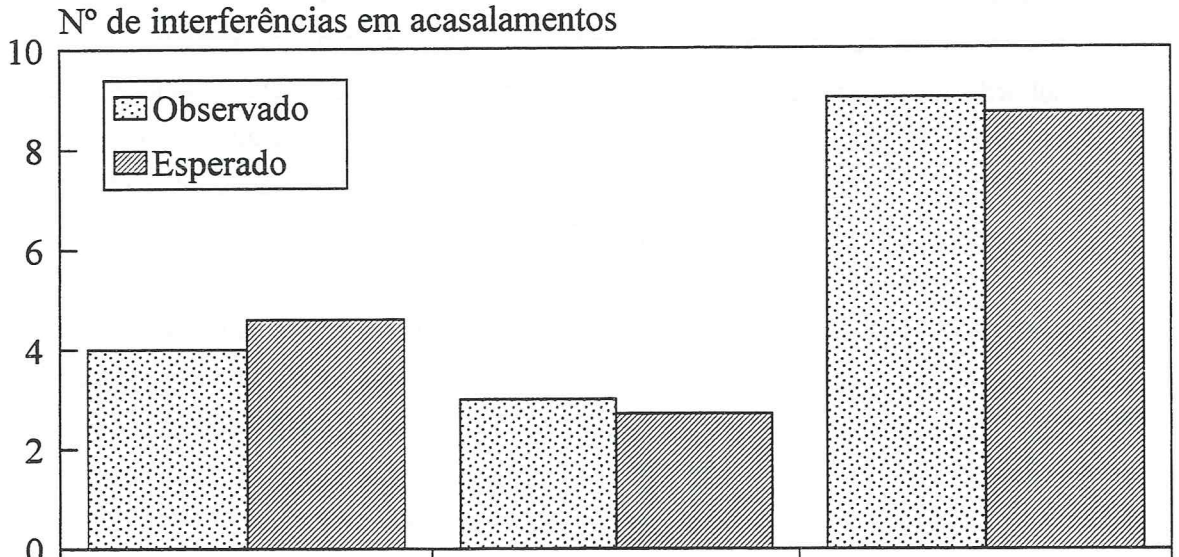
(a) dos 8 acasalamentos bem sucedidos (*i.e.* com desova) para os quais se dispõe de dados sobre o estatuto social dos machos (*i.e.* experiências 1,2, e 3) 7 foram protagonizados por machos dominantes, 1 por um macho intermédio que temporariamente ocupou um território com sucesso, e nenhum por machos subordinados. Este resultado comprova a importância do estatuto social e da posse de um território para o sucesso reprodutor dos machos (teste de aderência ADERSIM: $\chi 2=7.9$, gl=2, $p<0.05$; n1= 25 machos dominantes, n2 = 13 machos intermédios e n3 = 24 machos subordinados)(ver figura 12.4);

(b) dos 12 acasalamentos com desova observados, em 9 deles (75%) verificou-se a interferência de terceiros. Para se averiguar se existia alguma relação entre o estatuto social dos indivíduos e as interferências nos acasalamentos, utilizou-se um teste de aderência recorrendo à estatística de simulação (ADERSIM). Testou-se se as interferências observadas por cada classe de dominância (*i.e.* dominantes, intermédios e subordinados) se distribuíam ao acaso, ou se pelo contrário existia uma classe de indivíduos que protagonizasse preferencialmente as intrusões (ver figura 12.5). Uma análise da figura 12.5 permite verificar que não existe nenhuma variação da frequência das intrusões durante os acasalamentos com o estatuto social dos machos (teste de aderência ADERSIM: $\chi 2=0.12$, gl=2, p=1.0; n1= 17 machos dominantes, n2 = 10 machos intermédios e n3 = 32 machos subordinados);



	Dominantes	Intermédios	Subordinados
Observado	7	1	0
Esperado	3,2	1,7	3,1

Figura 12.4. Variação do sucesso reprodutor com o estatuto social para os indivíduos dos estudos 1,2 e 3. São também apresentados os valores esperados de acordo com o número de indivíduos de cada classe de dominância. As classes com diferenças significativas entre os valores observados e as frequências esperadas estão assinaladas com um asterisco.



	Dominantes	Intermédios	Subordinados
Observado	4	3	9
Esperado	4,6	2,7	8,7

Figura 12.5. Variação do número de interferências em acasalamentos por indivíduos de diferente estatuto social para os grupos em que se verificaram acasalamentos bem sucedidos. São também apresentados os valores esperados de acordo com o número de indivíduos de cada classe de dominância.

(c) as descrições das interferências de terceiros com o par na altura da desova indiciam a existência de tentativas de fertilização parasita em *O. mossambicus*. Em todas as ocorrências descritas os machos intrusos tentam posicionar-se sempre junto à fêmea ou junto à postura, e em alguns dos casos chegam mesmo a apresentar movimentos de estremecimento do corpo, os quais fazem parte do repertório sexual masculino e estão associados à libertação de esperma. Embora não tenha sido possível recorrer a marcadores genéticos ou a outras técnicas que permitissem verificar o sucesso das tentativas de fertilização dos intrusos, estes dados sugerem que o principal papel das interferências descritas é a obtenção de fertilizações parasitas. Outra função alternativa para estes comportamentos poderia ser a predação de ovos. No entanto, só num caso em 16 ocorrências (6.25%) um intruso tentou roubar ovos à fêmea, quando estes ainda se encontravam no substrato. Por outro lado, é de assinalar que todas as intrusões observadas foram efectuadas por machos, o que não seria de esperar se a sua função fosse a de obter um ganho alimentar adicional.

Para se tentar averiguar o sucesso das tentativas de fertilização parasitas elas foram classificadas em quatro categorias de acordo com o contacto que o intruso conseguiu estabelecer com a fêmea:

(a) o intruso apenas conseguiu entrar no ninho e aproximar-se do par;

(b) o intruso conseguiu colocar-se junto à fêmea numa posição paralela a esta durante alguns segundos;

(c) o intruso aproximou-se da fêmea e executou movimentos de estremecimento do corpo;

(d) o intruso executou movimentos de estremecimento do corpo junto à fêmea e esta aproximou a boca da papila genital do intruso.

Os dados relativos a esta classificação são apresentados na figura 12.6. Se, para a fertilização das posturas ter algum sucesso, é necessária a aproximação da boca da fêmea da papila genital do macho então o sucesso das tentativas de fertilização parasita é de 1 em 15 casos observados (6.67 %). No entanto, se, ao executarem os movimentos de estremecimento, os machos libertam esperma para a água, o qual entra depois "passivamente" para a cavidade bucal das fêmeas e fertiliza alguns dos ovos da postura, então o sucesso das tentativas de fertilização parasita sobe para 8 em 15 (53.3%). Estes dados devem ser encarados com cautela uma vez que, mesmo que entre esperma de ambos os machos na boca da fêmea não sabemmos qual deles envia maior quantidade de esperma, e do mesmo modo não sabemos que percentagem de ovos é que foi fecundada por cada macho. Estes dados indicam apenas o número de fertilizações em que os machos parasitas poderão ter fecundado alguns ovos.

De qualquer modo, mostra-se que, embora os indivíduos dominantes/ territoriais tenham um maior acesso às fêmeas, isso não significa que sejam os únicos a

reproduzirem-se com sucesso, sendo comum a existência de tentativas de fertilização parasita. No entanto, não parece estarmos perante um sistema de tácticas alternativas como o descrito para outros Teleósteos (para uma revisão ver Taborsky, 1984), uma vez que os próprios machos territoriais também podem tentar obter fertilizações parasitas quando os seus vizinhos se encontram a acasalar.

A este respeito é de referir que em *O. mossambicus* parecem existir três categorias de machos:

(a) territoriais - são regra geral os indivíduos dominantes do grupo, escavam ninhos no substrato que defendem activamente e apresentam um padrão de coloração negro;

(b) semi-territoriais - vivem na coluna de água, apresentam um padrão cinzento e tentam estabelecer ninhos no substrato, ou cortejam utilizando ninhos já existentes, quando o residente não está presente; são regra geral indivíduos de estatuto intermédio;

(c) neutros - vivem na coluna de água, apresentam um padrão neutro, não tentam cortejar fêmeas nem escurecem; e são indivíduos subordinados; embora parte destes machos devam ser sexualmente inactivos, foram observadas algumas tentativas de fertilização parasita de ovos que envolveram indivíduos desta categoria.

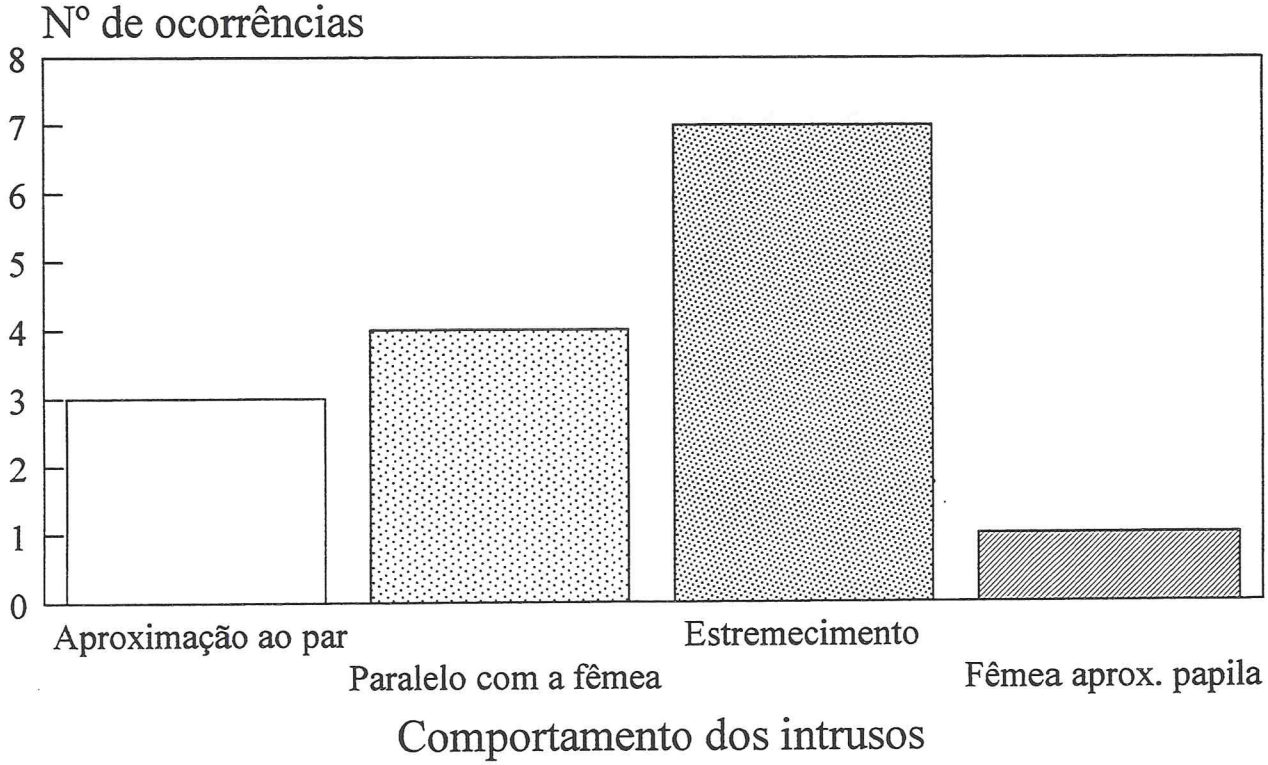


Figura 12.6. Frequência dos diferentes comportamentos exibidos pelos intrusos durante as tentativas de fertilização parasita de ovos.

12.3.3. Cortes entre Machos

Os machos territoriais podem cortejar outros machos, podendo apresentar a sequência completa de corte, *i.e.* convite, nadar para o ninho, circundar e estremecer. Os machos cortejados nunca apresentam o corpo escurecido, apresentando usualmente o padrão de coloração neutro. Os machos cortejados podem adoptar um comportamento típico das fêmeas, caracterizado pelo seguimento do macho territorial para dentro do ninho, pela imobilidade no interior do ninho numa posição de pivot enquanto o territorial os circunda, e podem chegar mesmo a mimetizar o comportamento feminino de aproximação da boca da papila genital do outro macho, quando este apresenta movimentos de estremecimento do corpo, característicos da libertação de esperma. Nestes casos (n=3) foram também observados movimentos de mastigação típicos das fêmeas após a apanha dos ovos e que têm a função de facilitar a fertilização dos ovos no interior da cavidade bucal feminina. Numa ocasião, um macho de estatuto intermédio, que mantinha um território, após ter sido cortejado por um macho dominante, regressou ao seu ninho, retomou a coloração negra e recomeçou a cortejar fêmeas. Assim, os machos de *O. mossambicus* têm a capacidade de expressar na íntegra o comportamento sexual feminino, e podem alterar numa questão de minutos o seu comportamento sexual do papel feminino para o papel masculino.

Outro dado interessante é o facto de nos 3 pseudo-acasalamentos completos homossexuais observados não se ter verificado qualquer interferência de terceiros, o que difere significativamente do observado nos acasalamentos bem sucedidos heterossexuais (ACTUS: $\chi 2=5.63$, gl=1, p=0.011; interferências em acasalamentos entre machos: 0/3 vs. interferências em acasalamentos macho-fêmea: 9/12). Este resultado pode indicar que os machos intrusos reconhecem de algum modo (*e.g.* feromonas) a identidade sexual do indivíduo cortejado, o que parece não acontecer com o macho residente.

Nesta secção tentar-se-á analisar o contexto social em que as cortes entre machos ocorrem, utilizando os dados disponíveis dos estudos 1, 2 e 3.

No conjunto dos três estudos foram observadas 618 cortes num tempo total de observação de 64 horas e 40 minutos (estudo 1 = 2700 min; estudo 2 = 320 min; estudo 3 = 860 min), sendo 204 dirigidas a machos (33%) e as restantes 414 dirigidas a fêmeas (77%).

Para se averiguar se em grupos heterossexuais (experiência 1 + experiência 2), os machos cortejam preferencialmente as fêmeas, contabilizaram-se as cortes observadas dirigidas a machos e dirigidas a fêmeas, e testou-se a diferença entre os valores observados e valores esperados corrigidos para a proporção dos sexos, com o

teste de aderência por simulação (ADERSIM). Os resultados indicam que as cortes a fêmeas são significativamente mais frequentes do que as cortes a machos (ADERSIM: χ^2=97.2, gl=1, p<0.001). A comparação das frequências das cortes nas duas fases do estudo 3, *i.e.* grupos só de machos vs. grupos de machos após a introdução de fêmeas, permite concluir que na ausência de fêmeas os machos territoriais cortejam outros machos, e que a introdução das fêmeas nos grupos promove um aumento da quantidade total de cortes (*i.e.* cortes a machos+cortes a fêmeas) (ADERSIM: χ^2=107, gl=1, p<0.001) e uma redução drástica das cortes dirigidas a machos ADERSIM: χ^2=24.7, gl=1, p<0.001)(ver figura 12.7).

Investigou-se também se as cortes dirigidas a machos diferiam das cortes dirigidas a fêmeas nos elementos comportamentais utilizados pelos machos cortejadores. Para tal compararam-se as frequências nos dois tipos de cortes dos seguintes padrões de comportamento: convite, nadar (guiar) para o ninho, meia volta no ninho, estremecer o corpo, circundar o indivíduo cortejado, e ainda pairar no ninho e cavar no ninho que ocorrem associados às sequências de corte. Foram apenas analisados os dados do estudo 1, uma vez que foi o único em que se recorreu a observações focais com registo contínuo, pelo que se dispõe da caracterização pormenorizada de cada uma das sequências de corte observadas (n=264; 64 dirigidas a machos e 200 dirigidas a fêmeas). A comparação dos valores observados e dos valores esperados, corrigidos para o número de cortes dirigidos a machos e a fêmeas, foi realizada com um teste de aderência por simulação (ADERSIM), e os resultados são apresentados na figura 12.8.

Uma inspecção desta figura permite verificar que não se observam diferenças nas frequências dos diferentes padrões de comportamento entre as cortes dirigidas a machos e as cortes dirigidas a fêmeas, excepto para o circundar. Este resultado é extremamente interessante se tivermos em conta que este comportamento só aparece numa fase já adiantada da corte, o que pode querer significar que as cortes a machos não atingem as fases mais avançadas do acasalamento tão frequentemente como as cortes dirigidas a fêmeas. Isto pode-se ficar a dever a um de dois mecanismos: ou os machos cortejados não se envolvem facilmente em fases avançadas da corte, ou o macho cortejador detecta o engano no sexo do seu par e interrompe a corte atacando o impostor. Para se saber a quem se ficavam a dever as interrupções das sequências de corte estas foram categorizadas quanto ao seu desfecho em: (a) terminadas por iniciativa do cortejado, que se afasta ou ignora as exibições do cortejador; (b) terminadas por iniciativa do cortejador, que ataca o cortejado; (c) terminadas devido a interferências de terceiros. Os resultados desta comparação apresentados na figura 12.9, indicam que as cortes entre machos diferem das cortes dirigidas a fêmeas na

maneira como são interrompidas, terminando as primeiras mais frequentemente com ataques do cortejador ao cortejado.

Verificou-se ainda que o estatuto social dos indivíduos tem um papel decisivo na frequência de cortes dirigidas a outros machos($\chi2$=43.1, gl=2, p<0.001), dirigidas a fêmeas ($\chi2$=97.5, gl=2, p<0.001) e recebidas ($\chi2$=38.2, gl=2, p<0.001). Os machos dominantes apresentam valores de cortes executadas mais elevados do que seria de esperar se a execução de cortes se distribuísse ao acaso pelas três classes de machos (*i.e.* dominantes, intermédios e subordinados), quer no caso das cortes dirigidas a outros machos (p<0.001)(figura 12.10), quer no caso das cortes dirigidas a fêmeas (p<0.001)(figura 12.11), e não recebem cortes de outros machos. Os machos de estatuto intermédio apresentam uma frequência de cortes dirigidas a fêmeas ligeiramente superior ao esperado pelo modelo aleatório (p=0.013), não diferindo os valores observados dos esperados para as cortes dirigidas a outros machos. Estes machos apresentam também um número de cortes recebidas significativamente maior do que o esperado (p<0.001)(figura 12.12).

Os machos subordinados não executam cortes, e são cortejados por outros machos com uma frequência que não difere da esperada segundo uma distribuição aleatória.

12.3.4. Poliandria

As fêmeas não colocam toda a postura de uma só vez, mas sim em pequenos conjuntos de algumas dezenas de ovos (10 a 20), pelo que uma desova completa pode compreender 4 ou mais actos de postura. Quando existem interferências ou quando o macho residente ataca a fêmea no final de um acto de postura, ela retira-se do ninho desse macho com os ovos dessa desova na boca, dirigindo-se para o ninho de outro macho territorial no qual pode desovar. Uma sequência destas com dois actos de postura sucessivos bem sucedidos com machos diferentes foi observado 1 vez durante o presente trabalho. No entanto, foram bastante frequentes as ocasiões em que as fêmeas visitavam diferentes machos que as cortejavam sucessivamente, e após as desovas as fêmeas são normalmente expulsas do ninho pelos machos residentes pelo que a a poliandria pode ser um fenómeno comum em *O. mossambicus*.

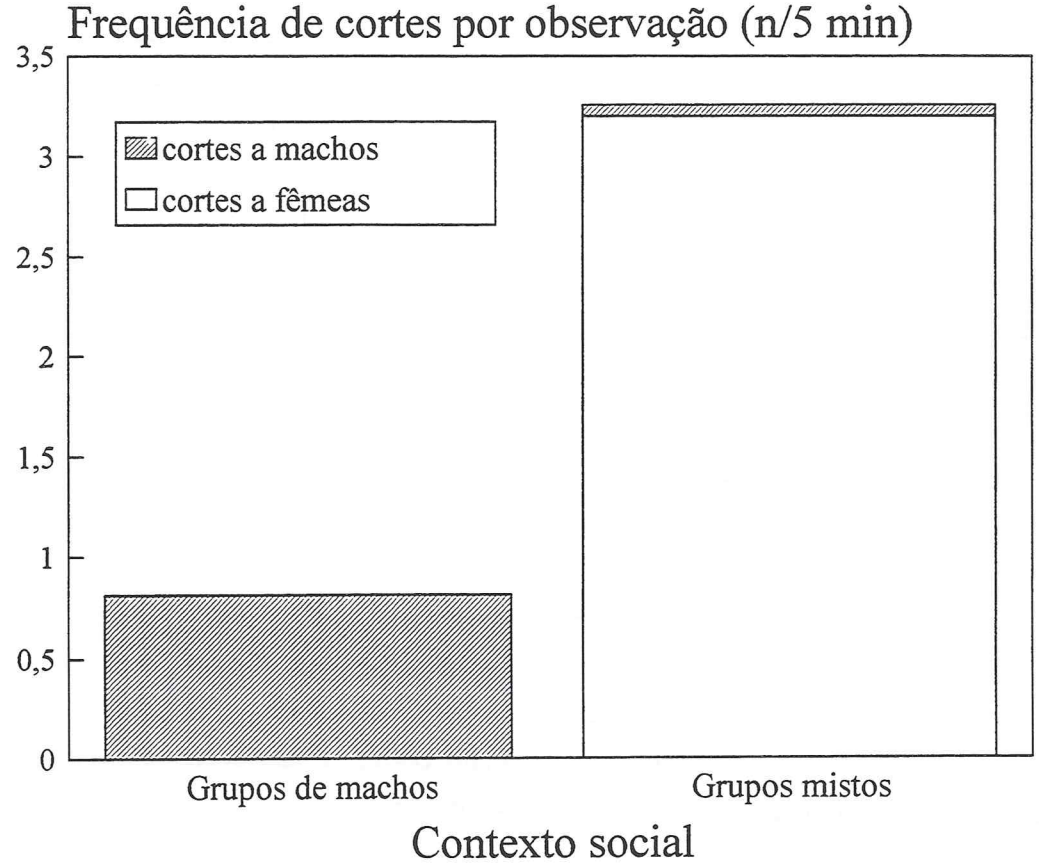


Figura 12.7. Variação do número total de cortes e do número de cortes a machos na fase de grupos só de machos e na fase de grupos mistos do estudo 3.

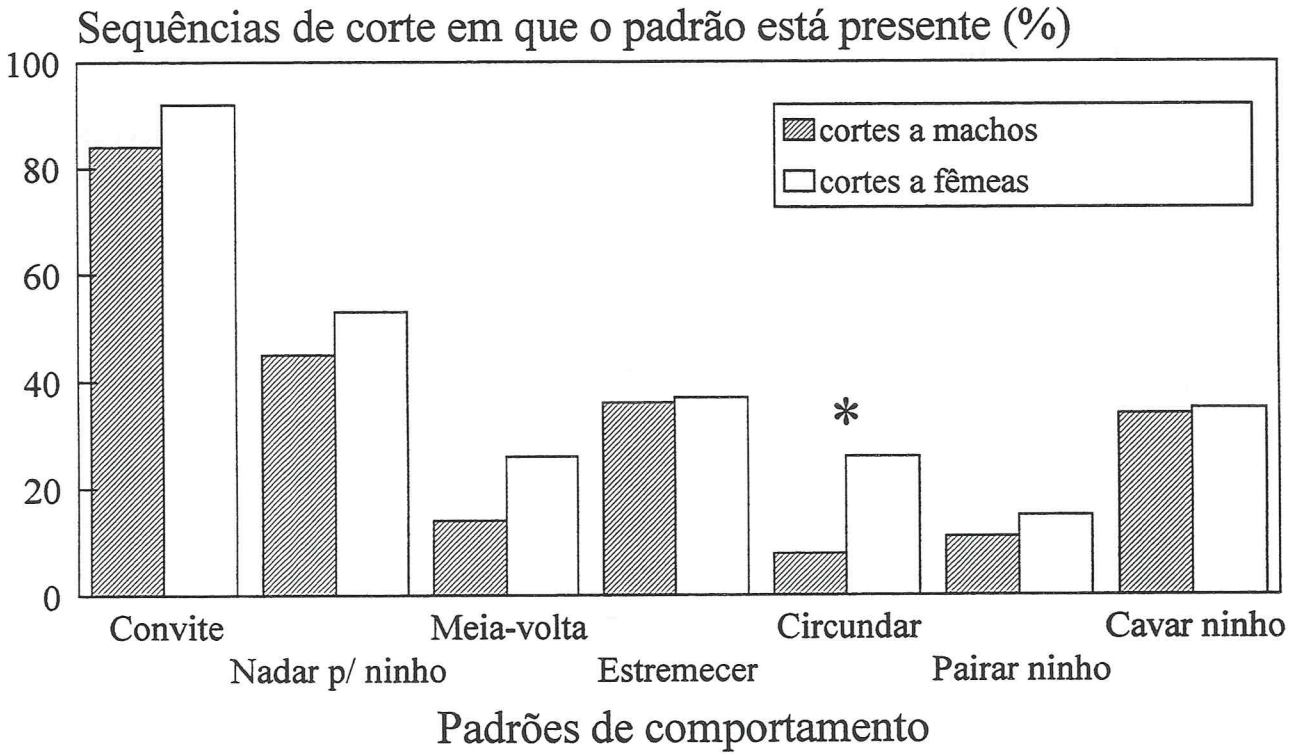


Figura 12.8. Comparação dos padrões de comportamento presentes nas sequências de corte macho-macho e macho-fêmea. Os comportamentos com diferenças significativas entre os valores observados e as frequências esperadas estão assinalados com um asterisco.

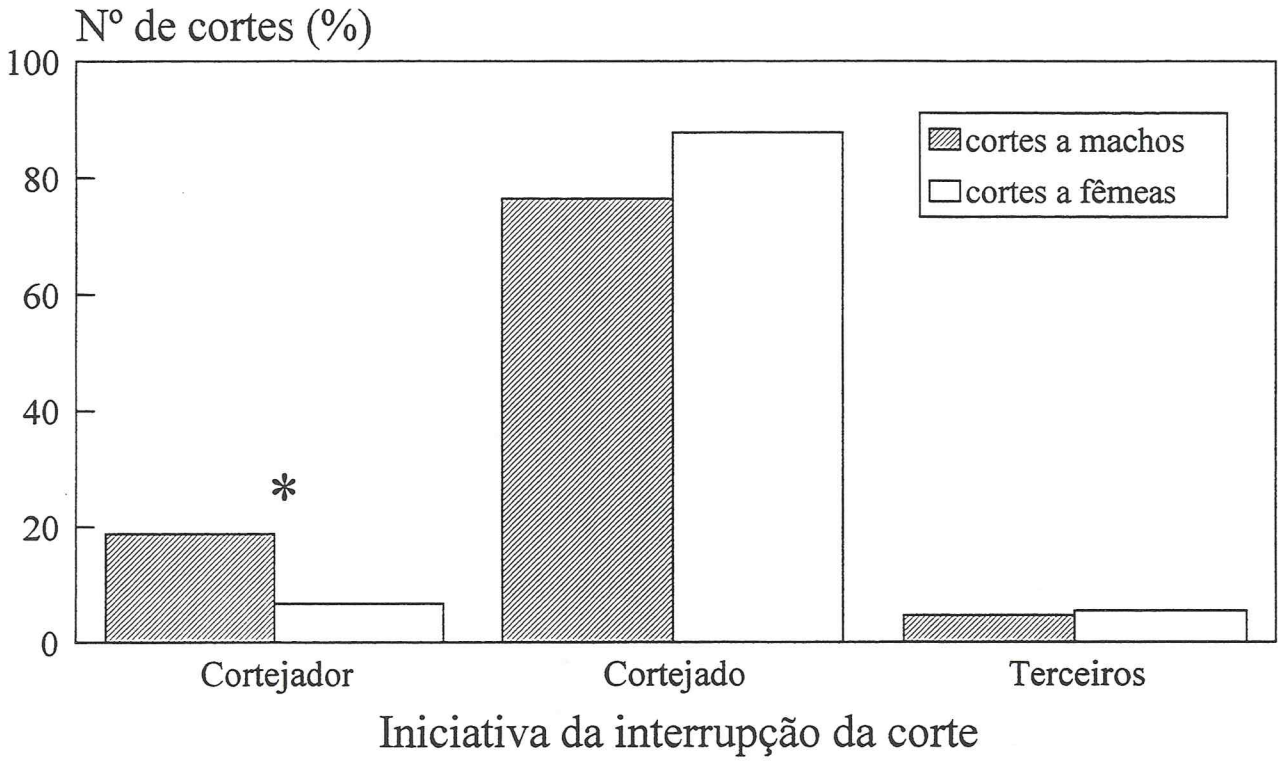
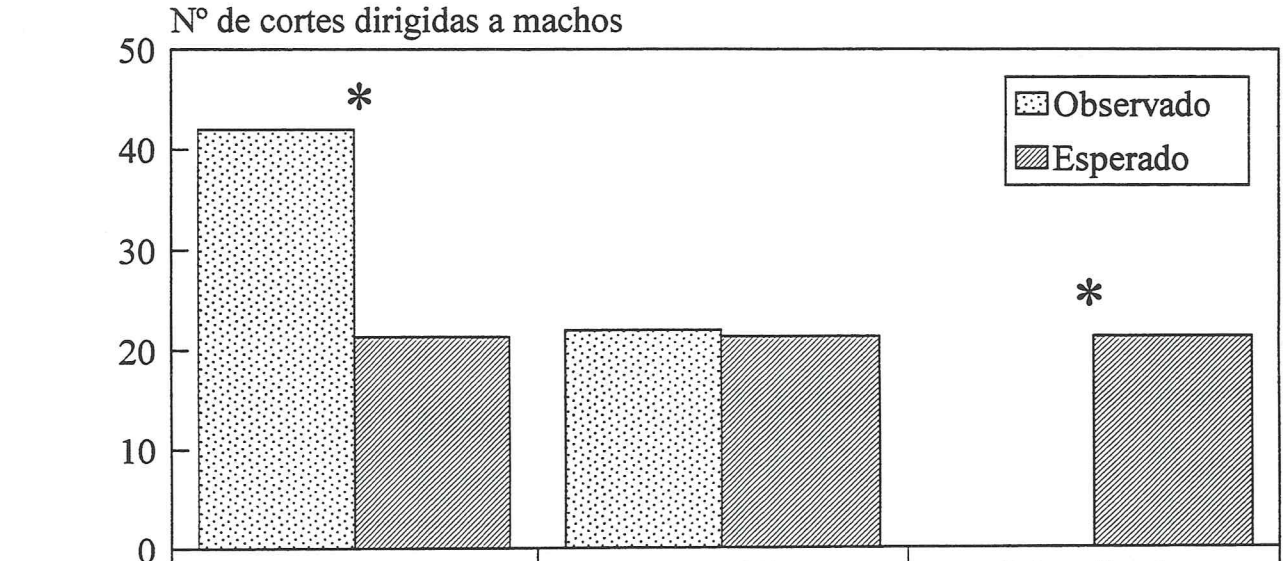
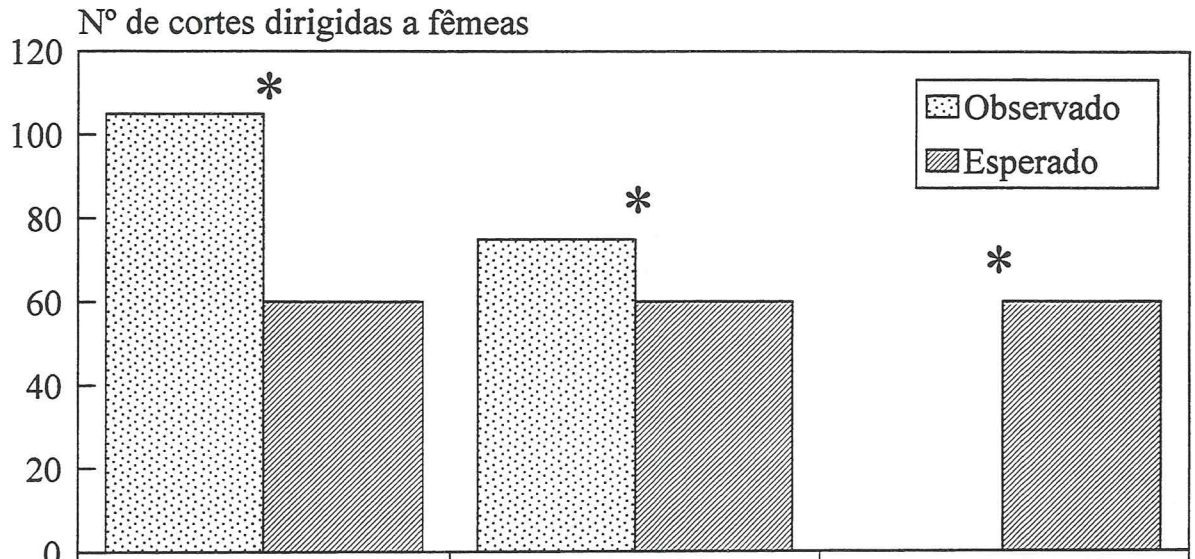


Figura 12.9. Comparação do número de cortes terminadas devido à iniciativa do cortejador, do cortejado ou por interferência de terceiros, em sequências de corte macho-macho e macho-fêmea. As classes com diferenças significativas entre os valores observados e as frequências esperadas estão assinaladas com um asterisco.



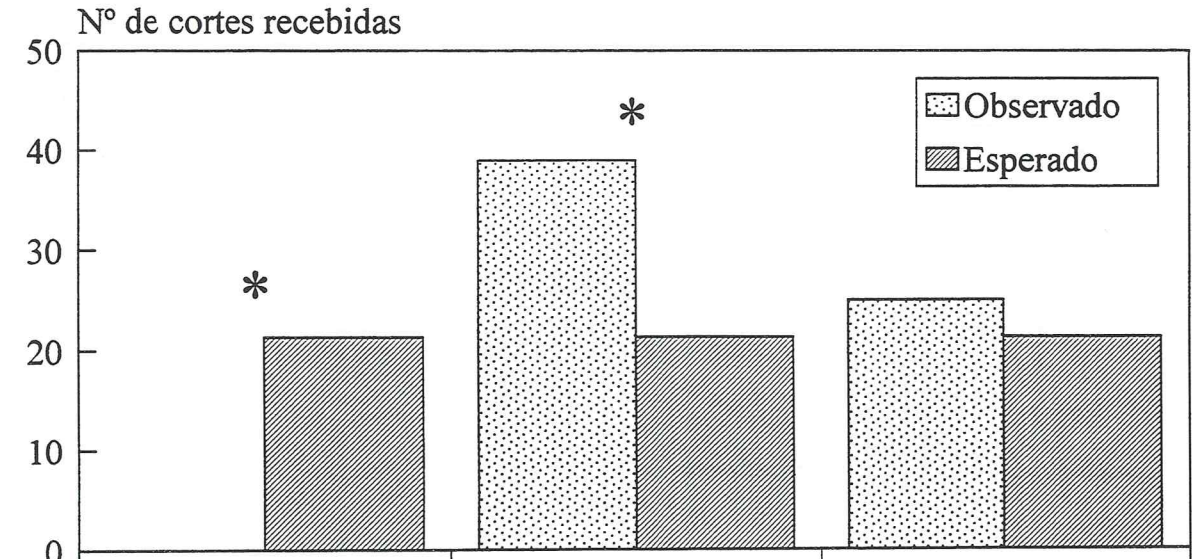
	Dominantes	Intermédios	Subordinados
Observado	42	22	0
Esperado	21,33	21,33	21,33

Figura 12.10. Variação do número de cortes dirigidas a machos com o estatuto social do cortejador para os indivíduos do estudo 1. As classes com diferenças significativas entre os valores observados e as frequências esperadas estão assinaladas com um asterisco.



	Dominantes	Intermédios	Subordinados
Observado	105	75	0
Esperado	60	60	60

Figura 12.11. Variação do número de cortes dirigidas a fêmeas com o estatuto social do cortejador para os indivíduos do estudo 1. As classes com diferenças significativas entre os valores observados e as frequências esperadas estão assinaladas com um asterisco.



	Dominantes	Intermédios	Subordinados
Observado	0	39	25
Esperado	21,33	21,33	21,33

Figura 12.12. Variação do número de cortes recebidas com o estatuto social do cortejado para os indivíduos do estudo 1. As classes com diferenças significativas entre os valores observados e as frequências esperadas estão assinaladas com um asterisco.

12.4. DISCUSSÃO

As arenas reprodutoras dos machos de *O. mossambicus*, parecem ser um sistema de acasalamento bastante competitivo no qual, devido aos custos energéticos da territorialidade aliados à supressão da actividade alimentar, os machos só conseguem manter os territórios por um período restrito de tempo (Bowen, 1984; Turner, 1986). Este facto parece ter algumas consequências comportamentais e evolutivas:

(a) os machos territoriais tentam maximizar o seu sucesso reprodutor recorrendo a fertilizações parasitas;

(b) os machos tentam estabelecer e defender territórios em períodos nos quais a probabilidade de as fêmeas virem desovar à arena é maior; deste modo é favorecida a evolução de feromonas sexuais femininas, libertadas por fêmeas vitelogénicas que informem os machos da proximidade da ovulação;

(c) os machos com menores habilidades competitivas [*i.e.* "resource holding potential" (RHP) *sensu* Parker, 1974] tentam manter-se no interior das arenas e obter fertilizações parasitas e/ou territórios vagados por um macho territorial.

Os dados obtidos no presente estudo apoiam a existência de um cenário deste tipo no sistema de acasalamento de *O. mossambicus*.

Foi detectada uma sincronização no comportamento reprodutor dos machos (*i.e.* adoptar coloração nupcial negra e construir ninhos), a qual poderá ser uma resposta à presença de fêmeas ovuladas no aquário. Esta resposta poderá ser mediada pela existência de feromonas sexuais femininas nas fêmeas ovuladas, as quais podem não ser mais do que os próprios metabolitos dos esteróides envolvidos na ovulação (*e.g.* 17,20β-P e/ou 17,20α-P) como está descrito para outros Teleósteos (*e.g. Carassius auratus*, Sorensen e Scott, 1994). De facto existem alguns dados na literatura que apontam para a existência de feromonas sexuais femininas em *O. mossambicus*. Silverman (1978b) observou que nesta espécie machos com acesso ilimitado a fêmeas maduras apresentam taxas de corte superiores a machos apenas com contacto visual com as fêmeas, e Falter e Dolisy (1989) mostraram que em testes de escolha os machos apresentam uma preferência por compartimentos com água de manutenção de fêmeas ovuladas, em oposição a compartimentos com água de manutenção de fêmeas não ovuladas ou de água pura. Embora estes resultados indiciem a existência de uma feromona feminina que promove a expressão de comportamentos de orientação e de corte, não é de excluir a hipótese da existência de efeitos sobre o sistema reprodutor masculino. No caso desta hipótese se vir a verificar ela teria o efeito de acertar os estádios de maturação dos machos com os das fêmeas, evitando os machos estarem a investir em reprodução, quer fisiologicamente quer

comportamentalmente, em períodos em que não existe disponibilidade de fêmeas maduras. Esta hipótese parte do pressuposto de as fêmeas se deslocaraem para as arenas reprodutoras em massa, ou de os machos, antes de formarem as arenas, estarem em contacto próximo com as fêmeas, no mesmo cardume. De facto, se as fêmeas viessem às arenas uma a uma, ou poucas de cada vez, durante um período longo, os machos não poderiam "saber" quando valeria a pena estabelecer territórios com base nos sinais fracos de uma ou de outra fêmea.

Por outro lado, as fêmeas beneficiariam com este sistema ao promoverem a competição entre os machos na altura em que estão prestes a desovar. Assim, a libertação de uma feromona de preparação ("primer pheromone"), garantir-lhes-ia não só a fertilização subsequente das posturas, uma vez que induziria a maturação e/ou espermiação dos machos, mas também a possibilidade de poder escolher o par de entre um conjunto de machos maduros que competem entre si. Este fenómeno funcionaria assim indirectamente como um mecanismo de incitamento à competição intra-sexual masculina.

Mecanismos de incitamento feminino directo à competição de machos semelhantes, embora utilizando outros canais de comunicação, têm sido descritos para Vertebrados e Invertebrados. As fêmeas de Elefante-marinho (*Mirounga angustirostris*) (Cox e LeBoeuf, 1977) e do Elefante africano (*Loxodonta africana*) (Poole, 1989) emitem vocalizações de protesto quando são montadas, o que atrai outros machos ao local promovendo a competição entre eles. Do mesmo modo as fêmeas do Caranguejo-violinista neo-tropical *Uca deichmani* resistem aos machos quando montadas e tentam escapar atraindo outros machos que vão competir entre si pela sua posse (Zucker, 1983).

Parece assim existir vantagens para ambos os sexos na evolução de uma feromona de preparação feminina, a qual explicaria a sincronização observada dos episódios de reprodução.

Esta sincronização reprodutora, ao promover a competição entre os machos num período restrito de tempo, iria gerar a existência de machos que não conseguem estabelecer e defender territórios, o que por sua vez constituiria um precedente para a evolução de fertilizações parasitas. De facto observa-se nos grupos cativos de *O. mossambicus* a existência de indivíduos "semi-territoriais", isto é, que tentam escurecer e estabelecer territórios no substrato mas que não são bem sucedidos. É de supor a existência deste tipo de machos nas arenas na natureza, os quais parecem constituir uma reserva de potenciais machos territoriais que assumem o estatuto territorial quando as oportunidades surgem. A presença de machos no interior das arenas vem por sua vez proporcionar a ocorrência de fertilizações parasitas as quais são facilitadas pela grande densidade de ninhos usualmente observada nas colónias de *O.*

mossambicus (ver capítulo 3). Nestas condições seria também previsível que não apenas os machos não-territoriais recorressem a fertilizações parasitas para aumentarem o seu sucesso reprodutor, que aliás de outro modo seria nulo pelo menos até conseguirem estabelecer um território, mas também os machos territoriais pudessem, sem grandes riscos de perder os seus territórios, interferir com os acasalamentos dos vizinhos tentando obter mais algumas fertilizações extra.

Um sistema deste género, com múltiplas interferências nos acasalamentos, constituiria uma força selectiva para que as fêmeas não desovassem num único acto, dividindo os ovos de uma postura por vários actos de desova, deste modo não colocando em risco toda a postura num único episódio de desova, o qual iria, ainda por cima, ser mais vulnerável por ter necessariamente de ser mais longo. A divisão das posturas em vários actos de desova sucessivos, criou por seu lado o antecedente necessário para a evolução da poliandria. Como foi observado no presente estudo as fêmeas podem não realizar as várias desovas sucessivas com o mesmo macho, sendo as mudanças de ninho e de macho facilitadas pelas interferências de terceiros nos acasalamentos. Este comportamento poderá ainda favorecer as fêmeas por uma segunda via, se se verificar um decréscimo da viabilidade/quantidade do esperma em ejaculações sucessivas com uma concomitante diminuição da taxa de fertilização dos ovos, como foi demonstrado para o Tetra amarelo (Nakatsuru e Kramer, 1982).

A ocorrência de paternidade múltipla da mesma postura em Tilápia pode ser demonstrada pelo incidente descrito por Hulata *et al.* (1981). Num projecto de aquacultura em que se recorria à hibridação entre *O. niloticus* (fêmea) e *O. urolepis hornorum* (macho), colocava-se em cada tanque de reprodução um macho de *O. hornorum* conjuntamente com 7 fêmeas de *O. niloticus*. Acidentalmente, devido a um erro na avaliação do sexo dos indivíduos, num dos tanques foram introduzidos dois machos de *O. niloticus*. Posteriormente quando as progénies deste tanque foram analisadas verificou-se que em apenas 2 das 6 progénies obtidas os indivíduos apresentavam as características morfológicas típicas dos híbridos. Nas restantes 4 progénies os indivíduos podiam ser claramente divididos quanto à sua morfologia em híbridos e em linhagem pura de *O. niloticus*. Posteriormente o recurso a marcadores genéticos com técnicas de electroforese permitiu confirmar a paternidade múltipla das posturas, tendo estas sido fertilizadas parcialmente pelo(s) macho(s) de *O. niloticus*. Estes autores (Hulata *et al.*,1981) não referem no entanto se os machos de *O. niloticus* presentes detinham territórios e cortejavam as fêmeas ou se pelo contrário adoptavam uma postura não-territorial. Não é assim possível concluir se este episódio confirma o sucesso de fertilizações parasitas ou de poliandria activa pelas fêmeas de Tilápia.

Mais recentemente, Kellogg *et al.* (1995), recorrendo ao estudo da variação de microsatélites de ADN com técnicas de "DNA fingerprinting", demonstraram a

existência de paternidade múltipla de posturas em várias espécies de Ciclídeos do lago Malawi com um sistema de reprodução em arenas, semelhante ao de *O. mossambicus*.

Uma outra característica interessante da etologia da reprodução desta espécie é a ocorrência de cortes entre machos. Este fenómeno havia já sido descrito para outras espécies de Teleósteos (*e.g. Pungitius pungitius*, Morris, 1952) e mesmo para *O. mossambicus* existem descrições na literatura deste fenómeno (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Neil, 1964; Pinheiro, 1980). No entanto, nunca se tentaram compreender as suas funções adaptativas, tendo por vezes sido tido como um comportamento maladaptativo. Para se tentar procurar uma explicação funcional para a ocorrência das cortes entre machos o fenómeno deve ser analisado por dois pontos de vista: o do peixe que corteja e o do peixe cortejado.

Porque é que os machos dominantes cortejam outros machos?

Os dados apresentados indicam que os machos territoriais podem discriminar os conspecíficos masculinos dos femininos. A maior incidência de cortes entre machos em grupos só de machos pode ser explicada por um nível motivacional elevado nos machos dominantes, que diminuiria o seu limiar de resposta a potenciais parceiros sexuais, tornando-os menos discriminativos. Baerends e Baerends van Roon (1950) observaram machos territoriais de *O. mossambicus* a cortejarem inclusivamente indivíduos de outras espécies. No entanto, como os dados apresentados mostram, as cortes dirigidas a outros machos nunca têm como alvo outro macho territorial ou com coloração escura, pelo que a coloração negra dos machos deve funcionar como um sinal inibitório da expressão dos comportamentos sexuais, sendo os machos pouco discriminativos para os indivíduos de coloração neutra, que é aliás a coloração típica das fêmeas. Esta resposta pouco selectiva a indivíduos de coloração clara poderá ter sido favorecida pelas condições em que as cortes ocorrem. Em arenas reprodutoras com grande densidade de ninhos, os machos teriam vantagem em atrair prontamente a atenção de qualquer fêmea visitante, trazendo-a para o ninho, e avaliando numa segunda fase as suas "qualidades", podendo então prosseguir com o acasalamento ou abortar a corte.

Porque é que o machos se comportam como fêmeas quando cortejados?

Noutras espécies de Ciclídeos cujos machos também se reproduzem em arenas, tal como é o caso de *O. mossambicus* (Fryer e Iles, 1972; Bruton e Boltt, 1975), alguns dos machos não defendem territórios mas movimentam-se no interior da arena comportando-se como "floaters" (*e.g.* Rossiter, 1992; Chan, 1987).

No presente estudo os machos cortejados são indivíduos de estatuto intermédio e subordinados, os quais não conseguem manter territórios por períodos longos de tempo e tendem a ser de menores dimensões que os dominantes. O facto de se comportarem como fêmeas pode permitir a estes peixes não-territoriais inibir a agressão dos territoriais possibilitando-lhes inclusive frequentarem a vizinhança dos ninhos, o que pode ser útil como parte de uma táctica para obtenção de fertilizações parasitas, ou simplesmente como um meio para evitarem ser ejectados da colónia devido aos efeitos combinados da agressão de vários machos territoriais.

Uma hipótese menos parcimoniosa poderia envolver os machos cortejados num processo indirecto de competição de esperma, uma vez que forçam os territoriais a gastarem esperma, tempo e reservas energéticas com eles. Segundo esta hipótese mesmo nos casos em que os cortejadores não libertam esperma, o tempo e energia gastos na corte vai diminuir o tempo de ocupação do território, resultando na antecipação da vaga do território que defendem o qual poderia vir a ser ocupado pelo cortejado. Para esta hipótese ser viável seria necessário que existisse uma grande assimetria nos gastos energéticos das cortes entre cortejados e cortejadores, o que até se deve verificar dado o papel passivo dos cortejados face à "hiperactividade" dos cortejadores.

Em qualquer dos casos, o facto de que mecanismos que controlam a corte levarem, em certas circunstâncias, os machos a cortejarem outros machos pode ser de interesse evolutivo, uma vez que pode constituir um ponto de partida para a evolução da mimetização dos comportamentos femininos e de tácticas alternativas de acasalamento.

13.
COMPORTAMENTO SOCIAL DAS FÊMEAS DURANTE O CICLO DE INCUBAÇÃO BUCAL: AGRESSÃO MATERNAL E CANIBALISMO FILIAL

13.1. INTRODUÇÃO

Existe uma vasta literatura sobre o comportamento de incubação bucal em Ciclídeos e sobre os aspectos da relação entre o adulto incubador e as crias, entre os quais se destacam os estudos sobre os estímulos utilizados pelas crias para reconhecerem o progenitor e vice-versa e a existência de fenómenos de impregnação ("imprinting") (Baerends e Baerends van Roon, 1950; Destexhe-Gomez e Ruwet, 1967; Fryer e Iles, 1972; Russock e Schein, 1974, 1977; Russock, 1986). No entanto são poucos os estudos sobre as alterações do comportamento social das fêmeas durante o ciclo de incubação bucal (ver Fryer e Iles, 1972 para aspectos qualitativos). Por outro lado, embora o comportamento social dos machos se encontre bem caracterizado nos Ciclídeos o mesmo não acontece para o comportamento das fêmeas.

Em *Oreochromis mossambicus* durante a época de reprodução as fêmeas não coabitam com os machos, os quais formam agregações de territórios reprodutores. Não se conhece o comportamento das fêmeas, desconhecendo-se se formam grupos coesos nos quais existe uma hierarquia social da qual dependa, por exemplo, o sucesso reprodutor. Num Lagarto partenogénico (*Cnemidophorus uniparens*) foi descrita a existência de hierarquias de dominância entre as fêmeas, a qual influenciava a sua fecundidade, reduzindo-se o intervalo inter-posturas e aumentando a dimensão das posturas nas fêmeas dominantes (Grassman e Crews, 1987). Em Teleósteos está descrita a existência de hierarquias de dominância em grupos cativos de fêmeas (*e.g. Poecilia reticulata*: Gorlick, 1976; *Betta splendens*: Elwood e Rainey, 1983), mas a sua relação com o sucesso reprodutor ou com a fecundidade nunca foi investigado.

Em *O. mossambicus* sabe-se que as fêmeas maduras visitam as arenas reprodutoras dos machos, as quais abandonam com os ovos na boca após a postura. De seguida dirigem-se para águas pouco profundas e com vegetação abundante na qual permanecem durante o ciclo de incubação bucal sem se alimentarem (Bruton e Boltt, 1975). A caracterização comportamental do ciclo de incubação bucal encontra-se no entanto por realizar. Smith e Haley (1988) caracterizaram o ciclo reprodutor das fêmeas desta espécie do ponto de vista endócrino e do desenvolvimento ovárico.

Este capítulo tem por objectivo caracterizar quantitativamente o ciclo de incubação bucal das fêmeas do ponto de vista comportamental e de investimento parental.

13.2. MÉTODOS

Foi registado o comportamento social de fêmeas de *O. mossambicus* adultas segundo uma amostragem animal-focal durante o ciclo de incubação bucal em dois tanques comunitários, cada um contendo 14 indivíduos (ver tabela 13.1 para dados sobre a composição dos grupos).

Tabela 13.1. Composição dos grupos utilizados.

	Grupo 1	Grupo 2
N	14	14
Proporção dos sexos (MM: FF)	9:5	9:5
CS fêmeas (cm)	8-12	8-10.5
CS machos (cm)	8-16	7.5-14
Nº máximo de machos territoriais	3	4
Nº máximo de fêmeas a incubar	3	2

Foi utilizada uma amostragem animal focal com dois métodos de registo:

(a) registo de interacções sociais (*sensu* Martin e Bateson, 1993), no qual se anotava a identidade do oponente (*i.e.* macho territorial, macho não-territorial, fêmea a incubar, ou fêmea) e quem era o dador e o receptor dos actos agonísticos;

(b) registo temporal instantâneo (*sensu* Martin e Bateson, 1993), em que a intervalos de 30 segundos se anotavam as actividades em que o animal estava envolvido e que podiam ser: nadar, pairar, alimentação, interacção agonística (dador ou receptor), mordiscar à superfície. Foram também registados os padrões de coloração das fêmeas (para uma descrição dos padrões de coloração ver capítulo 6).

Foram realizadas quatro sessões de 5 minutos por indivíduo para cada um dos métodos de registo.

Para cada fêmea a incubar observada era também observada no mesmo aquário uma fêmea que não se encontrava a incubar, para se obter um controlo exactamente nas mesmas condições da dinâmica social específica de cada grupo.

Após o final da sessão de observação as fêmeas observadas eram capturadas e as seguintes medidas eram amostradas: CS, peso, número de ovos/ alevins e seu estádio de desenvolvimento, CS médio dos embriões/ alevins, após o que as fêmeas

eram devolvidas ao aquário de origem. As fêmeas foram classificadas em três categorias quanto à fase do ciclo de incubação bucal em que se encontravam:

(a) fase 1 - incubar ovos;

(b) fase 2 - incubar alevins com saco vitelino presente total ou parcialmente (*i.e.* com alimentação endógena);

(c) incubar alevins com o ânus aberto e sem saco vitelino ou apenas vestigial (*i.e.* com alimentação exógena).

Cada fêmea foi apenas observada uma vez em cada uma destas fases de modo a evitar erros de pseudoreplicação, *i.e.* contabilizar duas ou mais vezes o mesmo indivíduo como observações independentes do mesmo tratamento (Machlis *et al.*, 1985). As amostras comportamentais de cada uma das fases do ciclo de incubação bucal foram comparadas, através de uma estatística não-paramétrica (teste de Mann-Whitney), com os grupos de fêmeas controlo respectivos (*i.e.* observadas aquando das observações dos indivíduos contabilizados no tratamento específico: fase 1, fase 2 e fase 3 do ciclo de incubação bucal). Este procedimento permite corrigir o grupo controlo para os possíveis efeitos da presença de indivíduos do tratamento na dinâmica do grupo, como por exemplo o facto de a presença de uma fêmea a incubar aumentar o número de interacções agonísticas que ocorrem no grupo.

Foi utilizado o teste de aderência com estatística de simulação (ADERSIM) para se avaliar se existiam classes (*i.e.* machos, machos territoriais, fêmeas e fêmeas a incubar) preferenciais de indivíduos com as quais as fêmeas a incubar interagiam, quer como dadoras quer como receptoras de actos agonísticos. Os valores esperados para estes testes de aderência foram calculados tendo em conta o número de indivíduos de cada classe presentes no momento das observações.

Para o estudo da variação da dimensão das posturas com variáveis comportamentais e biométricas recorreu-se à análise de variância não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis) seguida de comparações múltiplas a posteriori com o teste de Dunn, e a correlações parcias.

13.3. RESULTADOS

13.3.1. Variação da Agressividade das Fêmeas com o Ciclo de Incubação Bucal

As fêmeas de *O. mossambicus* que não se encontram a incubar apresentam níveis muito baixos de interacções agonísticas quer entre si quer com os machos (ver capítulo 7), e o seu padrão de coloração é Neutro (ver capítulo 6). No entanto, durante o ciclo de incubação bucal as fêmeas alteram o seu comportamento social e o seu padrão de coloração. As fêmeas tornam-se agressivas para com os outros

indivíduos que coabitam no mesmo tanque, mas, ao contrário dos machos, não defendem um território no substrato, mas antes uma área mais ou menos vasta na sua vizinhança que não permitem que seja invadida por outro peixe. Parecem assim defender territórios móveis centrados nelas próprias. Simultaneamente o seu padrão de coloração altera-se, aparecendo gradualmente durante o ciclo de incubação bucal um padrão que, quando está expresso na sua plenitude, se caracteriza por um corpo Cinzento1 com o padrão de bandas horizontais sobreposto, olhos com barra horizontal, lábios escuros e uma mancha mandíbular típica. O aumento da agressividade em fêmeas incubadoras parece ser induzido pela presença da postura na cavidade bucal uma vez que após a remoção das posturas as fêmeas apresentam-se menos agressivas, e um dia após a remoção já mostram perfis de agressividade semelhantes aos das fêmeas não incubadoras.

Para se avaliar a influência das características da postura no comportamento agonístico das fêmeas comparou-se o comportamento de fêmeas a incubar posturas em diferentes fases de desenvolvimento com fêmeas controlo dos mesmos grupos (ver figura 13.1), e calcularam-se as correlações parciais entre o sucesso nas interacções agonísticas (V-D) e o estádio de desenvolvimento da postura, e a dimensão da postura.

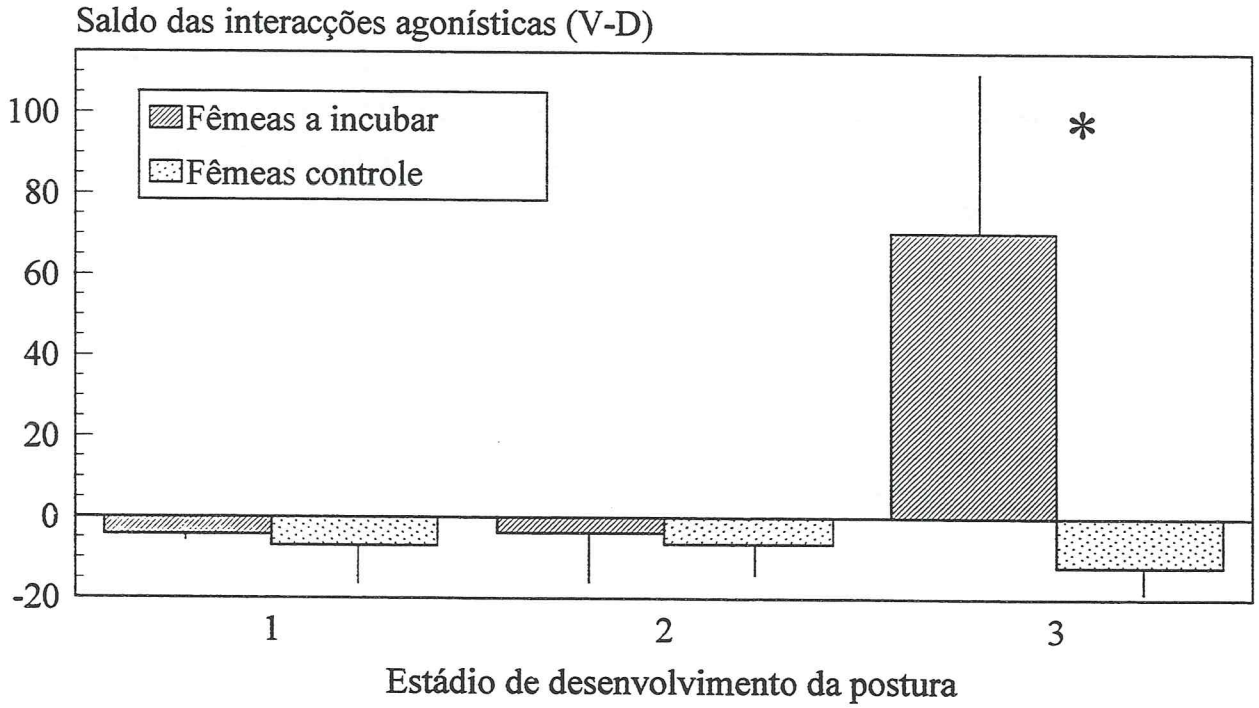


Figura 13.1. Variação do saldo das interacções agonísticas (vitórias -derrotas/20 min) ao longo do ciclo de incubação bucal em fêmeas incubadoras e em fêmeas controlo de *O. mossambicus*. As classes de estádios de desenvolvimento das posturas são: (1) ovos; (2) alevins com saco vitelino; (3) alevins com alimentação exógena. Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre as fêmeas incubadoras e as fêmeas controlo para uma dada fase do ciclo de incubação.

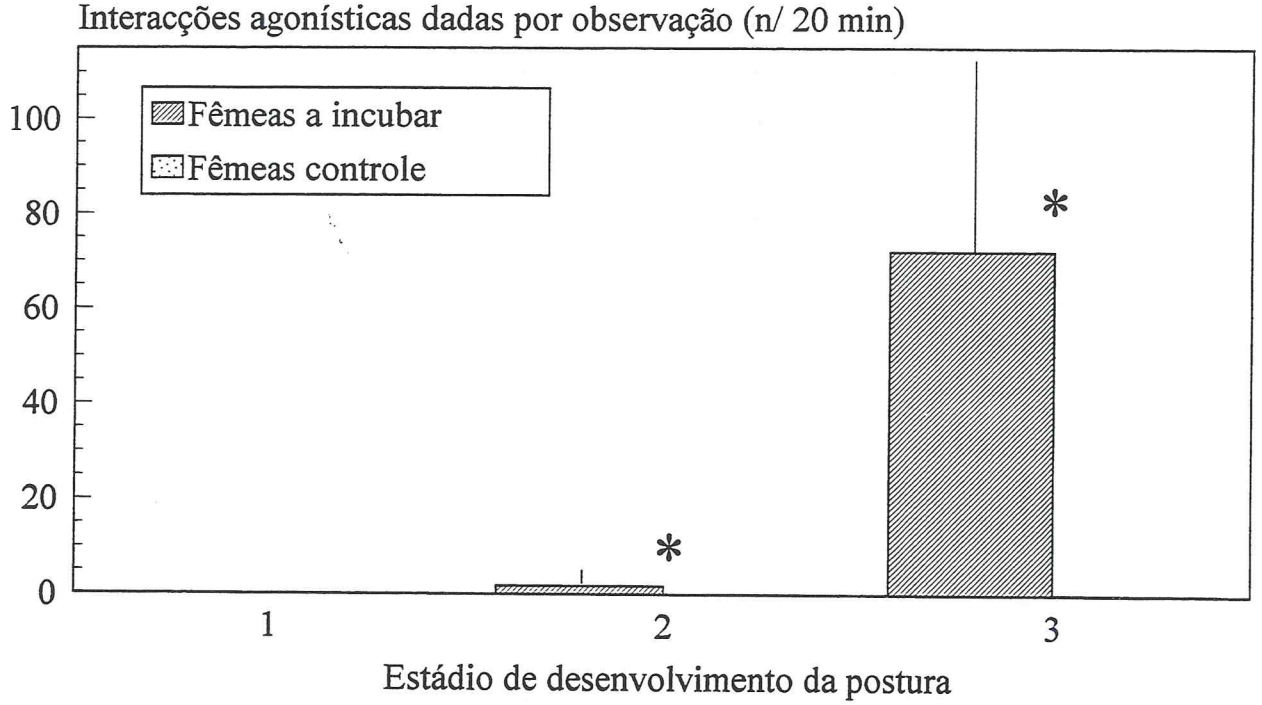


Figura 13.2. Variação do número de actos agonísticos dados por observação (vitórias/ 20 min) ao longo do ciclo de incubação bucal em fêmeas incubadoras e em fêmeas controlo de *O. mossambicus*. As classes de estádios de desenvolvimento das posturas são: (1) ovos; (2) alevins com saco vitelino; (3) alevins com alimentação exógena. Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre as fêmeas incubadoras e as fêmeas controlo para uma dada fase do ciclo de incubação.

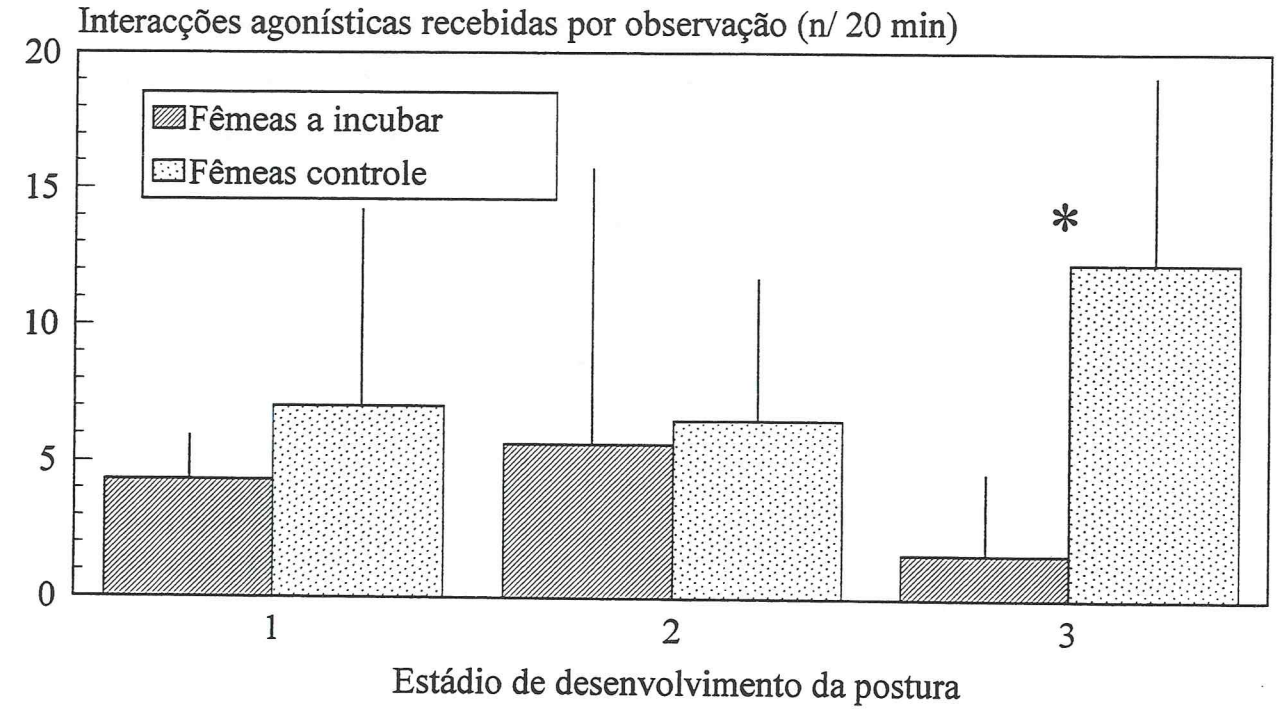


Figura 13.3. Variação do número de actos agonísticos recebidos por observação (derrotas/ 20 min) ao longo do ciclo de incubação bucal em fêmeas incubadoras e em fêmeas controlo de *O. mossambicus*. As classes de estádios de desenvolvimento das posturas são: (1) ovos; (2) alevins com saco vitelino; (3) alevins com alimentação exógena. Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre as fêmeas incubadoras e as fêmeas controlo para uma dada fase do ciclo de incubação.

Na fase 1 (*i.e.* ovos) e na fase 2 (*i.e.* alevins com saco vitelino) do ciclo de incubação bucal as fêmeas que incubam ovos não apresentam um saldo de interacções agonísticas diferente do das fêmeas controlo, sendo este negativo para ambas (teste de Mann-Whitney: fase 1: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 6$, $U = 15$, $z=-0.48$, $p = 0.63$; fase 2: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 8$, $U = 16$, $z=-1.68$, $p=0.09$). Em contraste, na fase 3 do ciclo de incubação bucal (*i.e.* alevins com alimentação exógena) as fêmeas incubadoras apresentam um aumento do saldo das interacções agonísticas significativamente diferente do grupo de controlo (teste de Mann-Whitney: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 8$, $U = 0$, $z=-3.36$, $p <0.001$).

Para se averiguar se esta diferença se ficou a dever a um aumento dos actos agonísticos dados ou a uma diminuição das interacções agonísticas recebidas compararam-se as fêmeas incubadoras com os respectivos grupos controlo para cada uma das fases do ciclo de incubação bucal no que diz respeito ao número de actos agonísticos dados e recebidos.

Na fase 1 do ciclo de incubação bucal nenhum dos grupos de fêmeas apresenta actos agonísticos dados (ver figura 13.2), e não diferem no número de interacções agonísticas recebidas (teste de Mann-Whitney: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 6$, $U = 15$, $z=-0.48$, $p = 0.63$)(ver figura 13.3).

Na fase 2 do ciclo de incubação as fêmeas incubadoras apresentam já um maior número de interacções agonísticas dadas do que o grupo controlo (teste de Mann-Whitney: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 8$, $U = 12$, $z=-2.1$, $p <0.01$)(ver figura 13.2), continuando a não se verificar diferença entre elas quanto ao número de interacções agonísticas recebidas (teste de Mann-Whitney: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 8$, $U = 19.5$, $z=-1.31$, $p = 0.19$)(ver figura 13.3).

Na fase 3 do ciclo as fêmeas incubadoras apresentam um número significativamente maior de interacções dadas (teste de Mann-Whitney: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 8$, $U = 0$, $z=-3.36$, $p <0.001$) (ver figura 13.2) e um número menor de interacções recebidas (teste de Mann-Whitney: $n_{incubadoras} = n_{controle} = 6$, $U = 3$, $z=-3.04$, $p <0.01$)(ver figura 13.3) quando comparadas com as fêmeas controlo.

Os resultados das correlações parciais confirmam estes resultados: a agressividade das fêmeas aumenta com o estádio de desenvolvimento da postura (V-D vs. estádio de desenvolvimento controlando para dimensão da postura: $r= 0.66$, $n=22$, $p<0.01$) e não se observa um efeito da dimensão da postura nos níveis de agressividade das fêmeas (V-D vs. dimensão da postura controlando para o estádio de desenvolvimento: $r= 0.06$, $n=22$, $p=0.81$), possivelmente porque, devido à mortalidade, a dimensão da postura vai diminuindo ao longo do ciclo de incubação bucal.

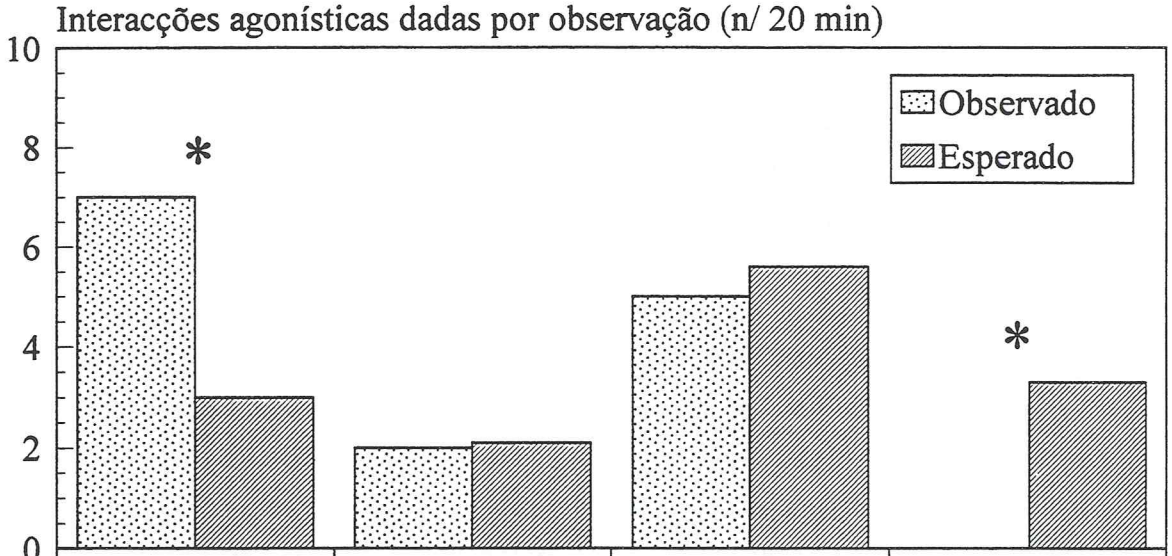
Verificou-se ainda, recorrendo a testes de aderência com estatística de simulação (ADERSIM, ver capítulo 5), que as fêmeas incubadoras atacam preferencialmente fêmeas não-incubadoras (fases 2 e 3), e atacam menos do que seria de esperar outras fêmeas incubadoras (fase 3) e machos territoriais (fases 2 e 3) (ver figuras 13.4 e 13.5). Por outro lado, estas fêmeas são mais atacadas por outras fêmeas incubadoras (fases 1 e 2) e por machos territoriais (fases 1 e 3) do que seria de esperar se as interacções agonísticas se distribuíssem aleatoriamente pelas 4 classes de indivíduos (*i.e.* machos, machos territoriais, fêmeas e fêmeas incubadoras)(ver figuras 13.6 a 13.8). Quanto às fêmeas controlo, apenas se registou uma 1 interacção agonística iniciada por um indivíduo deste grupo e foi dirigida a outra fêmea não-incubadora; as interacções agonísticas que as fêmeas controlo receberam foram preferencialmente dadas por machos territoriais (fase 1) e por fêmeas incubadoras (fases 2 e 3), tendo sido menos atacadas por outras fêmeas não incubadoras e por machos não territoriais do que seria de esperar, se as interacções agonísticas se distribuíssem aleatoriamente pelas 4 classes de indivíduos (*i.e.* machos, machos territoriais, fêmeas e fêmeas incubadoras)(ver figuras 13.9 a 13.11).

Estes resultados indicam que, em grupos captivos heterossexuais de *O. mossambicus*, as fêmeas incubadoras, a par com os machos territoriais, são os indivíduos mais agressivos, crescendo a agressividade das fêmeas com o tempo de incubação bucal e atingindo um máximo na fase em que os alevins já apresentam alimentação exógena.

13.3.2. Canibalismo Parcial das Posturas

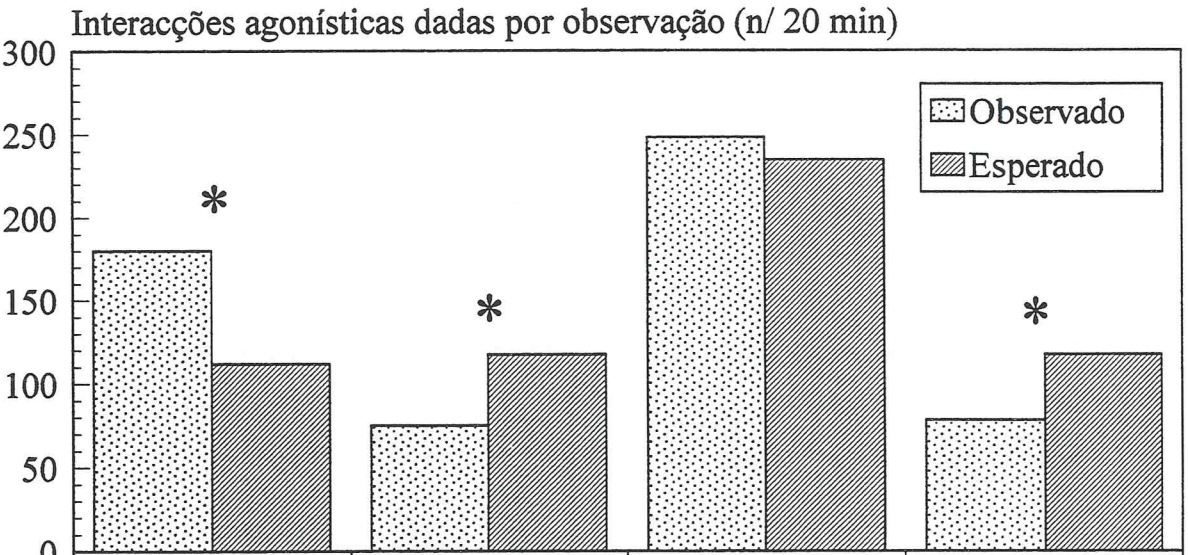
Durante todo o ciclo de incubação bucal as fêmeas suprimem quase por completo a sua actividade alimentar (ver figura 13.12), verificando-se ocasionalmente a ingestão de algumas partículas de flocos, as quais ocorrem mais já na fase 3 do ciclo de incubação bucal. No entanto, não se observa um decréscimo do factor de condição das fêmeas incubadoras, registando-se na presente amostra o facto curioso de serem as fêmeas na fase 3 as que apresentam um factor de condição mais elevado (ver figura 13.13). Paralelamente, observa-se uma diminuição do tamanho das posturas da fase 1 para a fase 3 (ver figura 13.14). Esta diminuição do tamanho da postura continua a verificar-se mesmo quando se controla para o possível efeito do tamanho das fêmeas (CS) na dimensão da postura (correlação parcial, dimensão da postura vs. estádio de desenvolvimento controlando para CS da fêmea: $r = -0.61$, $n=22$, $p<0.01$).

Este conjunto de resultados indica a existência de canibalismo parcial das posturas como estratégia reprodutora em fêmeas de *O. mossambicus*.



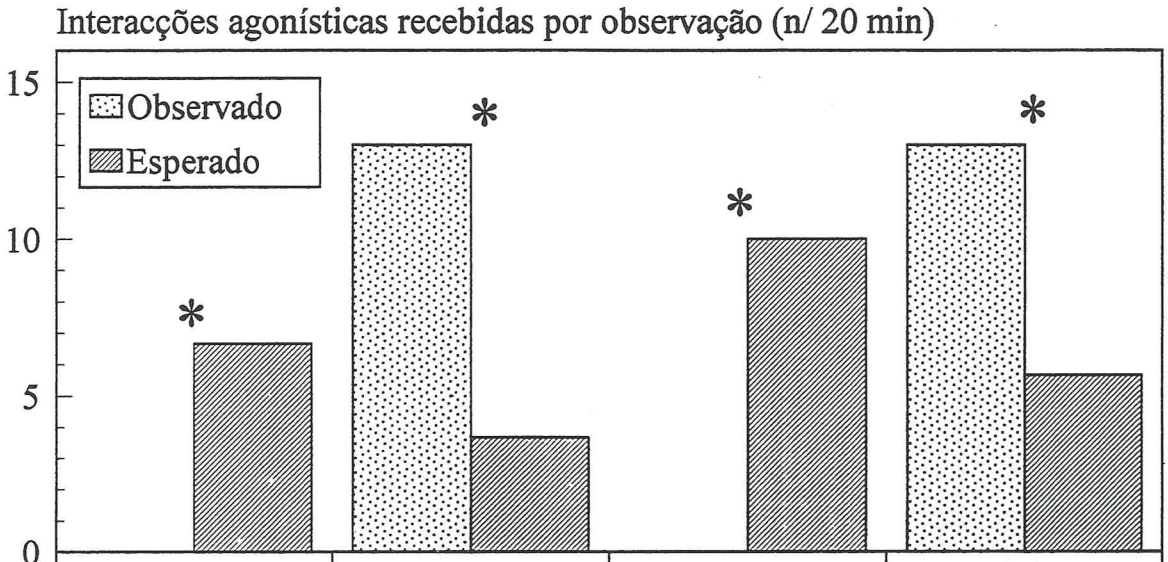
	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	7	2	5	0
Esperado	3	2,1	5,6	3,3

Figura 13.4. Distribuição das interacções agonísticas dadas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas a incubar na fase 2 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2 = 8.66$, gl = 3, $p = 0.091$). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



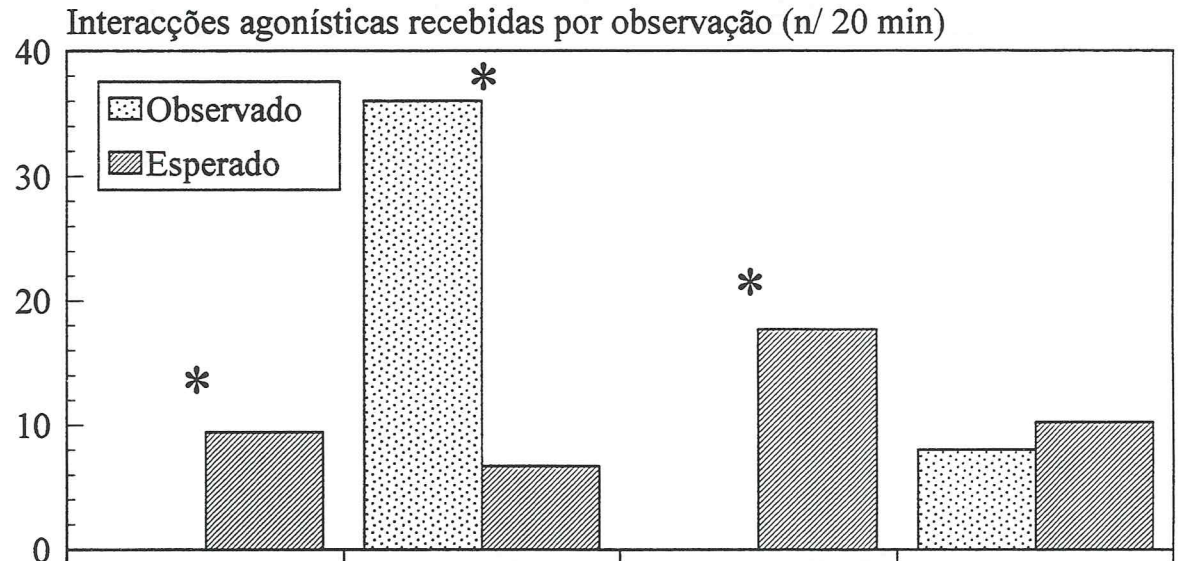
	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	180	75	248	78
Esperado	111,9	117,3	234,5	117,3

Figura 13.5. Distribuição das interacções agonísticas dadas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas a incubar na fase 3 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2 = 70.1$, gl = 3, $p < 0.001$). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



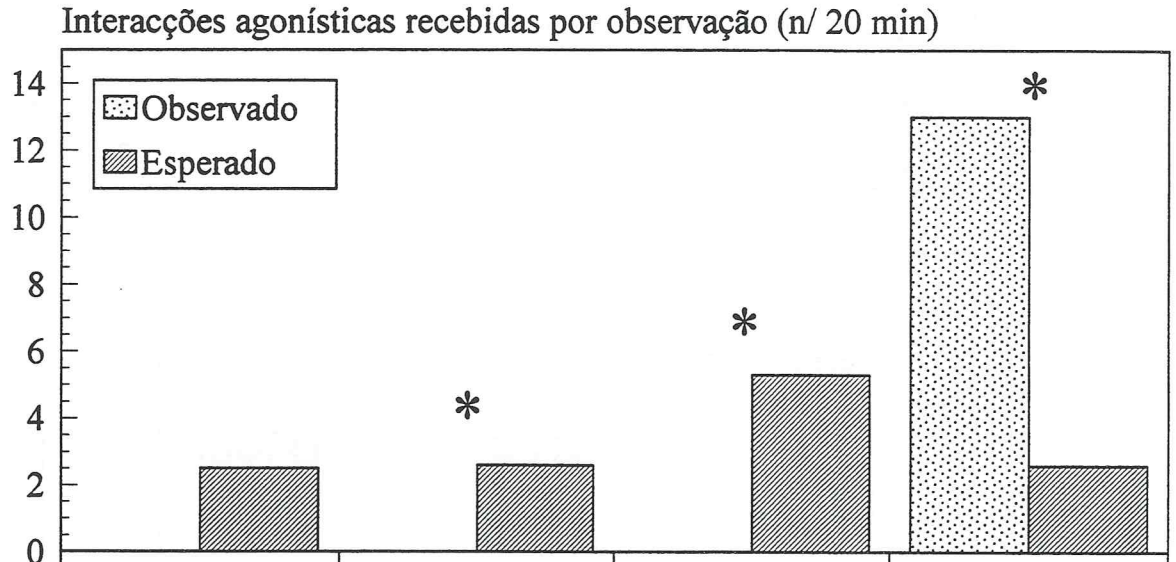
	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	0	13	0	13
Esperado	6,67	3,67	10	5,67

Figura 13.6. Distribuição das interacções agonísticas recebidas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas a incubar na fase 1 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2$ = 44.4, gl = 3, p <0.001). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



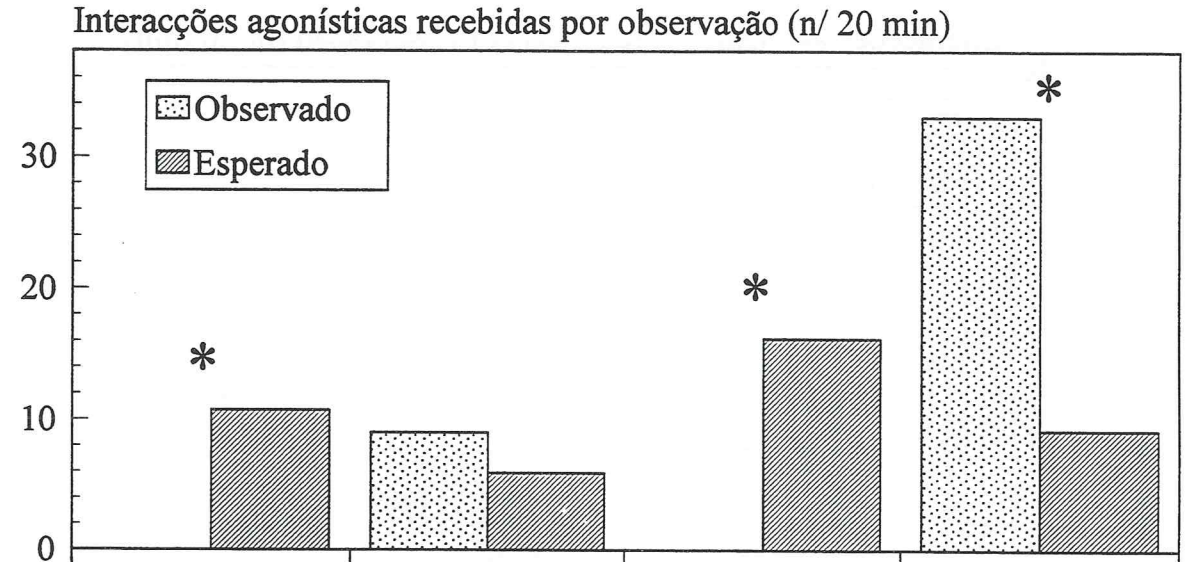
	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	0	36	0	8
Esperado	9,4	6,7	17,7	10,2

Figura 13.7. Distribuição das interacções agonísticas recebidas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas a incubar na fase 2 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2$ = 156.3, gl = 3, p <0.001). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



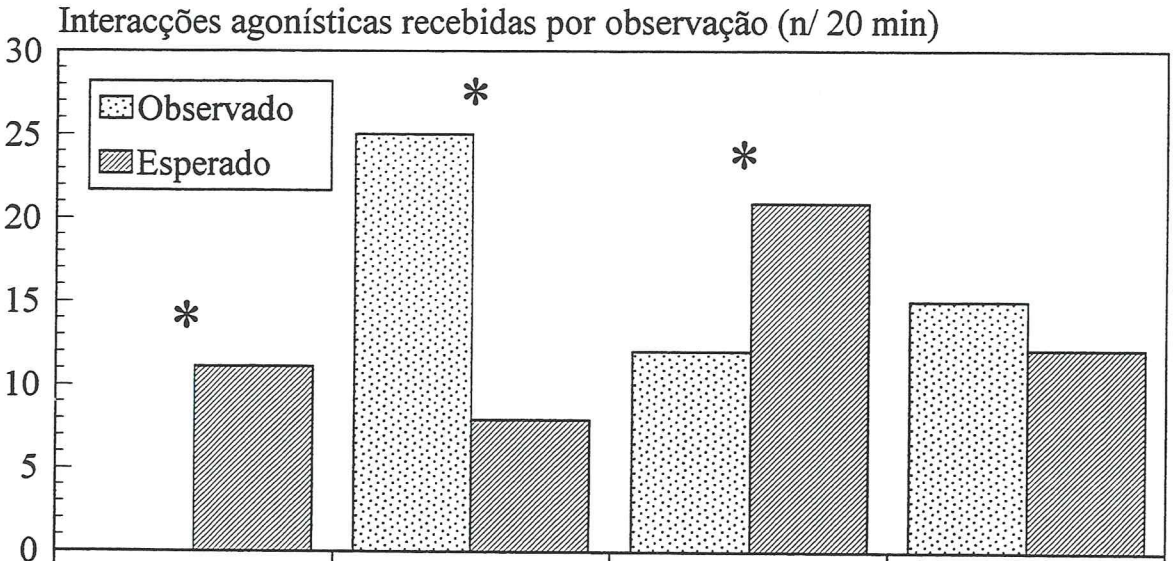
	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	0	0	0	13
Esperado	2,5	2,6	5,3	2,6

Figura 13.8. Distribuição das interacções agonísticas recebidas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas a incubar na fase 3 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2$ = 43.3, gl = 3, p <0.001). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



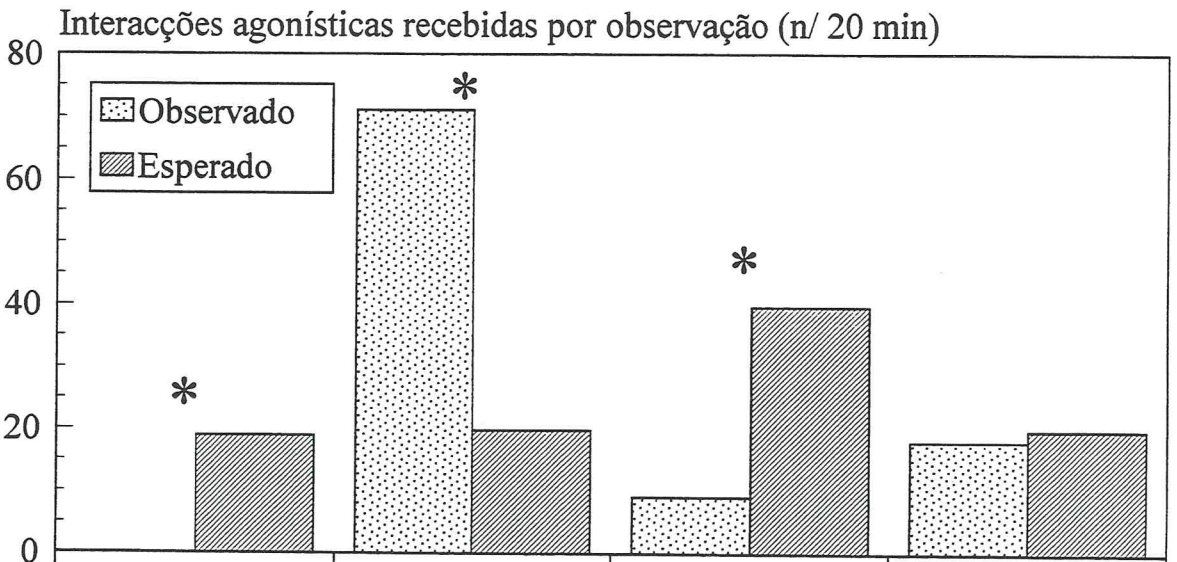
	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	0	9	0	33
Esperado	10,7	5,9	16,2	9,2

Figura 13.9. Distribuição das interacções agonísticas recebidas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas controlo na fase 1 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2$ = 92.5, gl = 3, p <0.001). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	0	25	12	15
Esperado	11,1	7,9	20,9	12,1

Figura 13.10. Distribuição das interacções agonísticas recebidas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas controlo na fase 2 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2 = 51.7$, gl = 3, $p < 0.001$). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).



	Fêmeas	Fêmeas a incubar	Machos	Machos territoriais
Observado	0	71	9	18
Esperado	18,9	19,8	39,6	19,8

Figura 13.11. Distribuição das interacções agonísticas recebidas por classes de indivíduos oponentes para fêmeas controlo na fase 3 do ciclo de incubação bucal ($\chi 2 = 172.3$, gl = 3, $p < 0.001$). Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre os valores observados e esperados para classes específicas de oponentes, detectados com o teste de aderência por simulação (ADERSIM).

Bruton e Boltt (1975) apresentam dados sobre as dimensões das posturas em diferentes estádios de desenvolvimento (*sic* "ovos, alevins novos, alevins médios e alevins avançados"). Uma análise destes dados revela também uma correlação negativa moderada entre a dimensão da postura e o seu estádio de desenvolvimento (r_S= -0.53, n= 11, p<0.10).

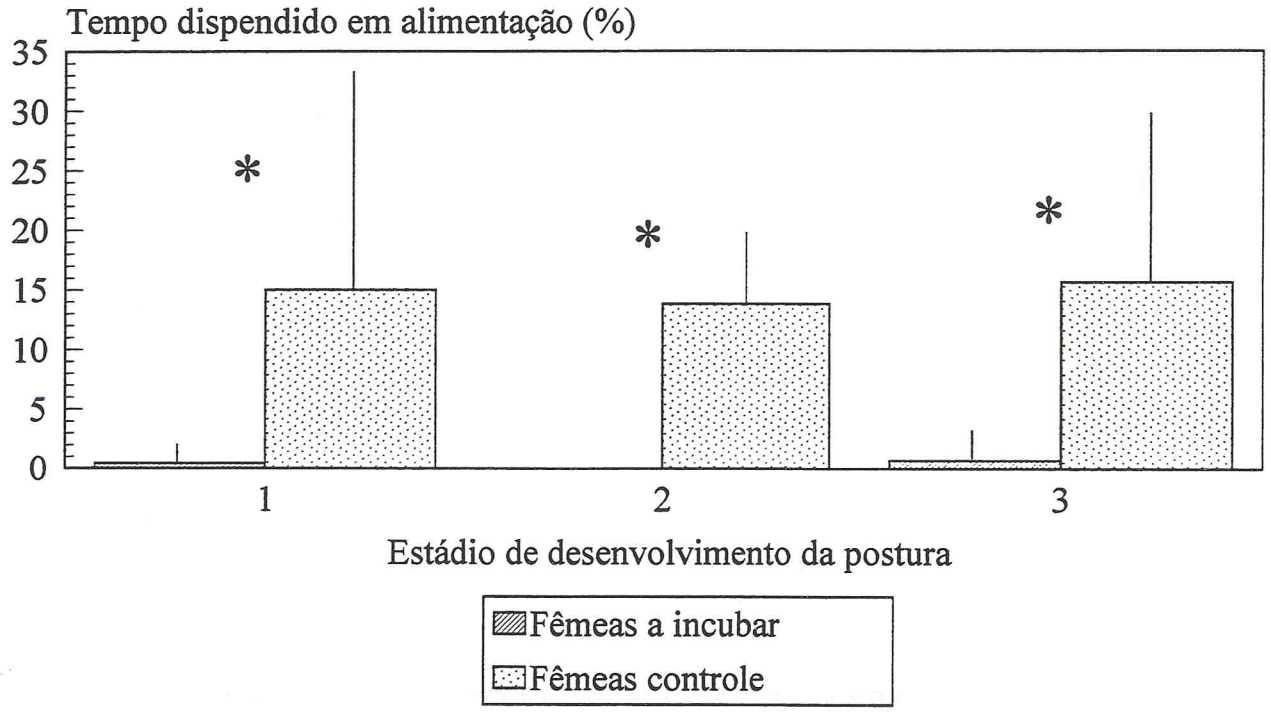


Figura 13.12. Variação do tempo despendido em alimentação (%) ao longo do ciclo de incubação bucal em fêmeas incubadoras e em fêmeas controlo de *O. mossambicus*. As classes de estádios de desenvolvimento das posturas são: (1) ovos; (2) alevins com saco vitelino; (3) alevins com alimentação exógena. Os asteriscos assinalam diferenças significativas entre as fêmeas incubadoras e as fêmeas controlo para uma dada fase do ciclo de incubação.

13.4. DISCUSSÃO

13.4.1. Função Adaptativa da Agressão Materna e seus Mecanismos Causais

Segundo a teoria do investimento parental os animais devem obedecer a um compromisso entre o investimento na postura presente com potenciais investimentos em posturas futuras (Williams, 1966). Um postulado deste princípio é de que os animais devem ajustar o seu investimento parental ao valor da postura. Da mesma forma, a teoria dos cuidados parentais prediz que os investimentos na reprodução presente devem aumentar quando a probabilidade de sucesso dessa mesma reprodução é elevada. Ajustamentos pré- e pós-postura têm sido descritos para Teleósteos em geral e para Ciclídeos em particular. No Ciclídeo sul-americano *Cichlasoma*

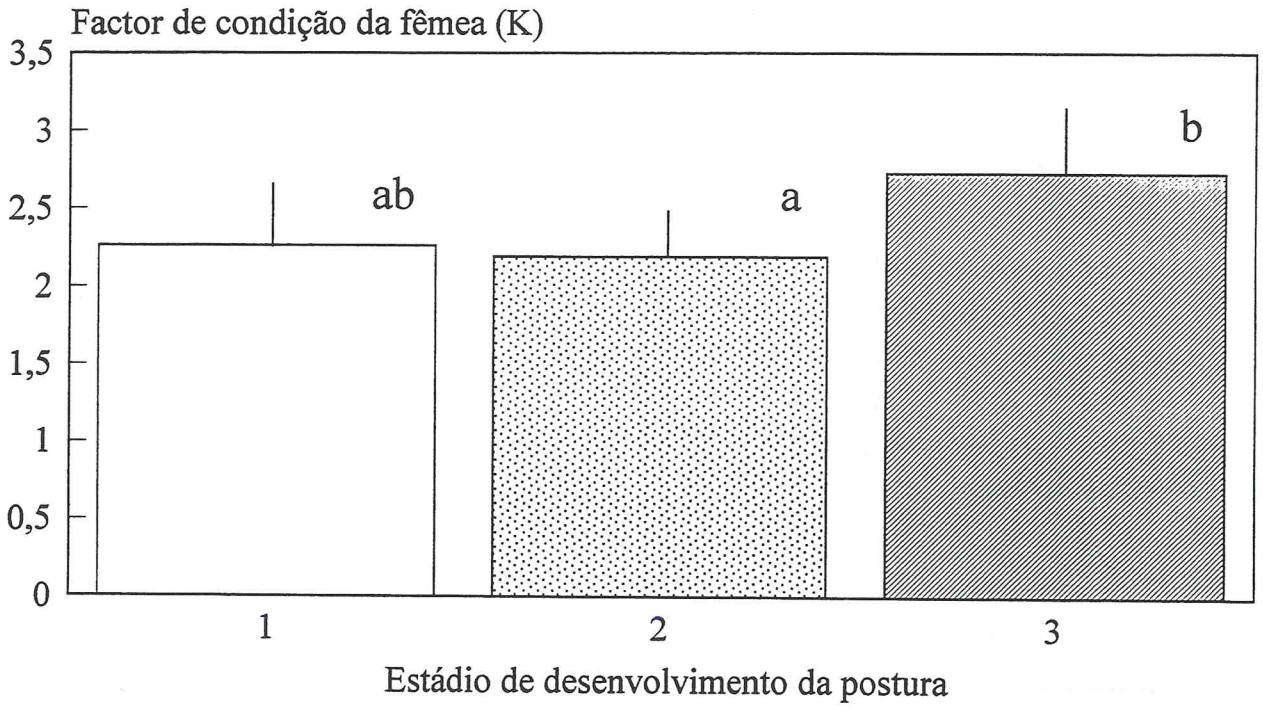


Figura 13.13. Variação do factor de condição (K) das fêmeas incubadoras ao longo do ciclo de incubação bucal: (1) ovos; (2) alevins com saco vitelino; (3) alevins com alimentação exógena (Kruskal-Wallis ANOVA: $H_{(2,N=22)}= 6.98$, $p<0.05$). Grupos homogéneos são notados com a mesma letra e grupos que apresentam diferenças significativas são notados com letras diferentes.

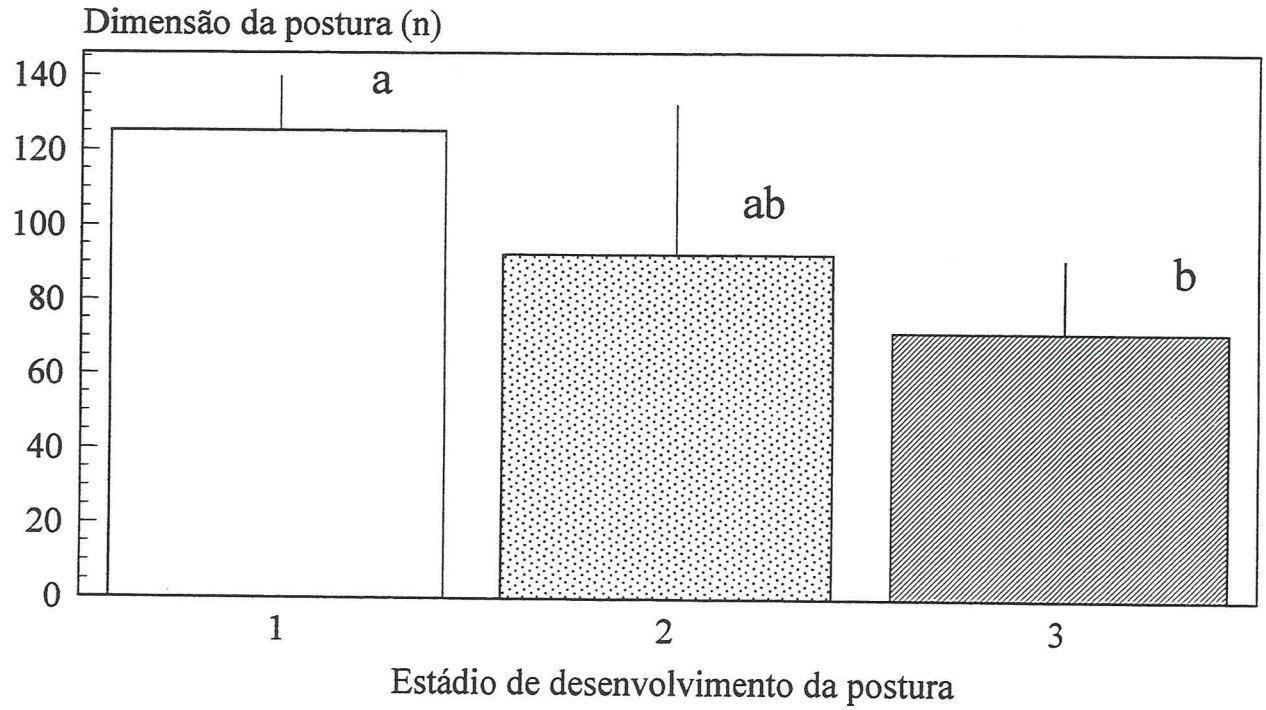


Figura 13.14. Variação da dimensão da postura em fêmeas incubadoras ao longo do ciclo de incubação bucal: (1) ovos; (2) alevins com saco vitelino; (3) alevins com alimentação exógena (Kruskal-Wallis ANOVA: $H_{(2,N=22)}= 8.49$, $p<0.05$). Grupos homogéneos são notados com a mesma letra e grupos que apresentam diferenças significativas são notados com letras diferentes.

nigrofasciatum as fêmeas ajustam o seu investimento em ovos em função de indicadores directos do sucesso reprodutor esperado, como seja a presença de potenciais predadores de ovos no local da postura. As fêmeas que se reproduzem na presença de predadores de ovos produzem posturas de menores dimensões do que fêmeas que se reproduzem na ausência dos referidos predadores (Wisenden, 1993).

Ajustamentos do comportamento parental (*i.e.* comportamento agonístico de defesa da postura e riscos tomados na presença de um predador) têm sido descritos em relação à dimensão da postura e ao estádio de desenvolvimento da postura. A prontidão e/ou a intensidade com que os machos parentais defendem as posturas são influenciadas pela dimensão e pelo estádio de desenvolvimento das posturas em *Pomatoschistus microps* (Magnhagen e Vestergaard, 1993), em *Micropterus dolomieui* (Ridgway, 1988, 1989), em *Lepomis macrochirus* (Coleman *et al.*, 1985), em *Gasterosteus aculeatus* (Pressley, 1981), e em *Cichlasoma nigrofasciatum* (Lavery e Keenleyside, 1990; Lavery e Colgan, 1991).

Em *O. mossambicus* não se verifica um ajustamento da agressão maternal às dimensões da postura, verificando-se no entanto um aumento da agressão com o estádio de desenvolvimento da postura.

O aumento dos comportamentos agressivos em fêmeas que incubam uma postura, usualmente designado por agressão maternal, está demonstrado para um vasto conjunto de *taxa* (para uma revisão ver Archer, 1988), embora a grande maioria dos trabalhos se realizem com Mamíferos (*e.g.* Svare, 1981, 1990; Parmigiani *et al.*, 1988). A função da agressão maternal parece ser a de defesa da postura contra predadores, incluindo conspecíficos, devido à grande vulnerabilidade dos ovos e dos juvenis nas primeiras fases do desenvolvimento (Archer, 1988).

A agressão maternal em *O. mossambicus* apresenta algumas semelhanças com a que é encontrada noutros taxa que merecem ser mencionadas. Por exemplo, as fêmeas que não se encontram a cuidar de uma postura não são territoriais e são pouco agressivas para com conspecíficos, sendo subordinadas em relação aos machos (*e.g.* Crustáceos: Figler *et al.*, 1995; Ratos: Maestripieri, 1992). No entanto, quando a incubar posturas as fêmeas tornam-se territoriais, e são bastante agressivas, quer com fêmeas, quer com machos conspecíficos (*e.g.* Crustáceos: Figler, 1995; Ratos: Svare, 1981, 1990; Maestripieri, 1992). Mais ainda, em Ratos, quando as fêmeas são separadas das crias a agressão maternal decresce marcadamente (*e.g.* Al-Malaki *et al.*, 1980).

Em *O. mossambicus*, a ocorrência de agressão materna apenas no último estádio de desenvolvimento considerado, quando os alevins já têm o ânus aberto e portanto já praticam alimentação exógena e quando também já podem realizar

excursões ao exterior da cavidade bucal materna, sugere um papel de defesa de um território alimentar para os alevins para a agressão maternal.

O facto de os comportamentos agonísticos das fêmeas a incubar se restringirem a investidas com ou sem toque de boca, não exibindo padrões mais estereotipados presentes nos confrontos agonísticos dos machos (*e.g.* exibição lateral, exibição frontal), sugere a existência da agressão materna como um sistema comportamental distinto da agressão territorial dos machos.

Quanto aos mecanismos causais potencialmente envolvidos no controlo do investimento parental, nomeadamente na agressão maternal em *O. mossambicus*, sabe-se relativamente pouco. Em Teleósteos com a fase parental bem diferenciada da fase de acasalamento (*e.g.* Pomacentrídeos), durante a fase parental a defesa do ninho pelos machos parece estar dissociada dos níveis de androgénios circulantes, os quais sofrem um decréscimo nessa fase (*e.g. Chromis dispilus*: Pankhurst, 1990; *Hypsypops rubicundus*: Sikkel, 1993). Por outro lado, verifica-se nesta fase um aumento dos níveis de prolactina, a qual promove os comportamentos de ventilação dos ovos (Fiedler, 1962; Blüm, 1974; de Ruiter *et al.*, 1986). No caso de cuidados parentais femininos, embora existam poucos estudos realizados, sabe-se que em *O. mossambicus* não se verifica um aumento dos níveis de prolactina circulante nas fêmeas durante a incubação bucal (Wendelaar-Bonga *et al.*, 1984). Por outro lado, a testosterona apresenta uma distribuição bimodal ao longo do ciclo ovárico com um pico a preceder a postura e um segundo pico coincidente com a fase final da incubação bucal, o qual poderá ser responsável pela activação dos comportamentos agonísticos nesta fase do ciclo (Smith e Haley, 1988).

13.4.2. Canibalismo Filial como Componente da Estratégia Reprodutora

Apesar de suspenderem ou reduzirem muito significativamente as suas actividades alimentares durante o período de incubação bucal (aproximadamente 20 dias), as fêmeas incubadoras não apresentam uma diminuição significativa do seu factor de condição (k). Por outro lado, verifica-se uma diminuição do número de ovos/alevins ao longo do ciclo de incubação, o que sugere a existência de canibalismo filial como uma forma de as fêmeas não sofrerem um desgaste pesado no seu factor de condição, o que lhes permite reduzirem o tempo interposturas. Paralelamente verifica-se uma inibição do desenvolvimento ovárico durante a incubação, o que permite que toda a energia seja canalizada para o investimento parental e manutenção da condição somática da fêmea. Logo após o término da incubação bucal dá-se uma reactivação do desenvolvimento ovárico (Smith e Haley, 1988).

Em várias espécies de Tilápias incubadoras bucais verifica-se uma redução do tamanho da postura ao longo do seu desenvolvimento (*Sarotherodon melanotheron*: Aronson, 1949; Shaw e Aronson, 1954; Eyeson, 1979; *Oreochromis leucosticus*: Welcomme, 1967), o que conjuntamente com o facto de se encontrarem ovos e alevins no conteúdo estomacal de várias espécies (*S. melanotheron* e *Tilapia zillii*, a qual não é incubadora bucal mas guarda os ovos/alevins na boca em caso de perigo, Shaw e Aronson, 1954; Eyeson, 1983) sugere uma mortalidade dos ovos durante o período de incubação bucal possivelmente devido à existência de canibalismo filial.

A existência de canibalismo filial em Teleósteos está amplamente documentada na literatura (ver Smith e Reay, 1991 e FitzGerald, 1992), e pode ocorrer sob duas formas: canibalismo de toda a postura, ou canibalismo parcial. No caso do canibalismo parcial, Rohwer (1978) propôs que o macho parental consumia parte da postura que guardava como forma de obter a energia necessária para completar o ciclo parental em curso, bem como para não sofrer uma quebra acentuada do seu factor de condição, o que o impossibilitaria de se envolver em novos ciclos parentais na mesma época de reprodução. Esta hipótese está de acordo com a teoria de Williams (1966) que propôs que qualquer investimento parental numa postura futura seria condicionado pelo investimento na postura actual, de que o indivíduo se encontra a cuidar.

No entanto, baseado no valor energético dos ovos de *Gasterosteus aculeatus*, uma das espécies em que o canibalismo filial está bem documentado, Smith (1992) coloca em evidência a falta de viabilidade desta hipótese uma vez que os machos parentais, para satisfazerem as suas necessidades energéticas, teriam de consumir 57 ovos por dia. Como os tamanhos das posturas desta espécie variam entre 152 e 877 ovos, os machos poderiam consumir toda a postura em apenas três dias no primeiro caso, ou 58% da postura durante os 9 dias que decorrem até à eclosão no segundo caso (Smith, 1992).

Smith (1992) sugere que o canibalismo filial parcial possa ter evoluído a partir de comportamentos de manutenção dos ovos e remoção de ovos inviáveis, e/ou que seja uma maladaptação. Em peixes com incubação bucal o canibalismo filial pode ser o resultado de um constrangimento do volume da cavidade bucal para o número de alevins que esta pode albergar. Aronson (1949) sugeriu que no incubador paternal *Sarotherodon melanotheron*, o canibalismo filial se podia ficar a dever ao facto de as fêmeas produzirem posturas de dimensões superiores à capacidade de incubação da cavidade bucal dos machos, acentuando-se este efeito em fêmeas de maiores dimensões.

O canibalismo filial também já foi descrito para um Ciclídeo com incubação bucal materna (*Pseudocrenilabrus multicolor*, Mrowka, 1987). Nesta espécie os ovos não fertilizados são selectivamente ingeridos pela fêmea nos primeiros dias de

incubação, embora também se verifique a ingestão de ovos fertilizados. Mrowka (1987) demonstrou também que a redução da postura, para um valor de aproximadamente 20%, induzia o canibalismo filial de toda a postura. Este facto também poderá ser explicado à luz da teoria do investimento parental se tivermos em conta que o intervalo inter-posturas é significativamente maior em fêmeas incubadoras (40 dias) do que em fêmeas que produziram uma postura, mas às quais foram retirados os ovos logo após a postura (25 dias) (Smith e Haley, 1988).

Mrowka e Schierwater (1988) calcularam as taxas de consumo de oxigénio em fêmeas incubadoras de *P. multicolor*. Eles verificaram que estas consumiam mais 15.7% de energia do que fêmeas parentais às quais tinha sido retirada a postura e mais 13.8% do que fêmeas não-incubadoras mantidas em jejum. No entanto, se se subtrair os gastos energéticos dos alevins, verifica-se que as diferenças se reduzem para 4.7% e 3.2.% respectivamente. Estes resultados apontam para a incubação bucal como uma estratégia de cuidado parental de baixos custos energéticos, o que, aliado ao canibalismo filial, pode explicar a manutenção dos factores de condição em fêmeas que se encontram a incubar.

Existem, no entanto, hipóteses alternativas para explicar a existência de canibalismo filial parcial. Uma delas foi proposta por Fitzgerald (1992), que sugere que a ingestão de ovos/ alevins pode proporcionar ao indivíduo parental o acesso a nutrientes não disponíveis na sua restante dieta. Mrowka (1987) propôs que nos peixes com incubação bucal a ingestão de alguns ovos pode ser um modo de manter os níveis fisiológicos de fome acima de um limiar abaixo do qual ocorreria a ingestão de toda a postura.

Outro factor que pode ajudar à manutenção da condição física em fêmeas incubadoras de *O. mossambicus* é a não supressão total da alimentação. Nos Ciclídeos do género *Tropheus* as fêmeas incubadoras bucais podem apresentar duas estratégias alimentares durante o período de incubação bucal. Em *T. duboisi* as fêmeas continuam-se a alimentar activamente durante todo o ciclo de incubação bucal, enquanto que em *T. moorii* as fêmeas incubadoras só ingerem alimentos para a cavidade bucal de modo a alimentar os alevins, quando estes já possuem alimentação exógena (Yanagisawa e Sato, 1990). As fêmeas incubadoras de *T. duboisi* não sofrem um abaixamento do seu factor de condição durante o período de incubação bucal (Yanagisawa, 1993), e apresentam uma recuperação das gónadas e um intervalo inter-posturas mais rápido do que as fêmeas de *T. moorii* (Yanagisawa e Sato, 1990). No entanto, o volume total de ovos por postura, corrigido para as dimensões corporais, é menor em *T. duboisi* do que em *T. moorii* (Yanagisawa e Sato, 1990), possivelmente devido a constrangimentos funcionais da utilização da boca para duas funções em *T. duboisi*: alimentação e incubação dos ovos/alevins.

Em *O. mossambicus*, embora raros, também se observaram actos alimentares em fêmeas incubadoras. No entanto, a maior parte das ocorrências registadas referem-se a fêmeas a incubar alevins já no último estádio de desenvolvimento considerado. Este facto poderá ser explicado por 3 hipóteses alternativas:

(a) tal como em *T. duboisi*, devido a constrangimentos funcionais, as fêmeas só se podem alimentar quando a postura já se encontra reduzida, ou seja, no último dos estádios de desenvolvimento considerados;

(b) as fêmeas, tal como em *T. moorii*, só ingerem alimento para a cavidade bucal para alimentação dos alevins, e, portanto, este comportamento só ocorre quando os alevins já possuem alimentação exógena;

(c) as fêmeas só se alimentam quando as posturas atingem um valor limite que não permite que continuem uma estratégia de canibalismo filial como fonte energética.

Presentemente os dados não permitem distinguir estas hipóteses, o que poderá vir a ser objecto de estudo no futuro.

PARTE IV

DISCUSSÃO GERAL

Instituto Superior de Ciências Aplicadas
BIBLIOTECA

NOTA INTRODUTÓRIA

A discussão geral que se segue tem dois objectivos distintos: por um lado, interligar os resultados dos diferentes capítulos e gerar uma imagem integrada dos aspectos causais e funcionais da biologia social de *O. mossambicus*, à luz dos conhecimentos adquiridos; por outro lado, propõe-se a análise de alguns temas teóricos suscitados pelo presente trabalho.

Para cumprir o primeiro objectivo, será desenvolvida no capítulo 14 uma análise do sistema de acasalamento e da biologia da reprodução de *O. mossambicus*, em que se procurarão interligar os aspectos causais e funcionais do comportamento da espécie, à luz dos conhecimentos adquiridos.

Por outro lado, os resultados da presente dissertação levantam alguns pontos com implicações teóricas, dos quais procurarei analisar os seguintes dois:

(a) os mecanismos de acção da selecção sexual, e qual o seu papel em espécies com um sistema de acasalamento semelhante ao dos Ciclídeos africanos com incubação bucal materna;

(b) qual a função da 11-cetotestosterona na biologia da reprodução dos Teleósteos.

14.
UMA ABORDAGEM CAUSAL E FUNCIONAL DO SISTEMA DE ACASALAMENTO DE *OREOCHROMIS MOSSAMBICUS*

Embora *Oreochromis mossambicus* seja uma das espécies de Teleósteos de cuja biologia se possuem mais dados, poucos são os estudos que existem sobre o seu comportamento no habitat natural da espécie, os rios e estuários da costa oriental de África.

Com o presente trabalho pretendeu-se estudar alguns aspectos do comportamento e da organização social da espécie, bem como o papel das hormonas no comportamento e, de algum modo, na história vital da espécie. Tenho plena consciência de que o presente trabalho levanta mais questões do que respostas. No entanto, isso para mim não é motivo de embaraço, pois considero, na minha humilde opinião, que a dinâmica da investigação científica passa por um processo de retroacção positiva, em que cada pergunta da geração F1 gera várias questões na geração F2, sendo o ritmo de multiplicação das questões um indicador da riqueza das ideias subjacentes ao campo de investigação.

Nesta perspectiva, creio que os resultados aqui apresentados são apenas o esboço para investigações mais detalhadas e direccionadas no futuro. Assim, procedeu-se, por exemplo, a uma inventariação e descrição cuidadosa dos padrões elementares que constituem o repertório comportamental da espécie, bem como à descrição dos sistemas de organização social dos grupos em hierarquias de dominância, e à caracterização morfométrica do dimorfismo sexual, e ainda ao estudo da variação do comportamento agressivo das fêmeas durante o ciclo de incubação bucal. Estes resultados, embora meramente descritivos, são absolutamente necessários para que se possua um conhecimento rigoroso da biologia comportamental e social da espécie, antes de se passar a uma fase experimental em que se traçam as hipóteses e delas se derivam as predições a testar experimentalmente.

Neste trabalho, foram também testadas algumas hipóteses, como por exemplo, qual a relação de causa-efeito entre as hormonas sexuais e o estatuto social dos machos nas hierarquias de dominância? Ou, qual o papel da aromatização neural de androgénios na activação do comportamento reprodutor? Ou ainda, qual a importância do estatuto social para a expressão das características sexualmente dimórficas nos machos?

Embora se tenham obtido respostas para estas perguntas, cada uma delas originou uma multiplicidade de novas perguntas, *e.g.*:

- a existência de hierarquias de dominância indicia a existência de mecanismos cognitivos de reconhecimento individual, ou pode-se explicar apenas com mecanismos de reconhecimento de categorias de indivíduos (*i.e.* indivíduos dominantes em relação ao sujeito vs. indivíduos subordinados)?

- A expressão das características sexuais masculinas (*e.g.* altura da barbatana dorsal) pode funcionar como um mecanismo indicador da qualidade dos machos para as fêmeas, o que fornece o potencial para a existência de mecanismos de escolha de parceiros ("mate choice") por parte das fêmeas; estes mecanismos de escolha das fêmeas existem? Se sim, quais são as características nas quais as fêmeas baseiam a sua escolha? As fêmeas obtêm benefícios imediatos ou genéticos das escolhas que realizam?

- Os androgénios parecem responder às interacções entre machos, enquanto a 17,20α-P parece responder apenas nos machos territoriais à presença das fêmeas; qual a relação entre os androgénios e a estabilidade e a densidade social dos grupos? Os níveis de androgénios aumentam com as interacções sociais só nos indivíduos que nelas participam ou também aumentam nos indivíduos que estão expostos às interacções mas que se abstêm de participar? A 17,20α-P aumenta de facto em resposta à presença de fêmeas ovuladas? Se sim, qual(is) é(são) o(s) estímulo(s) envolvido(s)? Existem feromonas sexuais femininas?

- A aromatase neural não parece estar envolvida na activação do comportamento social parecendo este ser accionado pela 11-cetotestosterona; qual é então o papel da aromatização neural de androgénios na biologia da reprodução desta espécie? E a 11-cetotestosterona como é que exerce o seu papel? Existem receptores neurais para este androgénio? Se sim, onde é que estão localizados?

Para além da procura de respostas para as hipóteses levantadas é também necessário complementar a curto prazo os estudos de base para a caracterização dos sistemas sociais e de acasalamento desta espécie no seu ambiente natural. Por exemplo, é necessário confirmar se nas colónias de machos na natureza se estabelecem hierarquias de dominância, e se os dominantes têm prioridade no estabelecimento de territórios e no acesso às fêmeas como se verificou em cativeiro, ou se pelo contrário as hierarquias de dominância são um artefacto do próprio cativeiro. É preciso também verificar se se observam na natureza as cortes entre machos, e se existem machos não territoriais que tentam fertilizações parasitas.

Embora com todas estas questões em aberto, gostaria de discutir alguns dos resultados, nesta parte final do presente trabalho. A discussão de cada conjunto concreto de resultados foi já realizada em cada um dos capítulos em que foram apresentados, pelo que esta discussão será de um âmbito mais alargado, debruçando-se sobre a interface das causas e das consequências dos comportamentos desta espécie. Recentemente tem vindo a ser colocado em evidência que, para se compreender um fenómeno biológico, em particular um sistema comportamental, é necessário não só estudar quais as causas próximas (*i.e.* fisiologia/ ontogenia) mas também quais as consequências dos comportamentos dos indivíduos em termos evolutivos e ecológicos (*i.e.* função/filogenia) (Real, 1994). Assim, o estudo das bases fisiológicas do comportamento, do seu carácter

adaptativo e das implicações evolutivas após vários anos de caminhos paralelos têm vindo a convergir, sendo actualmente recomendada uma abordagem integrada, - causal e funcional - dos sistemas comportamentais.

É nesta linha que pretendo discutir alguns dos resultados da presente dissertação.

14.1. SINCRONIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL: CUSTOS, BENEFÍCIOS E MECANISMOS

Os machos de *O. mossambicus* praticam um sistema de acasalamento em arenas nas quais defendem territórios reprodutores por um período contínuo de dias, durante o qual as actividades alimentares são suprimidas ou reduzidas ao mínimo. Os locais onde se encontram as arenas reprodutoras não são os mais ricos em alimento, e no final de um período de reprodução os machos apresentam uma diminuição dos seus factores de condição, enquanto que as fêmeas, que se podem continuar a alimentar fora das arenas reprodutoras durante a época de reprodução, não exibem uma quebra tão acentuada da sua condição física (Bowen, 1984; Turner, 1986). Tendo os machos custos tão elevados associados à reprodução, será de prever que tenham evoluído mecanismos adaptativos que lhes permitam maximizar o investimento que representa o estabelecimento e a defesa de um território. Por outras palavras, não será adaptativamente vantajoso para um macho estabelecer e defender um território num período de tempo em que a disponibilidade de fêmeas sexualmente activas é muito baixa. Será assim de esperar a existência de mecanismos de sincronização da actividade sexual dos machos com a actividade sexual das fêmeas. Por outro lado, as fêmeas também têm algo a ganhar com a sincronização da actividade sexual, pois diminui, desta forma, o risco de atingirem o estado de ovulação na ausência de machos territoriais. Mais ainda, ao estarem sincronizados, o número de machos simultaneamente sexualmente activos é maior, oferecendo às fêmeas a oportunidade de poderem escolher o seu parceiro sexual de entre uma maior diversidade de machos e de obterem uma protecção extra durante o momento da postura pelo agregado de machos o qual seria necessariamente menos denso se os machos não se reproduzissem sincronicamente. Desta análise de custos e benefícios parece que ambos os sexos têm vantagens em sincronizarem os seus aparelhos reprodutores.

Alguns autores vão mais longe e sugerem que a sincronização reprodutora pode ser um dos mecanismos que permitiu aos Ciclídeos colonizar novos habitats, uma vez que permite uma diminuição do período de reprodução, o que pode ser um factor vantajoso em ambientes instáveis pois permite às populações utilizarem condições temporariamente favoráveis (Lowe-McConnel, 1959; Fryer e Iles, 1969; Silverman, 1978a).

Em espécies de zonas temperadas com ciclos sazonais de reprodução os factores ambientais abióticos, como sejam o fotoperíodo e a temperatura, desempenham um papel

importante no "ligar" e no "desligar" da actividade reprodutora das espécies. No caso de espécies tropicais, com reprodução contínua ou que se estende por um longo período de tempo, podem-se reconhecer ritmos de reprodução os quais aparentemente não se correlacionam com nenhum factor ambiental. De qualquer forma, o início da época de reprodução nestas espécies pode também ser activado por factores ambientais; no entanto, após o desencadear da actividade reprodutora esta pode variar ciclicamente sem nenhuma relação evidente com factores abióticos (Munro, 1990).

Neste ponto é de salientar a diferença entre dois fenómenos implicitamente envolvidos na presente discussão. Os factores ambientais abióticos têm uma influência inegável na actividade sexual de várias espécies tropicais, incluindo os Ciclídeos (*e.g.* Munro, 1990). No entanto, o que está em causa é a existência de episódios sincronizados de reprodução que não estão aparentemente relacionados com variáveis abióticas. De facto, no tanque experimental utilizado não se mudou a água durante os dois meses do estudo e não se verificaram variações significativas da temperatura ou da oxigenação, que pudessem explicar o desencadear de cada um dos episódios de reprodução observados. Não existem dados de populações naturais disponíveis que possam confirmar este padrão; no entanto, Bruton e Boltt (1975) referem que na época de reprodução podem-se encontrar cardumes de fêmeas todas elas a incubar ovos, o que indica que têm o seu ciclo ovárico sincronizado.

As explicações possíveis para a sincronização da reprodução entre os dois sexos são pelo menos três:

(a) cada um dos episódios de reprodução é despoletados, em machos e fêmeas, por um factor ambiental que varia ciclicamente no tempo, e para o qual ambos os sexos têm limiares de resposta semelhantes; por exemplo, imagine-se que sempre que a temperatura subia acima de determinado valor machos e fêmeas iniciavam a actividade sexual;

(b) um factor ambiental, ou uma conjugação particular de factores ambientais (*e.g.* fotoperíodo e temperatura), induzem o início da actividade sexual quer em machos quer em fêmeas, e uma vez iniciada esta actividade ambos os sexos possuem ciclos endógenos com um período semelhante que lhes permitem estar sincronizados; segundo esta hipótese os factores ambientais funcionariam como um indicador de tempo ("zeitgeber" *sensu* Aschoff, 1960), cuja função é a de acertar os relógios biológicos dos dois sexos sincronizando assim a sua actividade reprodutora;

(c) ambos os sexos encontram-se sexualmente activos desde que encontrem as condições ambientais favoráveis, e a sincronização dos episódios de reprodução fica-se a dever ao facto de um dos sexos (os machos) regular a sua actividade reprodutora pela do sexo oposto (as fêmeas). Deste modo, perante uma situação ambiental favorável as fêmeas iniciam o seu ciclo de ovulação, e os machos, que durante a fase não reprodutora

do ciclo feminino se deslocam em cardume com as fêmeas, acertam o seu ciclo com o destas, utilizando sinais que lhes permitam avaliar o estado de maturação das fêmeas. Por exemplo, através da detecção de esteróides envolvidos na vitelogénese ou na ovulação presentes na urina das fêmeas (feromonas). Se esta capacidade estiver também presente nas fêmeas, ela ajudaria a explicar a sincronização dos ciclos sexuais femininos já detectados nesta espécie.

Quais são os dados disponíveis para avaliar estas diferentes hipóteses?

A hipótese (a) é de por de parte uma vez que não se detectou qualquer variação cíclica de nenhum factor abiótico capaz de explicar a ciclicidade dos episódios de reprodução observados.

A apoiar a hipótese (b) existe o facto de as fêmeas de *O. mossambicus* possuírem um ciclo de ovulação que se mantém mesmo em isolamento social. Silverman (1978a) demonstrou que fêmeas isoladas continuam a realizar desovas ciclicamente, embora aumente o intervalo entre posturas em relação a fêmeas que estão em contacto com outras fêmeas ou com machos. Este dado é tanto mais interessante quanto ele não se observa em Ciclídeos incubadores no substrato (*Aequidens portalegrensis*, Polder, 1971) nem em Ciclídeos com incubação bucal paterna (*Sarotherodon melanotheron*, Aronson, 1945, 1951), em que a disponibilidade de machos para fertilizar uma nova postura a curto-prazo é muito baixa se se assumir um "sex-ratio" operacional de 1:1.

No caso dos machos não se observam sinais de ciclicidade testicular (Silverman, 1978a) o que está de acordo com os dados disponíveis para outras espécies policíclicas de Ciclídeos (*e.g.* Dadzie, 1969; Peters, 1971; Polder, 1971). Este facto sugere que os ciclos de territorialidade observados nos machos não sejam determinados por um relógio interno masculino, mas que constituam uma resposta à presença de fêmeas ovuladas. Deste modo, os machos acertariam a sua actividade reprodutora (*i.e.* estabelecimento e defesa de um território, construção de um ninho, coloração preta, comportamentos de corte, etc.) pelo ciclo ovárico das fêmeas. Assim, os machos optimizariam os gastos energéticos implicados na manutenção de um território reprodutor (Turner, 1986), só investindo em reproduzir-se na presença de fêmeas maduras. A apoiar esta hipótese está ainda a existência de indícios que apontam para a ocorrência de feromonas sexuais femininas em *O. mossambicus*. Como já foi referido anteriormente, machos na presença de água na qual foi mantida uma fêmea ovulada cortejam a sua própria imagem num espelho, o que não acontece em machos mantidos em água de fêmeas não-ovuladas (Falter e Dolisy, 1989); no mesmo sentido, em pares mantidos com contacto ilimitado no mesmo aquário os machos apresentam um pico dos comportamentos de corte na altura da ovulação das fêmeas (Silverman, 1978b). A hipótese de as fêmeas acertarem os seus ciclos ováricos encontra-se ainda por testar experimentalmente; no entanto, os dados de Bruton e Boltt (1975) sugerem a ocorrência de ciclos sincronizados em fêmeas na

natureza. Quanto à natureza do "zeitgeber" que acerta os ciclos endógenos femininos, sabe-se que o fotoperíodo não tem influência e que a temperatura é um factor com alguma importância; não existem diferenças no desenvolvimento reprodutor entre peixes sujeitos a diferentes regimes de fotoperíodo por longos períodos de tempo (Poon e Khoo, 1980 *in* Munro, 1990; Moreau, 1982); por outro lado, em *O. aureus* temperaturas baixas inibem o desenvolvimento dos ovários, a esteroidogénese nas gónadas e a vitelogénese hepática (Terkatin-Shimony *et al.*, 1980); em *O. mossambicus* a reprodução é também inibida por temperaturas baixas (Mironowa, 1978) e a esteroidogénese é suprimida (Kime e Hyder, 1983). Outro potencial factor que pode desempenhar o papel de "zeitgeber" para os ciclos ováricos de *O. mossambicus* pode ser de natureza hidrológica; verifica-se que a mudança de água nos aquários induz a ocorrência de episódios de reprodução (observações pessoais). Este facto foi também descrito para outras espécies de Ciclídeos (*e.g. Hemichromis thomasi*, Munro, 1990) e é um dos truques utilizados pelos aquariofilistas para tentar reproduzir espécies tropicais de água doce.

14.2. DOMINÂNCIA, TERRITORIALIDADE E ACESSO A FÊMEAS

Os resultados do presente estudo colocaram em evidência a existência de uma correlação entre a capacidade competitiva dos machos e o seu sucesso reprodutor, estando estas duas variáveis ligadas por uma cascata comportamental, em que a dominância social determina a posse e a qualidade dos territórios e estes determinam o acesso às fêmeas (ver capítulo 9).

As relações entre estes três parâmetros são interessantes e merecem ser analisadas com algum detalhe.

Na natureza os machos nadam em cardume com as fêmeas fora da época de reprodução, e a determinado momento os machos retiram-se do cardume e deslocam-se para as zonas costeiras, nas quais estabelecem as arenas reprodutoras. Embora não se saiba praticamente nada sobre a possível existência de hierarquias de dominância nos cardumes de *O. mossambicus*, este fenómeno é pouco provável. Do ponto de vista funcional a existência de uma hierarquia num cardume é difícil de explicar, uma vez que os animais não se encontram a competir directamente pelo acesso a um recurso, quer reprodutor (*i.e.* fêmeas), quer alimentar. Isto porque estamos fora da época de reprodução, e porque o regime alimentar, à base de detritos e de microalgas bentónicas, faz com que a alimentação se realize em grandes extensões sem competição por manchas de substrato especialmente ricas em alimento (para uma revisão ver Bowen, 1982). Do ponto de vista social, o cardume representa um grupo demasiado grande para que se possam estabelecer relações inter-individuais estáveis. Finalmente, os estudos disponíveis sobre o comportamento de cardumes noutras espécies não detectam a existência de

fenómenos de dominância, sendo a liderança do deslocamento do cardume alternadamente desempenhada por indivíduos diferentes (Pitcher e Parrish, 1993).

Assim, o cenário mais provável é que na altura em que os machos se deslocam para os substratos de reprodução as relações entre eles ainda não estão estabelecidas. Vai ser nesse momento, que, através de confrontos agonísticos, os machos vão aferir as suas capacidades competitivas relativas e em função delas vão ter ou não sucesso no estabelecimento de territórios na arena. Deste modo, o estatuto social que cada indivíduo consegue alcançar nestes confrontos, que ocorrem numa fase inicial da formação das arenas, deverá ser determinante para que este se possa tornar territorial. Do ponto de vista motivacional, é plausível pensar que estes confrontos iniciais podem ter como consequência o accionar de um "drive" comportamental de territorialidade, o qual poderia ter como substrato fisiológico o aumento nos níveis de androgénios nomeadamente de 11-cetotestosterona que se observa após a formação de grupos só de machos. A estimulação social proporcionada por estes confrontos facilitaria, assim, a manifestação de comportamentos conducentes ao estabelecimento de um território, *i.e.* escurecimento do corpo, construção e defesa de um ninho, cuja expressão seria função do sucesso social do indivíduo nas interacções agonísticas em que participa. Do ponto de vista funcional este mecanismo de modulação social do investimento que cada indivíduo realiza em territorialidade pode-se considerar adaptativo, uma vez que cada peixe não investe mais do que aquilo que pode investir em reprodução, evitando-se assim o recurso ao "bluff".

Ou seja, só um macho dominante, com uma grande quantidade de androgénios e consequentemente com uma boa condição reprodutora, é que será capaz de estabelecer e defender um ninho de grandes dimensões numa zona central da colónia; enquanto que, um macho subordinado, com uma menor capacidade reprodutora, só deverá ser capaz de manter um ninho de menores dimensões e provavelmente numa área periférica da arena.

O papel determinante da dominância social no sucesso reprodutor dos machos de *O. mossambicus* pode, no entanto, ser enganador. Foi demonstrado, no presente estudo, que a estabilidade das hierarquias de dominância era baixa ocorrendo reversões nas posições hierárquicas que cada indivíduo ocupa ao longo das diferentes semanas. Foi, no entanto, também demonstrado que os indivíduos dominantes estavam menos sujeitos a reversões na sua posição hierárquica do que os indivíduos subordinados ou de posição hierárquica intermédia (ver capítulo 8). Estes resultados vêm colocar em evidência o carácter efémero do estatuto social dos indivíduos. Na verdade, um indivíduo que num episódio de reprodução consegue alcançar um bom estatuto social pode num episódio seguinte não ser tão bem sucedido nas interacções sociais em que participa, o que lhe vai condicionar o acesso a fêmeas durante esse episódio reprodutor. Este dado decorre do facto de o estatuto social não ser uma característica intrínseca do indivíduo, mas resultar do ambiental social em que ele está inserido num determinado momento. Embora existam

características individuais que podem ser bons preditores do estatuto social do indivíduo (*e.g.* tamanho do corpo), este é sempre uma medida relativa que depende, por um lado, dessas mesmas características nos outros membros do grupo e, por outro lado, depende ainda de factores estocásticos que têm a ver com a dinâmica das interacções sociais nas fases iniciais da formação dos grupos.

Deve-se pois ter cautela ao analisar as relações entre dominância social e sucesso reprodutor global do animal, uma vez que a dominância social é uma medida relativa que varia seguramente ao longo do ciclo de vida do indivíduo.

14.3. ANDROGÉNIOS E HISTÓRIAS VITAIS

Um dos pressupostos básicos da teoria das histórias vitais é o de que a energia de que um animal dispõe é um factor limitante que tem que ser repartido pelas actividades de manutenção e de produção, podendo esta última ser gasta ou em crescimento somático ou na reprodução do indivíduo (Stearns, 1989). Considera-se classicamente a existência de um compromisso ("trade-off") entre a energia que o animal investe em reprodução e em crescimento. Ou seja, da quantidade finita de energia de que o animal dispõe, quanto maior for o investimento em crescimento, menor será o investimento em reprodução, e vice-versa. Desde a tomada de consciência deste compromisso nas histórias vitais dos organismos que os biólogos se têm preocupado em recolher provas da sua existência. No entanto, tem-se prestado mais atenção no estudo das histórias vitais a questões como a avaliação do esforço reprodutor (para uma revisão ver Lessels, 1991 e Avelar, 1994) e a documentação das bases genéticas na variabilidade de traços de história vital, como sejam a fertilidade ou o tamanho das posturas (para uma revisão ver Dingle e Hegmann, 1982), do que na averiguação dos mecanismos fisiológicos subjacentes aos compromissos ("trade-offs") observados (*e.g.* Ketterson e Nolan, 1994). Alguns trabalhos recentes surgiram neste campo. Foi demonstrado que num Lagarto (*Uta stansburiana*) as fêmeas tratadas com FSH produziam posturas maiores, mas com ovos de menores dimensões do que o normal (Sinervo e Licht, 1991a, 1991b). Deste modo, a dimensão dos ovos e o número de ovos por postura parecem ter um compromisso com um controlo fisiológico no qual a FSH aparece implicada. Noutro estudo, Derting (1989) investigou o compromisso existente entre a manutenção e a produção em juvenis de Rato-do-algodão (*Sigmon hispidus*), e verificou que as hormonas da tiróide promovem ambos os investimentos. Deste modo, as vantagens de uma actividade da tiróide maior ou menor podem depender de factores ambientais tais como a disponibilidade de alimento. Assim, em ambientes ricos seriam seleccionados fenótipos com grande actividade da tiróide e em ambientes pobres em alimento seriam seleccionados ratos com níveis mais baixos de actividade da tiróide. Outro dado interessante que resultou deste estudo é que os ratos

tratados apresentam um aumento da produção embora tenham custos maiores de manutenção, pelo que não se observa uma ligação fisiológica de compromisso entre estes dois factores.

Finalmente, Ketterson *et al.* (1992) estudaram os efeitos da administração de testosterona a machos de Junco-ardoseiro (*Junco hyemalis*) em vários potenciais indicadores de "fitness" (*e.g.* crescimento e sobrevivência dos descendentes até à idade de 10 dias, intervalo entre posturas, sobrevivência, dimensão das posturas subsequentes, etc.) e de comportamento (*i.e.* comportamento parental e canto). Estes autores verificaram que a testosterona suprimia o comportamento parental e estimulava o canto; no entanto, não se detectaram diferenças significativas em nenhuma das variáveis potencialmente correlacionada com o "fitness" dos indivíduos.

No que foi exposto na secção anterior ficou implícito o papel dos androgénios na mediação dos comportamentos territoriais em *O. mossambicus*. Contudo o papel dos androgénios como mediadores fisiológicos de mecanismos adaptativos parece ser mais amplo. Foi também demonstrado no presente estudo que os machos dominantes, não só se tornavam territoriais e tinham quase que o monopólio do acesso às fêmeas, mas também que, apresentavam características morfológicas mais masculinizadas (ver capítulo 10). O envolvimento dos androgénios na expressão das características sexuais masculinos é também sugerida pelos dados (ver capítulo 10), e está bem documentada para os Teleósteos em geral (para uma revisão ver Liley e Stacey, 1983 e Borg, 1994).

Assim, os níveis de androgénios, os quais respondem ao ambiente social em que o indivíduo se encontra, podem funcionar como um mecanismo de regulação do investimento que o animal realiza em ornamentos (*e.g.* barbatanas afiladas, desenvolvimento da mandíbula) e comportamentos relacionados com a reprodução (*e.g.* construção do ninho, cortejar).

Em outras espécies de Teleósteos, incluindo uma espécie de Ciclídeos, foi demonstrado que os indivíduos dominantes de um grupo eram os primeiros a atingir a maturidade sexual, sendo o desenvolvimento sexual dos machos subordinados inibido pela presença dos dominantes (Poecilídeos: Borowsky, 1973, 1978, 1987; Ciclídeos: *Astatotilapia burtoni*, Fraley e Fernald, 1982). No caso dos Poecilídeos, foi ainda demonstrado que os indivíduos subordinados apresentam taxas de crescimento maiores, existindo um efeito de compensação no crescimento somático e um atrasar da idade com que atingem a maturidade sexual. Os androgénios parecem desempenhar assim um papel chave na interligação entre o eixo reprodutor (*e.g.* estado de desenvolvimento das gónadas), o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários masculinos, e a expressão do comportamento reprodutor nas suas diferentes facetas (*i.e.* construção de ninho, defesa de território e cortes). Desta forma os androgénios podem ligar e desligar o investimento que o animal realiza em reprodução vs. crescimento, com a segurança destes

apenas se realizarem em condições ambientais favoráveis, quer em termos de ambiente físico, como de ambiente social (*e.g.* estatuto social do indivíduo). Os animais com níveis baixos de androgénios não investem em reprodução sendo os seus recursos energéticos canalizados para o crescimento somático. Desta forma, em episódios de reprodução futuros estes indivíduos poderão ter já atingido uma dimensão corporal que lhes permita adquirirem um estatuto social com o qual o investimento em reprodução já se torna vantajoso.

15.
SELECÇÃO SEXUAL: SEXO, MENTIRAS E HANDICAPS

15.1. A TEORIA DA SELECÇÃO SEXUAL

O conceito de selecção sexual foi proposto por Darwin (1871) para explicar os caracteres fenotípicos que aparentemente não conferiam nenhuma vantagem adaptativa aos indivíduos que os apresentavam. Darwin argumentou então que, embora estas características não contribuíssem para uma maior aptidão na "luta pela sobrevivência", serviriam para aumentar a taxa de reprodução desse indivíduo, tendo o próprio Darwin (1871) proposto os dois mecanismos possíveis pelos quais os indivíduos do mesmo sexo, geralmente os machos, competem pelo acesso a indivíduos do sexo oposto. Um consiste na luta entre indivíduos do mesmo sexo, geralmente os machos, para afastar ou eliminar os seus rivais, tendo as fêmeas um papel passivo neste mecanismo. O segundo consiste igualmente na competição entre indivíduos do mesmo sexo, geralmente os machos, para atraírem a atenção e terem a preferência de indivíduos do sexo oposto, os quais têm um papel activo seleccionando os parceiros sexuais com que vão acasalar. Estes dois mecanismos são ainda hoje reconhecidos como os dois motores da selecção sexual (Bradbury e Davies, 1987; Andersson, 1994), sendo designados respectivamente por selecção intra-sexual e selecção inter-sexual. Embora a validade do processo de selecção intra-sexual tenha sido rapidamente aceite, a importância da selecção inter-sexual, vulgarmente referida por escolha de parceiro ("mate choice"), como força evolutiva foi desde logo contestada pelos contemporâneos de Darwin (*e.g.* Wallace, 1889 *in* Bradbury e Davies, 1987). Actualmente conhecem-se vários exemplos que demonstram a importância da escolha das fêmeas na selecção sexual (*e.g.* as fêmeas de Guppy preferem machos com cores mais vivas, *i.e.* maior quantidade de carotenóides e de pigmentos iridiscentes, Endler, 1983; Kodric-Brown, 1985), e, embora a sua validade como processo evolutivo não seja posta em causa, ela continua a gerar alguma controvérsia essencialmente por dois motivos:

(a) ambos os mecanismos de selecção sexual tendem a estar presentes na mesma espécie e é difícil destrinçá-los e avaliar a importância relativa de cada um deles;

(b) em muitos sistemas as fêmeas aparentemente não escolhem os machos com base em benefícios imediatos (*i.e.* recursos), não recebendo dos machos nada mais a não ser esperma (*i.e.* genes), o que veio criar a necessidade de explicação em termos de benefícios indirectos para as fêmeas.

Curiosamente, é nos sistemas em que aparentemente as fêmeas não têm quaisquer benefícios directos que os machos apresentam os ornamentos morfológicos e/ou as

exibições comportamentais mais espectaculares. Na tentativa de explicar a evolução de tais sistemas foram até hoje propostos três modelos:

(a) Teoria dos descendentes atractivos ("sexy sons" ou "run away").

Esta teoria foi desenvolvida por Fisher (1930) e vem na sequência das ideias de Darwin, na medida em que explica a preferência das fêmeas em termos meramente estéticos. Segundo esta hipótese, se a maioria das fêmeas possuírem uma preferência por um tipo particular de macho (*i.e.* fenótipo "sexy") então as que não possuem essa preferência serão também favorecidas se escolherem o fenótipo "sexy", porque dessa forma terão filhos que serão atractivos para a maioria das fêmeas ("sexy sons"). Ou seja, a preferência instala-se nas fêmeas por um mecanismo de retroacção positivo, em que, quanto mais comum o fenótipo "sexy" se torna entre os machos, maior é a vantagem, quer para os machos que possuem esse traço, porque é o preferido pelas fêmeas, quer para as fêmeas que possuem a preferência pelo traço, porque estas terão filhos que, à semelhança dos pais, serão atractivos para a maioria das outras fêmeas. As designações pelas quais este modelo é conhecido resultam precisamente do argumento dos filhos atractivos ("sexy sons") e do mecanismo de retroacção positiva que levará ao enviezamento do sistema ("run away"), até que todos os machos possuem o traço fenotípico que tem a preferência das fêmeas. Na última década foram construídos modelos genéticos que simulam sistemas deste tipo e verificou-se que os genes que produzem os ornamentos nos machos e os que determinam a preferência nas fêmeas coexistiriam nos mesmos indivíduos, uma vez que estes seriam o resultado do cruzamento de um pai "sexy" com uma mãe com a preferência pelo caracter "sexy". Assim, ambos os genes saem favorecidos, um porque é expresso no organismo e o outro porque é levado à boleia pelo sucesso do gene que é expresso. Assim sendo, ambos os genes (o do traço e o da preferência) capitalizam com o sucesso um do outro e espalham-se pela população (Kirkpatrick, 1982; Lande, 1982).

Actualmente levantam-se duas objecções a este modelo (Dawkins, 1995):

(a) um dos pressupostos deste modelo é a existência de uma maioria de fêmeas na população com uma preferência comum por um traço masculino. No entanto, não se explica o aparecimento desta preferência massiva entre as fêmeas, e numa fase anterior à da preferência feminina é difícil de explicar o aparecimento do ornamento.

(b) A partir dos modelos genéticos testados (Kirkpatrick, 1982; Lande, 1982) foi possível demonstrar que o ornamento masculino se vai exagerando até ao ponto em que os machos sofrem pressões selectivas contrárias devido à influência negativa do ornamento na sobrevivência dos machos (*e.g.* tornado-os mais conspícuos para os predadores). Desta forma, o estado de desenvolvimento de um determinado ornamento

deverá atingir um valor óptimo que representa um equilíbrio entre a vantagem de tornar o macho atractivo para as fêmeas e a desvantagem de o tornar menos ágil e mais conspícuo face aos predadores. Como resultado, será de esperar que ao fim de algumas gerações todos os machos atingiram este ponto de equilíbrio no desenvolvimento do caracter, apresentando ornamentos optimizados, o que anularia a vantagem das fêmeas na escolha dos machos, uma vez que todos os machos seriam semelhantes quanto ao traço. Mais ainda, se o processo de escolha envolver custos para as fêmeas, então aquelas que não exercem uma escolha seriam beneficiadas em relação àquelas que exibiam uma preferência. Pode-se argumentar que os ornamentos serviriam precisamente para reduzir os custos do processo de escolha uma vez que tornam os machos mais conspícuos a distâncias maiores. No entanto, esta redução dos custos não parece ser suficiente para tornar a teoria de Fisher viável (para uma discussão ver Pomiankowski *et al.*, 1991).

O problema da perda de variabilidade genética devido a uma forte selecção direccional não é exclusivo da teoria de Fisher, sendo extensível aos modelos dos bons genes apresentados abaixo. Existem, no entanto, mecanismos que podem explicar a manutenção da variabilidade genética nestas condições, entre os quais são de referir: a selecção dependente da frequência, o balanço entre mutação e selecção, a variação temporal na aptidão darwiniana ("fitness"), o efeito da "Red Queen", e a selecção no componente ambiental do traço (para uma discussão detalhada deste tópico ver Moller, 1994).

(b) Teoria dos bons genes ("good genes").

Segundo o modelo dos bons genes a escolha das fêmeas não se fica a dever a nenhuma preferência meramente estética, mas está relacionada com a avaliação da qualidade dos machos. As fêmeas que apresentam a preferência vão acasalar com machos mais viáveis/robustos que vão transmitir a sua viabilidade/robustez (*i.e.* bons genes) aos descendentes. Paradoxalmente a maior parte dos modelos que tentam explicar esta hipótese pressupõem a preferência das fêmeas por caracteres/ornamentos masculinos que constituem handicaps para os machos que os apresentam, *i.e.* diminuem a sobrevivência dos machos. Existem basicamente três modelos baseados na teoria dos bons genes:

(i) Hipótese do handicap puro (Zahavi, 1975, 1977). Segundo esta hipótese um macho que apresente o handicap, manifesta a sua viabilidade boa condição física uma vez que consegue sobreviver mesmo suportando os custos de possuir uma característica negativa para a sua sobrevivência. Uma fêmea que escolha um macho com o handicap estará a assegurar que os seus descendentes vão herdar os "bons genes" do pai que lhes permitirão sobreviver, mesmo com o handicap. Um pressuposto implícito deste modelo é a existência de uma boa correlação genética entre o traço (handicap) e a viabilidade, caso contrário a fêmea ao escolher um macho com o handicap arrisca-se a transmitir à

descendência os genes para o handicap mas não os genes para a viabilidade/robustez física.

(ii) Hipótese do handicap condicional (Grafen, 1990a,b). Este modelo constitui uma variante do modelo do handicap puro, em que o ornamento que constitui o handicap se pode apresentar mais ou menos desenvolvido. O desenvolvimento do ornamento implica custos para os machos, e desta forma apenas os machos mais viáveis ou mais robustos é que são capazes de apresentar um ornamento (handicap) mais desenvolvido, funcionando como um indicador para as fêmeas da qualidade dos machos (*i.e.* viabilidade/ robustez). Num sistema deste tipo, as fêmeas ao preferirem machos com um handicap muito desenvolvido estariam a escolher um macho robusto, que iria proporcionar-lhe descendentes igualmente robustos.

(iii) Hipótese do handicap revelador (Hamilton e Zuk, 1982). Ao contrário das duas hipóteses anteriores que envolvem uma redução da aptidão darwiniana ("fitness") dos machos como resultado da expressão do ornamento (daí a designação de handicap), esta hipótese apenas postula que o ornamento (handicap -, se é que se deve manter esta designação para este tipo de características) fornece à fêmea informação sobre a qualidade do macho (*e.g.* viabilidade/robustez), sem no entanto acarretar quaisquer custos para os machos que os apresentam em termos de sobrevivência. Ou seja, os ornamentos serviriam como características que as fêmeas poderiam monitorizar para avaliar a qualidade dos machos.

Hamilton e Zuk (1982) foram os primeiros a desenvolver esta hipótese, utilizando a qualidade dos machos de resistirem a parasitas e a doenças, segundo a qual as fêmeas ao escolherem machos com ornamentos elaborados ("handicaps") estariam a escolher machos saudáveis. Deste modo, os ornamentos serviriam para as fêmeas avaliarem a qualidade (*i.e.* resistência a doenças) dos machos, mas o desenvolvimento dos ornamentos não tornaria os machos mais susceptíveis a doenças.

É de realçar a diferença entre as hipóteses do handicap puro e do handicap condicional em relação a esta terceira hipótese do handicap revelador, que na realidade não constitui nenhum handicap. Enquanto que nas duas primeiras o ornamento representa um custo em termos de aptidão darwiniana ("fitness") para os machos que o apresentam, na terceira o ornamento evoluiu por sinalizar com fiabilidade as características dos machos, sem no entanto implicar quaisquer custos em termos de sobrevivência.

(c) Teoria da exploração ou do enviezamento sensorial (Ryan, 1990; Ryan e Rand, 1993).

Segundo esta teoria, o exageramento dos caracteres masculinos (*e.g.* ornamentos, colorações nupciais, etc) torna-os mais eficientes na atracção das fêmeas a distâncias maiores relativamente a caracteres menos intensos. Esta teoria apoia-se também nos muitos exemplos que existem na etologia clássica de respostas positivas de várias espécies animais a estímulos supra-normais (*e.g.* escolha de parceiros sexuais em *Gasterosteus aculeatus*, Rowland, 1989b). Deste modo, a evolução dos sinais/ornamentos nos machos seria devida à pré-existência de um enviezamento perceptivo das fêmeas que demonstram preferências por determinadas características. O ornamento evoluíria de acordo com a pressão selectiva imposta pela preferência existente nas fêmeas, o que ajudaria a explicar a evolução de caracteres masculinos exagerados, sem o recurso a modelos fisherianos ou dos bons genes. Segundo este modelo, as fêmeas que escolhem os machos mais conspícuos acasalam com sucesso com menos custos, e estes machos têm uma probabilidade maior de serem mais facilmente escolhidos por uma fêmea. Desde que este modelo foi proposto têm-se acumulado dados experimentais e correlacionais em diferentes grupos filogenéticos que o suportam (*e.g.* evolução das espadas na barbatana caudal em *Xiphophorus*, Basolo, 1990; intensidade das vocalizações na Rã *Physalaemus pustulosus*, Ryan *et al.*, 1990).

Recentemente Ryan e Rand (1993) baptizaram esta teoria de "exploração sensorial" ("sensory exploitation") para acentuar o facto de os machos evoluírem sinais que exploram os enviezamentos sensoriais das fêmeas. No entanto, e uma vez que ambos os sexos beneficiam neste sistema, Dawkins (1995) argumentou que o termo "exploração" seria enganador e sugeriu que o termo enviezamento sensorial ("sensory bias") seria mais adequado para rotular este modelo, embora reconheça que também esta designação se refere apenas a parte do sistema. Uma questão que se pode levantar relativamente a esta hipótese é a seguinte: porque é que o enviezamento nos sistemas sensoriais está tão difundido nos sistemas de comunicação animal? Arak e Enquist (1993) responderam parcialmente a esta questão quando introduziram o conceito de "preferências escondidas" ("hidden preferences"). Segundo estes autores, devido a constrangimentos de design, os sistemas sensoriais para o reconhecimento de estímulos não são perfeitos, *i.e.* os animais não respondem unicamente a estímulos adaptativos e ignoram todos os estímulos inapropriados. Isto porque existem muito mais estímulos possíveis do que aqueles a que o indivíduo é sujeito. Deste modo, as transformações evolutivas nos mecanismos de reconhecimento de estímulos ocorreram apenas como resultado da selecção que actuou sobre as respostas do animal (neste caso as fêmeas) ao relativamente pequeno número de estímulos que a espécie encontrou durante a sua história evolutiva. Assim, é impossível prever como é que o animal vai reagir quando

confrontado com estímulos novos, sendo possível a existência de preferências escondidas que nunca se manifestaram até ao aparecimento dos estímulos certos.

Uma outra resposta possível a esta pergunta é que os sinais utilizados pelos machos para atrair as fêmeas mimetizam estímulos para os quais as fêmeas respondem noutros contextos, tendo assim os machos evoluído os sinais na direcção de preferências sensoriais pré-existentes mas que tinham evoluído com outras funções adaptativas que não a escolha activa do parceiro sexual (Christy, 1995).

15.2. A SELECÇÃO SEXUAL E OS SISTEMAS DE REPRODUÇÃO EM ARENAS

Os sistemas de acasalamento poligâmicos em "leks", em que os machos se agregam em arenas reprodutoras nas quais estabelecem territórios unicamente destinados à reprodução têm merecido uma atenção especial no estudo da selecção sexual por constituírem sistemas nos quais a escolha das fêmeas não se pode basear aparentemente em benefícios imediatos, e nos quais os machos apresentam ornamentos e colorações nupciais bastante elaborados. Se não vejamos: nestes sistemas de acasalamento os machos não dispensam cuidados parentais à descendência e portanto os benefícios da escolha de um "bom pai" (*i.e.* um macho que investiria em cuidados parentais) não podem ser invocados; uma vez que nas arenas os territórios não possuem alimento sendo a sua função exclusivamente reprodutora, as fêmeas também não podem escolher os machos com base em benefícios em termos de recursos alimentares que estes lhes oferecem; mais ainda, como nestes sistemas os acasalamentos tendem a ser de curta duração os machos também não oferecem protecção física à fêmea. Assim, se as fêmeas demonstram uma preferência nas suas escolhas neste tipo de sistemas reprodutores, ela deve ser baseada em benefícios indirectos para as fêmeas explicados por uma das teorias acima expostas.

Nestes agregados tem sido demonstrado para diferentes grupos de Vertebrados, incluindo para Ciclídeos, que os machos dominantes ocupam uma posição central na arena e apresentam um maior sucesso reprodutor, o que pode ser devido, ou a uma preferência topográfica das fêmeas por acasalarem em territórios no centro das agregações de machos, ou a uma preferência por machos dominantes os quais, por acaso, ocupam os territórios centrais da colónia. Esta situação vem levantar duas questões:

(a) o processo de escolha da fêmea baseia-se num mecanismo activo de preferências/avaliação de um fenótipo masculino ou trata-se de um processo passivo?

(b) será que não existem potenciais benefícios imediatos para as fêmeas num sistema deste tipo?

15.2.1. Escolha Activa Vs. Escolha Passiva do Parceiro Sexual

A grande variância do sucesso reprodutor dos machos de espécies que se reproduzem em arenas reprodutoras, em que os machos centrais apresentam um maior sucesso reprodutor, não tem necessariamente que ser explicada pela existência de mecanismos de escolha activa das fêmeas por um determinado tipo de macho ou de território. Este fenómeno pode ser explicado através de um mecanismo de escolha passiva das fêmeas. Imaginemos um sistema de acasalamento em arenas reprodutoras com as seguintes características:

(a) os machos reagem à presença de uma fêmea cortejando-a por um período de tempo x, ao fim do qual a atacam se ela não responder positivamente às solicitações do macho;

(b) as fêmeas para responderem positivamente à corte de um macho requerem uma estimulação (corte de macho) por um período de tempo que diminui com cortes sucessivas.

Se a latência de resposta (y) das fêmeas for superior ao tempo médio de corte (x) dos machos a fêmea ao aproximar-se da colónia, e ao ser cortejada pelos primeiros machos que vai encontrar, e que são periféricos, não vai responder positivamente à corte destes machos e vai ser atacada. No entanto, esta primeira corte provoca uma diminuição da latência de resposta da fêmea (y-1). Neste momento uma de duas situações pode ter ocorrido: a fêmea ao ser atacada pelo macho periférico fugiu para fora da colónia, ou a fêmea fugiu para o interior da colónia. As fêmeas que fogem para fora da colónia vão ter que reiniciar o processo de novo; as fêmeas que fogem para dentro da colónia vão "cair" no território de um segundo macho. Este segundo macho vai cortejar a fêmea durante um período de tempo x, que de novo não vai ser suficiente para desencadear a resposta sexual das fêmeas ($x < y-1$), sendo a fêmea atacada. Como consequência, a fêmea foge para um território contíguo e o seu limiar de resposta a cortes baixou para y-2. O processo repete-se até que o limiar de resposta da fêmea se torna inferior ao tempo médio de corte dos machos (*i.e.* $x > y-n$), do que resulta um acasalamento bem sucedido, uma vez que as fêmeas vão desencadear a sua resposta sexual à corte do macho antes deste desistir da corte e passar a atacá-la.

Um modelo deste género pode levar a que os machos centrais tenham uma maior proporção de acasalamentos do que os periféricos se considerarmos um deslocamento centrípeto das fêmeas na colónia, o qual seria a consequência de dois factores:

(a) as fêmeas tenderiam a fugir quando são atacadas na direcção oposta à do último ataque que receberam, o qual teria sido em princípio de um macho mais periférico;

(b) as fêmeas que não se dirigirem para o centro da colónia correm o risco de atingirem o seu limiar de resposta sexual após serem ejectadas para fora da colónia dos machos, perdendo assim a sua postura (ver figura 15.1).

Segundo este modelo, as fêmeas acabam por acasalar com machos mais centrais na colónia sem que exista um processo de escolha activa por parte das fêmeas. Se este modelo se vier a confirmar através de estudos de simulação actualmente em curso o problema deverá ser posto de outra forma: as fêmeas não estão a escolher os machos centrais que são mais dominantes, mas os machos competem entre si por posições centrais na colónia que têm maiores taxas de acasalamentos, e são os dominantes que conseguem conquistar e manter essas posições.

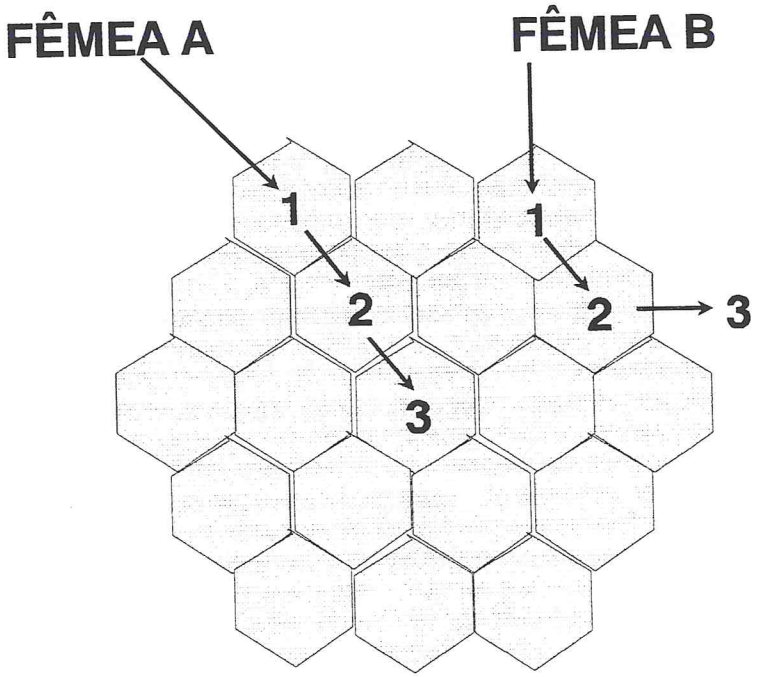


Figura 15.1. Trajectórias de duas fêmeas numa arena reprodutora de machos, em que as fêmeas atingem o limiar de resposta sexual ao serem cortejadas sucessivamente por três machos; a fêmea A atinge o limiar após ser ejectada para fora da colónia; a fêmea B atinge o limiar quando é cortejada pelo macho central com o qual acasala.

15.2.2. Os Benefícios Escondidos

Quais poderão ser as vantagens mais imediatas para as fêmeas se acasalarem preferencialmente com machos dominantes que ocupam uma posição central?

Para se responder a esta questão sugiro que se analisem os potenciais benefícios do acasalamento com um macho dominante e de o acasalamento se dar num território central da colónia separadamente.

O acasalamento das fêmeas com machos dominantes num sistema de acasalamento deste tipo podem-lhe trazer vários tipos de vantagens.

(a) Os machos dominantes podem ter uma maior quantidade de esperma ou esperma mais viável do que o dos subordinados, o que se traduziria por um maior número de ovos da postura fertilizados e, portanto, por uma maior fertilidade para as fêmeas. Levitan e Petersen (1995) chamaram recentemente à atenção para o facto de o esperma poder ser um factor limitante para a fertilização em espécies com fertilização externa. De facto, embora ao nível da produção nas gónadas as quantidades de esperma sejam muito superiores às de óvulos, no momento da fertilização o quociente esperma/óvulos pode ser mais variável e, em certas situações, o esperma pode-se tornar mesmo num factor limitante para a taxa de fertilidade (*e.g.* invertebrados sésseis com fertilização externa, Levitan e Petersen, 1995). No caso de espécies poligínicas, como em *O. mossambicus*, a disponibilidade de esperma dos machos pode ir diminuindo com acasalamentos sucessivos, podendo-se cair numa situação de limitação de esperma. Perante tal cenário, as fêmeas teriam vantagens em acasalarem com machos dominantes se estes tiverem uma maior disponibilidade de esperma. Embora não existam dados sobre volumes de esperma para machos dominantes e subordinados em *O. mossambicus*, observou-se no presente estudo que os dominantes reagiam à presença de fêmeas com um incremento de 17,20α-P, o qual não se verificava nos subordinados (ver capítulo 11). Se os níveis de 17,20α-P, a qual parece estar envolvida na espermiação, estiverem correlacionados com a quantidade de esperma, então os machos dominantes de *O. mossambicus* terão uma maior disponibilidade de esperma do que os subordinados. Este fenómeno foi recentemente demonstrado para a Truta Arco-íris, em que, na presença de fêmeas ovuladas, os machos dominantes produzem maiores quantidades de esperma do que os machos subordinados (Liley e Kroon, 1995).

(b) Os machos dominantes são mais eficientes a manterem outros machos afastados do par durante a postura, pelo que os acasalamentos em que participam são menos interrompidos. A disrupção dos acasalamentos pode ser um factor bastante crítico para a fêmea em espécies com fertilização externa, uma vez que se ocorrer antes dos ovos

terem sido fertilizados pode representar a perda de uma postura completa. A ocorrência de interferências de machos durante o acasalamento em espécies que nidificam em arenas está bem documentada e pode inclusive enviezar os padrões de escolha das fêmeas. No Galo-da-rocha, *Rupicola rupicola*, que nidifica em "leks", 32% dos acasalamentos são interrompidos devido à acção de terceiros (*i.e.* outros machos)(Trail, 1985), e no Ciclídeo africano *Pseudocrenilabrus philander* as interrupções dos acasalamentos representam também uma forte pressão na escolha dos parceiros, sendo o acesso dos machos às fêmeas baseado numa hierarquia de dominância baseada no tamanho (Sheppey e Ribbink, 1985).

(c) Os machos dominantes ocupam territórios centrais na colónia os quais estão menos expostos a predadores, quer em relação à fêmea quer no que diz respeito aos ovos. Os territórios centrais oferecem o benefício de estarem menos sujeitos à predação, quer dos adultos, e no caso da fêmea durante o acto da postura, quer dos ovos. Este fenómeno de protecção dos membros que ocupam uma posição central no grupo resultaria de um efeito de escudo, exercido pelos membros mais periféricos do grupo (Hamilton, 1971). Gross e MacMillan (1981), ao estudarem uma arena reprodutora de Peixe-sol (*Lepomis macrochirus*), demonstraram a existência de diferenças significativas entre ninhos centrais, ninhos periféricos e ninhos isolados no que diz respeito à pressão de predação a que as posturas estão sujeitas. Os ninhos periféricos são predados cerca de três vezes mais do que os ninhos centrais, e os ninhos solitários são muito menos viáveis do que os ninhos que se localizam nas colónias.

Os benefícios de se acasalar num território central poderão também residir no facto de estes poderem estar menos sujeitos a intrusões territoriais de conspecíficos do que os territórios mais marginais, e portanto terem uma menor probabilidade de interferências durante o acasalamento. Stamps *et al.* (1987) modelaram a variação espacial dos custos de defesa de um território, medidos pelo número de intrusões sofridas por território, em diferentes situações. A situação de uma colónia reprodutora de *O. mossambicus*, e de uma espécie com acasalamento em arenas em geral, corresponde ao modelo do "hard-edge" (Stamps *et al.*, 1987), em que o habitat em redor do "patch" (*i.e.* arena) não é favorável para os intrusos (*i.e.* machos conspecíficos), estando o movimento dos intrusos confinado às fronteiras da colónia. O modelo considera camadas concêntricas de territórios, e as suas previsões dependem da mobilidade dos intrusos. Se os intrusos têm uma mobilidade baixa, a variabilidade da pressão que exercem sobre os machos residentes é baixa entre as diferentes posições na colónia. Se a mobilidade dos intrusos é elevada, resulta que os territórios que se localizam na fronteira da colónia vão ser os que sofrem uma menor pressão, atingindo-se um pico de pressão na segunda

camada mais externa de territórios, e verificando-se um decréscimo gradual da pressão dos intrusos à medida que se caminha para o centro da colónia. Os dados empíricos disponíveis não são conclusivos, existindo casos que apoiam as predições do modelo e outros que as contrariam. Inglis e Isaacson (1978) mostraram que os Gansos que ocupam posições periféricas nas colónias despendem mais tempo em interacções agonísticas do que os que defendem posições centrais. De igual modo, Robertson *et al.* (1979) demonstrou que nos Peixes-cirurgião (Acanthuridae) os indivíduos nos bordos da colónia sofrem o dobro das intrusões territoriais de competidores inter-específicos, do que os indivíduos que ocupam os territórios centrais. Meadows (1995) observou uma discrepância entre as predições do modelo e os resultados de intrusões territoriais no Pomacentrídeo *Stegastes planifrons*. Este autor mostrou que o número de intrusões territoriais por heterospecíficos diminui da periferia para o centro da colónia, mas aumenta a pressão dos intrusos conspecíficos com a distância à fronteira da colónia.

Stamps *et al.* (1987) modelaram também uma situação que pode representar o efeito de predação diferencial por predadores heterospecíficos em relação a territórios periféricos vs. centrais. Segundo este modelo ("soft-edge with reserve", Stamps *et al.*, 1987), o movimento dos intrusos não se encontra limitado pelas fronteiras da colónia e o habitat que vizinho da colónia funciona como uma fonte de intrusos (*i.e.* predadores). Nesta situação o modelo prediz que a pressão de predação seja maior na periferia da colónia e que declina acentuadamente em direcção ao centro da colónia. Os dados empíricos, já expostos acima, parecem confirmar as predições deste modelo.

Em resumo, as fêmeas ao escolherem territórios centrais poderão obter vantagens em termos de uma menor pressão de predação sobre elas próprias e/ou sobre os ovos, e também podem beneficiar de uma menor probabilidade de verem a sua postura posta em perigo por uma disrupção do acasalamento, causada pela intromissão de um intruso conspecífico. Poder-se-ia argumentar que nos sistemas de reprodução em espécies com incubação bucal materna, em que as posturas estão expostas a predadores por um muito curto período de tempo, entre a oviposição e a colecta dos ovos para a cavidade bucal das fêmeas, as pressões de predação sobre a postura deveriam ser mínimas. No entanto, não é isso que acontece, existindo inclusive espécies especialistas na predação de ovos em arenas de reprodução multiespecíficas dos Grandes Lagos africanos (para uma revisão ver Yamaoka, 1991).

15.3. O HANDICAP DA IMUNOCOMPETÊNCIA E O PAPEL DOS ANDROGÉNIOS COMO MEDIADORES FISIOLÓGICOS DA QUALIDADE DOS MACHOS

Recentemente, Folstad e Karter (1992) propuseram um modelo fenomenológico para operacionalizar o modo de acção dos modelos dos handicaps. Eles basearam as suas premissas no modelo de Hamilton e Zuk (1982), segundo o qual as fêmeas escolhem machos resistentes a parasitas avaliando esta qualidade dos machos através dos caracteres sexuais secundários que constituem um handicap. Até então as hipóteses dos handicaps baseavam-se explicita ou implicitamente em custos energéticos associados aos handicaps. Folstad e Karter (1992) propuseram a existência de custos de natureza endocrinológica associados ao desenvolvimento dos caracteres sexuais masculinos. Segundo estes autores, a testosterona tem um duplo efeito: por um lado, estimula o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários sujeitos à selecção sexual; por outro lado, tem um efeito negativo sobre o sistema imunitário. Com base neste aparente compromisso fisiológico, Folstad e Karter (1992) propuseram a existência de um mecanismo de retroacção negativa da susceptibilidade a parasitas sobre a expressão dos ornamentos masculinos. Os handicaps seriam assim o reflexo de uma competição entre os custos potenciais de uma infecção por parasitas e o aumento do sucesso reprodutor associado ao desenvolvimento dos ornamentos masculinos (ver figura 15.2).

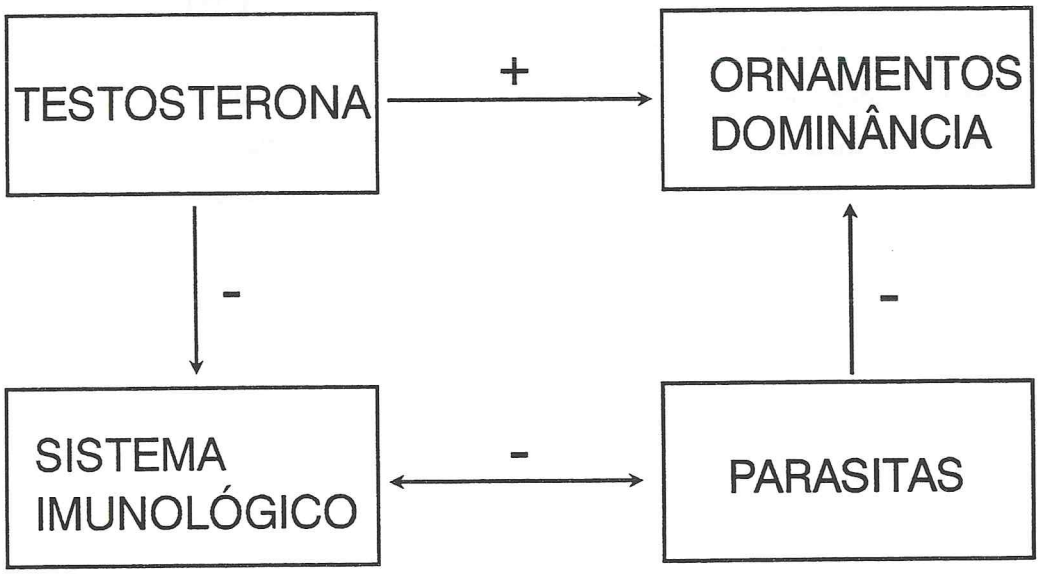


Figura 15.2. Interacções incluídas no modelo do handicap da imuno-competência. As setas indicam relações de causalidade e os sinais efeitos negativos/ positivos.

Este modelo tem ele próprio dois grandes handicaps que nos revelam a sua fragilidade:

(a) a evidência empírica para a existência de uma relação causal entre a testosterona e a depressão do sistema imunitário é consistente para as diferentes classes de Vertebrados (*e.g.* Mamíferos Marsupiais, Bradley, 1987; Teleósteos, Slater e Schreck, 1993; para uma revisão ver Grossman, 1985); no entanto, a testosterona não parece ser o androgénio mais potente na indução da expressão dos caracteres sexuais masculinos, estando este papel a cargo de metabolitos da testosterona (*e.g.* Teleósteos: 11-cetotestosterona, Liley e Stacey, 1983; Borg, 1994; Aves: 5α-dihidroxi-testosterona, Massa *et al.*, 1980). Nas Aves existem mesmo algumas características, como por exemplo colorações nupciais, que têm sido emblematicamente utilizadas como exemplos de caracteres sexualmente seleccionados, cuja expressão está dependente de estrogénios e é inibida pela presença de testosterona (Owens e Short, 1995). Assim sendo, é difícil de sustentar o argumento do compromisso entre a expressão dos ornamentos e a imunocompetência.

(b) Mesmo que se considerem os casos em que o compromisso possa existir (*e.g.* Ligon *et al.*, 1990), o argumento deste modelo baseia-se numa série de correlações encadeadas que podem emergir devido a outros factores. Em relação a este ponto gostaria de realçar os seguintes aspectos:

(i) a imuno-depressão parece ser uma resposta adaptativa à competição entre machos, como forma de evitar as respostas inflamatórias durante os combates, uma vez que estas iriam prejudicar a eficácia dos machos nos confrontos agonísticos (Wilson, 1975);

(ii) os androgénios, e a testosterona em particular, respondem às interacções sociais mantendo-se elevados durante os períodos de competição entre machos, *i.e.* durante o estabelecimento de territórios, e respondendo a intrusões territoriais (Wingfield *et al.*, 1990).

Estes dois pontos esclarecem em conjunto o porquê da associação existente entre a testosterona e a supressão das respostas do sistema endócrino. De facto, será no início da época de reprodução, aquando do estabelecimento de territórios reprodutores, que os machos vão apresentar níveis mais elevados de androgénios e simultaneamente vão também apresentar uma resposta imuno-supressiva que lhes permita responder aos desafios de outros machos sem se encontrarem debilitados por respostas inflamatórias. Por outro lado, os autores da hipótese da imuno-supressão parecem ter esquecido o papel maior desempenhado pelos corticosteróides nesta história. De facto, os efeitos dos corticosteróides sobre o sistema imunitário sobrepõem-se aos efeitos dos androgénios, mediando respostas ao stress. Seria interessante verificar o papel desempenhado pelos

corticosteróides nos casos em que se detectaram evidências circunstanciais que sugerem uma correlação entre androgénios e imuno-supressão.

No caso das Tilápias foi já demonstrado que os indivíduos dominantes são menos susceptíveis a infecções do que os subordinados possuindo um sistema imunitário mais eficaz do que o dos subordinados (Ghoneum *et al.*, 1988; Cooper *et al.*, 1989). Por outro lado, os indivíduos dominantes apresentam os caracteres sexuais secundários mais desenvolvidos (ver capítulo 10) e níveis mais elevados de androgénios, nomeadamente de testosterona (ver capítulo 11).

Deste modo, os caracteres sexuais masculinos podem funcionar para as fêmeas como indicadores de algumas qualidades fenotípicas dos machos como sejam a resistência a parasitas, e os níveis de androgénios que o macho possui. O que não se confirma é o papel da testosterona como mecanismo fisiológico de controlo de um compromisso entre as respostas imunológicas e a expressão dos caracteres sexuais masculinos.

15.4. OS ANDROGÉNIOS COMO INDICADORES DE QUALIDADES FENOTÍPICAS DOS MACHOS

Do que acima ficou dito pode-se concluir que:

(a) os modelos genéticos de selecção sexual (*i.e.* descendentes atractivos e dos bons genes) são difíceis de sustentar, e levantam o problema da arbitrariedade com que se estabelece a geração na qual as contas de "fitness" para a fêmea são feitas. Em alguns casos a escolha das fêmeas não se justifica pelo seu "fitness" medido na geração F1 mas sim pelo "fitness" dos seus descendentes, ou seja, pelo "fitness" da fêmea medido na geração F2 (*e.g.* modelo dos descendentes atractivos).

(b) muita da evidência circunstancial que apoia as hipóteses dos handicaps pode apoiar a existência de mecanismos indicadores de qualidade do macho, os quais não têm necessariamente que ser indicadores de qualidades genéticas, mas que podem indicar qualidades fenotípicas dos machos, as quais podem ser vantajosas para as fêmeas (*i.e.* mecanismos indicadores *sensu* Andersson, 1994).

De facto, mesmo que a escolha das fêmeas se baseie em benefícios imediatos isso não invalida a existência de indicadores fenotípicos (*e.g.* ornamentos) da qualidade dos machos. Isto porque, uma coisa é a qualidade masculina na qual a fêmea está interessada (*e.g.* fertilidade), e outra é a maneira segundo a qual a fêmea pode avaliar essa qualidade nos machos (*e.g.* ornamento ou comportamento masculino correlacionado positivamente com a fertilidade). Será, assim, de prever a evolução de caracteres morfológicos e/ou etológicos que sirvam de indicadores para as fêmeas de qualidades fenotípicas dos machos que são relevantes para o sucesso reprodutor das fêmeas.

O facto de muitos dos caracteres sexuais masculinos, incluindo alguns dos ornamentos, serem dependentes de androgénios vem levantar a hipótese destes servirem de mediadores fisiológicos para a expressão de qualidades fenotípicas dos machos.

Se pensarmos que os níveis de androgénios circulantes nos machos dependem não só de factores genéticos, mas também, e talvez até mais, de factores ambientais, e nomeadamente do ambiente e do estatuto social (*e.g.* Wingfield *et al.*, 1990), então a expressão de ornamentos dependentes de androgénios deverá ter uma correlação baixa com as qualidades genéticas dos machos, e deverá revelar muito mais as qualidades fenotípicas dos machos.

De facto existe todo um corpo de literatura que sustenta este papel para os androgénios:

(a) os androgénios estão normalmente bem correlacionados com o índice gonado-somático, o que pode ligar a expressão de caracteres androgénio-dependentes à fertilidade do macho;

(b) os indivíduos dominantes apresentam níveis mais elevados de androgénios. Sendo a dominância social um bom preditor da não disrupção dos acasalamentos por outros machos, as fêmeas teriam vantagem em escolher machos dominantes para acasalar, podendo basear a sua escolha em características dependentes de androgénios;

(c) existindo uma forte interligação entre dominância social e níveis de androgénios, e estando os indivíduos dominantes sujeitos a um menor stress fisiológico, e, como consequência, tendo um sistema imunitário mais capaz, então as fêmeas ao escolherem os machos com base em caracteres androgénio dependentes garantem um acasalamento com um macho mais resistente a parasitas. É de salientar que as fêmeas devem ter benefícios imediatos de acasalarem com machos não parasitados, ou pouco parasitados, uma vez que a proximidade física e/ou o contacto durante o acasalamento devem constituir situações críticas para a transmissão de parasitas e agentes infecciosos. Para avaliar o impacto de tal situação basta tomar por exemplo o caso das doenças transmitidas por via sexual em humanos.

16.
11-CETOTESTOSTERONA:
UMA HORMONA MASCULINA EM TELEÓSTEOS?

Os Peixes Teleósteos apresentam do ponto de vista endócrino a particularidade de possuírem uma hormona masculina que está, praticamente, apenas restrita a este grupo de Vertebrados: a 11-cetotestosterona. Esta hormona aparece em Teleósteos, regra geral, como o androgénio mais potente na indução dos caracteres sexuais secundários (Liley e Stacey, 1983; Borg, 1994), e é o esteróide que numa análise nas diferentes famílias aparece associado ao fenótipo masculino (Brantley *et al.*, 1993b; Borg, 1994). De facto, em algumas espécies as quantidades de testosterona circulante podem ser mais elevadas em fêmeas do que em machos. No entanto, os níveis de 11-cetotestosterona são praticamente inexistentes em fêmeas (Kime, 1993), tendo até a sua presença no plasma sido proposta como um meio de determinação do sexo para algumas espécies (Cuisset *et al.*, 1991).

Recentemente, tem crescido o interesse por esta hormona, e tem-se acumulado evidência experimental de que ela, não é apenas mais potente na indução dos caracteres sexuais masculinos, mas está também envolvida na activação do comportamento sexual masculino. Borg (1987) verificou que no Esgana-gata-de-três-espinhos (*Gasterosteus aculeatus*) a 11-cetotestosterona era o androgénio mais potente no restabelecimento do comportamento sexual de machos castrados. Recentemente, Kobayashi *et al.* (1995) demonstraram a existência de plasticidade no comportamento sexual do Peixe-vermelho (*Carassius auratus*): a administração de prostaglandinas induz o reflexo de postura nos machos, e a administração de androgénios induz o comportamento sexual masculino em fêmeas. O mais interessante porém, é que a 11-cetotestosterona é muito mais potente do que a testosterona na indução do comportamento sexual masculino. Os resultados do presente trabalho (capítulo 11) indicam que, embora, quer a testosterona, quer a 11-cetotestosterona estejam bem correlacionadas com aspectos do comportamento reprodutor masculino (*e.g.* dimensão do ninho, número de cortes), o índice 11-cetotestosterona/ testosterona, que pode ser tido como um indicador da metabolização de testosterona em 11-cetotestosterona, separa claramente machos territoriais, sexualmente activos, de machos subordinados ou não territoriais, nos quais o comportamento sexual se encontra inibido.

Estes resultados em conjunto sugerem que a 11-cetotestosterona poderia ter nos Teleósteos um papel de activação do comportamento sexual masculino. Seria interessante analisar este problema de dois pontos de vista:

(a) da causalidade próxima - ou seja, quais são os mecanismos fisiológicos pelos quais esta hormona exerce a sua acção?

(b) da função e evolução - ou seja, a 11-cetotestosterona representa um mecanismo ancestral de controlo do comportamento sexual masculino que viria depois a ser substituído nos Tetrápodes? Ou representa antes uma inovação específica dos Teleósteos?

Infelizmente, tenho de admitir que ainda não se dispõe de dados na literatura que permitam responder actualmente a estas perguntas. No entanto, não quis deixar de chamar à atenção para este assunto devido às potencialidades que ele representa para futuras investigações. Mas voltemos às questões levantadas e às poucas evidências disponíveis.

No que diz respeito ao mecanismo de acção da 11-cetotestosterona, ele é actualmente um dos mistérios da endocrinologia comparada. Efectivamente, apesar dos efeitos demonstrados, ainda não se conhecem receptores específicos para a 11-cetotestosterona, e a afinidade desta hormona para os receptores de androgénios conhecidos é muito baixa (Pottinger, 1987; Pasmanik e Callard, 1988b). As explicações possíveis são diversas: há autores que argumentam que os receptores podem ser demasiado "frágeis" para serem detectados com a tecnologia actualmente disponível, o que só será completamente esclarecido depois de sequenciada a molécula do receptor, e depois de se proceder a hibridação *in situ*; outros sugerem que a 11-cetotestosterona (11-KT) poderá actuar numa forma reduzida (*e.g.* a 5α-11KT é mais potente na indução da coloração nupcial em juvenis de Guppy do que a 11KT, Zentel, 1988 *in* Borg, 1994); e existe ainda a hipótese de parte dos efeitos se deverem a acções directas não-genómicas desta hormona sobre os circuitos neurais (*e.g.* efeitos sobre a permeabilidade da membrana a nível sináptico, que poderiam criar mecanismos de facilitação ou de inibição de determinados circuitos)(*e.g.* Moore e Scott, 1991; Cardwell *et al.*, 1995).

Do ponto de vista filogenético é interessante traçar o percurso evolutivo dos androgénios hidroxilados dos quais a 11-cetotestosterona resulta (ver tabela 16.1).

Nos Agnatha ocorrem androgénios hidroxilados nas posições 6β, 7α (Mixinídeos: Kime e Hews, 1980; Kime *et al.*, 1980) e 15α e 15β (Petromizontídeos: Kime e Rafter, 1981; Kime e Callard, 1982). A redução na posição 5α é também possível nos Mixinídeos (Kime, 1987).

Nos Chondrichthyes, apenas se dispõe de informações para Elasmobrânquios nos quais as formas hidroxiladas da testosterona estão ausentes, sendo o principal androgénio o sulfato de testosterona (Kime, 1987).

Nos Chondrostei, detectou-se 11-cetotestosterona no Esturjão *Acipenser baeri* (Cuisset *et al.*, 1991), e não existem dados disponíveis nem para Dipnóicos nem para Crossopterígeos.

Tabela 16.1. Ocorrência de diferentes androgénios em Vertebrados. OHT, hidroxi-testosterona; KT, cetotestosterona; DHT, di-hidroxi-testosterona; T, testosterona.

Grupo	15α OHT	15β OHT	6β OHT	7α OHT	11β OHT	11 KT	5α DHT	5β DHT	T
AGNATHA									
Myxinidae			+	+			+		
Petromyzontidae	+	+							
GNATHOSTOMATA (PISCES)									
Elasmobranchii									(S)
Holocephali	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Dipnoi	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Crossopterygii	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Holostei	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Chondrostei (Acipenseriformes)						+			
Lepisosteiformes	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Amiiformes	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Teleostei					+	+		+	+ (G)
TETRAPODA									
Amphibia (Apoda)	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Amphibia (Urodela)					+	+			
Amphibia (Anura)							+		
Reptilia							+		+
Aves							+	+	+
Mammalia							+		+

Em relação aos Teleostéos, aparecem os 11-oxi-androgénios, como sejam a 11β-hidroxi-testosterona e a 11-cetotestosterona (*e.g. Oreochromis mossambicus*, Kime e Hyder, 1983), o que se fica a dever à acção de duas enzimas, respectivamente a 11β-hidroxilase e a 11β-hidroxi-esteróide-desidrogenase (11β-HSD), e podem ocorrer também metabolitos reduzidos na posição 5β- e androgénios conjugados sob a forma de glucorónidos (Kime, 1987). No entanto, estes produtos não ocorrem todos em todas as espécies de Teleósteos. Existem espécies que não apresentam androgénios hidroxilados (*e.g.* Gobídeos: *Gobius paganellus*, Colombo *et al.*, 1970; *Glossogobius olivaceus*,

Asahina *et al.*, 1985), e outras apresentam apenas 11β-hidroxi-testosterona (*e.g.* alguns Perciformes ambisexuais, Idler *et al.*, 1976), e outras ainda apresentam 11β-hidroxi-testosterona e 11-cetotestosterona em quantidades equivalentes (*e.g. O. mossambicus*, Kime e Hyder, 1983). Nos Anfíbios observa-se uma dicotomia acentuada em relação aos esteróides presentes: os Urodelos assemelham-se aos Teleósteos, possuindo as vias biosintéticas para a 11β-hidroxi-testosterona e 11-cetotestosterona (Bolaffi *et al.*, 1979), enquanto que nos Anuros predominam os esteróides 5α- reduzidos, sendo a 5α-di-hidroxi-testosterona o principal androgénio (Kime, 1987). Nos Répteis e nos Mamíferos estão presentes a testosterona e a 5α-di-hidroxi-testosterona (DHT), e nas Aves repete-se este padrão ocorrendo também a 5β-DHT (Kime, 1987).

Do que acima foi exposto são de salientar os seguintes pontos:

(a) os androgénios hidroxilados parecem ser uma característica primitiva, estando a sua ocorrência limitada aos Agnatha, aos Teleósteos e aos Urodelos. A este respeito é tentador sugerir que a 11β-hidroxilase dos Teleósteos e dos Urodelos, poderia partilhar uma origem comum com a 6β- e 7α-hidroxilase dos Mixinídeos. Kime (1987) chamou a atenção para o facto de que as moléculas hidroxiladas de testosterona nas posições 6β-, 7 α- e 11β- possuírem este grupos orientados axialmente numa posição central da molécula. O mesmo autor refere que por rotação dos modelos, as três moléculas poderiam ajustar-se às mesmas posições receptoras para os átomos de oxigénio: 3, 17 e 6, 7 ou 11. Esta semelhança estrutural entre estas três moléculas, sugere que a actividade biológica que dependa da ligação a um receptor deve ser semelhante entre elas (Kime, 1987).

(b) o facto de Teleósteos e Urodelos partilharem a 11-cetotestosterona pode sugerir que a 11β-hidroxilase estivesse já presente no ancestral dos Tetrápodes. O esclarecimento desta questão parece difícil presentemente, devido à inexistência de dados sobre Dipnóicos e sobre Crossopterígeos, os quais representam uma linhagem próxima do ancestral dos Tetrápodes (Meyer, 1995). Por outro lado, a possibilidade de os Anfíbios não serem um grupo monofilético (Crespo, 1983) vem aumentar as dificuldades na interpretação destes dados.

(c) parece existir uma tendência evolutiva para os esteróides se tornarem mais simples, desaparecendo os grupos ceto e hidroxilo. De facto, Répteis, Aves e Mamíferos apenas possuem testosterona e uma forma reduzida na posição 5 (ver tabela 16.1). A este respeito é interessante referir que algumas formas hidroxiladas são ainda detectadas em Mamíferos, incluindo o Homem, como produtos atípicos (Eechaute *et al.*, 1974; Sunde *et al.*, 1980).

É ainda de salientar que, em muitos casos, a existência de resultados negativos pode não ser conclusiva. Por um lado, em alguns dos estudos que recorrem a cromatografia foram detectadas fracções não identificadas; assim, as limitações técnicas

existentes na época em que foram realizados são um factor limitante em alguns dos trabalhos publicados. Por exemplo, os radio-imunoensaios para o doseamento de 11-cetotestosterona no plasma foram desenvolvidos apenas na década de 70 (*e.g.* Idler *et al.*, 1971). Por outro lado, o interesse pela 11-cetotestosterona só recentemente (*i.e.* década de 80) se veio a desenvolver, devido ao corpo de dados promissores entretanto acumulados, não estando alguns dos autores alertados para este assunto.

Mesmo que uma pessoa se decida a esclarecer este problema, recolhendo dados de novo sem ter de recorrer aos trabalhos já publicados, não fica livre de dúvidas. As principais questões seriam onde e quando procurar.

Para responder à primeira pergunta seria mais ou menos óbvio que tratando-se de um esteróide sexual masculino se iria proceder à sua pesquisa no aparelho reprodutor masculino. No entanto, logo aqui começam as dificuldades. Em muitas espécies o aparelho reprodutor masculino é constituído não só pelas gónadas, mas também por orgãos acessórios os quais também possuem capacidade esteroidogénica. Um exemplo pragmático é-nos dado pelo Blenídeo *Salaria pavo* no qual existe uma diferenciação das vias de biosíntese de esteróides no aparelho reprodutor masculino, sendo a testosterona o principal produto dos testículos, e sendo os 11-oxi-androgénios sintetizados preferencialmente na glândula testicular (Reinboth e Becker, 1986). Este exemplo vem realçar a necessidade de se proceder a incubações não só das gónadas, mas também dos orgãos acessórios nas espécies que os possuem (*e.g.* vesícula seminal em Gobídeos, Fishelson, 1989).

Mesmo assim, os problemas não ficam resolvidos com um rastreio completo de todas as estruturas com potencial capacidade esteroidogénica no aparelho reprodutor masculino. Em muitas espécies as células sanguíneas têm a capacidade de sintetizar 11-cetotestosterona a partir de 11β-hidroxi-androstenediona (Mayer *et al.*, 1990b). Assim, um resultado negativo de incubações com tecidos do aparelho reprodutor masculino podem também não ser conclusivos, pelo que, para o rastreio ficar completo, se deveria recorrer ainda à detecção de 11-cetotestosterona no plasma.

Estando aparentemente resolvido o problema do local de busca, outro se levanta: quando procurar o esteróide? Os esteróides sexuais, incluindo a 11-cetotestosterona, não são produzidos continuamente pelo organismo, apresentando picos sazonais coincidentes com a actividade sexual dos indivíduos. Para mais, este picos não ocorrem simultaneamente para todos os esteróides, nem o padrão para o mesmo esteróide é igual para diferentes espécies (Kime, 1993). Mais uma vez, um resultado negativo poderia ser inconclusivo, sendo necessário fazer uma avaliação do estado de maturação sexual dos indivíduos para nos certificarmos de que estes se encontravam numa fase do ciclo na qual seria de esperar a síntese do esteróide em causa, no presente caso da 11-cetotestosterona.

Uma forma possível de contornar este problema seria recorrer à indução artificial da maturação sexual e recolher amostras nas diferentes fases do ciclo sexual.

PARTE V

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS

ADKINS, E.K. E PNIEWSKI, E.E. (1978). Control of reproductive behavior by sex steroids in male quail. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92, 1169-1178.

ADKINS, E.K. E NOCK, B.L. (1976). The effects of the antiestrogen CI-628 on sexual behavior activated by androgen and estrogen in quail. *Horm. Behav.* 7, 417-429.

ADKINS, E.K., BOP, J.J., KOUTNIK, D.L., MORRIS, J.B. E PNIEWSKI, E.E. (1980). Further evidence that androgen aromatization is essential for the activation of copulation in male quail. *Physiol. Behav.* 24, 441-446.

AL-MALAKI, S., BRAIN, P.F., CHILDS, G. E BENTON, D. (1980). Factors influencing maternal attack on conspecific intruders by lactating female 'TO' strain mice. *Aggr. Behav.* 6, 103-117.

ALBRECHT, H. (1968). Freiwasserbeobachtungen an tilapien (Pisces, Cichlidae) in Ostafrika. *Z. Tierpsychol.* 25, 377-394.

ALDENDERFER, M.S. E BLASHFIELD, R.K. (1984). *Cluster Analysis*. Sage Publications, London.

ALEXANDRE, C. E BALTHAZART, J. (1986). Effects of metabolism inhibitors, antiestrogens and antiandrogens on the androgen and estrogen induced sexual behavior in Japanese quail. *Physiol. Behav.* 38, 581-591.

ALLANSON, B.R. E NOBLE, R.G. (1964). The tolerance of *Tilapia mossambica* (Peters) to high temperatures. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 93, 323-332.

ALLANSON, B.R., BOK, A. E VAN WYK, N.I. (1971). The influences of exposure to low temperature on *Tilapia mossambica* Peters (Cichlidae). II. Changes in serum osmolarity, sodium and chloride concentrations. *J. Fish Biol.* 3, 181-185.

ALMADA, V.M.C. (1990). *Etologia da Reprodução e Cuidados Parentais nos Peixes Ósseos - Contributos para uma Abordagem Filogenética e Ecológica*. Tese de Doutoramento, Universidade de Lisboa.

ALMADA, V.C. (1995). *ADERSIM: Programa de Computador para a Aplicação de Estatística de Simulação a Testes de Aderência*. ISPA, Lisboa.

ANDERSSON, M. (1994). *Sexual Selection*. Princeton University Press, Princeton, NJ.

ANDRIES, S. E NELISSEN, M.H.J. (1990). A study of the dominance hierarchy in four Mbuna-species: *Melanochromis johanni, M. auratus, Pseudotropheus "ornatus"* and *P. lombardoi* (Teleostei: Cichlidae). *Belg. J. Zool.* 120, 165-193.

APFELBACH, R. (1969). Vergleichend quantitative Untersuchungen des Fortpflanzungs-verhaltens brutpflegemono- und -dimorpher Tilapien (Pisces, Cichlidae). *Z. Tierpsychol.* 26, 692-725.

APPLEBY, M.C. (1983a). The probability of linearity in hierarchies. *Anim. Behav.* 31, 600-608.

APPLEBY, M.C. (1983b). Competition in a red deer stag social group: rank, age and relatedness of opponents. *Anim. Behav.* 31, 913-918.

APPLEBY, M.C. (1985). Hawks, doves... and chickens. *New Scientist* 105 (1438), 16-18.

APPLEBY, M.C. (1993). How animals perceive a hiearchy: reactions to Freeman *et al. Anim. Behav.* 46, 1232-1233.

ARAK, A. E ENQUIST, M. (1993). Hidden preferences and the evolution of signals. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B 340, 207-213.

ARAVINDAN, C.M. E PADMANABHAN, K.G. (1972). Source of a new crop of oocytes in *Tilapia mossambica*. *Helgolander wiss. Meeresunters.* 23, 184-192.

ARCHER, J. (1988). *The Behavioural Biology of Aggression*. Cambridge University Press, Cambridge.

ARCHER, J. (1992). *Ethology and Human Development*. Harvester Wheatsheaf, N.Y.

ARNOLD, A.P. E BREEDLOVE, S.M. (1985). Organizational and activacional effects of sex steroids on brain and behavior: a reanalysis. *Horm. Behav.* 19, 469-498.

ARNOLD, M., KRIESTEN, K. E PETERS, H.M. (1968). Die Haftorgane von Tilapia-Larven (Cichlidae, Teleostei). Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* 91, 248-260.

ARONSON, L.R. (1948). Problems in the behavior and physiology of a species of African mouthbreeding fish. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 2, 33-43.

ARONSON, L.R. (1949). An analysis of reproductive behaviour in mouth breeding fish, *Tilapia macrocephala* (Bleeker). *Zoologica* 34, 133-158.

ARONSON, L.R. (1945). Influence of the stimulus provided by the male cichlid fish, *Tilapia macrocephala* on the spawning requency of the female. *Physiol. Zool.* 18, 403-415.

ARONSON, L.R. (1951). Factors influencing the spawning frequency in the female cichlid fish, *Tilapia macrocephala* (Bleeker). *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 2, 33-42.

ARONSON, L.R. E HOLZ-TUCKER, M. (1947). Morphological effects of castration and treatment with gonadal hormones on the female cichlid fish, *Tilapia macrocephala*. *Anat. Rec.* 99, 572-573.

ARONSON, L.R., SCHARF, A. E SILVERMAN, H. (1960). Reproductive behavior after gonadectomy in males of the cichlid fish, *Aequidens latifrons*. *Anat. Rec.* 137, 335.

ARTHINGTHON, A.H. E MILTON, D.A. (1986). Reproductive biology, growth and age composition of the introduced *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) in two reservoirs, Brisbane, Australia. *Env. Biol. Fish.* 16, 257-266.

ARTHINGTHON, A.H., MCKAY, R.J., RUSSELL, D.J. E MILTON, D.A. (1984). Occurrence of the introduced cichlid *Oreochromis mossambicus* (Peters) in Queensland. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 35, 267-272.

A.S.A.B. (1995). Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching. *Anim. Behav.* 49, 277-282.

ASAHINA, K., AIDA, K. E HIGASHI, T. (1993). Biosynthesis of 17α,20α-dihydroxy-4-pregnen-3-one from 17α-hydroxyprogesterone by goldfish (*Carassius auratus*) spermatozoa. *Zool. Sci.* 10, 381-383.

ASAHINA, K. BARRY, T.P., AIDA, K., FUSETANI, N. E HANYU, I. (1990). Biosynthesis of 17α,20α-dihydroxy-4-pregnen-3-one from 17α-hydroxyprogesterone by spermatozoa of the common carp, *Cyprinus carpio*. *J. Exp. Zool.* 255, 244-249.

ASAHINA, K., SUZUKI, K., AIDA, K., HIBIYA, T., E TAMAOKI, B.-I. (1985). Relationship between the structures and steroidogenic functions of the testes of the urohaze goby (*Glossogobius olivaceus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 57, 281-292.

ASCHOFF, J. (1960). Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 25, 11-28.

ASPEY, W.P. E BLANKENSHIP, J.E. (1977). Spiders and snails and statistical tales: application of multivariate analyses to diverse ethological data. In: B.A. HAZLETT (ed.), *Quantitative Methods in the Study of Animal Behaviour*, pp. 75-120. Academic Press, New York.

AVELAR, T. (1994). O esforço reprodutor e os seus problemas. In: V.C. ALMADA E R.F. OLIVEIRA (eds.), *Biologia e Comportamento - Actas do I Congresso Nacional de Etologia*, pp. 15-23. I.S.P.A., Lisboa.

AXELROD, H.R. (1993). *The Most Complete Colored Lexicon of Cichlids.* Tropical Fish Hobbyist, Neptune, NJ.

BAERENDS, G.P. (1984). The organization of the pre-spawning behaviour in the cichlid fish *Aequidens portalegrensis* (Hensel). *Neth. J. Zool.* 34, 233-366.

BAERENDS, G.P. E BAERENDS VAN ROON, J.M. (1950). An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behaviour*, suppl. 1, 1-242.

BAERENDS, G.P., WANDERS, J.B. E VODEGEL, R. (1986). The relationship between marking patterns and motivacional state in the pre-spawning behaviour of the cichlid fish *Chromidotilapia guentheri* (Sauvage). *Neth. J. Zool.* 36: 88-116.

BAGGERMAN, B. (1966). On the endocrine control of reproductive behaviour in the male three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Symp. Soc. Exp. Biol.* 20, 427-456.

BALDWIN, F.M. E GOLDIN, H.S. (1939). Effects of testosterone propionate on the female viviparous teleost, *Xiphophorus helleri* Heckel. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 42, 813-819.

BALL, G.F. E WINGFIELD, J.C. (1987). Changes in plasma levels of luteinizing hormone and sex steroid hormones in relation to multiple-broodedness and nest-site density in male starlings. *Physiol. Zool.* 60, 191-199.

BALON, E.K. (1975). Terminology of intervals in fish development. *J. Fish. Res. Board Can.* 32, 1663-1670.

BALON, E.K. (1977). Early ontogeny of *Labeotropheus* Ahl, 1927 (Mbuna, Cichlidae, Lake Malawi), with a discussion on advanced protective styles in fish reproduction and development. *Env. Biol. Fish.* 2, 147-176.

BALTHAZART, J. (1973). Analyse factorielle du comportement agonistique chez *Tilapia macrochir* (Boulenger 1912). *Behaviour* 46, 37-72.

BALTHAZART, J. E FOIDART, A. (1993). Brain aromatase and the control of male sexual behavior. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 44, 521-540.

BALTHAZART, J., DE CLERCK, A., E FOIDART, A. (1992). Behavioral desmaculinization of female quail is induced by estrogens: studies with the new aromatase inhibitor, R76713. *Horm. Behav.* 26, 179-203.

BALTHAZART, J., EVRARD, L. E SURLEMONT, C. (1990a). Effects of the non-steroidal aromatase inhibitor R76713 on testosterone-induced sexual behavior in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Horm. Behav.* 24, 510-531.

BALTHAZART, J., FOIDART, A. E HENDRICK, J.C. (1990b). The induction by testosterone of aromatase activity in the preoptic area and activation of copulatory behavior. *Physiol. Behav.* 47, 83-94.

BALTHAZART, J., FOIDART, A., SURLEMONT, C. E HARADA, N. (1990c). Neuroanatomical specificity in the co-localization of aromatase and estrogen receptors. *J. Neurobiol.* 22, 143-157.

BALTHAZART, J., SCHUMACHER, M., E MALACARNE, G. (1985). Interaction of androgens and estrogens in the control of sexual behavior in male Japanese quail. *Physiol. Behav.* 35, 157-166.

BARCHAS, P.R. E MENDOZA, S.D. (1984). Emergent hierarchical relationships in rhesus macaques: an application of Chase's model. In: P.R. BARCHAS (ed.), *Social Hierarchies: Essays Toward a Sociophysiological Perspective*, pp. 81-95. Greenwood Press, Westport.

BAREL, C.D.N., LIGTVOET, W., GOLDSCHMIDT, T., WITTE, F. E GOUDSWAARD, P.C. (1991). The Haplochromine cichlids in Lake Victoria: an assessment of biological and fisheries interests. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp. 258-279. Chapman & Hall, London.

BAREL, C.D.N., VAN OIJEN, M.J.P., WITTE, F. E WITTE-MAAS, E.L.M. (1977). An introduction to the taxonomy and morphology of the haplochromine cichlidae from Lake Victoria. *Neth. J. Zool.* 27, 333-389.

BARLOW, G.W. (1961). Social behavior of the desert pupfish, *Cyprinodon macularis*, in the field and in the aquarium. *Am. Midl. Nat.* 65, 339-359.

BARLOW, G.W. (1963). Ethology of the Asian teleost, *Badis badis*: II. Motivation and signal value of the colour patterns. *Anim. Behav.* 11, 97-105.

BARLOW, G.W. (1970). A test of appeasement and arousal hypotheses of courtship behavior in a cichlid fish, *Etroplus maculatus*. *Z. Tierpsychol.* 27, 779-806.

BARLOW, G.W. (1974a). Contrasts in social behavior between Central American cichlid fishes and coral-reef surgeon fishes. *Am. Zool.* 14, 9-34.

BARLOW, G.W. (1974b). Hexagonal territories. *Anim. Behav.* 22, 876-878.

BARLOW, G.W. (1991). Mating systems among cichlid fishes. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp.173-190. Chapman & Hall, London.

BARLOW, G.W. E BALLIN, P.J. (1976). Predicting and assessing dominance from size and coloration in the polychromatic Midas cichlid. *Anim. Behav.* 24, 793-813.

BARLOW, G.W. E GREEN, R. (1970). The problems of appeasement and of sexual roles in the courtship behavior of the Blackchin Mouthbreeder, *Tilapia melanotheron* (Pisces: Cichlidae). *Behaviour* 36, 84-115.

BARLOW, G.W., ROGERS, W. E FRALEY, N. (1986). Do Midas Cichlids win through prowess or daring? It depends. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19, 1-8.

BARNETT, C.W. E PANKHURST, N.W. (1994). Changes in plasma concentrations of gonadal steroids and gonad morphology during the spawning cycle of male and female demoiselles *Chromis dispilus* (Pisces: Pomacentridae). *Gen. Comp. Endocrinol.* 93, 260-274.

BARROW, J.H. (1955). Social behavior in fresh-water fish and its effects on resistance to trypanosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 41, 679.

BASOLO, A.L. (1990). Female preference predates the evoluton of the sword in swordtail fish. *Science* 250, 808-810.

BASS, A.H. (1981a). Organization of the telencephalon in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Morphol.* 169, 71-90.

BASS, A.H. (1981b). Olfactory bulb efferents in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Morphol.* 169, 91-111.

BASS, A. (1986a). A hormone-sensitive communication system in an electric fish. *J. Neurobiol.* 17, 113-146.

BASS, A. (1986b). Steroid-sensitive neuroeffector pathways for sonic and electric communication in fish. *Brain Behav. Evol.* 28, 7-21.

BASS, A. (1992). Dimorphic male brains and alternative reproductive tactics in a vocalizing fish. *Trends in Neurosciences* 15, 139-145.

BAUER, J. (1968). Vergleichende Untersuchungen zum kontaktverhalten verschiedener Arten der Gattung *Tilapia* (Cichlidae, Pisces). *Z. Tierpsychol.* 25, 22-70.

BAUM, M.J., CARROL, R.S., CHERRY, J.A. E TOBET, S.A. (1990). Steroidal control of behavioural, neuroendocrine and brain sexual differentiation: studies in a carnivore, the ferret. *J. Neuroendocrinol.* 2, 401-418.

BAYLIS, J. (1974). The behavior and ecology of *Heterotilapia multispinosa* (Teleostei, Cichlidae). *Z. Tierpsychol.* 34, 115-146.

BAYLIS, J. (1976). A quantitative study of long-term courtship: II. A comparative study of the dynamics of courtship in two New World cichlid fishes. *Behaviour* 59, 117-141.

BEACHAM, J.L. E NEWMAN, J.A. (1987). Social experience and the formation of dominance relationships in the pumpkinseed sunfish, *Lepomis gibbosus*. *Anim. Behav.* 35, 1560-1563.

BEAUGRAND, J. E ZAYAN, R. (1985). An experimental model of aggressive dominance in *Xiphophorus helleri* (Pisces, Poeciliidae). *Behav. Proc.* 10, 1-52.

BEAUGRAND, J., CARON, J. E COMEAU, L. (1984). Social organization in small heterosexual groups of green swordtails (*Xiphophorus helleri*, Pisces, Poeciliidae) under conditions of captivity. *Behaviour* 91, 24-60.

BEAUGRAND, J., GOULET, C. E PAYETTE, D. (1991). Outcme of dyadic conflict in male green swordtail fish, *Xiphophorus helleri*: effects of body size and prior dominance. *Anim. Behav.* 41, 417-424.

BECKER, J.B. (1992). Hormonal influences on extrapyramidal sensorimotor function and hippocampal plasticity. In: J.B. BECKER, S.M. BREEDLOVE E D. CREWS (eds.), *Behavioral Endocrinology*, pp. 325-356. MIT Press, Cambridge, Massachusetts.

BECKER, J.B. E BEER, M.E. (1986). The influence of estrogen on nigrostriatal dopamine activity: behavioral and neurochemical evidence for both pre- and postsynaptic components. *Behav. Brain Res.* 19, 27-33.

BEDIZ, G.M. E WHITSETT, J.M. (1979). Social inhibition of sexual maturation in male prairie deer mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 93, 493-500.

BEKOFF, M. (1977). Quantitative studies of three areas of classical ethology: social dominance, behavioral taxonomy, and behavioral variability. In: B.A. HAZLETT (ed.), *Quantitative Methods in the Study of Animal Behavior*, pp 1-46. Academic Press, New York.

BELETSKY, L.D., ORIANS, G.H., E WINGFIELD, J.C. (1989). Relationship of steroid hormones and polygyny to territorial status, breeding experience, and reproductive success in male red-winged blackbirds. *Auk* 106, 107-117.

BELETSKY, L.D., ORIANS, G.H., E WINGFIELD, J.C. (1990). Steroid hormones in relation to territoriality, breeding density, and parental behavior in male yellow-headed black-birds. *Auk* 107, 60-68.

BELETSKY, L.D., ORIANS, G.H., E WINGFIELD, J.C. (1992). Year-to-year patterns of circulating levels of testosterone and corticosterone in relation to breeding density, experience, and reproductive success of the polygynous red-winged blackbird. *Horm. Behav.* 26, 420-432.

BEN-TUVIA, A. (1960). The biology of the cichlid fishes of Lake Tiberias and Huleh. *Bull. Res. Coun. Israel* B 8, 153-188.

BENTLEY, P.J. (1982). *Comparative Vertebrate Endocrinology*, 2nd ed.Cambridge University Press, Cambridge.

BERGLUND, A., ROSENQVIST, G. E SVENSSON, I. (1986). Mate choice, fecundity and sexual dimorphism in two pipefish species (Syngnathidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19, 301-307.

BERNSTEIN, I.S. (1981). Dominance: the baby and the bathwater. *Behav. Brain Sci.* 4, 419-457.

BILDSOE, M. (1988). Aggressive, sexual, and foraging behaviour in *Poecilia velifera* (Pisces: Poeciliidae) during captivity. *Ethology* 79, 1-12.

BILLY, A.J. E LILEY, N.R. (1985). The effects of early and late androgen treatments on the behavior of *Sarotherodon mossambicus* (Pisces: Cichlidae). *Horm. Behav.* 19, 311-330.

BISAZZA, A. (1993). Male competition, female mate choice and sexual size dimorphism in poeciliid fishes. In: F.A. HUNTINGFORD E P. TORRICELLI (eds.), *Behavioural Ecology of Fishes*, pp. 257-286. Harwood, Chur.

BISAZZA, A. E MARCONATO, A. (1988). Female mate-choice, male-male competition and parental care in the river bullhead, *Cottus gobio* L. (Pisces, Cottidae). *Anim. Behav.* 36, 1352-1360.

BISAZZA, A., MARCONATO, A. E MARIN, G. (1989). Male competition and female choice in *Padogobius martensi* (Pisces, Gobidae). *Anim. Behav.* 38, 406-413.

BLÜM, V. (1974). Die rolle des prolaktins der Cichlidenbrutpflege. *Fortschr. Zool.* 22, 310-333.

BLÜM, V. E FIEDLER, K. (1965). Hormonal control of reproductive behavior in some cichlid fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 5, 186-196.

BLUMER, L.S. (1982). A bibliography and categorization of bony fishes exhibiting parenatl care. *Zool. J. Linn. Soc.* 76, 1-22.

BODDINGUS, J. (1976). The influence of social rank on adenohypophysial cell activity in *Salmo irideus*, with special refrence to basophil ACTH-cells of the proximal pars distalis. *Cell. Tiss. Res.* 170, 383-414.

BOHRER, V. (1953). Die Zucht des Natalbarsches, *Tilapia natalensis* (M. Weber). *Aquar.-u. Terrar.-Z.* 6, 274-275.

BOLAFFI, J.L., LANCE, V., CALLARD, I.P., WALSH, J.M. E IDLER, D.R. (1979). Identification of 11-ketotestosterone, 11β-hydroxytestosterone, and testosterone in plasma of *Necturus maculosus* (Rafinesque). *Gen. Comp. Endocrinol.* 38, 127-131.

BOLLES, R.C. (1981). A parallel to dominance competition. *Behav. Brain Sci.* 4, 433-434.

BONNIN, J.P. (1979). Variations saisonnières de la testostérone plasmatique chez un poisson téléostéan, *Gobius niger* L. *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.* D 288, 627-630.

BONSALL, R.W., CLANCY, A.N. E MICHAEL, R.P. (1992). Effects of the nonsteroidal aromatase inhibitor, fradozole, on sexual behavior in male rats. *Horm. Behav.* 26, 240-254.

BOOTH, A., SHELLEY, G., MAZUR, A., THARP, G. E KITTOK, R. (1989). Testosterone, and winning and losing Human competition. *Horm. Behav.* 23, 556-571.

BORG, B. (1981). Effects of methyltestosterone on spermatogenesis and secondary sexual characters in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* 44, 177-180.

BORG, B. (1987). Stimulation of reproductive behaviour by aromatizable and non-aromatizable androgens in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. In: S.O.K. KULLANDER & B. FERNHOLM (ed.), *Proceedings of the 5th Congress of European Ichthyologists, Stockholm 1985*, pp. 269-271. Swedish Museum of Natural History, Stockholm.

BORG, B. (1994). Androgens in teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* C 109, 219-245.

BORG, B., SCHOONEN, W.G.E., E LAMBERT, J.G.D. (1989). Steroid metabolism in the testes of the breeding and nonbreeding three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 73, 40-45.

BORG, B., TIMMERS, R.J.M. E LAMBERT, J.G.D. (1987). Aromatase activity in the brain of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* I. Distribution and effects of season and photoperiod. *Exp. Biol.* 47, 63-68.

BORGIA, G. E WINGFIELD, J.C. (1991). Hormonal correlates of bower decoration and sexual display in the satin bowerbird (*Ptilonorhynchus violaceus*). *Condor* 93, 935-942.

BOROWSKY, R. (1973). Social control of adult size in males of *Xiphophorus variatus*. *Nature* 245, 332-335.

BOROWSKY, R. (1978). Social inhibition of maturation in natural populations of *Xiphophorus variatus* (Pisces: Poeciliidae). *Science* 201, 933-935.

BOROWSKY, R. (1987). Agonistic behavior and social inhibition of maturation in fishes of the genus *Xiphophorus* (Poeciliidae). *Copeia* 1987, 792-796.

BOWEN, S.H. (1976). Mechanism for digestion of detrital bacteria by the cichlid fish *Sarotherodon mossambicus* (Peters). *Nature* 260, 137-138.

BOWEN, S.H. (1979). A nutritional constraint in detritivory by fishes: the stunted population of *Sarotherodon mossambicus* in Lake Sibaya, South Africa. *Ecol. Monogr.* 49, 17-31.

BOWEN, S.H. (1980a). Determinants of the chemical composition of periphytic detrital aggregate in a tropical lake (Lake Valencia, Venezuela). *Arch. Hydrobiol.* 87, 166-177.

BOWEN, S.H. (1980b). Detrital nonprotein amino acids are the key to rapid growth of *Tilapia* in Lake Valencia, Venezuela. *Science* 207, 1216-1218.

BOWEN, S.H. (1981). Digestion and assimilation of periphytic detrital aggregate by *Tilapia mossambica*. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 110, 239-245.

BOWEN, S.H. (1982). Feeding, digestion and growth - qualitative considerations. In: R.S.V. PULLIN E R.H. LOWE-MCCONNELL (eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, pp. 141-156. ICLARM, Manila.

BOWEN, S.H. (1984). Differential habitat utilization by sexes of *Sarotherodon mossambicus* in Lake Valencia, Venezuela: significance for fitness. *J. Fish Biol.* 24, 115-121.

BOWEN, S.H. E ALLANSON, B.R. (1982). Behavioral and trophic plasticity of juvenile *Tilapia mossambica* in utilization of the unstable littoral habitat. *Env. Biol. Fish.* 7, 357-362.

BOYD, R. E SILK, J.B. (1983). A method for assessing cardinal dominance ranks. *Anim. Behav.* 31, 45-58.

BRADBURY, J.W. E DAVIES, N.B. (1987). Relative roles of intra- and intersexual selection. In J.W. BRADBURY E M.B. ANDERSSON (eds.), *Sexual Selection: Testing the Alternatives*, pp.143-163. John Wiley & Sons, New York.

BRADBURY, J.W. E GIBSON, R.M. (1983). Leks and mate choice. In: P.P.G. BATESON (ed.), *Mate Choice*, pp. 109-138. Cambridge University Press, Cambridge.

BRADDOCK, J.C. (1945). Some aspects of the dominance-subordination relationship in the fish *Platypoecilis maculatus. Physiol. Zool.* 18, 176-195.

BRADDOCK, J.C. (1949). The effect of prior residence upon dominance in the fish *Platypoecilis maculatus. Physiol. Zool.* 22, 161-169.

BRADDOCK, J.C. E BRADDOCK, Z.I. (1955). Aggressive behavior among females of the Siamese fighting fish *Betta splendens. Physiol. Zool.* 28, 152-172.

BRADFORD, C.S. E TAYLOR, M.H. (1987). Semilunar changes in estradiol and cortisol coincident with gonadal maturation and spawning in the killifish *Fundulus heteroclitus. Gen. Comp. Endocrinol.* 66, 71-78.

BRADLEY, A.J. (1987). Stress and mortality in the red-tailed phascogale, *Phascogale calura* (Marsupialia: Dasyuridae). *Gen. Comp. Endocrinol.* 67, 85-100.

BRAIN, P.F. (1981). Hormones and aggression in infra-human vertebrates. In: P.F. BRAIN E D. BENTON (eds.), *The Biology of Aggression*, pp. 181-213. Sijthoff and Nordhoff, Alphen aan den Rijn.

BRAIN, P.F., SIMON, V., HASSAN, S., MARTINEZ, M. E CASTANO, D. (1988). The potential of anti-estrogens as centrally-acting antihostility agents: recent animal data. *Int. J. Neurosci.* 41, 169-177.

BRANTLEY, R.K. E BASS, A.H. (1991). Secondary sex characters in a vocalizing fish: intra- and intersexual dimorphism and role of androgens. In: A.P. SCOTT, J.P. SUMPTER, D.E. KIME, E M.S. ROLFE (eds.), *Proceedings of the 4th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, pp. 197-199. FishSymp 91, Sheffield.

BRANTLEY, R.K., MARCHATERRE, M.A. E BASS, A.H. (1993a). Androgen effects on vocal muscle structure in a teleost fish with inter- and intra-sexual dimorphism. *J. Morphol.* 216, 305-318.

BRANTLEY, R.K., WINGFIELD, J.C. E BASS, A.H. (1993b). Sex steroid levels in Porichthys notatus, a fish with alternative reproductive tactics , and a review of the hormonal bases for male dimorphism among teleost fishes. *Horm. Behav.* 27, 332-347.

BREUER, H., SCHNEIDER, H.TH., WANDSCHEER, D.E. E LADOSKY, W. (1981). Regulation of catecholamine metabolism in the brain by oestrogens. In: G. DORNER E M. KAWAKAMI (eds.), *Hormones and Brain Development*, pp.167-175. Elsevier, Amsterdam.

BROWN, L. (1981). Patterns of female choice in mottled sculpins (Cottidae, Teleostei). *Anim. Behav.* 29, 375-382.

BRUTON, M.N. (1983). Breeding, juvenile biology and growth of *Oreochromis mossambicus* in its natural range in south-east Africa. In: L. FISHELSON E Z. YARON (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 28-38. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

BRUTON, M.N. E ALLANSON, B.R. (1974). The growth of *Tilapia mossambica* Peters (Pisces: Cichlidae) in Lake Sibaya, South Africa. *J. Fish Biol.* 6, 701-715.

BRUTON, M.N. E BOLTT, R.E. (1975). Aspects of the biology of *Tilapia mossambica* Peters (Pisces: Cichlidae) in a natural freshwater lake (Lake Sibaya, South Africa). *J. Fish Biol.* 7, 423-446.

BRUTON, M.N. E GOPHEN, M. (1992). The effect of environmental factors on the nesting and courtship behaviour of *Tilapia zillii* in Lake Kinneret (Israel). *Hydrobiologia* 239, 171-178.

BRZESKI, V.J. & DOYLE, R.W. (1988). A morphometric criterion for sex discrimination in Tilapia. In: R.S.V. PULLIN, T. BHUKASWAN, K. TONGUTHAI, E J.L. MACLEAN (eds.), *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 439- 444. Manila: ICLARM Conference Proceedings 15.

BUDAEV, S. (1995). 'Personality' in the guppy: a correlation study. Conference Abstracts, p.2. *ASAB Easter Conference 1995*, 5-7 April, Oxford (U.K.).

BURK, T. (1979). *An Analysis of Social Behaviour in Crickets.* Ph.D. Thesis, University of Oxford, Oxford (U.K.).

BUTCHER, G.S. E ROHWER, S. (1988). The evolution of conspicuous and distinctive coloration for communication in birds. *Curr. Ornithol.* 6, 51-108.

CAIN, N.W. E BAENNINGER, R. (1980). Social organization and the maintenance of aggressive behavior in community-housed male Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Anim. Learn. Behav.* 8, 171-176.

CALLARD, G.V. (1983). Androgen and estrogen actions in the vertebrate brain. *Am. Zool.* 23, 607-620.

CALLARD, G.V., HOFFMAN, R.A., PETRO, Z., E RYAN, K.J. (1979). *In vitro* aromatization and other androgen transformations in the brain of the hamster (*Mesocricetus auratus*). *Biol. Reprod.* 21, 33-38.

CALLARD, G.V., KUNZ, T., E PETRO, Z. (1983). Identification of androgen metabolic pathways in the brain of the little brown bat (*Myotis lucifugus*): sex and seasonal differences. *Biol. Reprod.* 28, 1155-1161.

CALLARD, G.V., PETRO, A., RYAN, K.J. E CLAIBORNE, J.B. (1981). Estrogen synthesis in vitro and in vivo in the brain of a marine teleost (*Myoxocephalus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 43, 243-255.

CALLARD, G.V., SCHLINGER, B., PASMANIK, M. E CORINA, K. (1990). Aromatization and estrogen action in brain. In: A. EPPLE, C.G. SCANES E M.H. SLETSON (eds.), *Progress in Comparative Endocrinology*, pp. 105-111. Wiley-Liss, New York.

CALLARD, G.V., SPECKER, J.L., KNAPP, J., NISHIOKA, R.S., BERN, H.A. (1988). Aromatase is concentrated in the proximal pars distalis of *Tilapia* pituitary. *Gen. Comp. Endocrinol.* 71, 70-79.

CALLARD, G.V., DRYGAS, M. E GELINAS, D. (1993). Molecular and cellular physiology of aromatase in the brain and retina. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 44, 541-547.

CANÁRIO, A.V.M. (1989). *Involvement of Ovarian C21 Steroids on Oocyte Final Maturation in Rainbow Trout (Salmo Gairdneri), Plaice (Pleuronectes Platessa) and Dab (Limanda Limanda).* Ph.D. Thesis, University of East Anglia.

CANÁRIO, A.V.M. E SCOTT, A.P. (1988). Structure-activity relationships of C21 steroids in an in vitro oocyte-maturation bioassay in rainbow-trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 71, 338-348.

CANÁRIO, A.V.M. E SCOTT, A.P. (1989). Synthesis of 20α-hydroxylated steroids by ovaries of the dab (*Limanda limanda*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 76, 147-158.

CANÁRIO, A.V.M. E SCOTT, A.P. (1990). Plasma levels of ovarian steroids, including 17α,20α-dihydroxy-4-pregnen-3-one and 3β,17α,20α-trihydroxy-5β-pregnane, in female dabs (*Limanda limanda*) - marine flatfish- induced to mature and ovulate with Human Chorionic Gonadotropin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 77, 177-191.

CANÁRIO, A.V.M., SCOTT, A.P. E FLINT, P.F. (1989). Radioimmunoassay investigations of 20β-hydroxylated steroids in maturing/ovulating female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 74, 77-84.

CARDWELL, J.R. E LILEY, N.R. (1991a). Androgen control of social status in males of a wild population of stoplight parrotfish, *Sparisoma viride* (Scaridae). *Horm. Behav.* 25, 1-18.

CARDWELL, J.R. E LILEY, N.R. (1991b). Hormonal control of sex and color change in the stoplight parrotfish, *Sparisoma viride*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 81, 7-20.

CARDWELL, J.R., STACEY, N.E., TAN, E.S.P., MCADAM, D.S.O. E LANG, S.L.C. (1995). Androgen increases olfactory receptor response to a vertebrate sex pheromone. *J. Comp. Physiol.* A 176, 55-61.

CASTRUCCI, A.M.L. (1975). Chromatophores of the teleost Tilapia melanopleura -II. The effects of chemical mediators, microtubule-disrupting drugs and ouabain. *Comp. Biochem. Physiol.* A 50, 457-462.

CATALDI, E., CROSETTI, D., CONTE, G., D'OVIDIO, D. E CATAUDELLA, S. (1988). Morphological changes in the oesophageal epithelium during adaptation to salinities in *Oreochromis niloticus, O. mossambicus* and their hybrid. *J. Fish Biol.* 32, 191-196.

CATALDI, E., GARIBALDI, L., CROSETTI, D., LEONI, C. E CATAUDELLA, S. (1991). Variations in renal morphology during adaptation to salinities in tilapias. *Env. Biol. Fish.* 31, 101-106.

CATTELL, R.B. (1966). The scree test for the number of factors. *Multiv. Behav. Res.* 1, 245-276.

CAULTON, M.S. E HILL, B.J. (1973). The ability of *Tilapia mossambica* (Peters) to enter deep water. *J. Fish Biol.* 5, 783-788.

CHAN, T.-Y. (1987). *The role of male competition and female choice in the mating success of a lek-breeding southern African cichlid fish* Pseudocrenilabrus philander *(Pisces: Cichlidae)*. M.Sc. Thesis. Rhodes University, Grahamstown, South Africa.

CHAN, T.-Y. E RIBBINK, A.J. (1990). Alternative reproductive behaviour in fishes, with particular reference to *Lepomis macrochir* and *Pseudocrenilabrus philander*. *Env. Biol. Fish.* 28, 249-256.

CHARDON, M. E VANDEWALLE, P. (1971). Comparaison de la région céphalique chez cinq espéces du genre *Tilapia*, donc trois incubateurs buccaux. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.* 101, 3-24.

CHASE, I.D. (1974). Models of hierarchy formation in animal societies. *Behav. Sci.* 19, 374-382.

CHASE, I.D. (1980). Social processes and hierarchy formation in small groups: a comparative perspective. *Am. Sociol. Rev.* 45, 905-924.

CHASE, I.D. (1982). Dynamics of hierarchy formation: the sequential development of dominance relationships. *Behaviour* 80, 218-240.

CHASE, I.D. (1985). The sequential analysis of aggresive acts during hierarchy formation: an application of the 'jigsaw' approach. *Anim. Behav.* 33, 86-100.

CHASE, I.D. (1986). Explanations of hierarchy structure. *Anim. Behav.* 34, 1265-1267.

CHASE, I.D. (1993). *Comparison of theoretical approaches to hierarchy formation.* Comunicação apresentada no *XXIII International Ethological Conference*, Torremolinos, Setembro de 1993.

CHASE, I.D., BARTOLOMEO, C. E DUGATKIN, L. (1994). Aggressive interactions and inter-contest interval: how long do winners keep winning? *Anim. Behav.* 48, 393-400.

CHASE, I.D. E ROHWER, S. (1987). Two methods for quantifying the development of dominance hierarchies in large groups with applications to Harris' sparrows. *Anim. Behav.* 35, 1113-1128.

CHENG, M.-F. (1986). Female cooing promotes ovarian development in ring doves. *Physiol. Behav.* 37, 371-374.

CHENG, M.-F., DESIDERO, C., HAVENS, M. E JOHNSON, A. (1988). Behavioural stimulation of ovarian growth. *Horm. Behav.* 22, 388-401.

CHERVINSKI, J. (1982). Environmental physiology of tilapias. In: R.S.V. PULLIN E R.H. LOWE-MCCONNELL (eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, pp. 119-128. ICLARM, Manila.

CHERVINSKI, J. (1983). Sexual dimorphism in Tilapias. *Aquaculture* 35, 171-172.

CHIZINSKY, W. (1968). Effects of castration upon sexual behavior in male platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Physiol. Zool.* 41, 466-475.

CHRISTY, J.H. (1995). Mimicry, mate choice and the sensory trap hypothesis. *Am. Nat.*, no prelo.

CLEMENS, H.P. E INSLEE, T. (1968). The production of unisexual broods of *Tilapia mossambica* sex-reversed with methyltestosterone. *Trans. Am. Fish. Soc.* 97, 18-21.

CLEMENS, H.P., MCDERMITT, C. E INSLEE, T. (1966). The effects of feeding testosterone to guppies for sixty days after birth. Copeia 1966, 280-284.

CLUTTON-BROCK, T.H. (1988). Reproductive success. In: T.H. CLUTTON-BROCK (ed.), *Reproductive success*, pp. 472-485. University of Chicago Press, Chicago.

CLUTTON-BROCK, T.H., PRICE, O.F. E MACCOLL, A.D.C. (1992). Mate retention, harassment, and the evolution of ungulate leks. *Behav. Ecol.* 3, 234-242.

CLUTTON-BROCK, T.H., ALBON, S.D., GIBSON, R.M. E GUINESS, F.E. (1979). The logical stag: adaptive aspects of fighting in red deer (*Cervus elaphus* L.). *Anim. Behav.* 27, 211-225.

CLUTTON-BROCK, T.H., ALBON, S.D. E GUINNESS, F.E. (1984). Maternal dominance, breeding success and birth sex ratios in red deer. *Nature* 308, 358-360.

COHEN, J. (1960). A coefficient of agreement for nominal scales. *Educat. Psychol. Measur.* 20, 37-46.

COLEMAN, R.M, GROSS, M.R. E SARGENT, R.C. (1985). Parental investment decision rules: a test in bluegill sunfish. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 18, 59-66.

COLOMBO, L., LUPO DI PRISCO, C. E BINDER, G. (1970). Metabolism of pregnenolone-4-^{14}C by the testis of *Gobius paganellus* (Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.* 15, 404-419.

COOPER, E.L., PETERS, G., AHMED, I.I., FAISAL, M. E GHONEUM, M. (1989). Aggression in *Tilapia* affects immunocompetent leucocytes. *Aggr. Behav.* 15, 13-22.

COOPER, J.A.G. E HARRISON, T.D. (1992). Effects of nesting activities of *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) on bank stability in small lagoons. *S. Afr. J. Sci.* 88, 398-401.

CORNISH, D.A. E SMIT, G.L. (1991). Seasonal reproductive steroid hormone profiles in *Oreochromis mossambicus*. In: C.J.J. RICHTER E H.J.TH. GOOS (eds.), *Reproductive Physiology of Fish*, p.165. Center for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc), Wageningen.

CÔTE, I.M. E HUNTE, W. (1989). Male and female mate choice in the redlip blenny: why bigger is better. *Anim. Behav.* 38, 78-88.

COX, C.R. E LE BOEUF, B.J. (1977). Female incitation of male competition: a mechanism in sexual selection. *Am. Nat.* 111, 317-335.

CRAPON DE CAPRONA, M.-D. (1986). The use of cichlid hybrids for the accuracy of species recognition in cichlids. *Newsl. I.A.F.E.* 9, 26.

CRAPON DE CAPRONA, M.-D. E FRITZSCH, B. (1984). Interspecific fertile hybrids of haplochromine Cichlidae (Teleostei) and their possible importance for speciation. *Neth. J. Zool.* 34, 503-538.

CREEL, S., WILDT, D.E. E MONFORT, S.L. (1993). Aggression, reproduction, and androgens in wild dwarf mongooses: a test of the challenge hypothesis. *Am. Nat.* 141, 816-825.

CRESPO, E. (1983). *Sobre a Origem dos Amphibia*. Liga para a Protecção da Natureza, Lisboa.

CREWS, D. (1984). Gamete production, sex hormone secretion, and mating behavior uncoupled. *Horm. Behav.* 18, 22-28.

CRONLEY-DILLON, J. E SHARMA, S.C. (1968). Effect of season and sex on the photopic spectral sensitivity of the three-spined stickleback. *J. Exp. Biol.* 49, 679-687.

CRUPKIN, M., MONTECCHIA, C.L. E TRUCCO, R.E. (1988). Seasonal variations in gonadosomatic index, liversomatic index and myosin/actin ratio in actomyosin of mature hake (*Merluccius hubbsi*). *Comp. Biochem. Physiol.* A 89, 7-10.

CUISSET, B., PELISSERO, C., NUNEZ RODRIGUEZ, J., E LE MENN, F. (1991). Use of plasma 11-ketotestosterone for sex determination in Siberian sturgeon *Acipenser baeri* B. In: A.P. SCOTT, J.P. SUMPTER, D.E. KIME, E M.S. ROLFE (eds.), *Proceedings of the 4th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fishes*, p. 272. Fish Symp91, Sheffield.

DADZIE, S. (1969). Spermatogenesis and the stages of maturation in the male cichlid fish *Tilapia mossambica*. *J. Zool.* 159, 399-403.

DADZIE, S. (1974). Ogenesis and the stages of maturation in the female cichlid fish, *Tilapia mossambica*. *Ghana J. Sci.* 14, 23-31.

DARWIN, C. (1871). *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex*. John Murray, London.

DASSER, V. (1988). A social concept in Java-monkeys. *Anim. Behav.* 36, 225-230.

DATTA, N.C. E ROY, P.K. (1984). Urinogenital system of the exotic cichlid, *Sarotherodon mossambica* (Peters). *Int. J. Acad. Ichthyol. Modinagar.* 5, 49-54.

DAVIES, N.B. E HALLIDAY, T.R. (1978). Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature* 274, 683-685.

DAVIS, M.R. E FERNALD, R.D. (1990). Social control of neuronal soma size. *J. Neurobiol.* 21, 1180-1188.

DAVIS, R.E., MORRELL, J.I., E PFAFF, D.W. (1977). Autoradiographic localization of sex-steroid concentrating cells in the brain of the teleost *Macropodus opercularis* (Osteichthyes: Belontiidae). *Gen. Comp. Endocrinol.* 33, 496-505.

DAWKINS, M.S. (1995). *Unravelling Animal Behaviour*, 2nd ed. Longman, N.Y.

DAWKINS, R. & KREBS, J.R. (1978). Animal signals: information or manipulation. In: J.R KREBS & N.B. DAVIES (eds.), *Behavioural Ecology - An Evolutionary Approach*, 1st ed., pp.282-309. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

DE BRUIN, J.P.C. (1980). Telencephalon and behavior in teleost fish, a neuroethological approach. In: S.O.E. EBBESSON (ed.), *Comparative Neurology of the Telencephalon*, pp. 175-201. Plenum Press, New York.

DE RUITER, A.J.H., WENDELAAR BONGA, S.E., SLIJKHUIS, H., E BAGGERMAN, B. (1986). The effect of prolactin on fanning behavior in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Gen. Comp. Endocrinol.* 64, 273-283.

DE SILVA, S.S. E CHANDRASOMA, J. (1980). Reproductive biology of *Sarotherodon mossambicus*, an introduced species, in an ancient man-made lake in Sri-Lanka. *Env. Biol. Fish.* 5, 253-259.

DE SILVA, S.S. E SIRISENA, H.K. (1988). Observations on the nesting habits of *Oreochromis mossambicus* (Peters)(Pisces: Cichlidae) in Sri Lankan reservoirs. *J. Fish. Biol.* 33, 689-696.

DE VLAMING, V., GROSSMAN, G., E CHAPMAN, F. (1982). On the use of the gonadosomatic index. *Comp. Biochem. Physiol.* A 73, 31-39.

DE VRIES, H., NETTO, W.J. E HANEGRAAF, P.L.H. (1993). Matman: a program for the analysis of sociometric matrices and behavioural transition matrices. *Behaviour* 125, 157-175.

DE WAAL, F.B.M. (1990). Do rhesus mothers suggest friends to their offspring? *Primates* 31, 597-600.

DE WAAL, F.B.M. (1991). Rank distance as a central feature of rhesus monkey social organization: a sociometric analysis. *Anim. Behav.* 41, 383-395.

DEMSKI, L.S. E KNIGGE, K.M. (1971). The telencephalon and hypothalamus of the bluegill (*Lepomis macrochirus*): evoked feeding, aggressive and reproductive behavior with representative frontal sections. *J. Comp. Neurol.* 143, 1-16.

DEMSKI, L.S., BAUER, D.H., E GERALD, J.W. (1975). Sperm release evoked by electrical stimulation of the fish brain; a functional-anatomical study. *J. Exp. Zool.* 191, 215-232.

DERTING, T.L. (1989). Metabolism and food availability as regulators of production in juvenile cotton rats. *Ecology* 70, 587-595.

DESTEXHE-GOMEZ, F. E RUWET, J.C. (1967). Impregnation et cohesion familiale chez les *Tilapia*. *Annls. Soc. R. Zool. Belg.* 97, 161-173.

DEVICHE, P. E BALTHAZART, J. (1987). Effect of the injection solvent on steroid activity. *Gen. Comp. Endocrinol.* 65, 199-202.

DEWSBURY, D.A. (1982). Dominance rank, copulatory behavior, and differential reproduction. *Quart. Rev. Biol.* 57, 135-159.

DINGLE, H. E HEGMANN, J.P. (1982). *Evolution and Genetics of Life Histories*. Springer Verlag, Berlin.

DITTAMI, J.P. E REYER, H.-U. (1984). A factor analysis of seasonal behavioral hormonal and body-weight changes in adult male bar-headed geese, *Anser indicus*. *Behaviour* 90, 114-124.

DODD, J.M. E SUMPTER, J.P. (1984). Fishes. In: G.E. LAMMING (ed.), *Marshall's Physiology of Reproduction, vol. 1. Reproductive Cycles of Vertebrates*, pp. 1-126. Churchill Livingstone, Edinburgh.

DONNELLY, B.G. (1969). A preliminary survey of *Tilapia* nurseries on Lake Kariba during 1967/68. *Hydrobiologia* 34, 195-206.

DONNELLY, B.G. (1978). Evidence for fish survival during habitat dissecation in Rhodesia. *J. Limnol. Soc. S. Africa* 4, 75-76.

DOWNHOWER, J.F. E BROWN, L. (1980). Mate preferences of female mottled sculpins, *Cottus bairdi*. *Anim. Behav.* 28, 728-734.

DOWNHOWER, J.F., BROWN, L., PEDERSON, R. E STAPLES, G. (1983). Sexual selection and sexual dimorphism in mottled sculpins. *Evolution* 37, 96-103.

DREWS C. (1993). The concept and definition of dominance in animal behaviour. *Behaviour* 125, 283-313.

DUFTY, A.M. (1989). Testosterone and survival: a cost of aggressiveness? *Horm. Behav.* 23, 185-193.

DUGATKIN, L.A. E WILSON, D.S. (1992). The prerequisites for strategic behaviour in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Anim. Behav.* 44, 223-230.

DUGATKIN, L.A., ALFIERI, M.S. E MOORE, A.J. (1994). Can dominance hierarchies be replicated? Form-re-form experiments using the cockroach (*Nauphoeta cinerea*). *Ethology* 97, 94-102.

DULKA, J.G., STACEY, N.E., SORENSEN, P.W. E VAN DER KRAAK, G.J. (1987). A sex steroid pheromone synchronizes male-female spawning readiness in goldfish. *Nature* 325, 251-253.

DUSART, J. (1963). Contribution à l'étude de l'adaptation des *Tilapia* (Pisces Cichlidae) à la vie en milieu mal oxygéné. *Hydrobiologia* 21, 328-345.

EATON, G.G. (1984). Aggression in adult male primates: a comparison of confined Japanese macaques and free-ranging olive baboons. *Int. J. Primatol.* 5, 145-160.

EBERHART, J.A., KEVERNE, E.B. E MELLER, R.E. (1980). Social influences on plasma testosterone concentrations in male talapoin monkeys. *Horm. Behav.* 14, 246-266.

ECHELLE, A.A. (1973). Behavior of the pupfish, *Cyprinodon rubrofluviatilis*. *Copeia* 1973, 68-75.

EECHAUTE, W., LACROIX, E., E LEUSEN, I. (1974). The conversion of testosterone to 7α-hydroxytestosterone by incubated rat testes. *Steroids* 24, 753-765.

EGAMI, N. (1959). Effect of testosterone on the sexual characteristics of the gobiid fish, *Pterogobius zonoleucus*. *Annot. Zool. Japan.* 32, 123-128.

ELWOOD, R.W. E RAINEY, C.J. (1983). Social organization and aggression within small groups of female Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Aggr. Behav.* 9, 303-308.

EMANUEL, M.E. E DODSON, S. (1979). Modification of the rheotropic behaviour of male rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by ovarian fluid. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 36, 63-68.

ENDLER, J.A. (1983). Natural selection on color patterns in poeciliid fishes. *Env. Biol. Fish.* 9, 173-190.

ENQUIST, M. LEIMAR, O., LJUNDBERG, T., MALLNER, Y., E SEGERDAHL, N. (1990). A test of the sequencial assessment game: fighting in the cichlid fish *Nannacara anomala*. *Anim. Behav.* 40, 1-14.

ENQUIST, M., LJUNGBERG, T., E ZANDOR, A.-L. (1987). Visual assessment of fighting ability in the cichlid fish *Nannacara anomala*. *Anim. Behav.* 35, 1262-1264.

ERICKSON, C.J. (1970). Induction of ovarian activity in female ring doves by androgen treatment of castrated males. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 71, 210-215.

ERICKSON, J.G. (1967). Social hierarchy, territoriality, and stress reaction in sunfish. *Physiol. Zool.* 40, 40-48.

ESTABROOK, C.B. E ESTABROOK, G.F. (1989). ACTUS: a solution to the problem of small samples in the analysis of two-way contingency tables. *Historical Methods* 22, 5-8.

EVERITT, B.S. (1992). *The Analysis of Contingency Tables*, 2nd ed.. Chapman & Hall, London.

EYESON, K.N. (1979). Studies on egg production, spawning and fry development in *Tilapia melanotheron*. *Ghana J. Sci.* 17, 25-34.

EYESON, K.N. (1983). Egg and fry swallowing habits of tilapia. *Aquaculture* 32, 415-418.

EYESON, K.N. (1992). Residual biparental oral-brooding in the blackchin fish, *Sarotherodon melanotheron* Rüppell. *J. Fish Biol.* 41, 145-146.

FAGADE, S.O., ADEBISI, A.A. E ATANDA, A.N. (1984). The breeding cycle of *Sarotherodon galilaeus* in the IITA lake, Ibadan, Nigeria. *Arch. Hydrobiol.* 100, 493-500.

FAISAL, M., CHIAPPELLI, F., AHMED, I.I., COOPER, E.L., E WEINER, H. (1989). Social confrontation 'stress' in aggressive fish is associated with an endogenous opioid-mediated suppression of proliferative response to mitogens and nonspecific cytotoxicity. *Brain Behav. Immunity* 3, 223-233.

FALTER, U. E DE BACKER, L. (1988). Density-dependent behavioral shift in *Oreochromis niloticus*. In: R.S.V. PULLIN, T. BHUKASWAN, K. TONGUTHAI E J.L. MACLEAN (eds.), *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, p. 599. ICLARM, Manila.

FALTER, U. E CHARLIER, M. (1989). Mate choice in pure-bred and hybrid females of *Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus* based upon visual stimuli (Pisces: Cichlidae). *Biol. Behav.* 14, 265-276.

FALTER, U. E DOLISY, D. (1989). The effect of female sexual pheromones on the behaviour of *Oreochromis niloticus, Oreochromis mossambicus* and hybrid males (Pisces, Cichlidae). *Ann. Kon. Mus. Mid. Afr., Zool. Wetensch. 257,* 35-38.

FALTER, U. E FOUCART, D. (1991). Territorial competition and sexual selection in the colonial mouthbrooder *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae). *Ann. Kon. Mus. Mid. Afr., Zool. Wetensch.* 262, 65-71.

FENTRESS, J.C. (1992). Emergence of pattern in the development of Mammalian movement sequences. *J. Neurobiol.* 23: 1529-1556.

FERNALD, R.D. (1976). The effect of testosterone on the behavior and coloration of adult male cichlid fish, *Haplochromis burtoni*. *Horm. Res.* 7, 172-178.

FERNALD, R.D. E HIRATA, N.R. (1977). Field study of *Haplochromis burtoni*: quantitative behavioural observations. *Anim. Behav.* 25, 964-975.

FERNÖ, A. (1987). Aggressive behaviour between territorial cichlids (*Astatotilapia burtoni*) in relation to rank and territorial stability. *Behaviour* 103: 241-258.

FIEDLER, K. (1962). Die Wirkung von Prolactin auf das Verhalten des Lippfisches *Crenilabrus ocellatus* (Forskal). *Zool. Jahrb. Abt. Anat. Zool. Physiol. Tiere* 69, 609-620.

FIGLER, M.H., CANOUNE, H.L., E KITNER-TRIOLO, M.H. (1986). The effects of duration of territorial residence on aggression in convict cichlids. *Bull. Psychon. Soc.* 24, 465-466.

FIGLER, M.H., DYER, R.S., STRECKFUS, C.F., E NARDINI, K.M. (1975). The establishment of dominance relationships in the jewel fish, *Hemichromis bimaculatus* (Gill), as related to prior exposure to and configuration of visual cues. *Behav. Biol.* 14, 241-245.

FIGLER, M.H., TWUM, M., FINKELSTEIN, J.E. E PEEKE, H.V.S. (1995). Maternal aggression in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, Girard): the relation between reproductive status and outcome of aggressive encounters with male and female conspecifics. *Behaviour* 132, 107-125.

FIGLER, M.H., WAZLAVEK, B.E., E CHAVES, L.M. (1988). Territorial prior residence effect versus intruder size advantage in convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum* Günther). *Bull. Psychon. Soc.* 26, 469-470.

FINE, M.L. E PENNYPACKER, K.R. (1986). Hormonal basis for sexual dimorphism of the sound-producing apparatus of the oyster toadfish. *Exp. Neurol.* 92, 289-298.

FINE, M.L., KEEFER, D.A. E LEICHNETZ, G.R. (1982). Testosterone uptake in the brainstem of a sound producing fish. *Science* 215, 1265-1267.

FISHELSON, L. (1966a). Untersuchungen zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Gattung *Tilapia* (Cichlidae, Teleostei). *Zool. Jb. Anat.* 83, 571-656.

FISHELSON, L. (1966b). Cichlidae of the genus *Tilapia* in Israel. *Bamidgeh* 18, 67-80.

FISHELSON, L. (1980). Scanning and transmission electron microscopy of the squamose gill-filament epithelium from fresh- and seawater adapted *Tilapia*. *Env. Biol. Fish.* 5, 161-165.

FISHELSON, L. (1983). Social behaviour of adult tilapia fish in nature and in captivity (Israel). In: L. FISHELSON E Z. YARON (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 48-58. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

FISHELSON, L. (1988). Behavior and gonadal structure of intergeneric (*Oreochromis-Sarotherodon*) tilapia hybrids. In: *R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai e J.L. Maclean* (eds.), *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 159-167. ICLARM, Manila.

FISHELSON, L. (1989). Bisexuality and pedogenesis in gobies (Gobiidae: Teleostei) and other fish, or, why so many little fish in tropical seas? *Senckenberg. Marit.* 20, 147-169.

FISHELSON, L. E HEINRICH, W. (1963). Some observations on the mouth-breeding *Tilapia galilaea* (Artédi) (Pisces: Cichlidae). *Ann. Mag. Nat. Hist., ser.* 13, 6, 507-508.

FISHELSON, L. E YARON, Z. (eds.) (1983). *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

FISHER, R.A. (1930). *The Genetical Theory of Natural Selection*. Dover, N.Y.

FISHMAN, J. (1982). *Cancer Res.* 42, 3277-3280.

FITZGERALD, G.J. (1992). Filial cannibalism in fishes: why do parents eat their offspring? *TREE* 7, 7-10.

FOLSTAD, I. E KARTER, A.J. (1992). Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *Am. Nat.* 139, 603-622.

FOOTE, C.J. (1988). Male mate choice dependent on male size in salmon. *Behaviour* 106, 63-80.

FOOTE, C.J. (1989). Female mate preference in Pacific salmon. *Anim. Behav.* 38, 721-723.

FOOTE, C.J. E LARKIN, P.A. (1988). The role of mate choice in the assortative mating of anadromous and non-anadromous sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Behaviour* 106, 43-62.

FOSTIER, A., JALABERT, B., BILLARD, R., BRETON, B., E ZOHAR, Y. (1983). The gonadal steroids. In: W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E E.M. DONALDSON (eds.), *Fish Physiology - vol.9: Reproduction, part A - Endocrine tissues and hormones*, pp. 277-372. Acadaemic Pres, New York.

FOSTIER, A., LE GAC, F. E LOIR, M. (1987). Steroids in male reproduction. In: D.R. IDLER, L.W. CRIM, AND J.M. WALSH (eds.), *Third International Symposyum on Reproductive Physiology of Fish - vol.1*, pp.239-245. Memorial University of Newfoundland, Newfoundland.

FRALEY, N.B. E FERNALD, R.D. (1982). Social control of developmental rate in the African cichlid, *Haplochromis burtoni*. *Z. Tierpsychol.* 60, 66-82.

FRANCIS, R.C. (1988). On the relationship between aggression and social dominance. *Ethology* 78, 223-237.

FRANCIS, R.C. (1990). Temperament in a fish: a longitudianl study of the development of individual differences in aggression and social rank in the Midas cichlid. *Ethology* 86, 311-325.

FRANCIS, R.C. E FERNALD, R.D. (1993). Neuroendocrine effects of dominance status in an African cichlid. Comunicação apresentada no *XXIII International Ethological Conference*, Setembro de 1993, Torremolinos.

FRANCIS, R.C., JACOBSON, B., WINGFIELD, J.C., E FERNALD, R.D. (1992a). Castration lowers aggression but not social dominance in male *Haplochromis burtoni* (Cichlidae). *Ethology* 90, 247-255.

FRANCIS, R.C., JACOBSON, B., WINGFIELD, J.C., E FERNALD, R.D. (1992b). Hypertrophy of gonadotropin releasing hormone-containing neurons after castration in the teleost, *Haplochromis burtoni*. *J. Neurobiol.* 23, 1084-1093.

FRANCIS, R.C., SOMA, K. E FERNALD, R.D. (1993). Social regulation of the brain-pituitary-gonadal axis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90, 7794-7798.

FREEMAN, L.C., FREEMAN, S.C. E ROMNEY, A.K. (1992). The implications of social structure for dominance hierarchies in red deer, *Cervus elaphus* L. *Anim. Behav.* 44, 239-245.

FREY, D.F. E MILLER, R.J. (1968). Factors influencing the establishment of dominance in anabantoid fishes. *Amer. Zool.* 8, 749.

FREY, D.F. E MILLER, R.J. (1972). The establishment of dominance relationships in the blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pallas). *Behaviour* 42, 8-62.

FRYER, G. (1959). The trophic interrelationships and ecology of some littoral communities of Lake Nyasa with especial reference to the fishes, and a discussion of the evolution of a group of rock-frequenting cichlidae. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 132, 153-281.

FRYER, G. E ILES, T.D. (1969). Alternate routes to evolutionary success as exhibited by African cichlid fishes of the genus *Tilapia* and the species flocks of the Great Lakes. *Evolution* 23, 359-369.

FRYER, G. E ILES, T.D. (1972). *The Cichlid Fishes of The Great Lakes of Africa - Their Biology and Evolution*. Oliver & Boyd, Edinburgh.

FUJII, R. E OSHIMA, N. (1986). Control of chromatophore movements in teleost fishes. *Zool. Sci.* 3, 13-47.

FUKUSHO, K. (1969). The specific difference of salinity tolerance among cichlid fishes genus *Tilapia* and histological comparisons of their kidneys. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.* 35, 148-155.

GAUTHREAUX, S.A. JR. (1978). The ecological significance of behavioural dominance. In: P.P.G. BATESON E P.H. KLOPFER (eds.), *Perspectives in Ethology, vol. 3* , pp 17-54. Plenum Press, New York.

GELINAS, D., CORINA, K. E CALLARD, G.V. (1991). Immunocytochemical and biochemical localization of aromatase in the goldfish (*Carassius auratus*) retina and central visual pathways. In: A.P. SCOTT, J.P. SUMPTER, D.E. KIME, E M.S. ROLFE (eds.), *Proceedings of the 4th International Symposium on The Reproductive Physiology of Fish*, p. 231. FishSymp 91, Sheffield.

GHONEUM, M., FAISAL, M., PETERS, G., AHMED, I.I., E COOPER, E.L. (1988). Suppression of natural cytotoxic cell activity by social aggressiveness in *Tilapia*. *Dev. Com. Immunol.* 12, 595-602.

GLANTZ, S.A. E SLINKER, B.K. (1990). *Primer of Applied Regression and Analysis of Variance*. McGraw-Hill, New York.

GÓMEZ-LAPLAZA, L.M. E MORGAN, E. (1993). Social isolation, aggression and dominance in attacks in juvenile angelfish, *Pterophyllum scalare*. *Aggr. Behav.* 19, 213-222.

GORBMAN, A., DICKHOFF, W.W., VIGNA, S.R., CLARK, N.B., E RALPH, C.L. (1983). *Comparative Endocrinology*. John Wiley & Sons, N.Y.

GORLICK, D.L. (1976). Dominance hierarchies and factors influencing dominance in the guppy *Poecilia reticulata* (Peters). *Anim. Behav.* 24, 336-346.

GRAFEN, A. (1990a). Biological signals as handicaps. *J. Theor. Biol.* 144, 517-546.

GRAFEN, A. (1990b). Sexual selection unhandicapped by the Fisher process. *J. Theor. Biol.* 144, 473-516.

GRANT, J.W.A. E COLGAN, P.W. (1983). Reproductive success and mate choice in the johnny darter, *Etheostoma nigrum* (Pisces: Percidae). *Can. J. Zool.* 61, 437-445.

GRASSMAN, M. E CREWS, D. (1987). Dominance and reproduction in a parthenogenetic lizard. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 21, 141-147.

GREELEY, M.S. JR., MACGREGOR III, R., E MARION, K.R. (1988). Variation in plasma oestrogens and androgens during the seasonal and semilunar spawning cycles of female gulf killifish, *Fundulus grandis* (Baird and Girard). *J. Fish Biol.* 33, 419-429.

GREENBERG, B. (1947). Some relations between territory, social hierarchy and leadership in the green sunfish. *Physiol. Zool.* 20, 267-299.

GREENBERG, N. E CREWS, D. (1990). Endocrine and behavioral responses to aggression and social dominance in the green anole lizard, *Anolis carolinensis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 77, 246-255.

GREENWOOD, P. (1981). *The Haplochromine Fishes of the East African Lakes*. British Museum (Natural History), London.

GREENWOOD, P., BAREL, C., CRAPON DE CAPRONA, M. E REID, G. (1989). The conservation of endangered species of cichlid fishes. *Rev. Zool. Afr.* 103, 119-120.

GROBER, M.S., JACKSON, I.M.D., E BASS, A.H. (1991a). Gonadal steroids affect LHRH preoptic cell number in a sex/role changing fish. *J. Neurobiol.* 22, 734-741.

GROBER, M.S., MYERS, D., MYERS, T. E BASS, A.H. (1991b). GnRH in the sexually polymorphic teleost fish, *Porichthys notatus*: immunocytochemistry and in situ hybridization. *Soc. Neurosci. Abst.* 129, 11.

GROBSTEIN, C. (1940). Effect of testosterone propionate on regeneration of anal fin of adult *Platypoecilus maculatus* females. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 45, 484-486.

GROBSTEIN, C. (1942a). Effect of various androgens on regenerating anal fin of adult *Platypoecilus maculatus* females. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 49, 477-478.

GROBSTEIN, C. (1942b). Endocrine and developmental studies of gonopod differentiation in certain poeciliid fishes. II. Effect of testosterone propionate on the normal and regenerating anal fin of adult *Platypoecilus maculatus* females. *J. Exp. Zool.* 89, 305-328.

GROOTHUIS, T.G.G. E ROS, A.F.H. (1993). Ontogeny of sexual display in a cichlid fish. Comunicação apresentada no *XXIII International Ethological Conference*, Torremolinos.

GROOTHUIS, T.G.G. E ROS, R. (1994). Change in context of display in a cichlid fish: influence of social experience and sex hormones. (*manuscrito em preparação*)

GROSS, M.R. E MACMILLAN, A.M. (1981). Predation and the evolution of colonial nesting in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 8, 163-174.

GROSS, M.R. E SARGENT, R.C. (1985). The evolution of male and female parental care in fishes. *Amer. Zool.* 25, 807-822.

GROSSMAN, C.J. (1985). Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science* 227, 257-261.

GUERRERO, R.D. III E SHELTON, W.L. (1974). An aceto-carmine squash method for sexing juvenile fishes. *Prog. Fish-Cult.* 36, 56.

GUHL, A. (1953). Social behavior of the domestic fowl. *Tech. Bull. Kansas Agric. Exp. Sta.* 73, 3-48.

GUHL, A. (1968). Social inertia and social stability in chickens. *Anim. Behav.* 16, 219-232.

HALLER, J. E WITTENBERGER, C. (1988). Biochemical energetics of hierarchy formation in *Betta splendens*. *Physiol. Behav.* 43, 447-450.

HALPERN-SEBOLD, L., SCHREIBMAN, M.P., E MARGOLIS-NUNNO, H. (1986). Differences between early- and late-maturing genotypes of the paltyfish (*Xiphophorus maculatus*) in the morphometry of their immunoreactive luteinizing hormone releasing hormone-containing cells: a developmental study. *J. Exp. Zool.* 240, 245-257.

HAMILTON, W.D. (1971). Geometry for the selfish herd. *J. Theor. Biol.* 31, 295-311.

HAMILTON, W.D. E ZUK, M. (1982). Heritable true fitness in birds: a role for parasites? *Science* 218, 384-386.

HANNES, R.-P. (1984). Androgen and corticoid levels in blood and body extracts of high- and low-ranking swordtail males (*Xiphophorus helleri*) before and after social isolation. *Z. Tierpsychol.* 66, 70-76.

HANNES, R.-P. (1986). Blood and whole-body androgen levels of male swordtails correlated with aggression measures in a standard-opponent test. *Aggr. Behav.* 12, 249-254.

HANNES, R.-P. E FRANCK, D. (1983). The effect of social isolation on androgen and corticosteroid concentrations in a cichlid fish (*Haplochromis burtoni*) and in swordtails (*Xiphophorus helleri*). *Horm. Behav.* 17, 292-301.

HANNES, R.-P., FRANCK, D. E LIEMANN, F. (1984). Effects of rank-order fights on whole-body and blood concentrations of androgens and corticosteroids in the male swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Z. Tierpsychol.* 65, 53-65.

HOLDER, J.L., BARLOW, G.W., E FRANCIS, R.D. (1991). Differences in aggressiveness in the Midas cichlid fish (*Cichlasoma citrinellum*) in relation to sex, reproductive state and the individual. *Ethology* 88, 297-306.

HUNTER, G.A. E DONALDSON, E.M. (1983). Hormonal sex control and its applcation to fish culture. In: W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E E.M. DONALDSON (eds.), *Fish Physiology, Vol.9 B - Reproduction: Behavior and Fertility Control*, pp. 223-303. Academic Press, New York.

HUTCHISON, J.B. E STEIMER, TH. (1981). Androgen increases formation of behaviourally effective estrogen in the dove brain. *Nature* 292, 345-347.

HANON, L. (1975). Adaptations morphologiques et comportementales à l'incubation buccale chez les poissons Cichlides: oeufs et alevins. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.* 105, 169-192.

HANSEN, A.J. E ROHWER, S. (1986). Coverable badges and resource defence in birds. *Anim. Behav.* 34, 69-76.

HARDING, C.F. (1981). Social modulation of circulating hormone levels in the male. *Am. Zool.* 21, 223-232.

HARDING, C.F. E FOLLETT, B.K. (1979). Hormone changes triggered by aggression in a natural population of blackbirds. *Science* 203, 918-920.

HARPER, D.G.C. (1991). Communication. In: J.R KREBS E N.B. DAVIES (eds.), *Behavioural Ecology - An Evolutionary Approach, 3rd ed.*, pp.374-397. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

HARVEY, A.W. (1990). Sexual differences in contemporary selection acting on size in the hermit crab *Clibanarius digueti*. *Am. Nat.* 136, 292-304.

HARVEY, I.F. E CORBET, P.S. (1986). Territorial interactions between larvae of the dragonfly *Pyrrhosoma nymphula*: outcome of encounters. *Anim. Behav.* 34, 1550-1561.

HASSAN, S.A., BRAIN, P.F., E CASTANO, D. (1988). Studies on effects of tamoxifen (ICI46474) on agonistic encounters between pairs of intact mice. *Horm. Behav.* 22, 178-185.

HASTINGS, P.A. (1988a). Correlates of male reproductive success in the browncheek blenny, *Acanthemblemaria cockeri* (Blennioidea: Chaenopsidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 22, 95-102.

HASTINGS, P.A. (1988b). Female choice and male reproductive success in the angel blenny, *Coralliozetus angelica* (Teleostei: Chaenopsidae). *Anim. Behav.* 36, 115-124.

HAUSSKNECHT, T. E KUENZER, P. (1991). An experimental study of the buiding behaviour sequence of a shell-breeding cichlid-fish from lake Tanganyika (*Lamprologus ocellatus*). *Behaviour* 116: 127-142.

HEGNER, R.E. E WINGFIELD, J.C. (1987a). Social status and circulating levels of hormones in flocks of house sparrows, *Passer domesticus*. *Ethology* 76, 1-14.

HEGNER, R.E. E WINGFIELD, J.C. (1987b). Effects of experimental manipulations of testosterone levels on parental investment and breeding success in male house sparrows. *Auk* 104, 462-469.

HEILIGENBERG, W. (1965). A quantitative analysis of digging movements and their relationship to aggressive behaviour in cichlids. *Anim. Behav.* 13, 163-171.

HEILIGENBERG, W. (1973). Random processes describing the occurrence of behaviour patterns in cichlid fish. *Anim. Behav.* 21: 169-182.

HEILIGENBERG, W. E KRAMER, U. (1972). Aggressivness as a function of external stimulation. *J. Comp. Physiol.* 77, 332-340.

HEILIGENBERG, W., KRAMER, U. E SCHULZ, V. (1972). The angular orientation of the black eye-bar in *Haplochromis burtoni* (Cichlidae, Pisces) and its relevance to aggressivity. *Z. vergl. Physiol.* 76, 168-176.

HEINRICH, W. (1967). Untersuchungen zum Sexualverhalten in der Gattung *Tilapia* (Cichlidae, Teleostei) und bei Artbastardem. *Z. Tierpsychol.* 24, 684-754.

HERT, E. (1985). Individual recognition of helpers by the breeders in the cichlid fish *Lamprologus brichardi* (Poll, 1974). *Z. Tierpsychol.* 68, 313-325.

HIGBY, M., BEULIG, A. E DWYER, J. (1991). Exogenous testosterone and social experience each enhancethe development of aggressive behavior in *Cyprinodon variegatus. Aggr. Behav.* 17, 229-239.

HINDE, R.A. (1982). *Ethology - Its Nature and Relations with other Sciences.* Oxford University Press, Oxford.

HINDE, R.A. (1976). Interactions, relationships and social structure. *Man* 11, 1-17.

HINDE, R.A. E WARREN, R.P. (1959). The effects of nest building on later reproductive behaviour in domesticated canaries. *Anim. Behav.* 7, 35-41.

HOAR, W.S. (1962). Hormones and the reproductive behaviour of the male three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Anim. Behav.* 10, 247-266.

HODGKISS, I.J. E MAN, H.S.H. (1978). Reproductive biology of *Sarotherodon mossambicus* (Cichlidae) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. *Env. Biol. Fish.* 3, 287-292.

HOELZER, G.A. (1990). Male-male competition and female choice in the Cortez damselfish, *Stegastes rectifraenum. Anim. Behav.* 40, 339-349.

HOFFMAN, S.G., SCHILDHAUER, M.P. E WARNER, R.R. (1985). The costs of changing sex and the ontogeny of males under contest competition for mates. *Evolution* 39, 915-927.

HOFSTEDE, A.E. E BOTKE, F. (1950). *Tilapia mossambica* Peters as a factor in malaria control in the vicinity of Djakarta. *Landbouw. Djakarta* 22, 453-468.

HOLDER, J.L., BARLOW, G.W., E FRANCIS, R.D. (1991). Differences in aggressiveness in the Midas cichlid fish (*Cichlasoma citrinellum*) in relation to sex, reproductive state and the individual. *Ethology* 88, 297-306.

HOPPER, A.F. (1949). The effect of ethynyl testosterone on the intact and regenerating anal fins of normal and castrated females and normal males of *Lebistes reticulatus. J. Exp. Zool.* 111, 393-414.

HTUN-HAN, M. (1978). The reproductive biology of the dab *Limanda limanda* (L.) in the North Sea: gonadosomatic index, hepatosomatic index and condition factor. *J. Fish Biol.* 13, 369-378.

HULATA, G., ROTHBARD, S. E AVTALION, R.R. (1981). Evidence for multiple paternity in *Sarotherodon* broods. *Aquaculture* 25, 281-283.

HULSCHER-EMEIS, T.M. (1986). Are colour markings in *Tilapia zilli* associated with motivacional systems? *Ann. Kon. Mus. Midd.-Afr., Zool. Weten.* 251, 35-38.

HULSCHER-EMEIS, T.M. (1992). The variable colour patterns of *Tilapia zillii* (Cichlidae): integrating ethology, chromatophore regulation and the physiology of stress. *Neth. J. Zool.* 42, 525-560.

HUNTER, G.A. E DONALDSON, E.M. (1983). Hormonal sex control and its application to fish culture. In: W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E E.M. DONALDSON (eds.), *Fish Physiology - Vol.9: Reproduction, Part B: Behavior and Fertility Control*, pp. 223-303. Academic Press, New York.

HUNTINGFORD, F. (1976). An investigation of the territorial behaviour of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) using principal components analysis. *Anim. Behav.* 24, 822-834.

HUNTINGFORD, F.A. E TURNER, A.K. (1987). *Animal Conflict*. Chapman & Hall, London.

HUTCHISON, J.B. (1993). Aromatase: neuromodulator in the control of behavior. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 44, 509-520.

HUYNH, H. E FELDT, L.S. (1970). Conditions under which mean square ratios in repeated measurement designs have exact F-distributions. *J. Am. Stat. Ass.* 65, 1582-1589.

HUYNH, H. E FELDT, L.S. (1976). Estimation of the box correction for degrees of freedom from sample data in the randomized block and split block designs. *J. Educat. Stat.* 1, 69-82.

IDLER, D.R., BITNERS, I.I., E SCHMIDT, P.J. (1961). 11-Ketotestosterone: an androgen for sockeye salmon. *Can. J. Biochem. Physiol.* 39, 1737-1742.

IDLER, D.R., HORNE, D.A., E SANGALANG, G.B. (1971). Identification and quantification of the major androgens in testicular and peripheral plasma of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during sexual maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 16, 257-267.

IDLER, D.R., REINBOTH, R., WALSH, J.M., E TRUSCOTT, B. (1976). A comparison of 11-hydroxy-testosterone and 11-ketotestosterone in blood of ambisexual and gonochoristic teleosts. *Gen. Comp. Endocrinol.* 30, 517-521.

IKEDA, K. (1933). Effect of castration on the sexual characters of anadromous three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus* (L.). *Jap. J. Zool.* 5, 135-157.

ILES, T.D. E HOLDEN, M.J. (1969). Bi-parental mouth-brooding in *Tilapia galilaea* (Pisces, Cichlidae). *J. Zool.* 158, 327-333.

INGLIS, I.R. E ISAACSON, A.J. (1978). The response of dark-bellied Brent geese to models of geese in various postures. *Anim. Behav.* 28, 634-635.

IUCN (1988). *The IUCN Red List of Threatened Animals*. International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, Cambridge.

JALABERT, B. E FOSTIER, A. (1984). The modulating effect in vitro of oestradiol-17β, testosterone or cortisol on the output of 17α,20β-dihydroprogesterone by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ovarian follicles stimulated by the maturational gonadotropin s-GtH. *Reprod. Nutr. Dev.* 24, 127-136.

JAMES, N.P.E. E BRUTON, M.N. (1992). Alternative life-history traits associated with reproduction in *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) in small water bodies of the eastern Cape, South Africa. *Env. Biol. Fish.* 34, 379-392.

JENSEN, G.L. E SHELTON, W.L. (1979). Effects of estrogens on *Tilapia aurea*: implications for production of monosex genetic male tilapia. *Aquaculture* 16, 233-242.

JOHNS, L.S. E LILEY, N.R. (1970). The effects of gonadectomy and testosterone treatment on the reproductive behavior of the male blue gourami, *Trichogaster trichopterus. Can. J. Zool.* 48, 977-987.

JONES, A.J. (1972). The early development of substrate-brooding cichlids (Teleostei: Cichlidae) with a discussion of a new system of staging. *J. Morph.* 136, 255-272.

JONES, G.P. E THOMPSON, S.M. (1980). Social inhibition of maturation in females of the temperate wrasse *Pseudolabrus celidotus* and a comparison with the blennioid *Tripterygion varium. Mar. Biol.* 59, 247-256.

KAH, O., CHAMBOLLE, P., DUBOURG, P. E DUBOIS, M.P. (1984). Immunocytochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone in the brain of the goldfish *Carassius auratus. Gen. Comp. Endocrinol.* 53, 107-115.

KAISER, H.F. (1958). The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika* 23, 187-200.

KAISER, H.F. (1960). The application of electronic computers to factor analysis. *Educat. Psychol. Measur.* 20, 141-151.

KAPLAN, M.E. E MCGINNIS, M.Y. (1989). Effects of ATD on male sexual behavior and androgen receptor binding: a reexamination of the aromatization hypothesis. *Horm. Behav.* 23, 10-26.

KAR, A.B. E GHOSH, A. (1950). Responses of the genital system and the urinogenital papilla of the female catfish *Heteropneustes fossilis* (Block) to sex hormones. *Arch. Entwicklungsmech. Organ.* 144, 257-264.

KARINO, K. (1995). Male-male competition and female mate choice through courtship display in the territorial damselfish *Stegastes nigricans. Ethology* 100, 126-138.

KEENLEYSIDE, M.H.A. (1979). *Diversity and Adaptation in Fish Behaviour.* Springer Verlag: Berlin.

KEENLEYSIDE, M.H.A. (1983). Mate desertion in relation to adult sex ratio in the biparental cichlid fish *Herotilapia multispinosa. Anim. Behav.* 31, 683-688.

KEENLEYSIDE, M.H.A. (1985). Bigamy and mate coice in the biparental cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum. Behav. Ecol. Sociobiol.* 17, 285-290.

KEENLEYSIDE, M.H.A. (1991). Parental care. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp.191-208. Chapman & Hall, London.

KEENLEYSIDE, M.H.A., BAILEY, R.C. E YOUNG, V.H. (1990). Variation in the mating system and associated parental behaviour of captive and free-living *Cichlasoma nigrofasciatum* (Pisces, Cichlidae). *Behaviour* 112, 202-221.

KEENLEYSIDE, M.H.A., RANGELEY, R.W. E KUPPERS, B.U. (1985). Female mate choice and parental defense behaviour in the cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum. Can. J. Zool.* 63, 2489-2493.

KEIPER, R.R. E SAMBRAUS, H.H. (1986). The stability of equine dominance hierarchies and effects of kinship, proximity and foaling status on hierarchy rank. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16, 121-130.

KELLEY, D.B. (1986). The genesis of male and female brains. *Trends Neurosci.* 9, 499-502.

KELLOGG, K.A., MARKERT, J.A., STAUFFER, J.R. E KOCHER, T.D. (1995). Microsatellite variation demonstrates multiple paternity in lekking cichlid fishes from Lake Malawi, Africa. *Proc. Roy. Soc. Lond.* B 260, 79-84.

KENDALL, M.G. (1962). *Rank Correlation Methods.* Charles Griffin, London.

KETTERSON, E.D. E NOLAN, V. JR. (1994). Hormones and life histories: an integrative approach. In: L.A. REAL (ED.), *Behavioral Mechanisms in Evolutionary Ecology*, pp. 327-353. Chicago: University of Chicago Press.

KETTERSON, E.D., NOLAN, V. JR., WOLF, L. E ZIEGENFUS, C. (1992). Testosterone and avian life histories: effects of experimentally elevated testosterone on behavior and correlates of fitness in the dark-eyed junco (*Junco hyemalis*). *Am. Nat.* 140, 980-999.

KIM, Y.S., STUMPF, W.E., E SAR, M. (1978). Topography of estrogen target cells in the forebrain of goldfish *Carassius auratus. J. Comp. Neurol.* 182, 611-620.

KIME, D.E. (1987). The steroids. In: I. CHESTER-JONES, P.M. INGLETON, E J.G. PHILLIPS (eds.), *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*, pp. 3-56. Plenum Press, New York.

KIME, D.E. (1993). 'Classical' and 'non-classical' reproductive steroids in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 3, 160-180.

KIME, D.E. E CALLARD, G.V. (1982). Formation of 15α-hydroxylated androgens by the testis and other tissues of the sea lamprey *Petromyzon marinus*, in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 46, 267-270.

KIME, D.E. E HEWS, E.A. (1980). Steroid biosynthesis by the ovary of the hagfish, *Myxine glutinosa. Gen. Comp. Endocrinol.* 42, 71-75.

KIME, D.E. E HYDER, M. (1983). The effect of temperature and gonadotropin on testicular steroidogenesis in *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus* in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 50, 105-115.

KIME, D.E. E RAFTER, J. (1981). Biosynthesis of 15-hydroxylated steroids by gonads of the river lamprey, *Lampetra fluviatilis*, in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 44, 69-76.

KIME, D.E. E SCOTT, A.P. (1993). In vitro synthesis of 20α-reduced and 11- and 21-oxygenated steroids and their sulphates by testes of the goldfish (*Carassius auratus*): testicular synthesis of corticosteroids. *Fish Physiol. Biochem.* 11,287-292.

KIME, D.E., HEWS, E.A. E RAFTER, J. (1980). Steroid biosynthesis by testes of the hagfish, *Myxine glutinosa. Gen. Comp. Endocrinol.* 41, 8-13.

KINCL, F.A., KRAMER, CH. R. E KOULISH, S. (1987). Sex reversal in wrasses. I. Uptake of testosterone by the gonads and the central nervous system and its aromatization in the CNS of *Thalassoma duperrey* (Teleostei: Labridae). *Endocrinol. Exp.* 21, 115-123.

KINDLER, P.M., PHILIPP, D.P., GROSS, M.R., E BAHR, J.M. (1989). Serum 11-ketotestosterone and testosterone concentrations associated with reproduction in male bluegill (*Lepomis macrochirus*: Centrarchidae). *Gen. Comp. Endocrinol.* 75, 446-453.

KINDLER, P.M., BAHR, J.M., GROSS, M.R. E PHILIPP, D.P. (1991). Hormonal regulation of parental care behavior in nesting male bluegills: do the effects of bromocriptine suggest a role for prolactin? *Physiol. Zool.* 64, 310-332.

KINGSTON, D.I. (1980). Eye-color changes during aggressive displays in the goodeid fishes. *Copeia* 1980, 169-171.

KIRKPATRICK, M. (1982). Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution* 36, 1-12.

KITAWAKI, J., OSAWA, Y., E CALLARD, G.V. (1987). Aromatase isozyme in goldfish brain and stereochemistry of aromatization. *Steroids* 50, 637-638.

KLECKA, W.R. (1980). *Discriminant Analysis*. Sage University Publications, Beverly Hills, CA.

KNUPPEN, R. (1981). Mediators of feed-back message: oestrogens and/or catechol oestrogens? *Exp. Brain Res.* 3, 108-117.

KOBAYASHI, M., FURUKAWA, K. E AIDA, K. (1995). Sexual plasticity of behavior in goldfish. *XXIV International Ethological Conference Abstracts*, p.110. University of Hawaii at Manoa, Honolulu (Hawaii).

KOBAYASHI, T., SAKAI, N., ADACHI, K., ASAHINA, K., IWASAWA, H., E NAGAHAMA, Y. (1993). 17α,20β-dihydroxy-4-pregen-3-one is the naturally occurring spermiation-inducing hormone in the testis of a frog, *Rana nigromaculata. Endocrinology* 133,321-327.

KODRIC-BROWN, A. (1985). Female preference and sexual selection for male colouration in the guppy *Poecilia reticulata. Behav. Ecol. Sociobiol.* 17, 199-205.

KODRIC-BROWN, A. (1992). Male dominance can enhance mating success in guppies. *Anim. Behav.* 44, 165-167.

KODRIC-BROWN, A. E BROWN, J.H. (1984). Truth in advertising: the kinds of traits favoured by sexual selection. *Am. Nat.* 124, 309-323.

KODRIC-BROWN, A. E NICOLETTO, P.F. (1993). The relationship between physical condition and social status in pupfish *Cyprinodon pecosensis. Anim. Behav.* 46, 1234-1236.

KONINGS, A. (1988). *Tanganyika Cichlids*. Raket b.v., Pijnacker, The Netherlands.

KOPÉC, S. (1928). Experiment on dependence of nuptial hue in the gonads in fish. *Biol. Generalis* 3, 259.

KORNFIELD, I. (1984). Descriptive genetics of cichlid fishes. In: B.J. TURNER (ed.), *Evolutionary Genetics of Fishes*, pp. 591-616. Plenum Press, New York.

KOULISH, S. E KRAMER, C.R. (1989). Human chorionic gonadotropin (HCG) induces gonad reversal in a protogynous fish, the bluehead wrasse, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei, Labridae). *J. Exp. Zool.* 252, 156-168.

KOYAMA, Y., SATOU, M., OKA, Y., E UEDA, K. (1984). Involvement of the telencephalic hemispheres and the preoptic area in sexual behavior of the male goldfish, *Carassius auratus*: a brain lesion study. *Behav. Neural Biol.* 40, 70-86.

KOYAMA, Y., SATOU, M. E UEDA, K. (1985). Sexual behavior elicited by electrical stimulation of the telencephalic and preoptic areas in the goldfish, *Carassius auratus. Zool. Sci.* 2, 565-570.

KRAFT, A. E PETERS, H.M. (1963). Vergleichende Studien über die Oogenese in der Gattung *Tilapia* (Cichlidae, Teleostei). *Z. Zellforsch.* 61, 434-485.

KRAMER, B., MOLENDA, W. E FIEDLER, K. (1969). Behavioural effect of the antiandrogen cyproterone acetate (Schering) in *Tilapia mossambica* and *Lepomis gibbosus. Gen. Comp. Endocrinol.* 13, 515.

KRAMER, D.L. (1972). The role of androgens in the parental behavior of the blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pisces, Belontiidae). *Anim. Behav.* 20, 798-807.

KRAMER, D.L. E MCCLURE, M. (1982). Aquatic surface respiration, a widespread adaptation to hypoxia in tropical freshwater fishes. *Env. Biol. Fish.* 7, 47-55.

KREBS, J.R. E DAVIES, N.B. (1993). *An Introduction to Behavioural Ecology*, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

KUENZER, P. E PETERS, I. (1974). Versuche zur Auslosung und Umstellung der Brutpflegephasen bei Weibchen von *Nannacara anomala* (Cichlidae). *Z. Tierpsychol.* 35, 425-436.

KUWAMURA, T. (1986). Parental care and mating systems of cichlid fishes in lake Tanganyika: a preliminary field survey. *J. Ethol.* 4, 129-146.

KUWAMURA, T. (1987). Male mating territory and sneaking in a maternal mouthbrooder, *Pseudosimochromis curvifrons* (Pisces, Cichlidae). *J. Ethol.* 5, 203-206.

KYLE, A. (1982). *Psychoneuroendocrinology of Spawning Behaviour in the Male Goldfish*. Ph.D. Thesis, University of Alberta, Edmonton (Canada).

KYLE, L.A. E PETER, R.E. (1982). Effects of forebrain lesions on spawning behaviour in the male goldfish. *Physiol. Behav.* 28, 1103-1109.

LAMBERT, J.G.D. E VAN OORDT, P.G.W.J. (1982). Catecholestrogens in the brain of the female trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 46, 401.

LAMBERT, J.G.D., WILMS, P.G., ZANDWIJK, M.I., GOOS, H.J.TH. E VAN OORDT, P.G.W.J. (1982). Localization of aromatase activity in the brain of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In: C.J.J. RICHTER E H.J.TH. GOOS (eds.), *Proceedings of the International Symposium on The Reproductive Physiology of Fish*, p.57. Pudoc, Wageningen.

LAMBERT, J.G.D., GOOS, H.J.TH. E VAN OORDT, P.G.W.J. (1984). Aromatase activity in the brain of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 53, 459.

LAMPRECHT, J. (1973). Mechanismen des Paarzusammenhaltes beim Cichliden *Tilapia mariae* Boulenger 1899 (Cichlidae, Teleostei). *Z. Tierpsychol.* 32, 10-61.

LANDAU, H.G. (1951a). On dominance relations and the structure of animal societies II. Some effects of possible social factors. *Bull. Math. Biophys.* 13, 245-262.

LANDAU, H.G. (1951b). On dominance relations and the structure of animal societies I. Effect of inherent characteristics. *Bull. Math. Biophys.* 13, 1-19.

LANDAU, H.G. (1968). Models of social structure. *Bull. Math. Biophys.* 30, 215-224.

LANDE, R. (1982). Rapid origin of sexual isolation and character divergence within a cline. *Evolution* 36, 213-223.

LANZING, W.J.R. (1974). Sound production in the cichlid *Tilapia mossambica* Peters. *J. Fish Biol.* 6, 341-347.

LANZING, W.J.R. (1975). The ultrastructure of erytrophores and melanophores from the skin of *Tilapia mossambica*. *Acta Zool., Stock.* 56, 205-211.

LANZING, W.J.R. (1976). A temporary respiratory organ in the tail of *Tilapia mossambica* fry. *Copeia* 1976, 800-802.

LANZING, W.J.R. (1978). Effect of methallibure on gonad development and carotenoid content of the fins of *Sarotherodon mossambicus* (*Tilapia mossambica*). *J. Fish Biol.* 12, 181-185.

LANZING, W.J.R. E BOWER, C.C. (1974). Development of colour patterns in relation to behaviour in *Tilapia mossambica* (Peters). *J. Fish Biol.* 6, 29-41.

LANZING, W.J.R. E HIGGINBOTHAM, D.R. (1976). Scanning microscopy of pharyngeal and oral teeth of the teleost *Tilapia mossambica*. *Hydrobiologia* 48, 137-139.

LATOUR, S.A. E MINIARD, P.W. (1983). The misuse of repeated measures analysis in marketing research. *J. Mark. Res.* 20, 45-57.

LAVERY, R.J. E COLGAN, P.W. (1991). Brood age and parental defence in the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Pisces: Cichlidae). *Anim. Behav.* 41, 945-951.

LAVERY, R.J. E KEENLEYSIDE, M.H.A. (1990). Parental investment of a biparental cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum*, in relation to brood size and past investment. *Anim. Behav.* 40, 1128-1137.

LEGNER, E.F. (1983). Imported cichlid behaviour in California. In: L. FISHELSON E Z. YARON (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 59-63. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

LEGNER, E.F. E MEDVED, R.A. (1973). Predation of mosquitoes and chironomidges in ponds by *Tilapia zillii* (Gervais), and *T. mossambica* (Peters) (Teleostei: Cichlidae). *Proc. Calif. Mosq. Control Ass.* 41, 119-121.

LEGNER, E.F. E PELSUE, F.W. (1977). Adaptation of *Tilapia* to *Culex* and chironomid midge ecosystems in south California. *Proc. Calif. Mosq. Control Ass.* 45, 95-97.

LEITZ, T. (1987a). Different patterns of testicular in vitro metabolism of [^{14}C] testosterone in several *Betta* (Anabantoidei, Belontiidae) species. *Gen. Comp. Endocrinol.* 67, 44-49.

LEITZ, T. (1987b). Social control of testicular steroidogenic capacities in the Siamese fighting fish *Betta splendens* Regan. *J. Exp. Zool.* 244, 473-478.

LEMON, R.E. E CHATFIELD, C. (1971). Organization of song in cardinals. *Anim. Behav.* 19, 1-17.

LESSELLS, C.M. (1991). The evolution of life histories. In: J.R. KREBS E N.B. DAVIES (eds.), *Behavioural Ecology - an Evolutionary Approach*, pp. 32-68. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

LEVITAN, D.R. E PETERSEN, C. (1995). Sperm limitation in the sea. *TREE* 10, 228-231.

LEVY, M. E ARONSON, L.R. (1955). Morphological effects of castration and hormone administration in the male cichlid fish *Tilapia macrocephala*. *Anat. Rec.* 122, 450-451.

LIEM, K.F. (1973). Evolutionary strategies and morphological innovations: cichlid pharyngeal jaws. *Syst. Zool.* 22, 425-441.

LIGON, J.D., THORNHILL, R., ZUK, M., E JOHNSON, K. (1990). Male-male competition, ornamentation and the role of testosterone in sexual selection in red jungle fowl. *Anim. Behav.* 40, 367-373.

LILEY, N.R. E KROON, F.J. (1995). Male dominance, plasma hormone concentrations, and availability of milt in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Zool.*, no prelo.

LILEY, N.R. E ROUGER, Y. (1990). Plasma levels of gonadotrophin and 17α, 20β-dihydroxy-4-pregen-3-one in relation to spawning behaviour of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Biol.* 37, 699-711.

LILEY, N.R. E STACEY, N.E. (1983). Hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. In: W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E E.M. DONALDSON (eds.), *Fish Physiology - Vol.9: Reproduction, Part B: Behavior and Fertility Control*, pp. 1-63. Academic Press, New York.

LILEY, N.R., BRETON, B., FOSTIER, A., E TAN, E.S.P. (1986a). Endocrine changes associated with spawning behaviour and social stimuli in a wild population of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) 1. Males. *Gen. Comp. Endocrinol.* 62, 145-156.

LILEY, N.R., BRETON, B., FOSTIER, A., E TAN, E.S.P. (1986b). Endocrine changes associated with spawning behaviour and social stimuli in a wild population of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) 2. Females. *Gen. Comp. Endocrinol.* 62, 157-167.

LILEY, N.R., OLSÉN, K.H. E FOOTE, C.J. (1991). Reproductive pheromones in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and kokanee salmon, *O. nerka*. In: A.P. SCOTT, J.P. SUMPTER, D.E. KIME, E M.S. ROLFE (eds.), *Reproductive Physiology of Fish*, pp. 188-190. FishSymp 91, Sheffield.

LILEY, N.R., OLSÉN, K.H., FOOTE, C.J., E VAN DER KRAAK, G.J. (1993). Endocrine changes associated with with spawning behaviour in male kokanee salmon (*Oncorhynchus nerka*) and the effects of anosmia. *Horm. Behav.* 27, 470-487.

LIMBERGER, D. (1983). Pairs and harems in a cichlid fish, *Lamprologus brichardi*. *Z. Tierpsychol.* 62, 115-144.

LINDMAN, H.R. (1974). *Analysis of Variance in Complex Experimental Designs*. W.H. Freeman, San Francisco.

LOBEL, P.S. (1980). Invasion by the Mozambique tilapia (*Sarotherodon mossambicus*; Pisces, Cichlidae) of a Pacific atoll marine ecosystem. *Micronesia* 16, 349-355.

LOGAN, C.A. E WINGFIELD, J.C. (1990). Autumnal territorial aggression is independent of plasma testosterone in mocking birds. *Horm. Behav.* 24, 568-581.

LOISELLE, P.V. (1977). Colonial breeding by an African substratum-spawning cichlid fish, *Tilapia zilli* (Gervais). *Biol. Behav.* 2, 129-142.

LOISELLE, P.V. (1982). Male spawning-partner preference in an arena-breeding teleost *Cyprinodon macularis californiensis* Girard (Atherinomorpha: Cyprinodontidae). *Am. Nat.* 120, 721-732.

LOISELLE, P.V. (1985). The care and breeding of *Sarotherodon occidentalis*. *Buntbarsche Bull.* 109, 14-24.

LOISELLE, P.V. AND BARLOW, G.W. (1978). Do fishes lek like birds? In: E. REESE E F.J. LIGHTER (eds.), *Contrasts in Behavior: Adaptations in the Aquatic and Terrestrial Environment*, pp. 31-75. John Wiley & Sons, New York.

LOMBARDI, J.R. E VANDENBERGHE, J.G. (1976). Pheromonally induced sexual maturation in females: regulation by the social environment of the male. *Science* 196, 545-546.

LORENZ, K. (1952). *King Solomon's Ring*. Cambridge University Press, Cambridge.

LOVSHIN, L.L. (1982). Tilapia hybridization. In: R.S.V. PULLIN E LOWE-MCCONNELL, R.H. (eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, pp. 279-308. ICLARM, Manila.

LOWE-MCCONNELL, R.H. (1955). The fecundity of *Tilapia* species. *E. Afr. Agric. J.* 11, 45-52.

LOWE-MCCONNELL, R.H. (1959). Breeding behaviour patterns and ecological differences between *Tilapia* species and their significance for evolution within the genus *Tilapia*. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 132, 1-30.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. E RANDALL, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.

LUINE, V., NOTTEBOHM, F., HARDING, C., E MCEWEN, B.S. (1980). Androgen affects cholinergic enzymes in the syringeal motor neurons and muscle. *Brain Res.* 192, 89-107.

LUTTGE, W.G. (1983). Molecular mechanisms of steroid hormone actions in the brain. In: B.B. SVARE (ed.), *Hormones and Aggressive Behaviour*, pp.247-311. Plenum Press, New York.

MCEWEN, B.S. (1976). Interactions between hormones and nerve tissues. *Sci. Am.* 235, 48-58.

MCINTYRE, D.C., HEALY, L.M. E SAARI, M. (1979). Intraspecies aggression and monoamine levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. *Behav. Neural Biol.* 25, 90-98.

MCKAYE, K.R. (1983). Ecology and breeding behavior of a cichlid fish, *Cyrtocara eucinostomus* on a large lek in Lake Malawi, Africa. *Env. Biol. Fish.* 8, 81-96.

MCKAYE, K.R. (1984). Behavioural aspects of cichlid reproductive strategies: patterns of territoriality and brood defence in Central American substratum spawners and African mouth brooders. In: G.W. POTTS E R.J. WOOTTON (eds.), *Fish Reproduction: Strategies and Tactics*, pp. 245-273. Academic Press, New York.

MCKAYE, K.R. (1991). Sexual selection and the evolution of the cichlid fishes of Lake Malawi, Africa. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes: Behaviour, Ecology and Evolution*, pp. 241-257. Chapman & Hall, London.

MCKAYE, K.R. E BARLOW, G.W. (1976). Chemical recognition of young by the Midas cichlid, *Cichlasoma citrinellum. Copeia* 1976, 276-282.

MCKAYE, K.R. E MCKAYE, N.M. (1977). Communal care and kidnapping of young by parental cichlids. *Evolution* 31, 674-681.

MCKAYE, K.R. E KOCHER, T. (1983). Head ramming behaviour by three paedophagous cichlids in Lake Malawi, Africa. *Anim. Behav.* 31, 206-210.

MCKAYE, K.R., LOUDA, S.M. E STAUFFER JR., J.R. (1990). Bower size and male reproductive success in a cichlid fish lek. *Am. Nat.* 135, 597-613.

MCPHAIL, J.D. (1969). Predation and the evolution of a stickleback (*Gasterosteus*). *J. Fish. Res. Board Can.* 26, 3183-3208.

MACHLIS, L., DODD, P.W.D. E FENTRESS, J.C. (1985). The pooling fallacy: problems arising when individuals contribute more than one observation to the data set. *Z. Tierpsychol.* 68, 201-214.

MAESTRIPIERI, D. (1992). Functional aspects of maternal aggression in mammals. *Can. J. Zool.* 70, 1069-1077.

MAGNHAGEN, C. E VESTERGAARD, K. (1993). Brood size and offspring age affect risk-taking and aggression in nest-guarding common gobies. *Behaviour* 125, 233-243.

MALER, L. E ELLIS, W.G. (1987). Inter-male aggressive signals in weakly electric fish are modulated by monoamines. *Behav. Brain Res.* 25, 75-81.

MARLER, C.A. E MOORE, M.C. (1988). Evolutionary costs of aggression revealed by testosterone manipulations in free-living male lizards. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 23, 21-26.

MARLER, C.A. E MOORE, M.C. (1989). Time and energy costs of aggression in testosterone-implanted free-living male mountain spiny lizards (*Sceloporus jarrovi*). *Physiol. Zool.* 62, 1334-1350.

MARLER, C.A. E MOORE, M.C. (1991). Suplementary feeding compensates for testosterone-induced costs of aggression in male mountain spiny lizards, *Sceloporus jarrovi*. *Anim. Behav.* 42, 209-219.

MARSHALL, J.A. (1971). Sound production by *Tilapia mossambica* (Pisces: Cichliade). *Am. Zool.* 11, 632.

MARSHALL, J.A. (1972). Influence of male sound production on oviposition in female *Tilapia mossambica* (Pisces, Cichlidae). *Am. Zool.* 12, 663-664.

MARTIN, F.D. E HENGSTEBECK, M.F. (1981). Eye colour and aggression in juvenile guppies *Poecilia reticulata*. *Anim. Behav.* 29, 325-331.

MARTIN, P. E BATESON, P. (1993). *Measuring Behaviour: an Introductory Guide*, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge.

MARTY, G.D. E SUMMERFELT, R.C. (1986). Pathways and mechanisms for expulsion of surgically implanted dummy transmitters from the peritoneal cavity of channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115, 577-589.

MASSA, R., DAVIES, D.T., E BOTTONI, L. (1980). Cloacal gland of the Japanese quail: androgen dependence and metabolism of testosterone. *J. Endocrinol.* 84, 223-230.

MATSUYAMA, M., ADACHI, S., NAGAHAMA, Y. E MATSUURA S. (1988). Diurnal rhythm of oocyte development and plasma steroid hormone levels in the female red sea bream, *Pagrus major*, during the spawning season. *Aquaculture* 73, 357-372.

MATSUYAMA, M., ADACHI, S., NAGAHAMA, Y., MARUYAMA, K. E MATSUURA S. (1990). Diurnal rhythm of serum steroid hormone levels in the Japanese whiting *Sillago japonica*, a daily spawning teleost. *Fish Physiol. Biochem.* 8, 329-338.

MAYER, I., BORG, B., E SCHULZ, R. (1990a). Seasonal changes in and effect of castration/androgen replacement on the plasma levels of five androgens in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Gen. Comp. Endocrinol.* 79, 23-30.

MAYER, I., BORG, B., E SCHULZ, R. (1990b). Conversion of 11-ketoandrostenedione to 11-ketotestosterone by blood cells of six fish species. *Gen. Comp. Endocrinol.* 79, 70-74.

MAYER, I., ROSENQVIST, G., BORG, B., AHNESJÖ, I., BERGLUND, A., E SCHULZ, R.W. (1993). Plasma levels of sex steroids in three species of pipefish (Syngnathidae). *Can. J. Zool.* 71, 1903-1907.

MAYNARD-SMITH, J.M. E PARKER, G.A. (1976). The logic of asymmetric contests. *Anim. Behav.* 24, 159-175.

MEADOWS, D. (1995). Effects of habitat geometry on territorial defence costs in a damselfish. *Anim. Behav.* 49, 1406-1408.

MENDOZA, S.D. E BARCHAS, P.R. (1983). Behavioral processes leading to linear status hierarchies following group formation in rhesus macaques. *J. Hum. Evol.* 12, 185-192.

METCALFE, N.B., HUNTINGFORD, F.A., GRAHAM, W.D. E THORPE, J.E. (1989). Early social status and the development of life-history strategies in Atlantic salmon. *Proc. R. Soc. Lond.* B 236, 7-19.

METCALFE, N.B., HUNTINGFORD, F.A., THORPE, J.E. E ADAMS, C.E. (1990).The effects of social status on life history variation in juvenile salmon. *Can. J. Zool.* 68, 2630-2636.

MEYER, A. (1995). Molecular evidence on the origin of tretapods and the relationships of the coelacanth. *TREE* 10, 111-116.

MILINSKI, M. E BAKKER, T.C.M. (1990). Female sticklebacks use male coloration in mate choice and hence avoid parasitized males. *Nature* 344, 330-333.

MILLAR, J.S. E HICKLING, G.J. (1990). Fasting endurance and the evolution of mammalian body size. *Funct. Ecol.* 4, 5-12.

MILLAR, J.S. E HICKLING, G.J. (1992). Evolution of animal body size: a cautionary note on the assessments of the role of energetics. *Funct. Ecol.* 6, 495-498.

MIRONOWA, N.V. (1978). Energy expenditure on egg production in young *Tilapia mossambica* and the influence of maintenance conditions on their reproductive intensity. *J. Ichthyol.* 17, 627-633.

MIURA, T., YAMAUCHI, K., TAKAHASHI, H. E NAGAHAMA, Y. (1992). The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. *J. Exp. Zool.* 261, 359-363.

MOCCIA, R.D., WILKIE, E.J., MUNKITTRICK, K.R. E THOMPSON, W.D. (1984). The use of fine needle fibre endoscopy in fish for in vivo examination of visceral organs, with special reference to ovarian evaluation. *Aquaculture* 40, 255-259.

MOLLER, A.P. (1987). Social control of deception among status signalling house sparows *Passer domesticus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 20, 307-311.

MOLLER, A.P. (1994). *Sexual Selection and the Barn Swallow*. Oxford University Press, Oxford.

MOORE, A. E SCOTT, A.P. (1991). Testosterone is a potent odorant in precocious male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B 332, 241-244.

MOORE, M.C. (1984). Changes in territorial defense produced by changes in circulating levels of testosterone: a possible hormonal basis for mate-guarding behavior in white-crowned sparrows. *Behaviour* 88, 215-226.

MOORE, M.C. (1986). Circulating steroid hormones during rapd aggressive responses of territorial malemountain spiny lizards, *Sceloporus jarrovi*. *Horm. Behav.* 21, 511-521.

MOORE, M.C. (1988). Testosterone control of territorial behavior: tonic-release implants fully restore seasonal and short-term aggressive responses in free-living castrated lizards. *Gen. Comp. Endocrinol.* 70, 450-459.

MOREAU, J. (1982). Etude du cycle reproducteur de *Tilapia rendalli* et *Sarotherodon macrochir* dans un lac tropical d'altitude: le lac Alaotra (Madagascar). *Acta Oecol. Appl.* 3, 3.

MORGAN, B.J.T.; SIMPSON, M.J.A. HANBY, J.P. E HALL-CRAGGS, J. (1975). Visualizing interaction and sequential datain animal behaviour: theory and application of cluster-analysis methods. *Behaviour* 56, 1-43.

MORRIS, D. (1952). Homosexuality in the ten-spined stickleback (*Pygosteus pungitus* L.). *Behaviour* 4, 233-261.

MORRIS, D. (1958). The reproductive behaviour of the ten-spined stickleback (*Pygosteus pungitius* L.) *Behaviour*, suppl.6, 1-154.

MORRISON, D.F. (1990). *Multivariate Statistical Methods, 3rd ed.*. McGraw-Hill, New York.

MROWKA, W. (1987). Filial cannibalism and reproductive success in the maternal mouthbrooding cichlid fish *Pseudocrenilabrus multicolor*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 21, 257-265.

MROWKA, W. E SCHIERWATER, B. (1988). Energy expenditure for mouthbrooding in a cichlid fish. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 22, 161-164.

MÜLLER, J. E PETERS, W.C.H. (1844). Zoologische Mittheilungen über einige neue Fische und Amphibien aus Angola und Mozambique. *Ber. Akad. Wiss. Berlin.* 1844, 31-34.

MUNRO, A.D. (1986a). Effects of melatonin, serotonin, and naloxen on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *J. Pineal Res.* 3, 257-262.

MUNRO, A.D. (1986b). The effects of apomorphine, D-amphetamine and chloropromazine on the aggressiveness of isolated *Aequidens pulcher* (Teleostei, Cichlidae). *Psychopharmacol.* 88, 124-128.

MUNRO, A.D. (1990). Tropical freshwater fish. In: A.D. MUNRO, A.P. SCOTT E T.J. LAM (eds.), *Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences*, pp. 145-239. CRC Press, Boca Raton, Florida.

MUNRO, A.D. E PITCHER, T.J. (1985). Steroid hormones and agonistic behavior in a cichlid teleost, *Aequidens pulcher*. *Horm. Behav.* 353-371.

MUNZ, H., STUMPF, W.E. E JENNES, L. (1981). LHRH systems in the brain of platyfish. *Brain Res.* 221, 1-13.

MUSKE, L.E. E FERNALD, R.D. (1987a). Control of a teleost social signal: I. Neural basis for differential expression of a color pattern. *J. Comp. Physiol.* A 160: 89-97.

MUSKE, L.E. E FERNALD, R.D. (1987b). Control of a teleost social signal: II. Anatomical and physiological specializations of chromatophores. *J. Comp. Physiol.* A 160: 99-107.

MYRBERG, A.A. (1972). Social dominance and territoriality in the bicolor damselfish *Eupomacentrus partitus* (Poey) (Pisces: Pomacentridae). *Behaviour* 41, 207-231.

NAFTOLIN, F., RYAN, K.J., DAVIES, I.L., REDDY, V.V., FLORES, F., PETRO, Z., KUHN, M., WHITE, R.J., TAKAOKA, Y., E WOLIN, L. (1975). The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Rec. Prog. Horm. Res.* 31, 255-319.

NAGAHAMA, Y. (1987). 17α, 20β-dihydroxy-4-pregen-3-one: a teleost maturation-inducing hormone. *Dev. Growth Diff.* 29, 1-12.

NAGASE, G. (1964). Contribution to the physiology of digestion in *Tilapia mossambica*. Digestive enzymes and the effect of diet on their activity. *Z. Vergl. Physiol.* 49, 270-284.

NAGOSHI, M. (1983). Distribution, abundance and parental care of the genus *Lamprologus* (Cichlidae) in Lake Tanganyika. *Afr. Stud. Monogr.* 3 (Kyoto Univ.), 39-47.

NAISH, K.-A. E RIBBINK, A.J. (1990). A preliminary investigation of sex-change in *Pseudotropheus lombardoi* (Pisces: Cichlidae). *Env. Biol. Fish.* 28, 285-294.

NAKATSURU, K. E KRAMER, D.L. (1982). Is sperm cheap? Limited male fertility and female choice in the lemon Tetra (Pisces, Characidae). *Science* 216, 753-755.

NEIL, E.H. (1964). An analysis of colour changes and social behaviour of *Tilapia mossambica*. *Univ. Calif. Publ. Zool.* 75, 1-58.

NEIL, E.H. (1966). Observations on the behavior of *Tilapia mossambica* (Pisces, Cichlidae) in Hawaiian ponds. *Copeia* 1966, 50-56.

NEIL, S.J. (1984). Field studies on the behavioral ecology and agonistic behavior of *Cichlasoma meeki* (Pisces: Cichlidae). *Env. Biol. Fish.* 10, 59-68.

NELISSEN, M.H.J. (1978). Sound production by some Tanganyikan cichlid fishes and a hypothesis for the evolution of the r communication mechanisms. *Behaviour* 64: 137-147.

NELISSEN, M.H.J. (1985). Structure of the dominance hierarchy and dominance determining "group factors" in *Melanochromis auratus* (Pisces, Cichlidae). *Behaviour* 94, 85-107.

NELISSEN, M.H.J. (1986a). The effect of tied rank numbers on the linearity of dominance hierarchies. *Behav. Proc.* 12, 159-168.

NELISSEN, M.H.J. (1986b). The development of a dominance hierarchy in *Melanochromis auratus* (Pisces; Cichlidae). *Ann. Kon. Mus. Mid. Afr., Zool. Wetensch.* 251, 17-20.

NELISSEN, M.H.J. (1990). The dynamics of dominance relationships in a cichlid fish applied to the 'jigsaw puzzle' approach. *Belg. J. Zool.* 120, suppl. 1, 50.

NELISSEN, M.H.J. (1991). Communication. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp.225-240. Chapman & Hall, London.

NELISSEN, M.H.J. E ANDRIES, S. (1988). Does previous experience affect the ranking of cichlid fish in a dominance hierarchy? *Annls. Soc. r. zool. Belg.* 118, 41-50.

NELSON, J.S. (1994). *Fishes of the World, 3rd ed.* John Wiley & Sons, New York.

NEWCOMBE, C. E HARTMAN, G. (1973). Some chemical signals in the spawning behavior of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 30, 995-997.

N'GOKAKA, C. (1983). Ethologie et Hybridation des Tilapias. Contribution a l'etude des mecanismes ethologiques de l'isolement reproducteur des poissons cichlides africains: analyse du comportment de parade sexuelle chez *Sarotherodon niloticus* (L.) et *Sarotherodon mossambicus* (Peters). *Cahiers d'Ethologie Appliquee* 3, suppl.3, 1-195.

NIWA SUZUKI, H. (1965). Effects of castration and administration of methyltestosterone on the nuptial coloration of the medaka (*Oryzias latipes*). *Embryologia (Nagoya)* 8, 299-307.

NOAKES, D.L.G. E BALON, E.K. (1982). Life histories of Tilapias: an evolutionary perspective. In: R.S.V. PULLIN E R.H. LOWE-MCCONNELL (eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, pp. 61-82. ICLARM, Manila.

NOAKES, D.L.G. E BARLOW, G.W. (1973). Cross-fostering and parent-offspring responses in *Cichlasoma citrinellum* (Pisces, Cichlidae). *Z. Tierpsychol.* 33, 147-152.

NOAKES, D.L.G. E LEATHERLAND, J.F. (1977). Social dominance and interrenal cell activity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Pisces, Salmonidae). *Env. Biol. Fish.* 2, 131-136.

NOBLE, G.K. (1936). The function of the corpus striatum in the social behavior of fishes. *Anat. Rec.* 64, 34.

NOBLE, G.K. (1937). Effect of lesions of the corpus striatum on the brooding behavior of cichlid fishes. *Anat. Rec.* 70, 58.

NOBLE, G.K. E BORNE, R. (1940). The effect of sex hormones on the social hierarchy of *Xiphophorus helleri*. *Anat. Rec.* 78, 147.

NOBLE, G.K. E BORNE, R. (1941). The effect of forebrain lesions on the sexual and fighting behavior of *Betta splendens* and other fishes. *Anat. Rec.* 79, 49.

NOBLE, G.K. E CURTIS, B. (1939). The social behavior of the jewel fish, *Hemichromis bimaculatus* Gill. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 76, 1-46.

NOBLE, G.K. E KUMPF, K.F. (1936). The sexual behavior and secondary sex characters of gonadectomized fish. *Anat. Rec.* 67, 113.

NOONAN, K.C. (1983). Female mate choice in the cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum. Anim. Behav.* 31, 1005-1010.

NORTHCUTT, R.G. (1983). Evolution of the optic tetcum in ray-finned fishes. In: R.E. DAVIS E R.G. NORTHCUTT (eds.), *Fish Neurobiology*, pp. 1-43. University of Michigan Press, Ann Arbour.

NOZAKI, M., FUJITA, I., SAITO, N., SUKAHARA, T.T., KOBAYASHI, H., UEDA, K., E OSHIMA, K. (1985). Distribution of LHRH-like immunoreactivity in the brain of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) with special reference to the nervus terminalis. *Zool. Sci.* 2, 537-549.

NUNEZ-RODRIGUEZ, J., KAH, O., BRETON, B., E LE MENN, F. (1985). Immunocytochemical localization of GnRH (gonadotropin releasing hormone) systems in the brain of a marine teleost fish, the sole. *Experientia* 41, 1574-1576.

OBERSKI, I.M. E WILSON, J.D. (1991). Territoriality and site-related dominance: on two related concepts in avian social organization. *Ethology* 87, 225-236.

OKIMOTO, D.K., WEBER, G.M. E GRAU, E.G. (1993). The effects of thyroxine and propylthiouracil treatment on changes in body form associated with a possible developmental thyroxine surge during post-hatching development of the tilapia, *Oreochromis mossambicus. Zool. Sci.* 10, 803-811.

OLSÉN, K.H. E LILEY, N.R. (1993). The significance of olfaction and social cues in milt availability, sexual hormone status and spawning behaviour of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 89, 107-118.

OVERMIER, J.B. E GROSS, D. (1974). Effects of telencephalic ablation upon nest building and avoidance behaviors in East Africa mouthbreeding fish, *Tilapia mossambica. Behav. Biol.* 12, 211-222.

OWENS, I.P.F. E SHORT, R.V. (1995). Hormonal basis of sexual dimorphism in birds: implications for new theories of sexual selection. *TREE* 10, 44-47.

PAGET, G.E., WALPOLE, A.L. E RICHARDSON, D.N. (1961). Non-steroidal inhibitions of pituitary gonadotropic function. *Nature* 192, 1191.

PANDEY, S. (1969). Effects of methyl testosterone on the testis and secondary sex characters of the hypophysectomized adult male guppy *Poecilia reticulata* Peters. *Can. J. Zool.* 47, 783-786.

PANKHURST, N.W. (1990). Changes in plasma levels of of gonadal steroids during spawning behaviour in territorial male demoiselles *Chromis dispilus* (Pisces: Pomacentridae) sampled underwater. *Gen. Comp. Endocrinol.* 79, 215-225.

PANKHURST, N.W. E BARNETT, C.W. (1993). Relationship of population density, territorial interaction and plasma levels of gonadal steroids in spawning male demoiselles *Chromis dispilus* (Pisces, Pomacentridae). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 90, 168-176.

PANKHURST, N.W. E CARRAGHER, J.F. (1991). Seasonal endocrine cycles in marine teleosts. In: A.P. SCOTT, J.P. SUMPTER, D.E. KIME, E M.S. ROLFE (eds.), *Proceedings of the 4th International Symposia of Reproductive Physiology of Fishes*, pp. 131-135. FishSymp 91, Sheffield.

PANKHURST, N.W. E CONROY, A.M. (1987). Seasonal changes in reproductive condition and plasma levels of sex steroids in blue cod, *Parapercis colias* (Bloch and Scneider)(Mugiloididae). *Fish. Physiol. Biochem.* 4, 15-26.

PANKHURST, N.W., STACEY, N.E. E PETER, R.E. (1986). An evaluation of techniques for the administration of 17β-estradiol to teleosts. *Aquaculture* 52, 145-155.

PARKER, G.A. (1974). Assessment strategy and the evolution of fighting behaviour. *J. Theor. Biol.* 47, 223-243.

PARMIGIANI, S., BRAIN, P.F., MAINARDI, D. E BRUNONI, V. (1988). Different patterns of biting attack employed by lactating female mice (*Mus domesticus*) in encounters with male and female conspecific intruders. *J. Comp. Psychol.* 102, 287-293.

PASMANIK, M. E CALLARD, G.V. (1985). Aromatase and 5α-reductase in the teleost brain, spinal cord, and pituitary gland. *Gen. Comp. Endocrinol.* 60, 244-251.

PASMANIK, M. E CALLARD, G.V. (1988a). Changes in brain aromatase and 5α-reductase activities correlate significantly with seasonal reproductive cycles in goldfish (*Carassius auratus*). *Endocrinology* 122, 1349-1356.

PASMANIK, M. E CALLARD, G.V. (1988b). A high abundance androgen receptor in goldfish brain: characteristics and seasonal changes. *Endocrinology* 123, 1162-1171.

PASMANIK, M., SCHLINGER, B.A., E CALLARD, G.V. (1988). *In vivo* steroid regulation of aromatase and 5 α-reductase in goldfish brain and pituitary. *Gen. Comp. Endocrinol.* 71, 175-182.

PAULY, D. (1976). The biology, fishery and potential for aquaculture of *Tilapia melanotheron* in a small West African lagoon. Aquaculture 7, 33-49.

PAULY, D., MOREAU, J. E PREIN, M. (1988). A comparison of overall growth performance of tilapia in open waters and aquaculture. In: R.S.V. PULLIN, T. BHUKASWAN, K. TONGUTHAI E J.L. MACLEAN (eds.), *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 469-479. ICLARM, Manila.

PAYNE, A.I. (1983). Estuarine and salt tolerant tilapias. In: L. FISHELSON E Z. YARON (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 534-543. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

PEDHAZUR, E.J. (1982). *Multiple Regression in Behavioral Research*, 2nd edition. Chicago: Holt, Rinehart and Winston.

PEEK, F.W. (1972). An experimental study of the territorial function of vocal and visual display in the male red-winged blackbird (*Agelaius phoeniceus*). *Anim. Behav.* 20, 112-118.

PEEKE, H.V.S. E VENO, A. (1973). Stimulus specificity of habituated aggression in the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Behav. Biol.* 8, 427-432.

PEEKE, H.V.S. E PEEKE, S.C. (1970). Habituation of aggressive responses in the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Behaviour* 36, 232-245.

PEREZ, J.E. E MACLEAN, N. (1976). The haemoglobins of the fish *Sarotherodon mossambicus* (Peters): functional significance and ontogenetic changes. *J. Fish Biol.* 9, 447-455.

PERRONE, M., JR. (1978). Mate size and breeding success in a monogamous cichlid fish. *Env. Biol. Fish.* 3, 193-201.

PERRONE, M. E ZARET, T.M. (1979). Parental care patterns of fishes. *Am. Nat.* 113, 351-362.

PETER, R.E. (1977). The preoptic nucleus in fishes: a comparative discussion of function-activity relationships. *Am. Zool.* 17, 775-785.

PETER, R.E. (1983). The brain and neurohormones in teleost reproduction. In: W.S. HOAR, D.J. RANDALL E E.M. DONALDSON (eds.), *Fish Physiology vol. 9A*, pp. 97-135. Academic Press, New York.

PETER, R.E. E CRIM, L.W. (1979). Hypothalamic lesions of goldfish: effects on gonadal recrudescence and gonadotropin secretion. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 18, 819-823.

PETERS, H.M. (1961). Zur morphologischen Kennzeichnung der ethologischen gruppen der Gattung *Tilapia* (Teleostei, Cichlidae). *Zool. Anz.* 166, 470-478.

PETERS, H.M. (1965). Über larvale Haftorgane bei *Tilapia* (Cichlidae, Teleostei) und ihre Rückbildungin der Evolution. *Zool. Jb. Zool.* 71, 287-300.

PETERS, H.M. (1971). Testis weights in *Tilapia* (Pisces, Cichlidae). *Copeia* 1971, 13-17.

PETERS, H.M. (1975). Hermafroditism in cichlid fishes. In: R. REINBOTH (ed.), *Intersexuality in the Animal Kingdom*, pp.228-235. Springer-Verlag, Berlin.

PETERS, H.M. E BERNS, S. (1978). Über die Vorgeschichte der maulbrutenden Cichliden. *Aquar. Mag.* 5, 211-217 e 7, 324-331.

PETERS, H.M. E BERNS, S. (1982). Die Maulbrutpflege der Cichliden. Untersuchangen zur Evolution eines Verhaltens musters. *Z. Zool. Syst. Evolut.-forsch.* 20, 18-52.

PETERS, W.C.H. (1852). Diagnosen von neuen Flussfischen aus Mossambique. *Ber. Akad. Wiss. Berlin.* 1852, 681-685.

PETERSEN, C.W. (1988). Male mating success, sexual size dimorphism, and site fidelity in two species of *Malacoctenus* (Labrisomidae). *Env. Biol.Fish.* 21, 173-183.

PHILIPPART, J.-CL. E RUWET, J.-CL. (1982). Ecology and distribution of tilapias. In: R.S.V. PULLIN E R.H. LOWE-MCCONNELL (eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, pp. 15-59. ICLARM, Manila.

PIFERRER, F. E DONALDSON, E.M. (1991). Dosage-dependent differences in the effect of aromatizable and nonaromatizable androgens on the resulting phenotype of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Fish Physiol. Biochem.* 9, 145-150.

PIFERRER, F., BAKER, I.J. E DONALDSON, E.M. (1993). Effects of natural, synthetic, aromatizable, and nonaromatizable androgens in inducing male sex differentiation in genotypic female chinook salmon (*Oncorhyncus tshawytscha*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 91, 59-65.

PINHEIRO, M. (1980). Observações etológicas em *Sarotherodon mossambicus* (Peters)(Pisces, Cichlidae). *Garcia de Orta, Série Zool.* 9: 13-50.

PITCHER, T.J. E PARRISH, J.K. (1993). Functions of shoaling behaviour in teleosts. In: T.J. PITCHER (ed.), *Behaviour of Teleost Fishes*, pp. 363-439. Chapman & Hall, London.

POLDER, J.J.W. (1971). On gonads and reproductive behaviour in the cichlid fish *Aequidens portalegrensis* (Hensel). *Neth. J. Zool.* 21, 265-365.

POLLACK, E.I. E CHRISTIAN, J.J. (1977). Social activation of the interrenal gland in the blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pisces, Belontiidae). *Behav. Biol.* 19, 217-227.

POMIANKOWSKI, A., IWASA, Y. E NEE, S. (1991). The evolution of costly mate preferences. 1. Fisher and biased mutation. *Evolution* 45, 1422-1430.

POOLE, J.H. (1989). Mate guarding, reproductive success and female choice in African elephants. *Anim. Behav.* 37, 842-849.

POPP, J.W., FICKEN, M.S., E WEISE, C.M. (1990). How are agonistic encounters among black-capped chickadees resolved? *Anim. Behav.* 39, 980-986.

POTTINGER, T.G. (1987). Androgen binding in the skin of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. *Gen. Comp. Endocrinol.* 66, 224-232.

POTTS, G.W. (1974). The colouration and its behavioural significance in the corkwing wrasse, *Crenilabrus melops*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 54: 925-938.

POTTS, W.T.W., FOSTER, M.A., RUDY, P.P. E HOWELLS, G.P. (1967). Sodium and water balance in the cichlid teleost, *Tilapia mossambica*. *J. Exp. Biol.* 47, 461-470.

POUYAUD, L. E AGNÈSE, J.-P. (1995). Phylogenetic relationships between 21 species of three tilapiine genera *Tilapia, Sarotherodon* and *Oreochromis* using allozyme data. *J. Fish Biol.* 47, 26-38.

PRATT, F., ZANUY, S., CARILLO, M., DE MONES, A., E FOSTIER, A. (1990). Seasonal changes in plasma levels of gonadal steroids of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Gen. Comp. Endocrinol.* 78, 361-373.

PRESSLEY, P.H. (1981). Parental effort and the evolution of nest-guarding tactics in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Evolution* 35, 282-295.

PULLIN, R.S.V. (1983). Choice of *Tilapia* species for aquaculture. In: L. FISHELSON E Z. YARON (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 64-76. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

PULLIN, R.S.V. (1991). Cichlids in Aquaculture. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (eds.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp. 280-309. Chapman & Hall, London.

PULLIN, R.S.V. E LOWE-MCCONNELL, R.H. (eds.) (1982). *The Biology and Culture of Tilapias*. ICLARM, Manila.

PULLIN, R.S.V. E MCLEAN, J.L. (1992). Analysis of research for the development of tilapia farming: an interdisciplinary approach is lacking. *Neth. J. Zool.* 42, 512-522.

PULLIN, R.S.V., BHUKASWAN, B., TONGUTHAI, K. E MACLEAN, J.L. (eds.) (1988). *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. ICLARM, Manila.

RASA, O.A.E. (1981). Ethological aspects of aggression in sub-human animals. In: P.F. BRAIN E D. BENTON (eds.), *The Biology of Aggression*, pp. 585-601. Sijthoff & Nordhoff, Alphen aan den Rijn, Netherlands.

REAL, L.A. (1994). How to think about behaviour: an introduction. In: L.A. REAL (ed.), *Behavioral Mechanisms in Evolutionary Ecology*, pp.1-8. University of Chicago Press, Chicago.

REDDY, V.V.R., NAFTOLIN, F., E RYAN, K.J. (1973). Aromatization in the central nervous system of rabbits: effects of castration and hormone treatment. *Endocrinol.* 92, 589-594.

REID, G.M. (1990). Captive breeding for the conservation of cichlid fishes. *J. Fish Biol.* 37, suppl. A, 157-166.

REID, M.J. E ATZ, J.W. (1958). Oral incubation in the cichlid fish *Geophagus jurupari* Heckel. *Zoologica* 43, 77-88.

REINBOTH, R. (1978). Bioassay for androgenic effects of various C_{19} steroids in juvenile cichlid fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 34, 85-86.

REINBOTH, R. E BECKER, B. (1986). In vitro metabolization of [14C]-testosterone by spermatogenic tissue and acessory gland of *Blennius pavo* (Blenniiformes, Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.* 55, 11-16.

REINBOTH, R. E RIXNER, W. (1972). *Verhalten des Kleinen Maulbrüters* Hemihaplochromis multicolor *nach Kastration und Behandlung mit Testosteron*. Film C 1019 / 1970, Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen.

RESINK, J.W., VAN DEN HURK, R., VOORTHUIS, P.K., TERLOU, M., DE LEEUW, R. E VIVEEN W.J.A.R. (1987). Quantitative enzyme histochemistry of steroid and glucoronide synthesis in testes and seminal vesicle, and its correlation to plasma gonadotropin level in *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 63, 97-114.

REYER, H.U. (1975). Ursachen und Konsequenzen von Aggressivität bei *Etroplus maculatus* (Cichlidae, Pisces). *Z. Tierpsychol.* 39, 415-454.

RHEES, R.W., SHYRNE, J.E. E GORSKI, R.A. (1990). Termination of the hormone-sensitive period for differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. *Dev. Brain Res.* 52, 17-23.

RIBBINK, A.J. (1971). The behaviour of *Hemihaplochromis philander*, a South African cichlid fish. *Zool. Afr.* 6, 263-288.

RIBBINK, A.J. (1972). The behaviour and brain function of the cichlid fish *Hemihaplochromis philander*. *Zool. Afr.* 7, 21-41.

RIBBINK, A.J. E CHAN, T.-Y. (1989). Sneaking in *Pseudocrenilabrus philander* and the prevalence of sneaking in lacustrine and riverine Haplochromines. *Ann. Kon. Mus. Mid. Afr., Zool. Wetensch.* 257, 23-28.

RIBBINK, A.J. E TWENTYMAN-JONES, V. (1989). Captive propagation as a conservation tool. *Ann. Kon. Mus. Mid. Afr., Zool. Wetensch.* 257, 145-150.

RIBBINK, A.J., MARSH, A.C., E MARSH, B.A. (1981). Nest-building and communal care of young by *Tilapia rendalli* Dumeril (Pisces, Cichlidae) in Lake Malawi. *Env. Biol. Fish.* 6, 219-222.

RIBBINK, A.J., MARSH, A.C., MARSH, B.A. E SHARP, B.J. (1980). Parental behaviour and mixed broods among cichlid fish of Lake Malawi. *S. Afr. J. Zool.* 15, 1-6.

RIBBINK, A.J., MARSH, B.A., MARSH, A.C., RIBBINK, A.C., E SHARP, B.J. (1983). A preliminary survey of the cichlid fishes of rocky habitats in Lake Malawi. *S. Afr. J. Zool.* 18, 149-310.

RIDGWAY, M.S. (1988). Developmental stage of offspring and brood defense in smallmouth bass (*Micropterus dolomieui*). *Can. J. Zool.* 66, 1722-1728.

RIDGWAY, M.S. (1989). The parental response to brood size manipulation in smallmouth bass (*Micropterus dolomieui*). *Ethology* 80, 47-54.

RIECHERT, S.E. (1978). Games spiders play: behavioural variability in territorial disputes. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 4, 1-28.

RIEDEL, D. (1965). Some remarks on the fecundity of *Tilapia* (*T. mossambica* Peters) and its introduction into middle central America (Nicaragua) together with a first contribution towards the limnology of Nicaragua. *Hydrobiologia* 25, 357-388.

RIEHL, R. (1981). Effect of progesterone on the formation of the ovipositor in female bitterlings (*Rhodeus sericeus amarus* Bloch, 1782) (Teleostei, Cyprinidae). *Experientia* 37, 954-955.

ROBERTS JR., J.M. (1990). Modeling hierarchy: transitivity and the linear ordering problem. *J. Math. Sociol.* 16, 77-87.

ROBERTSON, D.R. (1972). Social control of sex reversal in a coral reef fish. *Science* 177, 1007-1009.

ROBERTSON, D.R., POLUNIN, N.V.C. E LEIGHTON, K. (1979). The behavioral ecology of three Indian Ocean surgeonfishes (*Acanthurus lineatus, A. leucosternum* and *Zebrasoma scopas*): their feeding strategies, and social and mating systems. *Env. Biol. Fish.* 4, 125-170.

ROBERTSON, O.H. (1961). Prolongation of the life span of kokanee salmon (*Onchorynchus nerka kennerlyi*) by castration before beginning of gonad development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 47, 609-621.

ROBINSON, B.W. E DOYLE, R.W. (1988). Behavior phenotypes of juvenile tilapia and their correlations with individual growth rates. In: R.S.V. PULLIN, T. BHUKASWAN, K. TNGUTHAI, E J.L. MACLEAN (eds.), *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp. 503-507. ICLARM Conference Proceedings 15, ICLARM, Manila.

ROBINSON, B.W. E DOYLE, R.W. (1990). Phenotypic correlations among behavior and growth variables in tilapia: implications for domestication selection. *Aquaculture* 85, 177-186.

RODMAN, D.T. (1965). Sound production by the african cichlid *Tilapia mossambica. Ichthyologica* 38: 279-280.

RODRIGUEZ-SIERRA, J.F. E ROSA-MOLINAR, E. (1990). Sexual dimorphism in the organization of the central and peripheral mechanisms controlling sexual behavior in the mosquitofish, *Gambusia affinis affinis* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). In: J. BALTHAZART (ed.), *Hormones, Brain and Behavior in Vertebrates - Vol.1: Sexual Differentiation, Neuroanatomical Aspects, Neurotransmitters and Neuropeptides*, pp.64-81. Karger, Basel.

ROGERS, W. (1987). Sex ratio, monogamy and breeding success in the Midas cichlid (*Cichlasoma citrinellum*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 21, 47-51.

ROHWER, S. (1978). Parent cannibalism of offspring and egg-raiding as a courtship strategy. *Am. Nat.* 112, 429-440.

ROHWER, S. (1982). The evolution of reliable and unreliable badges of fighting ability. *Am. Zool.* 22, 531-546.

ROHWER, S. E ROSKAFT, E. (1989). Results of dyeing male yellow-headed blackbirds solid black: implications for the arbitrary identity badge hypothesis. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 25, 39-48.

ROSELLI, C.E. E RESKO, J.A. (1986). Effects of of gonadectomy and androgen treatment on aromatase activity in fetal monkey brain. *Biol. Reprod.* 35, 106-112.

ROSELLI, C.E., ELLENWOOD, W.E., E RESKO, J.A. (1984). Regulation of aromatase activity in rats. *Endocrinology* 114, 192-200.

ROSENQVIST, G. (1990). Male mate-choice and female-female competition for mates in the pipefish *Nerophis ophidion. Anim. Behav.* 39, 1110-1115.

ROSSITER, A. (1992). Social systems of two Tanganyikan cichlid fishes: effects of restricted resource access. Comunicação apresentada no *ASAB Winter Meeting 1992 "Ecology of Social Systems"*, London Zoological Society, London.

ROTH, L. E ROSENBLATT, J.S. (1968). Self-licking and mammary development during pregnancy in the rat. *J. Endocrinol.* 42, 363-378.

ROTHBARD, S. E PRUGININ, Y. (1975). Induced spawning and artificial incubation of Tilapias. *Aquaculture* 5, 315-321.

ROUGER, Y. E LILEY, N.R. (1993). The effect of social environment on plasma hormones and availability of milt in spawning male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Can. J. Zool.* 71, 280-285.

ROUSE, E.F., COPPINGER, C.J. E BARNES, P.R. (1977). The effect of an androgen inhibitor on behavior and testicular morphology in the stickleback *Gasterosteus aculeatus. Horm. Behav.* 9, 8-18.

ROWLAND, W.J. (1982). Mate choice by male sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus. Anim. Behav.*30, 1093-1098.

ROWLAND, W.J. (1989a). Mate choice and the supernormality effect in female sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 24, 433-438.

ROWLAND, W.J. (1989b). The effects of body size, aggression and nuptial coloration on competition for territories in male threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus. Anim. Behav.* 37, 282-289.

RUBIN, A.A. E GORDON, M. (1953). Effects of α-estradiol benzoate and methyl testosterone upon the platyfish, *Xiphophorus maculatus* skeleton. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 83, 646-648.

RUSSOCK, H.I. (1986). Preferential behaviour of *Sarotherodon (Oreochromis) mossambicus* (Pisces: Cichlidae) fry to maternal models and its relevance to the concept of imprinting. *Behaviour* 96, 304-321.

RUSSOCK, H.I. E SCHEIN, M.W. (1974). Effect of early experience and age on the initial responsiveness of *Tilapia mossambica* fry to a maternal model. *Anim. Learn. Behav.* 2, 111-114.

RUSSOCK, H.I. E SCHEIN, M.W. (1977). Effect of age and experience on the filial behaviour of *Tilapia mossambica* fry (Pisces: Cichlidae). *Behaviour* 61, 276-303.

RUWET, J.-CL. (1963). Observations sur le comportement sexuel de *Tilapia macrochir* Blgr. (Pisces: Cichlidae) au lac de retenue de la Lufira (Katanga). *Behaviour* 20, 242-250.

RYAN. M.J. (1990). Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford Surv. Evol. Biol.* 7, 157-195.

RYAN, M.J. E RAND, A.S. (1993). Sexual selection and signal evolution: the ghost of biases past. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B 340, 187-195.

RYAN. M.J., FOX, J.H., WILCZYNSKI, W. E RAND, A.S. (1990). Sexual selection for sensory exploitation in the frog *Physalaemus pustulosus. Nature* 343, 66-67.

SACHSER, N. E PROVE, E. (1984). Short-term effects of residence in the testosterone responses to fighting in male guineapigs. *Aggr. Behav.* 10, 285-292.

SANTOS, R.S. (1992). *Behavioural Ecology, Phenology and Ethology of* Parablennius sanguinolentus *parvicornis (Valenciennes in Cuvier & Valenciennes 1836)(Pisces: Blenniidae) of the Azores.* Ph.D. Thesis, University of Liverpool, Liverpool.

SAPOLSKY, R.M. (1987). Stress, social status, and reproductive physiology in free-living baboons. In: D. CREWS (ed.), *Psychobiology of Reproductive Behavior - An Evolutionary Perspective*, pp. 291-322. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

SARGENT, R.S., GROSS, M.R. E VAN DEN BERGHE, E.P. (1986). Male mate choice in fishes. *Anim. Behav.* 34, 545-550.

SATO, T. (1994). Active accumulation of spawning substrate: a determinant of extreme polygyny in a shell-brooding cichlid fish. *Anim. Behav.* 48, 669-678.

SATOU, M., OKA, Y., FUJITA, I., KOYAMA, Y., SHIGA, T., KUSUMOKI, M., MATSUSHIMA, T. E UEDA, K. (1982). Effects of brain lesion and electrical stimulation on sexual behavior in hime slamon (landlocked red salmon, *Oncorhynchus nerka*). *Zool. Mag.* 91, 495.

SATOU, M., OKA, Y., KUSUMOKI, M., MATSUSHIMA, T., KATO, M., FUJITA, I. E UEDA, K. (1984). Tenlencephalic and preoptic areas integrate sexual behavior in hime slamon (landlocked red salmon, *Oncorhynchus nerka*): results of electrical brain stimulation experiment. *Physiol. Behav.* 33, 441-447.

SCHJELDERUP-EBBE, T. (1922). Beiträg zur Socialpsychologie des Haushuhns. *Z. Psychol.* 88, 225-252.

SCHLEIDT, W.M. (1974). How "fixed" is the fixed action pattern? *Z. Tierpsychol.* 36: 184-211.

SCHLEIDT, W.M., YAKALIS, G., DONNELLY, M. E MCGARRY, J. (1984). A proposal for a standard ethogram, exemplified by an ethogram of the bluebreasted quail (*Coturnix chinensis*). *Z. Tierpsychol.* 64: 193-220.

SCHLINGER, B. E CALLARD, G.V. (1987). A comparison of aromatase, 5α- and 5β-reductase activities in the brain and pituitary of male and female quail (*C.c. japonica*). *J. Exp. Zool.* 242, 171-180.

SCHLINGER, B. E CALLARD, G.V. (1989a). Estrogen receptor in quail brain: a functional relationship to aromatase and aggressivness. *Biol. Reprod.* 40, 268-275.

SCHLINGER, B. E CALLARD, G.V. (1989b). Aromatase activity in quail brain: correlation with aggressiveness. *Endocrinology* 124, 437-443.

SCHLINGER, B., SCANES, C., RANDHAWA, M. E CALLARD, G. (1984). Distribution of aromatase activity in quail (*Coturnix coturnix japonica*) brain: effects of photoperiod and castration. *J. Steroid Biochem.* 20, 1571.

SCHUMACHER, M. (1990). Rapid membrane effects of steroid hormones: an emerging concept in neuroendocrinology. *Trends Neurosci.* 13, 359-362.

SCHUMACHER, M. E BALTHAZART, J. (1983). The effects of testosterone and its metabolites on sexual behavior and morphology in male and female Japanese quail. *Physiol. Behav.* 30, 335-339.

SCHUMACHER, M. E BALTHAZART, J. (1986). Testosterone induced brain aromatase is sexually dimorphic. *Brain Res.* 370, 285-293.

SCHWANCK, E. (1980). The effect of size and hormonal state on the establishment of dominance in young males of *Tilapia mariae* (Pisces: Cichlidae). *Behav. Proc.* 5, 45-53.

SCHWANCK, E. (1987). *Reproductive behaviour of a monogamous cichlid fish* Tilapia mariae. PhD Thesis, University of Stockholm.

SCHWANCK, E. E RANA, K. (1991). Male-female parental roles in *Sarotherodon galilaeus* (Pisces: Cichlidae). *Ethology* 89, 229-243.

SCHWARTZ, F.J. (1983). Tilapia hybrids: problems, value, use and world literature. In: L. FISHELSON E Z. YARON (eds.), *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, pp.611-622. Tel-Aviv University, Tel-Aviv.

SCOTT, A.P. E LILEY, N.R. (1994). Dynamics of excretion of 17α, 20β-dihydroxy-4-pregen-3-one 20-sulphate, and of the glucoronides of testosterone and 17β-estradiol, by urine of reproductively mature male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Fish Biol.* 44, 117-129.

SCOTT, A.P. E SUMPTER, J.P. (1989). Seasonal variations in testicular germ cell stages and in plasma concentrations of sex steroids in male rainbow trout (*Salmo gairdneri*) maturing at 2 years old. *Gen. Comp. Endocrinol.* 73, 46-58.

SCOTT, A.P., LILEY, N.R. E VERMEIRSSEN, E.L.M. (1994). Urine of reproductively mature female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), contains a priming pheromone which enhances plasma levels of sex steroids and gonadotrophin II in males. *J. Fish Biol.* 44, 131-147.

SCOTT, A.P., MACKENZIE, D.S. E STACEY, N.E. (1984). Endocrine changes during natural spawning in the white sucker (*Catostomus commersoni*). II. Steroid hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.* 56, 349-359.

SCOTT, A.P., SUMPTER, J.P. E HARDIMAN, P.A. (1983). Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 49, 128-134.

SCOTT, D.B. E CURRIE, C.E. (1980). Social hierarchy in relation to adrenocortical activity in *Xiphophorus helleri* Heckel. *J. Fish. Biol.* 16, 265-277.

SEGAAR, J. (1961). Telencephalon and behaviour in *Gasterosteus aculeatus. Behaviour* 18, 256-287.

SEGAAR, J. (1965). Behavioral aspects of degeneration and regeneration in fish brain: a comparison with higher vertebrates. *Prog. Brain Res.* 14, 143-231.

SEGAAR, J. E NIEUWENHUYS, R.N. (1963). New etho-physiological experiments with male *Gasterosteus aculeatus*, with anatomical comment. *Anim. Behav.* 11, 331-344.

SEITZ, A. (1948). Vergleichende Verhaltungsforschung am Buntbarschen. *Z. Tierpsychol.* 6, 202-235.

SEMLER, D.E. (1971). Some aspects of adaptation in polymorphism for breeding colours in the threespined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *J. Zool.* 165, 291-302.

SEYFARTH, R.M. (1981). Do monkeys rank each other? *Behav. Brain Sci.* 4, 447-448.

SEYOUM, S. (1989). *Stock identification and the evolutionary relationship of the genera* Oreochromis, Sarotherodon *and* Tilapia *(Pisces: Cichlidae) using alozyme analysis and restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA*. Ph.D. Thesis, University of Waterloo, Ontario.

SHAPIRO, D.Y. (1979). Social behaviour, group structure, and the control of sex reversal in hermaphroditic fish. *Adv. Study Behav.* 10, 43-102.

SHAPIRO, D.Y., MARCONATO, A. E YOSHIKAWA, T. (1994). Sperm economy in a coral reef fish. *Ecology* 75, 1334-1344.

SHARP, P.J., ARMSTRONG, D.G. E MOSS, R. (1986). Changes in aromatase activity in neuroendocrine tissues of red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*) in relation to the development of long-day refractoriness. *J. Endocrinol.* 108, 129-135.

SHAW, E.S. E ARONSON, L.R. (1954). Oral incubation in *Tilapia macrocephala*. II. Experimental studies. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 103, 391-415.

SHEPPEY, K. E RIBBINK, A.J. (1985). Mating interruption, an alternative to sexual selection in cichlid fish. *S. Afr. J. Sci.* 81, 702.

SHIRAI, K. (1962). Correlation between the growth of the ovipositor and ovarian condition in the bitterling, *Rhodeus ocellatus. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 13, 137-151.

SHIRAI, K. (1964). Histological study on the ovipositor of the rose bitterling, *Rhodeus ocellatus. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 14, 193-197.

SHORT, R. E HORN, J. (1984). Some notes on factor analysis of behavioral data. *Behaviour* 90, 203-214.

SIEGEL, S. E CASTELLAN, N.J. JR. (1988). *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. New York: McGraw-Hill.

SIKKEL, P.C. (1993). Changes in plasma androgen levels associated with changes in male reproductive behavior in a brood cycling marine fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 89, 229-237.

SILVERIN, B. (1980). Effects of long-lasting testosterone treatment on free-living pied flycatchers, *Ficedula hypoleuca*, during the breeding season. *Anim. Behav.* 218, 906-912.

SILVERMAN, H.I. (1978a). Effects of different levels of sensory contact upon reproductive activity of adult male and female *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus* (Peters); Pisces: Cichlidae. *Anim. Behav.* 26, 1081-1090.

SILVERMAN, H.I. (1978b). Changes in male courting frequency in pairs of the cichlid fish, *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus*, with unlimited or with only visual contact. *Behav. Biol.* 23, 189-196.

SINERVO, B. E LICHT, P. (1991a). Hormonal and physiological control of clutch size, egg size, and egg shape in side-blotched lizards (*Uta stansburiana*): constraints on the evoltuion of lizard life histories. *J. Exp. Zool.* 257, 252-264.

SINERVO, B. E LICHT, P. (1991b). Proximate constraints on the evolution of egg size, number, and total clutch mass in lizards. *Science* 2552, 1300-1302.

SKOUFAS, G., PONCIN, P., BYAMUNGU, N., CUISSET, B., MOL, K., KÜHN, E.R., MÉLARD, CH., E RUWET, J.-CL. (1993). Hormonal profile associated with social behavior in *Oreochromis aureus*. In: L. DAHLE, J. MORALES, P. SORGELOOS, N. SVENNEVIG E J. WYBAN (eds.), *From Discovery to Commercialization - World Aquaculture' 93*, p. 268. European Aquaculture Special Publication 19, Ostende.

SLATER, C.H. E SCHRECK, C.B. (1993). Testosterone alters the immune response of chinook salmon, *Onchorhynchus tshawytscha*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 89, 291-298.

SLATER, P.J.B. (1986). Individual differences and dominance hierarchies. *Anim. Behav.* 34, 1264-1265.

SMITH, C. (1992). Filial cannibalism as a reproductive strategy in care-giving teleosts? *Neth. J. Zool.* 42, 607-613.

SMITH, C. E REAY, P. (1991). Cannibalism in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 1, 41-64.

SMITH, C.J. E HALEY, S.R. (1988). Steroid profiles of the female tilapia, *Oreochromis mossambicus*, and correlation with oocyte growth and mouthbrooding behavior. *Gen. Comp. Endocrinol.* 69, 88-98.

SMITH, R.J.F. (1969). Control of prespawning behaviour in sunfish (*Lepomis gibbosus* and *L. megalotis*) I. Gonadal androgen. *Anim. Behav.* 17, 279-285.

SMITH, R.J.F. (1974). Effects of 17α-methyltestosterone on the dorsal pad and tubercles of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Can. J. Zool.* 52, 1031-1038.

SNEATH, P. E SOKAL, R. (1973). *Numerical taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco.

SODSUK, P. E MCANDREW, B.J. (1991). Molecular systematics of three tilapiine genera *Tilapia, Sarotherodon* and *Oreochromis* using allozyme data. *J. Fish Biol.* 39, suppl. A, 301-308.

SOKAL, R.R. E ROHLF, F.J. (1981). *Biometry, 2nd ed.* Freeman, New York.

SOKAL, R.R. E ROHLF, F.J. (1987). *Introduction to Biostatistics*, 2nd ed. Freeman, New York.

SORENSEN, P.W. E SCOTT, A.P. (1994). The evolution of hormonal sex pheromones in teleost fish: poor correlation between the pattern of steroid release by goldfish and olfactory sensitivity suggests that these cues evolved as result of chemical spying rather than signal specialization. *Acta Physiol. Scand.* 152, 191-205.

SORENSEN, P.W., GOETZ, F.W., SCOTT, A.P. E STACEY, N.E. (1991). Recent studies indicate that goldfish use mixtures of unmodified hormones and hormonal metabolites as sex pheromones. In: SCOTT, A.P., SUMPTER, J.P., KIME, D.E. E ROLFE, M.S. (eds.), *Reproductive Physiology of Fish*, pp. 191-193. FishSymp 91, Sheffield.

SORENSEN, P.W., STACEY, N.E. E CHAMBERLAIN, K.J. (1989). Differing behavioral and endocrinological effects of two female sex pheromones on male goldfish. *Horm. Behav.* 23, 317-332.

SPJOTVOLL, E. E STOLINE, M.R. (1973). An extension of the T-method of multiple comparison to include the cases with unequal sample sizes. *J. Amer. Stat. Ass.* 68, 976-978.

STACEY, N.E. (1987). Roles of hormones and pheromones in fish reproductive behaviour. In: D. CREWS (ed.), *Psychobiology of Reproductive Behavior - An Evolutionary Perspective*, pp. 28-60. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

STACEY, N.E. E SORENSEN, P.W. (1991). Function and evolution of fish hormonal pheromones. In: P.W. HOCHACHKA E T.P. MOMMSEN (eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol.1, pp.109-135. Elsevier, Amsterdam.

STAMPS, J.A. & BARLOW, G.W. (1973). Variation and stereotypy in the displays of *Anolis aeneus* (Sauria: Iguanidae). *Behaviour* 47: 67-94.

STAMPS, J.D., BUECHNER, M. E KRISHNAN, V.V. (1987). The effects of habitat geometry on territorial defense costs: intruder pressure in bounded habitats. *Am. Zool.* 27, 307-326.

STEARNS, S.C. (1989). Trade-offs in life-history evolution. *Funct. Ecol.* 3, 259-268.

STEINITZ, H. E BEN-TUVIA, A. (1960). The cichlid fishes of the genus *Tristramella* Trewavas. *Ann. Mag. nat. Hist.* 3, 161-175.

STIASSNY, M.L.J. (1987). Cichlid familial intrarelationships and the placement of the neotropical genus *Cichla* (Perciformes, Labroidei). *J. nat. Hist.* 21, 1311-1331.

STIASSNY, M.L.J. (1991). Phylogenetic intrarelationships of the family Cichlidae: an overview. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp.1-35. Chapman & Hall, London.

STIASSNY, M.L.J. E GERSTNER, C.L. (1992). The parental care behaviour of *Paratilapia polleni* (Perciformes, Labroidei), a phylogenetically primitive cichlid from Madagascar, with a discussion of the evolution of maternal care in the family Cichlidae. *Env. Biol. Fish.* 34, 219-233.

STRAUSS, R.E. E BOOKSTEIN, F.L. (1982). The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Syst. Zool.* 31, 113-135.

SUMMERFELT, R.C. E MOSIER, D. (1984). Transintestinal expulsion of surgically implanted transmitters by channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113, 760-766.

SUMMERFELT, R.C. E SMITH, L.S. (1990). Anesthesia, surgery, and related techniques. In: C.B. SCHRECK E MOYLE, P.B. (eds.), *Methods for Fish Biology*, pp. 213-272. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.

SUNDE, A., TVETER, K., E EIK-NES, K.B. (1980). Hydroxylation of testosterone in the human testis. Identification of 4-androstene-7α,17β-diol-3-one (7α-hydroxytestosterone) as a metabolite of testosterone. *Acta Endocrinol. (Copenhagen)* 93, 243-249.

SVARE, B. (1981). Maternal aggression in mammals. In: D.J. GUBERNICK E P.H. KLOPFER (eds.), *Parental Care in Mammals*, pp. 179-210. Plenum Press, New York.

SVARE, B. (1990). Maternal aggression: hormonal, genetic, and developmental determinants. In: N.A. KRASNEGOR E R.S. BRIDGES (eds.), *Mammalian Parenting*, pp. 118-132. Oxford University Press, Oxford.

TABORSKY, M. (1984). Broodcare helpers in the cichlid fish *Lamprologus brichardi*: their costs and benefits. *Anim. Behav.* 32, 1236-1252.

TABORSKY, M. (1985). Breeder-helper conflict in a cichlid fish with broodcare helpers: an experimental analysis. *Behaviour* 95, 45-75.

TABORSKY, M. (1994). Sneakers, satellites, and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. *Adv. Stud. Behav.* 23, 1-100.

TABORSKY, M. E LIMBERGER, D. (1981). Helpers in fish. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 8, 143-145.

TAKEUCHI, K. (1967). Large tooth formation in female medaka, *Oryzias latipes*, given methyl testosterone. *J. Dental. Res.* 46, 750.

TAMARU, C.S., LEE, C.-S., HA, P.Y., GINOZA, J.M., AIDA, K. E HANYU, I. (1990). Release rates of steroids from silastic tube implants in vitro and in vivo with juvenile milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 87, 91-101.

TERKATIN-SHIMONY, A., ILAN, Z., YARON, Z. E JOHNSON, D.W. (1980). Relationship between temperature, ovarian recrudescence and plasma cortisol levels in *Tilapia aurea* (Cichlidae, Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.* 40, 143.

THINES, G. E HEUTS, B. (1968). The effect of submissive experiences on dominance and aggressive behaviour of *Xiphophorus* (Pisces, Poeciliidae). *Z. Tierpsychol.* 255, 139-154.

THOMPSON, E.A. JR. E SIITERI, P.R. (1974). Utilization of oxygen and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by human placental microsomes during aromatization of androstenedione. *J. Biol. Chem.* 249, 5364-5372.

THOMPSON, S. (1986). Male spawning success and female choice in the mottled triplefin, *Forsterygion varium* (Pisces: Tripterygiidae). *Anim. Behav.* 34, 580-589.

THRESHER, R.E. (1984). *Reproduction in Reef Fishes*. T.F.H. Publications, Neptune City.

THRESHER, R.E. E MOYER, J.T. (1983). Male success, courtship complexity, and patterns of sexual selection in three congeneric species of sexually monochromatic and dichromatic damselfishes (Pisces: Pomacentridae). *Anim. Behav.* 31, 113-127.

THYS VAN DEN AUDENAERDE, D.E.F. (1968). An annotated bibliography of *Tilapia* (Pisces: Cichlidae). *Mus. Roy. Afr. Central, Doc. Zool.* 14, 1-406.

THYS VAN DEN AUDENAERDE, D.E.F. (1971). Some new data concerning the *Tilapia* species of the subgenus *Sarotherodon* (Pisces, Cichlidae). *Rev. Zool. Bot. Afr.* 84, 203-216.

TIMMERS, R.J.M. E LAMBERT, J.G.D. (1988). Kinetic studies of catechol-O-methyl-transferase from the brain of the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Comp. Biochem.Physiol.* C 91, 399-402.

TIMMERS, R.J.M. E LAMBERT, J.G.D. (1989). Catechol-O-methyltransferase in the brain of the male African catfish, *Clarias gariepinus*; distribution and significance for the metabolism of catecholestrogens and dopamine. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 201-210.

TIMMERS, R.J.M., LAMBERT, J.G.D., PEUTE, J., VULLINGS, H.G.B. E VAN OORDT, P.G.W.J. (1987). Localization of aromatase in the brain of the male African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by microdissection and biochemical identification. *J. Comp. Neurol.* 258, 368-377.

TIMMERS, R.J.M., GRANNEMAN, J.C.M., LAMBERT; J.G.D. E VAN OORDT, P.G.W.J. (1988). Estrogen-2-hydroxylase in the brain of the male African catfish, *Clarias gariepinus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 72, 190-203.

TINBERGEN, N. (1962). On aims and methods of Ethology. *Z. Tierpsychol.* 20, 410-433.

TINBERGEN, N. E MOYNIHAN, M. (1952). Head-flaging in the Black-headed gull; its function and origin. *Brit. Birds* 45, 19-22.

TOMBACK D.F., WACHTEL M.A., DRISCOLL J.W. E BEKOFF M. (1989). Measuring dominance and constructing hierarchies: an example using mule deer. *Ethology* 82, 275-286.

TORRICELLI, P., LUGLI, M. E BOBBIO, L. (1993). The importance of male-male competition and sexually selected dimorphic traits for male reproductive success in site-attached fisheswith paternal care: the case of the freshwater goby *Padogobius martensi*. In: F.A. HUNTINGFORD E P. TORRICELLI (eds.), *Behavioural Ecology of Fishes*, pp. 231-256. Harwood, Chur.

TOWNSHEND, T.J. E WOOTTON, R.J. (1985). Variation in the mating system of a biparental cichlid fish, *Cichlasoma panamense*. *Behaviour* 95, 181-197.

TRAIL, P.W. (1985). Courtship disruption modifies mate choice in a lek-breeding bird. *Science* 227, 778-780.

TREWAVAS, E. (1935). A synopsis of the cichlid fishes of Lake Nyasa. *Ann. Mag. nat. Hist.* (10)16, 65-118.

TREWAVAS, E. (1973). On the cichlid fishes of the genus *Pelmatochromis* with proposal of a new genus for *P. congicus*; on the relationship between *Pelamatochromis* and *Tilapia* and the recognition of *Sarotherodon* as a distinct genus. *Bull. Br. Mus. nat. Hist. (Zool.)* 25, 1-26.

TREWAVAS, E. (1982). Tilapias: taxonomy and speciation. In: R.S.V. PULLIN E R.H. LOWE-MCCONNELL (eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, pp.3-13. ICLARM, Manila.

TREWAVAS, E. (1983). *Tilapiine fishes of the genera* Sarotherodon, Oreochromis *and* Danakilia. British Museum (Natural History), London.

TURNER, C.L. (1942). Morphogenesis of the gonopodial suspensorium in *Gambusia affinis* and the induction of male suspensorial characters in the female by androgenic hormone. *J. Exp. Zool.* 91, 167-193.

TURNER, C.L. (1947). The rate of morphogenesis and regeneration of the gonopodium in normal and castrated males of *Gambusia affinis*. *J. Exp. Zool.* 106, 125-143.

TURNER, C.L. (1960). The effects of steroid hormones on the development of some secondary sexual characters in cyprinodont fishes. *Trans. Am. Microscop. Soc.* 79, 320-333.

TURNER, G.F. (1986). Territory dynamics and cost of reproduction in a captive population of the colonial nesting mouthbrooder *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J. Fish Biol.* 29, 573-587.

TURNER, G.F. (1994). The fighting tactics of male mouthbrooding cichlids: the effects of size and residency. ANIM. BEHAV. 47, 655- 662.

TURNER, G.F. & FALTER, U. (1989). On the adoption of 'male-typical' breeding colouration by female mouthbrooding cichlids. *J. Fish Biol.* 34, 805-806.

VAAS, K.F. E HOFSTEDE, A.E. (1952). Studies on *Tilapia mossambica* Peters (ikan mudjair) in Indonesia. *Cont. Inland Fish. Res. Stn., Djakarta* 1, 1-68.

VAN COUVERING, J.A.H. (1982). Fossil cichlid fishes of Africa. *Special Papers in Paleontology (Paleontological Association of London)* 29, 1-103.

VAN DEN HURK, R., HARET, L.A., LAMBERT, J.G.D. E VAN OORDT, P.G.W.J. (1982). On the regulation of sexual behaviour of male zebrafish, *Brachydanio rerio. Gen. Comp. Endocrinol.* 46, 403.

VAN IERSEL, J.J.A. (1953). An analysis of the parental behaviour of the male three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Behaviour*, suppl. 3, 1-159.

VAN OORDT, G.J. (1923). Secondary sex characters and testis of the ten-spined stickleback (*Gasterosteus pungitus*). *Kon. Ned. Akad. Wetenschap., Proc. Sect. Sci.* 26, 309-314.

VAN OORDT, G.J. E VAN DER MASS, C.J.J. (1927). Castration and implantation of gonads in *Xiphophorus helleri* Hechel. *Kon. Ned. Akad. Wetenschap., Proc.* 29, 1172-1175.

VAN OORDT, P.G.W.J. (1987). Modern trends in reproductive endocrinology of teleosts. In: S.O. KULLANDER E B. FERNHOLM (eds.), *Proceedings of the 5th Congress of European Ichthyologysts*, pp. 247-268. Swedish Museum of Natural History, Stockholm.

VIERKE, J. (1988). Bettas, Gouramis *and other Anabantoids - Labyrinth fishes of the world.* T.F.H. Publications, Neptune City.

VILLARS, T.A. (1983). Hormones and aggressive behavior in teleost fishes. In: B.B. SVARE (ed.), *Hormones and Aggressive Behaviour*, pp. 407-433. Plenum Press, New York.

VILLARS, T.A. E DAVIS, R.E. (1977). Castration and reproductive behavior in the paradise fish, *Macropodus opercularis* (L.) (Osteichthyes: Belontiidae). *Physiol. Behav.* 19, 371-375.

VIVIAN, J. (1952). Sur l'existence de charactères sexuels secondaires femelles et sur le déterminisme de leur différenciation chez *Xiph. hell.* Heckel. *C. R. Acad. Sci. Paris* 235, 1697-1699.

WAI, E.H. E HOAR, W.S. (1963). The secondary sex characters and reproductive behaviour of gonadectomised sticklebacks treated with methyl testosterone. *Can. J. Zool.* 41, 611-628.

WAKELING, A.E. (1987). Anti-hormones and other steroid analogues. In: B. GREEN E R.E. LEAKE (eds.), *Steroid Hormones - a Practical Approach*, pp. 219-236. IRL Press, Oxford.

WAPLER-LEONG, D.C.Y. E REINBOTH, R. (1974). The influence of androgenic hormone on the behaviour of *Haplochromis burtoni* (Cichlidae). *Fortschr. Zool.* 22, 334-339.

WARD, J.A. E WYMAN, R.L. (1977). Ethology and ecology of cichlid fishes of the genus *Etroplus* in Sri Lanka: preliminary findings. *Env. Biol. Fish.* 2, 137-145.

WARD, P.I. (1988). Sexual selection, natural selection, and body size in *Gammarus pulex* (Amphipoda). *Am. Nat.* 131, 348-359.

WARNER, R.R. (1975). The adaptive significance of sequential hermafroditism in animals. *Am. Nat.* 109, 61-82.

WARNER, R.R. (1987). Female choice of sites versus mates in a coral reef fish, *Thalassoma bifasciatum*. *Anim. Behav.* 35, 1470-1478.

WARNER, R.R., ROBERTSON, D.R. E LEIGH, E.G. JR. (1975). Sex change and sexual selection. *Science* 190, 633-639.

WATANABE, M., KOBAYASHI, T. E TERAMI, H. (1984). Changes in eye color during aggressive interaction in the chocolate cichlid, *Cichlasoma coryphaenodes*. *Zool. Sci.* 1, 787-793.

WAZLAVEK, B.E. E FIGLER, M.H. (1989). Territorial prior residence, size asymmetry, and escalation of aggression in convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum* Günther). *Aggr. Behav.* 15, 235-244.

WEATHERLEY, A.H. E HILL, H.S. (1987). *The Biology of Fish Growth*. Academic Press, New York.

WEISS, C.S. E COUGHLIN, J.P. (1979). Maintained aggressive behavior in gonadectomized male siamese fighting fish. *Physiol. Behav.* 23, 173-177.

WELCOMME, R.L. (1967). The relationship between fecundity and fertility in the mouthbrooding cichlid fish *Tilapia leucosticta*. *J. Zool.* 151, 453-468.

WENDELAAR-BONGA, S.E., DE RUITER, A.J.H., SLIJKHUIS, H. E DIRKS, L. (1984). Is parental care in fish prolactin dependent? *Gen. Comp. Endocrinol.* 53, 460.

WHITFIELD, A.K. E BLABER, S.J.M. (1979). The distribution of the freshwater cichlid *Sarotherodon mossambicus* in estuarine systems. *Env. Biol. Fish*. 4, 77-81.

WICKLER, W. (1962a). 'Egg-dummies' as natural releasers in mouth-brooding cichlids. *Nature* 194, 1092-1094.

WICKLER, W. (1962b). Zur Stammesgeschichte funktionell korrelierter Organ -und Verhaltensmerkmale: Ei-Attrappen und Maulbrüten bei afrikanischen Cichliden. *Z. Tierpsychol.* 19, 129-164.

WICKLER, W. (1965). Signal value of the genital tassel in the male *Tilapia macrochir* Blgr. (Pisces, Cichlidae). *Nature* 208, 595-596.

WICKLER, W. (1966a). Sexualdimorphismus, Paarbildung und Versteckbrüten bei Cichliden (Pisces: Perciformes). *Zool. Jb. Syst.* 93, 127-138.

WICKLER, W. (1966b). Uber die biologische Bedeutung des Genital-Anhanges der mannlichen *Tilapia macrochir*. *Senckenberg. biol.* 47, 419-427.

WIEPKEMA, P.R. (1961). An ethological analysis of the reproductive behaviour of the bitterling (*Rhodeus amarus* Bloch). *Arch. Néerl. Zool.* 14, 103-199.

WILEY, R.H. (1991). Lekking in birds and mammals: behavioral and evolutionary issues. *Adv. Stud. Behav.* 20, 201-291.

WILLIAMS, G.C. (1966). Natural selection and the cost of reproduction and a refinement of Lack's principle. *Am. Nat.* 100, 687-690.

WILSON, E.O. (1975). *Sociobiology- The New Synthesis*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

WINBERG, S., NILSSON, G.E. E OLSÉN, K.H. (1991). Social rank and brain levels of monoamines and monoamine metabolites in Artic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *J. Comp. Physiol.* A 168, 241-246.

WINER, B.J., BROWN, D.R. E MICHELS, K.M. (1991). *Statistical Principles in Experimental Design, 3rd ed.* McGraw-Hill, New York.

WINGFIELD, J.C. (1984a). Androgens and mating systems: testosterone-induced polygyny in normally monogamous birds. *Auk* 101, 665-671.

WINGFIELD, J.C. (1984b). Environmental and endocrine control of reproduction in the song sparrow, *Melospiza melodia*. II. Agonistic interactions as environmental information stimulating secretion of testosterone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 56, 417-424.

WINGFIELD, J.C. (1985). Short-term changes in plasma levels of hormone sduring establishment and defense of a breeding territory in male song sparrows, *Melospiza melodia. Horm. Behav.* 19, 174-187.

WINGFIELD, J.C. E MOORE, M.C. (1987). Hormonal, social, and environmental factors in the reproductive biology of free-living male birds. In: D. CREWS (ed.), *Psychobiology Of Reproductive Behavior - An Evolutionary Perspective*, pp. 291-322. Prentice Hall, Englewood Cliffs.

WINGFIELD, J.C. E RAMENOFSKY, M. (1985). Hormonal and environmental control of aggression in birds. In: R. GILLES E J. BALTHAZART (eds.), *Neurobiology*, pp.92-104. Springer-Verlag, Berlin.

WINGFIELD, J.C., BALL, G.F., DUFTY, A.M., HEGNER, R.E. E RAMENOFSKY, M. (1987). Testosterone and agression in birds: tests of the challange hypothesis. *Am. Sci.* 75, 602-608.

WINGFIELD, J.C., HEGNER, R.E., DUFTY, A.M. E BALL, G.F. (1990). The "challenge hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am. Nat.* 136, 829-846.

WINGFIELD, J.C., HEGNER, R.E. E LEWIS, D.M. (1992). Hormonal responses to removal of a breeding male in the cooperatively breeding white-browed sparrow weaver, *Plocepasser mahali. Horm. Behav.* 26, 145-155.

WISENDEN, B.D. (1993). Female convict cichlids adjust gonadal investment in current reproduction in response to relative risk of brood predation. *Can. J. Zool.* 71, 252-256.

WITTE, F., GOLDSCHMIDT, T., WANINK, J., VAN OIJEN, M., GOUDWAARD, K., WITTE-MAAS, E. E BOUTON, N. (1992). The destruction of an endemic species flock: quantitative data on the decline of the haplochromine cichlids of Lake Victoria. *Env. Biol. Fish.* 34, 1-28.

WYMAN, R.L. & WALTERS-WYMAN, M.F. (1985). Chafing in fishes: occurrence, ontogeny, function and evolution. *Env. Biol. Fish.* 12, 281-289.

YAMAMOTO, T. (1969). Sex differentiation. In: W.S. HOAR E D.J. RANDALL (eds.), *Fish Physiology - vol.3*, pp.117-175. Academic Press, New York.

YAMAMOTO, T. E SUZUKI, H. (1955). The manifestation of the urinogenital papillae of the medaka (*Oryzias latipes*) by sex hormones. *Embryologia (Nagoya)* 2, 133-144.

YAMAOKA, K. (1991). Feeding relationships. In: M.H.A. KEENLEYSIDE (ed.), *Cichlid Fishes - Behaviour, Ecology and Evolution*, pp. 151-172. Chapman & Hall, London.

YAMAZAKI, F. (1972). Effects of metyltestosterone on the skin and the gonad of salmonids. *Gen. Comp. Endocrinol.*, suppl. 3, 741-750.

YAMAZAKI, F. E WATANABE, K. (1979). The role of sex hormones in sex recognition during spawning behaviour of the goldfish, *Carassius auratus* L. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.* B 45, 505-511.

YANAGISAWA, Y. (1993). Long-term territory maintenance by female *Tropheus duboisi* (Cichlidae) involving foraging during the mouth-brooding period. *Ecol. Freshwater Fish* 2, 1-7.

YANAGISAWA, Y. E SATO, T. (1990). Active browsing by mouth-brooding females of *Tropheus duboisi* and *Tropheus moorii* (Cichlidae) to feed the young and/or themselves. *Env. Biol. Fish.* 27, 43-50.

ZAHAVI, A. (1975). Mate selection - a selection for a handicap. *J. Theor. Biol.* 53, 205-214.

ZAHAVI, A. (1977). Reliability in communication systems and the evolution of altruism. In: B. STONEHOUSE E C.M. PERRINS (eds.), *Evolutionary Ecology*, pp. 253-259.. MacMillan, London.

ZAHAVI, A. (1979). Ritualisation and the evolution of movement signals. *Behaviour* 72: 77-81.

ZAIRIN, M., ASAHINA, K., FURUKAWA, K. E AIDA, K. (1993). Plasma steroid hormone profiles in HCG-injected male walking catfish *Clarias batrachus*. *Zool. Sci.* 10, 329-336.

ZAKON, H.H. (1993). Weakly electric fish as model systems for studying long-term steroid action on neural circuits. *Brain Behav. Evol.*, 42, 242-251.

ZAR, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis, 2nd ed.* Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J.

ZAYAN, R.C. (1974). Le rôle de la reconaissance dans la stabilité des relations hiérarchiques chez *Xiphophorus* (Pisces, Poeciliidae). *Behaviour* 49, 268-312.

ZAYAN, R.C. (1975). Modification de effets liés à la priorité de résidence chez *Xiphophorus* (Pisces, Poeciliidae): le rôle de l'expérience immédiate de dominance et de soumission. *Rev. Comport. Anim.* 8, 296-311.

ZUCKER, N. (1983). Courtship variation in the neo-tropical fiddler crab *Uca deichmanni*: another example of female incitation to male competition? *Mar. Behav. Physiol.* 10, 57-79.