



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

**CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ECOLOGIA
E BIODIVERSIDADE**

**TESTANDO A HIPÓTESE DA INGENUIDADE ECOLÓGICA: RECONHECIMENTO
DO PREDADOR INTRODUZIDO *Cichla kelberi* PELA PRESA NATIVA *Astyanax
lacustris***

**MARCUS VINICIUS WENCESLAU DE SOUZA
FLORIANO**

Foz do Iguaçu
2025

**TESTANDO A HIPÓTESE DA INGENUIDADE ECOLÓGICA: RECONHECIMENTO DO
PREDADOR INTRODUZIDO *Cichla kelberi* PELA PRESA NATIVA *Astyanax lacustris***

**MARCUS VINICIUS WENCESLAU DE SOUZA
FLORIANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade.

Orientador: Prof. Alexandre Vogliotti
Coorientador: Caroline Henn

Foz do Iguaçu
2025

Marcus Vinícius Wenceslau de Souza Floriano

**TESTANDO A HIPÓTESE DA INGENUIDADE ECOLÓGICA: RECONHECIMENTO DO
PREDADOR INTRODUZIDO *Cichla kelberi* PELA PRESA NATIVA *Astyanax lacustris***

Trabalho de Conclusão de Curso II,
apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciência da Vida e da
Natureza da Universidade Federal da Integração
Latino-Americana

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Vogliotti
Universidade Federal da Integração Latino-Americana, UNILA

Coorientadora: Ma. Caroline Henn
ITAIPU Binacional

Prof. Dr. Michel Varajão Garey
Universidade Federal da Integração Latino-Americana, UNILA

Mariana Albuquerque de Souza
Universidade Estadual de Maringá

Foz do Iguaçu, _____ de _____ de _____.

Dedico este trabalho ao meu querido avô João Batista e ao meu grande amigo Maurício Spagnolo Adames, que não puderam estar aqui para prestigiar a realização do meu maior sonho, mas que me guiaram enquanto em vida para que eu não desistisse dele.

RESUMO

A hipótese da ingenuidade ecológica propõe que presas falham em reconhecer predadores exóticos quando não compartilham com eles uma história evolutiva, aumentando sua vulnerabilidade em ambientes invadidos. Este estudo investigou esse fenômeno em *Astyanax lacustris* (lambari) ao comparar duas populações contrastantes, uma exposta há quase quatro décadas ao predador introduzido *Cichla kelberi* e outra isolada em um riacho urbano sem histórico de invasão. Avaliamos respostas comportamentais frente a quatro estímulos: o predador nativo *Hoplias mbigua*, o predador exótico *C. kelberi*, o controle nativo *Leporinus friderici* (piauí), doravante denominada de não predador nativo e o controle exótico *Oreochromis niloticus* (tilápia), doravante denominada de não predador exótico. Análises multivariadas revelaram que ambas as populações reconheceram e responderam adequadamente ao predador nativo, como previsto, mas também discriminam o predador exótico, contrariando a expectativa central de ingenuidade. Os achados sugerem que a neofobia pode atuar como mecanismo conservador que favorece a persistência de *A. lacustris* sob risco incerto, enquanto a discriminação fina entre predadores aponta para mecanismos basais de reconhecimento, generalização de pistas e reconhecimento de arquétipos. Em conjunto, os resultados mostram que, embora a população experiente apresente respostas mais intensas, ambas as populações reconhecem o predador exótico, rejeitando a ocorrência do primeiro nível de ingenuidade ecológica e revelando a alta plasticidade comportamental da espécie como potencial chave para sua resiliência em ambientes invadidos.

Palavras-chave: Comportamento anti-predatório; Ecologia comportamental; Ecologia do medo; Espécies exóticas; Espécies introduzidas; Ingenuidade ecológica; Invasões biológicas; Neofobia; Predação; Reconhecimento de predadores;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 METODOLOGIA.....	12
2.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DO EXPERIMENTO.....	12
2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA.....	12
2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES-MODELO	15
2.4 COLETAS E CUIDADOS COM OS PEIXES.....	17
2.5 PROTOCOLO DOS EXPERIMENTOS.....	20
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
2.7 PERMISSÕES DE EXECUÇÃO.....	25
3 RESULTADOS	26
4 DISCUSSÃO.....	29
5 CONCLUSÃO.....	33
6 REFERÊNCIAS.....	34
ANEXO I Script R.....	42
ANEXO II Autorização CEUA	45

1 INTRODUÇÃO

O medo da predação é um importante aspecto para as diversas formas de vida no mundo natural, sendo mais pronunciado para uns do que para outros. Diversas espécies estão sujeitas a amplos regimes de predação envolvendo uma grande variedade de “inimigos naturais”, enquanto outras estão restritas a poucas ou exclusivas espécies predadoras, fatores que moldam o medo e os consequentes comportamentos anti-predatórios (Zanette et al., 2019).

A ecologia do medo, que estuda as alterações nas espécies causadas pelo medo de ser predado, parece ter grande impacto nas populações e comunidades, e postula que os custos comportamentais, fisiológicos e neurobiológicos de evitar predadores podem diminuir a fecundidade e sobrevivência das diferentes espécies, e estes efeitos podem ser ainda mais pronunciados quando os regimes de predação são alterados (Zanette et al., 2019).

As invasões biológicas podem causar grande mudança nas relações ecológicas locais, e têm sido destacadas como uma das principais causas da perda de biodiversidade em todo o mundo (Clavero e Garcia-Berthou, 2005). A introdução e disseminação de espécies não nativas afetam ecossistemas terrestres e aquáticos, exercendo impactos na estruturação das comunidades naturais e no funcionamento dos ecossistemas (Cucherousset e Olden, 2011). Predadores exóticos, em particular, têm sido comumente associados à rápida extinção de diversas espécies nativas (Salo et al., 2007), constituindo um dos alicerces da homogeneização de espécies.

Nos ambientes de água doce, esse cenário tende a ser ainda mais drástico devido à vulnerabilidade sistêmica das presas nativas a predadores introduzidos. Esses ecossistemas apresentam isolamento persistente de seus predadores em escalas espaciais locais, regionais e continentais, onde as presas tendem a se adaptar a tipos específicos de regimes de predação (Cox e Lima, 2006), sendo consideradas, inclusive, evolutivamente ingênuas (Diamond e Case, 1986; Cox e Lima, 2006).

Quando uma nova espécie de predador é introduzida em um ambiente, as presas nativas precisam reconhecê-la como uma possível ameaça; caso contrário, ocorrerá aumento na predação (Mathis e Smith, 1993). A teoria por trás desse reconhecimento prediz que o indivíduo presa identifica o predador por meio da interpretação de pistas

deixadas por ele, as quais são comparadas com modelos internos derivados de um “algoritmo de correspondência” com limites de aceitação (Sherman, Reeve e Pfennig, 1997), que podem ou não gerar uma resposta (Liebert e Stark, 2004). Esses modelos internos são produzidos a partir da história evolutiva e da ontogenia conjunta entre presa e predador, fatores-chave para o reconhecimento de um novo “arquétipo”, definido como um conjunto de espécies predadoras que compartilham semelhanças morfológicas, comportamentais e de uso de habitat na obtenção de presas (Sherman, Reeve e Pfennig, 1997).

Todos os predadores emitem uma variedade de pistas e, quando há coevolução entre predador e presa, as presas podem utilizá-las para realizar um balanço entre custo e benefício e decidir se devem ou não adotar comportamentos anti-predatórios (Lima e Dill, 1990). A pressão seletiva sobre a presa é intensa, pois a não adaptação ao modo de caça do predador significa, na maioria das vezes, a morte. As pistas identificadas pelas presas para comparação com seu “modelo interno de arquétipos” podem ser de natureza sensorial (visual, olfativa, acústica e eletroquímica), comportamental (estilos de caça, modos de ataque) ou relacionadas ao uso de habitat (tipos de habitat ocupados pelo predador, níveis de luz associados à sua presença) (Carthey e Banks, 2014).

Além disso, um componente importante e mais generalizado do comportamento antipredatório é a neofobia, definida como a resposta aversiva inicial ou cautelosa diante de novos estímulos (Greenberg, 2003). Em ambientes naturais, a neofobia funciona como um mecanismo conservador de defesa, reduzindo o risco de predação quando o indivíduo é exposto a sinais ou situações para as quais não possui experiência prévia (Greenberg, 1990).

O processo evolutivo resulta na adaptação da presa para lidar com determinado tipo de predador e detectar certos tipos de pistas, porém a ontogenia conjunta entre os indivíduos envolvidos na relação parece exercer grande importância para o reconhecimento do predador pela presa (Banks e Dickman, 2007). Entretanto, se as presas se adaptam a arquétipos de predadores específicos, podem acabar falhando em reconhecer quando um novo predador é introduzido no ambiente, fenômeno atribuído à ingenuidade ecológica das presas (Cox e Lima, 2006).

A ingenuidade ecológica pode ser definida como a incapacidade de se defender adequadamente ou como uma falha no reconhecimento de um novo arquétipo de

predador (Cox e Lima, 2006). Ela ocorre em diversas interações, como entre carnívoros de topo introduzidos e mesopredadores nativos, entre plantas invasoras e seus inimigos naturais e, mais comumente, entre predadores introduzidos e presas nativas (Carthey e Banks, 2014). A ingenuidade pode ser classificada em três níveis: o não reconhecimento do predador por parte da presa, a adoção de uma postura anti predatória imprópria ou a adoção de uma postura anti predatória ineficaz (Banks e Dickman, 2007), sendo o primeiro deles o mais impactante para as populações de presas.

Diversos estudos avaliaram a ingenuidade ecológica das presas frente a predadores introduzidos e demonstraram que, a depender das espécies e populações analisadas, a ingenuidade pode ou não perdurar por diversas gerações (Carthey e Banks, 2012; 2015; Bytheway e Banks, 2018). Um trabalho realizado no rio Chagres, no Panamá, analisou a resposta de uma população de caracídeos frente à presença de uma espécie invasora de tucunaré e constatou que, após quarenta e cinco anos de coexistência entre as espécies, as presas aprenderam a identificar as pistas do predador e a agir corretamente contra ele (Sharpe et al., 2021). Em contrapartida, outro estudo realizado no Parque Estadual de Vila Velha demonstrou que foram necessárias poucas gerações para que um caracídeo isolado de seu predador se tornasse ingênuo frente a ele (Mayer, 2020).

Entre as espécies introduzidas no mundo, destacam-se os tucunarés (Kovalenko et al., 2010), peixes nativos da Bacia Amazônica e amplamente distribuídos na região Neotropical (Gasques, 2014). Os tucunarés fazem parte de um complexo de pelo menos 15 espécies do gênero *Cichla* (Kullander e Ferreira, 2007). Esses grandes predadores apresentam cuidado parental e elevada plasticidade ambiental, podendo alterar sua dieta de acordo com a disponibilidade de presas, o que os torna fortes candidatos a invasões com grande impacto sobre populações nativas (Kovalenko et al., 2010).

A introdução do tucunaré é considerada problemática em diversos rios do Brasil (Delariva e Agostinho, 1999; Ribeiro e Ferro, 2018; Cordova Júnior, 2021; Resende, 2005; Santos et al., 2001; Zaret e Paine, 1973), e a perda de espécies nativas está fortemente associada a essa temática. Em 2009, Pelicice e Agostinho analisaram o que chamaram de “destruição da ictiofauna” no reservatório de ITAIPU após a introdução de *Cichla kelberi*, constatando que as composições das assembleias foram profundamente alteradas, algumas com previsão de extinção até 2011, enquanto a riqueza e a densidade

diminuíram significativamente. Contudo, também verificaram que algumas espécies de peixes-presa aumentaram sua abundância, possivelmente em decorrência do declínio de outras espécies. No reservatório de Rosana, igualmente estudado pelos autores, constatou-se que, em apenas dois anos após a introdução do tucunaré, a densidade média de peixes nativos relacionados a macrófitas declinou cerca de 95%, enquanto a riqueza diminuiu aproximadamente 80%, demonstrando o poder invasivo destas espécies.

Em estudo mais recente, Rauber (2022) analisou a alteração na estrutura da assembleia de peixes e a redução de indivíduos de pequeno porte causadas pela invasão de *Cichla* na planície de inundação do alto rio Paraná, constatando que: (1) a diversidade beta total diminuiu com o aumento da abundância de *Cichla*; (2) a maior abundância de *Cichla* reduziu a frequência de espécimes com menos de 10 cm; e (3) a presença do tucunaré tem causado aninhamento das espécies.

Dados os possíveis efeitos negativos do tucunaré em ambientes fora de sua distribuição natural e a relevância da ingenuidade das presas na predição dos impactos de invasões biológicas, se torna fundamental compreender como populações nativas respondem a esse predador exótico. Sob a perspectiva da ecologia do medo, tais interações não se limitam aos efeitos letais da predação, mas envolvem respostas comportamentais associadas ao reconhecimento do risco, as quais podem modular a intensidade e a direção dos impactos de espécies invasoras sobre populações nativas. No Rio Paraná, *C. kelberi* foi registrado pela primeira vez em meados de 1985, ainda em baixa densidade (Agostinho et al., 1994). Acredita-se que sua introdução tenha ocorrido por interesse na pesca esportiva (Agostinho et al., 1999). Desde então, a espécie se estabeleceu de forma bem-sucedida, se expandindo rapidamente para rios e riachos adjacentes (Oliveira et al., 2006).

O êxito de *C. kelberi* nessa região pode estar associado a um conjunto de características biológicas e ecológicas: preferência por águas calmas típicas de reservatórios, que favorecem seu modo de caça; dieta flexível e comportamento piscívoro generalista (Hahn et al., 1997); elevada eficiência como predador visual em ambientes claros; abundância de presas em sistemas represados (Novaes et al., 2004); além de sua dinâmica populacional (Espinola et al., 2007). Outro fator potencialmente determinante é a presença de peixes nativos que nunca coexistiram com predadores do arquétipo do tucunaré, podendo, portanto, falhar em o reconhecer como ameaça.

Essa possibilidade ganha destaque porque o arquétipo do tucunaré difere marcadamente dos predadores nativos do Rio Paraná e do reservatório, incluindo contrastes filogenéticos, diferenças no uso do habitat, horário de atividade e formato corporal. De acordo com Cox e Lima (2006), tais divergências podem ser suficientes para impedir que presas identifiquem um novo predador. Entretanto, *C. kelberi* está presente na região há aproximadamente trinta e nove anos, e pressões seletivas tendem a eliminar indivíduos incapazes de responder adequadamente ao novo regime de predação (Carthey e Banks, 2012). Assim, populações expostas ao tucunaré poderiam ter desenvolvido algum grau de reconhecimento ao longo do tempo, enquanto populações isoladas permaneceriam ingênuas.

Estudos anteriores demonstram que populações podem tanto manter quanto perder a ingenuidade ao longo de gerações, dependendo da intensidade da predação, das características do predador e da história evolutiva das presas (Carthey e Banks, 2012; 2015; Bytheway e Banks, 2018). No Brasil, entretanto, estudos experimentais que avaliem diretamente a ingenuidade ecológica de presas de água doce ainda são escassos (Kovalenko et al., 2010; Mayer, 2020), apesar da ampla quantidade de trabalhos que documentam os impactos ecológicos da introdução de espécies piscívoras exóticas. Essa lacuna dificulta a compreensão dos mecanismos comportamentais que influenciam a persistência das comunidades invadidas.

Diante desse contexto, este estudo investigou a presença de ingenuidade ecológica no peixe nativo *A. lacustris* frente ao predador exótico *C. kelberi* no Rio Paraná, comparando populações expostas e isoladas do predador. O objetivo geral foi determinar se populações isoladas apresentam o primeiro e mais crítico nível de ingenuidade ecológica : o não reconhecimento do predador exótico.

Para isso, foram conduzidos experimentos comportamentais destinados a responder três perguntas centrais: (1) Populações de *A. lacustris* reconhecem e respondem adequadamente ao seu predador nativo? (2) A população da área invadida reconhece *C. kelberi* após quase quatro décadas de coexistência? (3) A população de área não invadida falha em reconhecer o arquétipo do tucunaré? Com base na hipótese da ingenuidade ecológica, é previsto que: ambas as populações responderão ao predador nativo; a população invadida reconhecerá e apresentará respostas anti-predatórias ao tucunaré; e a população não invadida exibirá ausência de reconhecimento, indicando

ingenuidade.

Assim, ao comparar duas populações contrastantes de *A. lacustris*, este estudo fornece evidências experimentais sobre o papel da ingenuidade ecológica em ambientes invadidos, contribuindo para a compreensão dos processos que afetam a persistência de espécies nativas e auxiliando na predição dos impactos de futuras invasões biológicas.

2 METODOLOGIA

2.1 Caracterização do local do experimento

O estudo foi realizado no Centro de Ictiofauna Maurício Spagnolo Adames, laboratório de ictiologia e aquicultura da ITAIPU, localizado no estado do Paraná, na cidade de Foz do Iguaçu, dentro das dependências da ITAIPU binacional. O laboratório foi inaugurado em 2002 em atendimento ao disposto no Plano Básico Ambiental da Licença de Operação (LO 284/2002) do Canal da Piracema; conta com infraestrutura de tanques, aquários e estruturas de apoio, sediando pesquisas nas áreas de aquicultura e levantamentos ictiofaunísticos.

2.2 Caracterização dos pontos de coleta

As espécies foram coletadas no Reservatório de ITAIPU, no Rio Paraná, no Canal da Piracema e, no caso dos indivíduos de *A. lacustris* sem experiência, no Córrego Pomba Cuê.

Formado em 1982 pelo represamento do Rio Paraná e localizado entre as cidades de Foz do Iguaçu e Guaíra (PR), o reservatório da ITAIPU possui cerca de 1.350 km² de área, com largura média de 7 km e profundidade média de 21,5 m. As coletas no lago foram realizadas em um ponto denominado Portinho do Refúgio Bela Vista, dentro da ITAIPU binacional, onde foram capturados apenas indivíduos de *C. kelberi*.

No Rio Paraná, as coletas ocorreram em um ponto próximo à foz do Rio Bela Vista, cerca de 4 km a jusante da barragem de ITAIPU. Essa área representa a porta de entrada para o Canal da Piracema a partir do rio Bela Vista, destino dos peixes migradores rumo a montante. No Rio Paraná foram capturados indivíduos de *L. friderici* e *A. lacustris* (com experiência).

As coletas mais expressivas foram realizadas ao longo do Canal da Piracema, um sistema artificial de transposição para peixes que conecta trechos do rio Paraná separados pela barragem de ITAIPU. O canal abriga populações estabelecidas de espécies nativas e exóticas e funciona como corredor ecológico entre os ambientes

a montante e jusante da barragem. Nesse sistema foram capturados indivíduos de *C. kelberi*, *A. lacustris* (população com experiência), *H. mbigua* e *L. friderici*.

Os pontos de coleta foram representados em vermelho no mapa, enquanto o Centro de Ictiofauna Mauricio Spagnolo Adames, onde ocorreram os experimentos, foi representado em Verde (Figura 1).

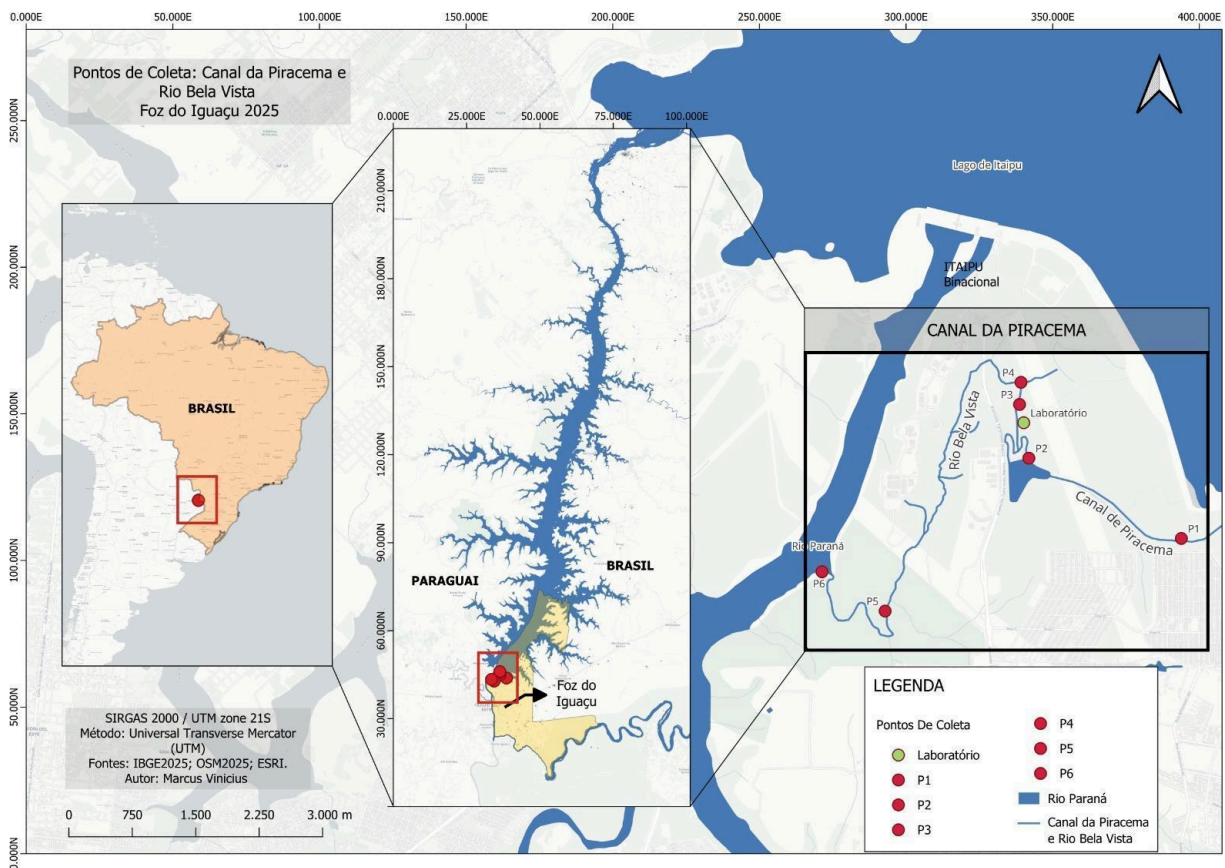


Figura 1: Mapa representando os pontos de coleta no Rio Paraná (Foz do Rio Bela vista) e no Canal da Piracema.

O Córrego Pomba Cuê, por sua vez, está situado no bairro Porto Belo, em Foz do Iguaçu, a poucos metros da barreira de entrada da ITAIPU Binacional. A área de coleta compreendeu um pequeno trecho deste rio, com cerca de 140 metros de comprimento, sem estruturas de captação ao longo de seu trajeto. O trecho apresenta nascente próxima à área urbana e percorre uma curta distância antes de desaguar no canal principal (Córrego Pomba Cuê), o qual se encontra, em sua maior parte, canalizado até sua confluência com o Rio Bela Vista; cabe destacar que a existência de desníveis acentuados e cachoeiras ao longo do córrego permite considerar que a ictiofauna nos pontos de coleta constitui uma população isolada daquela do rio Bela Vista. Nesse ambiente foram coletados os indivíduos considerados sem experiência prévia, constituindo um ponto de coleta contrastante em relação aos demais sistemas associados à ITAIPU, tanto em escala quanto em características ecológicas e hidromorfológicas. Os pontos de coleta foram representados em vermelho no mapa (Figura 2).

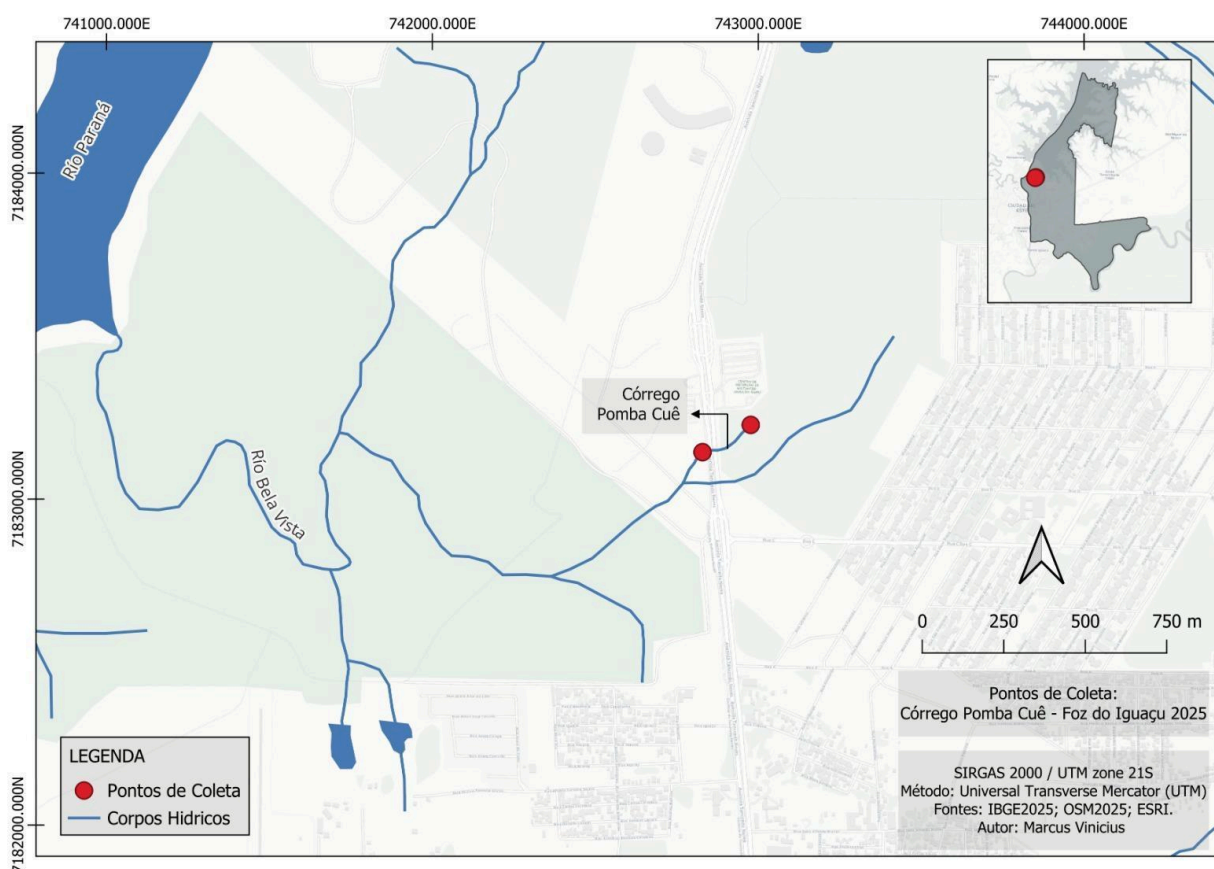


Figura 2: Mapa representando os pontos de coleta no Córrego Pomba Cuê.

2.3 Caracterização das espécies-modelo

Para testar a hipótese de ingenuidade ecológica, foram comparadas as respostas da presa diante de um predador introduzido, de um predador nativo e de dois controles, um nativo e outro exótico, permitindo separar respostas anti-predatórias de reações neofóbicas.

Cichla kelberi, introduzido no rio Paraná há cerca de 39 anos e amplamente conhecido pela pesca esportiva, é um ciclídeo piscívoro generalista e um eficiente predador visual, podendo ultrapassar 59 cm de comprimento (Pavanelli et al., 2023). Além de pertencer à ordem dos Cichliformes, filogeneticamente distinta da do predador nativo empregado no estudo, apresenta caça por perseguição ativa, atividade predominantemente diurna e coloração e morfologia corporal marcantes. Esse conjunto de características evidencia um arquétipo predatório nitidamente diferente do observado em predadores nativos, favorecendo a distinção entre os tratamentos pelas presas.

Como predador nativo, utilizou-se *Hoplias mbigua*, a traíra, um Characiforme piscívoro de amplo espectro alimentar que pode atingir cerca de 54 cm. Embora consumam diferentes espécies, frequentemente predam caracídeos (Kramer & Bryant, 1995). Possui hábitos noturnos, comportamento de emboscada e preferência por ambientes rasos, lânticos e com vegetação, que favorecem sua estratégia de ataque (Piana et al., 2006). Sua ampla ocorrência no reservatório e em cursos d'água da região reforça sua função como predador natural de *Astyanax*.

Para determinar se eventuais respostas observadas são de fato anti-predatórias, utilizou-se um peixe nativo não predador como controle: *Leporinus friderici*, o piau-três-pintas. O piau é um Characiforme da família Anostomidae, onívoro, migrador de longas distâncias (Albrecht et al., 2003) e que apresenta tamanho comparável ao dos predadores experimentais, além de ampla abundância na região, o que facilitou sua captura.

Para realizar o controle da neofobia, que é amplamente confundida com comportamentos anti-predatórios, foi utilizado um peixe não predador exótico: *Oreochromis niloticus*. A popularmente conhecida tilápia é um ciclídeo nativo das

águas do delta do Rio Nilo, que foi introduzida em diversos países das regiões tropicais e subtropicais do planeta (Canonico et al., 2005). Mesmo já registrada no Rio Paraná, monitoramentos pesqueiros e de ovos e larvas indicam que a espécie ocorre em baixa frequência e ainda não teve sucesso na colonização do ambiente (Dados não publicados da ITAIPU). Os indivíduos utilizados foram doados pelo setor de aquicultura da ITAIPU binacional.

A espécie modelo utilizada para acessar as respostas anti-predatórias foi *A. lacustris*, um caracídeo onívoro nativo da bacia do rio Paraná, conhecido como lambari-do-rabo-amarelo. Peixes do gênero *Astyanax* habitam ambientes lênticos e lóticos, ocupam diferentes camadas tróficas e apresentam elevada plasticidade alimentar, adaptando-se rapidamente a condições desfavoráveis (Gomiero e Braga, 2003). Com ciclo de vida curto, rápido crescimento e alto potencial reprodutivo, espécies desse gênero tendem a ser favorecidas em ambientes represados, podendo inclusive sustentar populações de predadores piscívoros (Agostinho et al., 1999). *A. lacustris* alcança até 16 cm de comprimento e apresenta ampla distribuição na América Latina, desde a bacia do Prata até o sudeste dos EUA (Castro e Arcifa, 1987). Foi escolhida como presa modelo devido à sua ampla ocorrência em áreas com e sem tucunaré, abundância na bacia do rio Paraná, facilidade de captura e excelente adaptação ao cativeiro e à alimentação em laboratório, características fundamentais para modelos em estudos comportamentais.

2.4 Coletas e cuidado com os peixes

Para a realização dos experimentos, ocorridos entre agosto e outubro de 2025, foram coletadas duas amostras populacionais de *A. lacustris*: uma denominada CE (com experiência, composta por peixes provenientes de áreas invadidas pelo Tucunaré) e outra denominada SE (sem experiência, composta por peixes que não convivem com o Tucunaré).

Os indivíduos do grupo CE foram coletados no Rio Paraná, no Canal da Piracema e no reservatório de Itaipu, utilizando o caniço. Já os indivíduos do grupo SE foram coletados no córrego Pomba Cuê por meio do mesmo método. Os peixes CE empregados no experimento apresentaram comprimento médio de 10,4cm, enquanto os do grupo SE apresentaram média de 9,1cm. Todos os animais foram mantidos em tanques de 500 litros, separados por população, com renovação constante de água, temperatura controlada entre 25–27 °C, pH entre 6,5 e 7, oxigênio dissolvido entre 8 e 9 ppm e alimentação duas vezes ao dia com ração para peixes onívoros.



Figura 4. *Astyanax lacustris* da área invadida (Canal da piracema) à esquerda e não invadida (Pomba Cuê) à direita.

Os predadores foram coletados no Canal da Piracema e no reservatório, utilizando carretilha e iscas artificiais. Foram selecionados indivíduos de *C. kelberi* e *H. mbigua* com tamanhos similares (34–38 cm) visando reduzir possíveis respostas comportamentais associadas apenas ao tamanho do animal, e não ao risco real de predação. Os predadores foram mantidos separados por espécie, quatro indivíduos por tanque, em tanques de 500 litros com renovação constante de água, temperatura entre 25–27 °C, pH entre 6,5 e 7 e oxigênio dissolvido entre 7 e 8 ppm. *H. mbigua* foi alimentada uma vez ao dia com pedaços de peixe, enquanto *C. kelberi* recebeu alimentação duas vezes ao dia composta por camarões e peixes vivos.

L. friderici utilizados como controle foram coletados no Canal da Piracema e no Rio Paraná utilizando caniço. Todos os indivíduos apresentaram tamanhos semelhantes aos dos predadores (35–38 cm). Quatro indivíduos foram mantidos em um tanque de 500 litros, com renovação constante de água, temperatura entre 25–27 °C, pH entre 6,5 e 7 e oxigênio dissolvido entre 7 e 8 ppm. *L. friderici* foi alimentado duas vezes ao dia com milho, pedaços de peixe e camarão.

O não predador exótico foi doado pelo setor de aquicultura da ITAIPU, não necessitando de coleta. Os indivíduos apresentaram tamanhos proporcionais aos predadores e controle nativo (35–37cm). Três indivíduos foram mantidos em tanque de 500 litros, com renovação constante de água, temperatura entre 25–27 °C, pH entre 6,5 e 7 e oxigênio dissolvido entre 7 e 8 ppm. *O. niloticus* foi alimentado duas vezes ao dia com ração comercial para onívoros.

Os parâmetros foram medidos duas vezes ao dia, todos os dias. As diferenças no tipo e na frequência da alimentação ocorreram em função do comportamento observado em cativeiro, uma vez que os indivíduos se alimentavam melhor de certo tipo de alimento em determinado intervalo de tempo. Todos os peixes coletados foram submetidos a um período mínimo de 10 dias de aclimação, a fim de reduzir potenciais efeitos negativos da coleta e do transporte.



Figura 5: Caixa de convívio / manutenção. Cada espécie e população (no caso de *A. lacustris*) foi mantida em caixas separadas

2.5 Protocolo do experimento

Para acessar o efeito do predador sobre a presa foram utilizadas variáveis do etograma previamente formado a partir de observações em laboratório e que já foram reportadas em trabalhos relevantes com pequenos peixes (Sharpe et al., 2021; Kovalenko et al., 2010), sendo elas: (1) Evitar, definido como o número de vezes que indivíduos de *A. lacustris* nadam para longe do predador/controle quando este se move; (2) Aproximar, definido como o número de vezes que *A. lacustris* chega perto de um predador; (3) Uso de macrófitas, determinado como o tempo (em segundos) em que *A. lacustris* passa no habitat formada por *Hydrilla sp.*; (4) Segregação de habitat, determinada como o tempo (em segundos) que *A. lacustris* permanece em um habitat diferente do predador; (5) Atividade de nado, definida como o número de linhas ultrapassadas por um indivíduo de *A. lacustris* em determinado intervalo de tempo.

Evitar e *aproximar* são comportamentos de difícil visualização em vídeo, então os valores foram obtidos diretamente durante as gravações a partir do método de amostragem de todas as ocorrências, gerando dados de frequência para todos os indivíduos. Para isso, observadores independentes anotaram as ocorrências de “evitar” e outro de “aproximar” durante todo o experimento, evitando assim a variabilidade do interobservador.

Uso de macrófitas e *segregação de habitat* foram registrados a partir da análise das gravações no Software VLC utilizando o método *scan sampling* com intervalo de 1 minuto, obtendo dados de duração de um indivíduo aleatorizado a cada minuto.

A *atividade de nado* foi registrada a partir da análise das gravações no Software VLC utilizando o método de animal focal no qual, a cada 30 segundos, um indivíduo era sorteado para ter sua atividade medida. Para isso, uma grade de tamanho padronizado foi sobreposta aos vídeos utilizando o software Clip Cut, permitindo a observação da quantidade de linhas atravessadas (método adaptado de Kovalenko et al., 2010).

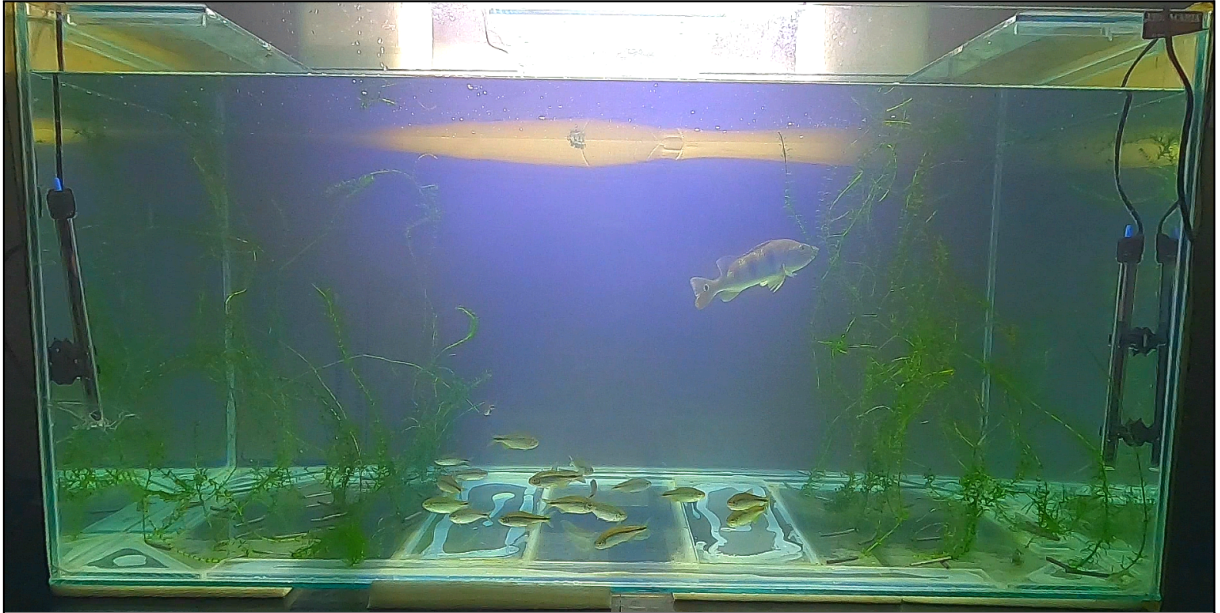


Figura 6: Vídeo analisado no Software VLC.

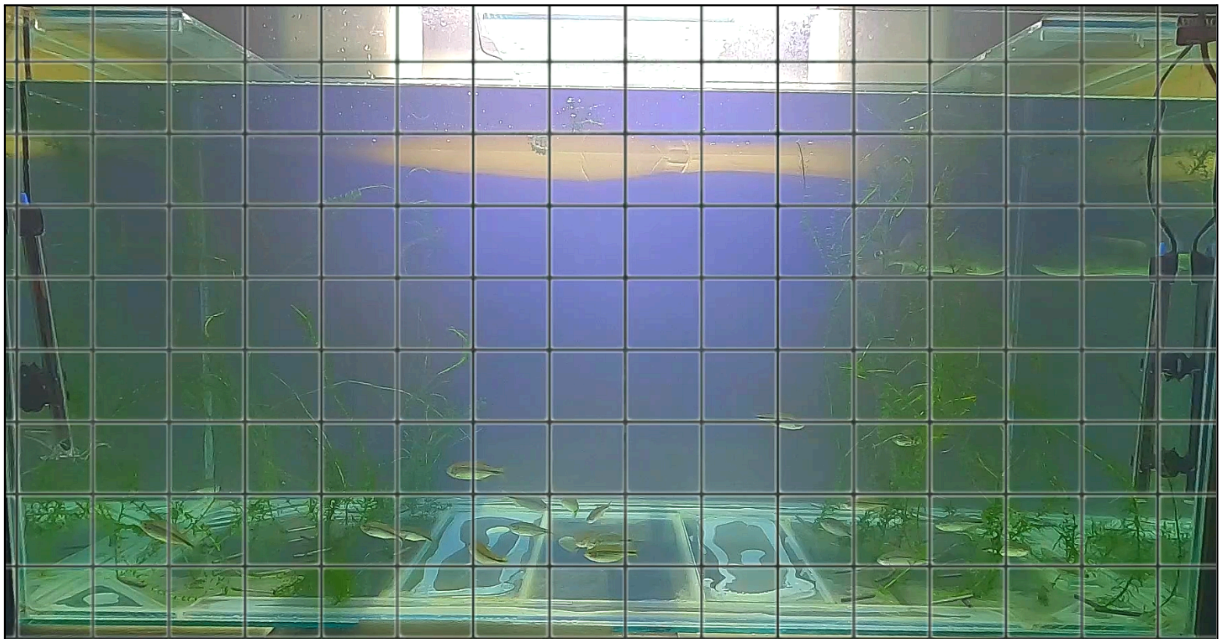


Figura 7: Vídeo com grade para análise da “atividade de nado” no Software VLC.

O experimento foi realizado a partir de um protocolo 2 x 4, onde cada população de *A. lacustris*, da área invadida e não invadida, foi submetida a quatro tratamentos: *C. kelberi*, *H. mbigua*, *L. friderici* e *O. niloticus*. Os tratamentos foram realizados em ordem aleatória, com no máximo três amostragens diárias, limitados pelo tempo de execução. Foram realizadas cinco replicações de cada tratamento com cada população, totalizando 40 triagens, sendo 10 com o não predador nativo nativo, 10 com o não predador exótico, 10 com o predador nativo e 10 com o predador exótico. Todo o comportamento foi gravado com uma câmera digital.

Cada amostragem contou com 20 indivíduos de *A. lacustris* (CE ou SE, selecionados aleatoriamente), a fim de tentar diminuir o estresse e manter a situação de pequenos cardumes que acontece naturalmente (Casatti et al., 2003). Os parâmetros foram medidos e os animais foram movidos do aquário de convívio para o aquário de observação, onde permaneceram em aclimatização por pelo menos 2 horas antes do início de cada experimentação, tempo considerado suficiente (determinado por observações anteriores) para que os indivíduos apresentem comportamento normal (i.e., nadem livremente pela área do aquário). Após a aclimatação, alguma das espécies sorteadas para o tratamento (*C. kelberi*, *H. mbigua*, *L. friderici* ou *O. niloticus*) é inserida no aquário. As filmagens foram feitas pelo menos 10 minutos após a introdução do tratamento e tiveram 10 minutos de duração.

Na amostragem entre predadores o aquário de observação teve toda a água e macrófitas trocadas, além de todos os equipamentos terem sido higienizados. Este passo foi importante para que as pistas químicas deixadas por um predador em uma determinada amostragem não influenciassem o comportamento das presas na amostragem seguinte (Agostinho et al., 2010).

Para evitar a perda de indivíduos, os predadores foram alimentados até a saciedade antes dos testes. Além disso, peixes da superordem Ostariophysi, como membros do gênero *Astyanax*, reconhecem pistas químicas co-específicas liberadas por indivíduos da própria espécie quando são devorados/atacados (Fricke, 1987), podendo desencadear comportamentos não referentes ao predador em si.

O aquário utilizado para a observação contém 500 litros e é confeccionado em vidro transparente, tendo aproximadamente 50 cm de água (profundidade) e 2 metros de comprimento. O aquário foi condicionado com dois tipos de ambientes: água aberta no meio e vegetação formada por *Hydrilla sp.*, macrófita extremamente abundante no lago (Florêncio e Moreira, 2021), nas extremidades. A qualidade da água foi mantida sempre nos mesmos parâmetros das caixas de convívio, sendo medida através de uma sonda antes de cada tratamento.

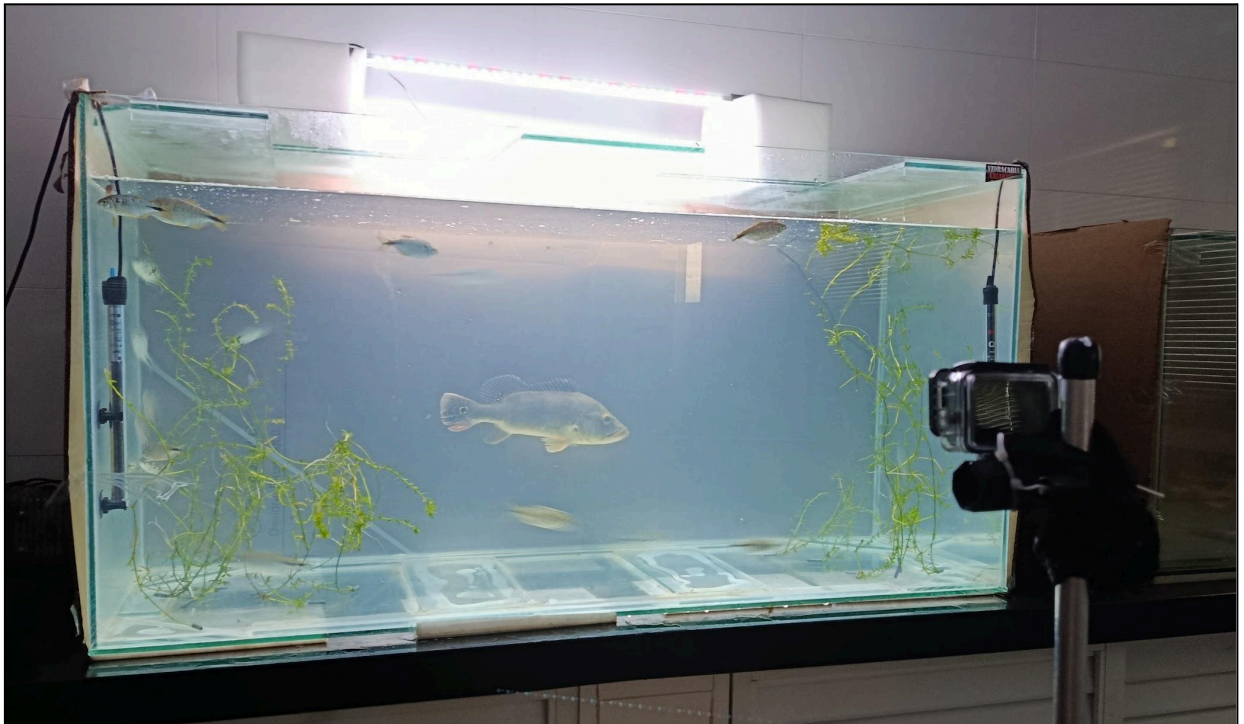


Figura 8: Aquário de observação e gravação onde todo experimento foi filmado; as laterais do aquário foram revestidas para evitar estímulos externos.

2.6 Análise estatística

As variáveis comportamentais obtidas apresentaram diferentes unidades de medida (tempo e contagem de eventos) e forte correlação entre si. Esse conjunto de características justifica o uso de análises multivariadas, que permitem identificar diferenças entre tratamentos considerando múltiplas variáveis que se correlacionam (Rubia et al., 2020).

Foi realizada então uma Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) fatorial, onde os principais fatores foram as Populações, os Tratamentos e a interação População x Tratamento. A PERMANOVA é particularmente adequada para dados multivariados que não atendem ao pressuposto de normalidade, pois testa diferenças entre grupos comparando a variação intra e inter grupos por meio de uma matriz de dissimilaridade (Anderson, 2017). Essa abordagem é indicada para experimentos com designs complexos, múltiplos fatores e dados de alta dimensionalidade (Anderson, 1998).

A PERMANOVA foi conduzida sobre os dados padronizados das variáveis comportamentais, utilizando matriz de distâncias euclidianas.

As variáveis comportamentais foram padronizadas utilizando Z-score (média = 0; desvio padrão = 1), assegurando que variáveis com escalas distintas contribuíssem igualmente para a distância entre indivíduos.

A homogeneidade das dispersões multivariadas foi verificada para cada um dos fatores principais (população e tratamento) por meio da análise PERMDISP, garantindo que diferenças detectadas pela PERMANOVA fossem atribuídas aos efeitos dos fatores e não à heterogeneidade de variâncias (Anderson, 2005).

Para visualizar os padrões multivariados utilizou-se o Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS), um método não paramétrico de ordenação que reduz a dimensionalidade dos dados preservando a ordem das distâncias entre as amostras. O ajuste foi avaliado pelo valor de *stress*.

As variáveis que apresentaram maior correlação com os eixos do NMDS foram projetadas no ordenamento por meio da função *envfit*. As setas indicam a direção do gradiente onde cada variável aumenta mais intensamente, além da força

e significância de sua correlação com a configuração do NMDS.

A variável “evitar” foi removida das análises por demonstrar uma grande correlação com a movimentação dos indivíduos e não com as espécies em si. Percebemos que o comportamento era exibido apenas em resposta a movimentações muito próximas, ocorrendo quase que exclusivamente para os não predadores, não representando comportamentos anti-predatórios.

Todas as análises foram conduzidas no R 4.5.2 utilizando os pacotes *vegan*, *tidyverse*, *ggplot2*, *ggforce* e *grid*.

O script utilizado na análise dos dados e na montagem do NMDS foram disponibilizados no anexo deste documento.

2.7 Permissões de execução

As permissões para experimentação animal foram aprovadas pela CEUA da ITAIPU Binacional, registrada no protocolo 06/2025 com vigência até 31/12/2025.

3 RESULTADOS

Dos comportamentos medidos, os valores que mais variaram entre os tratamentos foram os de “aproximar”. O não predador nativo obteve a maior concentração de aproximações nas duas populações, enquanto o não predador exótico apresentou proporções extremamente baixas ($\approx 4\%$ para SE e $\approx 3\%$ para CE). A população com experiência não se aproximou do seu predador nativo e se aproximou em baixa proporção ($\approx 2\%$) de *Cichla*. A população sem experiência, por outro lado, teve proporções de aproximação mais relevantes para *Hoplias* ($\approx 13\%$) e *Cichla* ($\approx 23\%$), valores substancialmente superiores às registradas para o não predador exótico. O comportamento de menor variação foi “segregação de habitat”, variando em cerca de 7% na população sem experiência e 4% na experiente (Tabelas 1 e 2).

	<i>Leporinus</i>	<i>Hoplias</i>	<i>Cichla</i>	<i>Oreochromis</i>
Aproximar	60,68%	12,98%	22,55%	3,87%
Uso de Macrófita	26,26%	22,30%	29,94%	21,49%
Atividade de nado	20,84%	21,47%	32,84%	24,85%
Segregação de habitat	20,85%	27,36%	25,21%	26,57%

Tabela 1: Proporção (%) das variáveis comportamentais registradas em cada tratamento da população sem experiência (SE). Os valores representam a contribuição relativa de cada comportamento dentro do total observado para cada variável.

	<i>Leporinus</i>	<i>Hoplias</i>	<i>Cichla</i>	<i>Oreochromis</i>
Aproximar	96,53%	0,00%	1,39%	2,08%
Uso de Macrófita	25,42%	23,55%	29,23%	21,80%
Atividade de nado	26,69%	19,85%	28,16%	25,29%
Segregação de habitat	22,85%	26,34%	26,11%	24,73%

Tabela 2: Proporção (%) das variáveis comportamentais registradas em cada tratamento da população com experiência (CE). Os valores representam a contribuição relativa de cada comportamento dentro do total observado para cada variável.

A análise de homogeneidade de dispersão indicou que não houve diferença significativa na dispersão entre as populações CE e SE ($F = 0.1894$, $p = 0.6658$), demonstrando que o pressuposto de homogeneidade foi atendido para esse fator.

Para os tratamentos (*Cichla*, *Hoplias*, *Leporinus* e *Oreochromis*), observou-se diferença significativa na dispersão entre grupos ($F = 3.3336$, $p = 0,03005$), sugerindo maior variabilidade interna em pelo menos um dos tratamentos. Assim, parte do efeito detectado pela PERMANOVA pode estar associada à diferença de dispersão, e não exclusivamente às diferenças entre as médias multivariadas.

O modelo fatorial incluiu os fatores População, Tratamento e a interação População × Tratamento. O fator População explicou 18,97% do modelo e foi significativo ($F = 11,96$, $p = 0.001$, $R^2 = 0.189$), indicando que indivíduos com e sem experiência apresentam composições comportamentais distintas. O efeito de Tratamento também foi significativo ($F = 5,38$, $p = 0.001$, $R^2 = 0,26$) e explicou 26,21% do modelo, evidenciando que os diferentes estímulos influenciam de forma consistente os comportamentos avaliados. Por outro lado, a interação População × Tratamento não foi significativa ($F = 0,59$, $p = 0,840$, $R^2 = 0,028$), indicando que o efeito geral dos tratamentos é semelhante entre as populações.

O NMDS construído a partir de todo conjunto de dados demonstrou agrupamentos locais dos pontos e uma separação praticamente geral dos grupos SE (acima) e CE (abaixo), com exceção apenas do tratamento com o predador exótico em SE. As distâncias dos pontos ao longo dos eixos nos mostram as relações de uma matriz de dissimilaridade entre os tratamentos, ou seja, quanto mais são próximos os pontos mais similares são seus resultados (Borcard et al., 2018), o que implica que pontos mais aglutinados representam maior padrão comportamental nos tratamentos. Os eixos referentes aos comportamentos foram apontados para os tratamentos que mais se correlacionam a eles, principalmente: Segregação de habitat no tratamento predador nativo CE; uso de macrófitas e atividade de nado no tratamento não predador exótico CE e o predador exótico de ambas populações; Aproximar no tratamento não predador nativo CE (Figura 9).

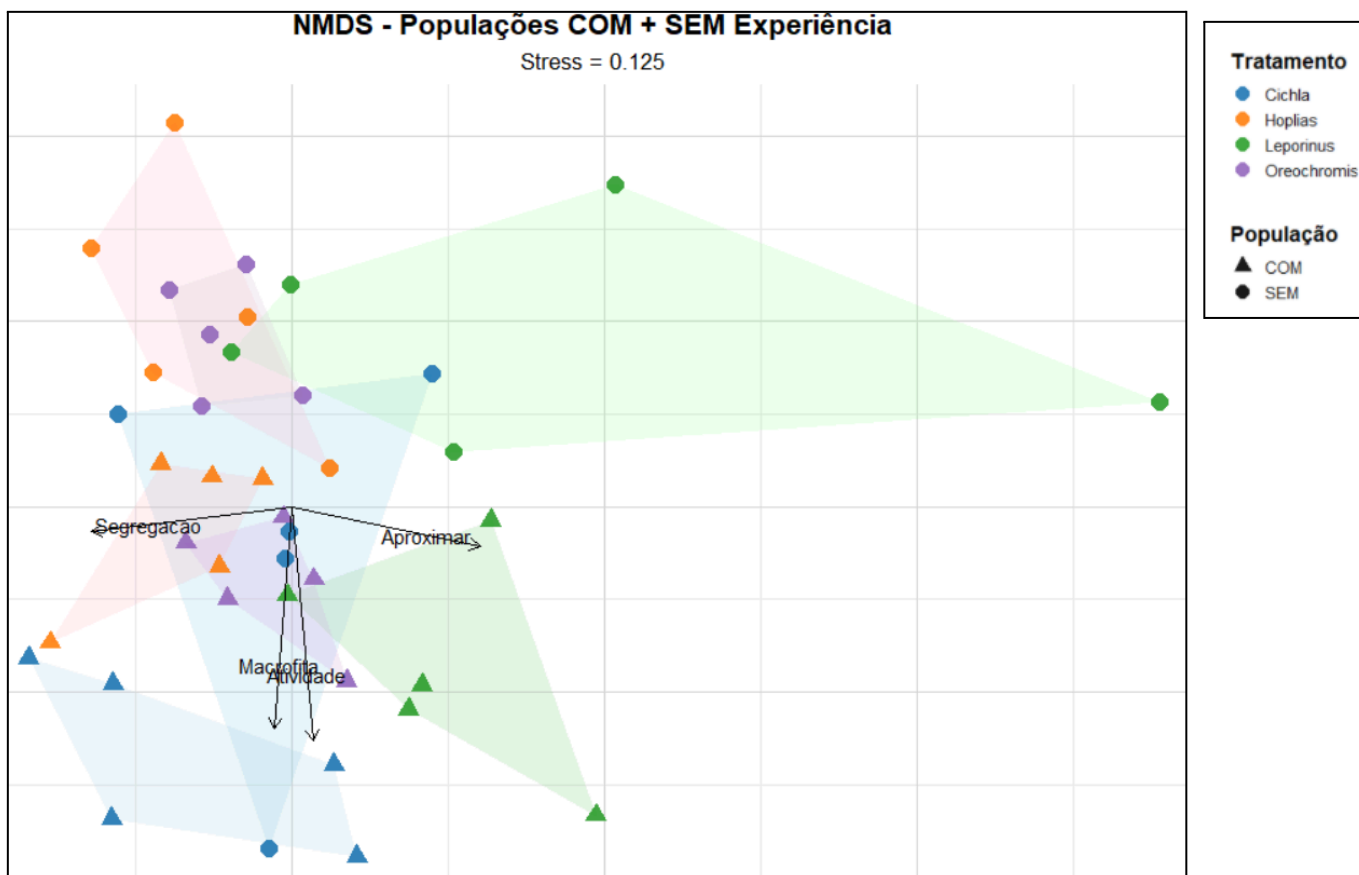


Figura 9: NMDS construído a partir de todo o conjunto de dados, incorporando simultaneamente os fatores População, Tratamento e sua interação. Esse ordenamento sintetiza a configuração multivariada completa observada nos dados.

4 DISCUSSÃO

A teoria da ingenuidade ecológica prevê que presas nativas sem histórico evolutivo ou ontogenético com predadores exóticos apresentem falhas no reconhecimento e na resposta antipredatória, tendendo a maior vulnerabilidade à predação (Cox e Lima, 2006; Banks e Dickman, 2007). Assim, era esperado que a população de *A. lacustris* isolada do predador exótico não o diferenciasse, enquanto a população exposta, após cerca de quatro décadas de coexistência, exibisse respostas anti-predatórias consistentes. Como esperado, ambas as populações responderam adequadamente aos predadores nativos, refletindo a importância da história evolutiva compartilhada. Contudo, os indivíduos das duas populações também responderam ao predador exótico de forma específica, ainda que com diferenças na intensidades, indicando que a ingenuidade ecológica não se manifestou em seu nível mais preocupante.

Na população experiente, predador exótico e nativo ocuparam regiões distintas no espaço multivariado, indicando que predadores diferentes desencadeiam repertórios específicos modulados pelo risco percebido (Lima e Dill, 1990). Contudo, a população não experiente também discrimina claramente entre predador nativo e exótico. Na população SE, o polígono referente ao predador exótico se afastou do nativo e se sobrepôs aos tratamentos da população CE, correlacionando-se fortemente às variáveis “uso de macrófitas” e “atividade de nado”, ambas associadas a detecção de risco (Lima et al., 1990; Sih e Kats, 1991). Esse padrão sugere que a população não invadida é capaz de reconhecer e diferenciar o predador exótico mesmo sem experiência prévia, visto que adota comportamentos comparáveis aos adotados pela população experiente.

A análise multivariada reforçou essa tendência geral. Apesar das populações com e sem experiência apresentarem perfis comportamentais distintos, ambas discriminam claramente os predadores. A ausência de interação entre população e tratamento na PERMANOVA indica que os efeitos dos estímulos foram consistentes entre populações, ou seja, a experiência modulou a intensidade das respostas, mas não o seu sentido. O NMDS sintetiza esses padrões, mostrando agrupamentos definidos para cada tratamento e uma separação geral entre as populações no espaço multivariado.

Ao analisar o não predador nativo, observou-se forte correlação com o comportamento “aproximar”, o que era esperado para um estímulo não predatório, já que a ausência de risco favorece comportamentos exploratórios (Lima e Dill, 1990). A distância entre o não predador nativo e os predadores no ordenamento confirma que os comportamentos registrados foram efetivamente anti-predatórios.

Por outro lado, a separação clara entre os dois não predadores (nativo e exótico) revelou um padrão inesperado. Embora ambos sejam espécies não predadoras, a espécie exótica não provocou respostas semelhantes à espécie nativa. Pelo contrário, apresentou correlação forte com “segregação de habitat”, “uso de macrófitas” e “atividade de nado”, e extremamente fraca com “aproximar”, conduta incompatível com ausência de risco. Além disso, na população sem experiência, o não predador exótico sobrepôs-se ao predador nativo, indicando adoção de comportamentos anti-predatórios em ambos os tratamentos. Esses padrões são compatíveis com neofobia, uma resposta conservadora e plástica que emerge em contextos de risco incerto (Greenberg, 1990; Dall et al., 2005). A presença desse mecanismo pode explicar por que o não predador exótico induziu respostas de perigo em ambas populações.

Ao perceber padrões neofóbicos, era esperado que os tratamentos com o predador exótico fossem guiados por esse mecanismo, ou seja, que os comportamentos demonstrados nestas situações fossem generalizados de fuga e aversão conforme sugerido por Greenberg 2003, ou comparados aos vistos com o não predador exótico, especialmente para a população não experiente. Porém, para ambas as populações, isso não se comprovou.

Por ser um mecanismo fenotipicamente plástico e adaptável, diferentes pressões ambientais devem gerar variações nas tendências neofóbicas, com o aumento do risco aumentando a força e especificidade das respostas (Brown et al., 2013). Juntamente a isso, a magnitude de comportamentos anti-predatórios resulta da convivência com uma ampla variedade de predadores no ambiente natural, condição que aumenta a variância comportamental sob risco de predação (Mitchell et al., 2024). Estas características são contrastantes dentro das populações estudadas, visto que os indivíduos sem experiência, ao contrário dos experientes, ocupam riachos urbanos homogêneos e com baixa diversidade de predadores,

ambientes estes que tendem a simplificar a estrutura ecológica e reduzir a pressão seletiva para respostas anti-predatórias precisas (Petsch, 2016; Marques e Cunico, 2021). Assim, a maior intensidade de respostas observada na população com experiência pode resultar da expressão adaptada de neofobia e do aprendizado acumulado pela convivência com o predador exótico e outras espécies predadores (Blake e Garbor, 2016; Brown et al., 2013).

Embora a neofobia ajude a explicar por que o não predador exótico induziu respostas anti-predatórias, esse mecanismo não explica sozinho a discriminação fina entre predador nativo e exótico observada na população sem experiência. Então, além da neofobia, outros mecanismos possivelmente atuam no reconhecimento basal ou sensibilidade à pistas comportamentais e ecológicas compartilhadas entre predadores (Cox et al., 2010). A neofobia pode desencadear cautela inicial, mas a diferenciação entre predador exótico e nativo provavelmente emerge a partir da detecção de outras pistas relevantes, como químicas, de arquétipo ou comportamentais.

A detecção de pistas químicas específicas de *Cichla* por parte da população sem experiência é improvável pela falta de convivência entre os indivíduos (Cox e Lima, 2006), e pistas químicas gerais não justificariam a separação entre os predadores no espaço multivariado, visto que, se gerais, essas pistas desencadeariam comportamentos de alerta generalizados (Wisenden, 2014; Lima e Dill, 1990). Além disso, *Cichla* e *Hoplias* são predadores filogeneticamente distantes, não compartilhando adaptações físicas similares entre si, tornando improvável o reconhecimento por características de formato corporal e coloração (Ferrari et al., 2007).

Então, a adoção dos mesmos comportamentos por parte das duas populações frente ao predador exótico pode ter se dado devido ao repertório comportamental e de uso de habitat do próprio predador. O chamado “modo de caça”, definido como a estratégia geral de forrageamento do predador, parece ser um importante traço comportamental para o reconhecimento de risco para peixes presa (Carthey e Banks, 2006), visto que possibilita a adoção de diferentes usos do ambiente e frequências de atividade a depender da metodologia empregada por determinado predador. Espécies do gênero *Cichla* são reconhecidas pelo método de

caça visual e voraz (Novaes et al., 2004; Hahn et al., 1997), e o uso de refúgios e aumento da atividade de nado por parte das presas poderiam ser reflexos destes comportamentos apresentados pelo predador. Isso significa que, possivelmente, ajustes finos nos comportamentos do predador exótico (como mudança de postura, velocidade e direção de nado) podem ter desencadeado respostas inerentes ao reconhecimento do “modo de caça” adotado pelo mesmo, encaixando-se em algum modelo interno de arquétipo já fixado em *Astyanax* de ambas as populações, levando ao maior “uso de macrófitas” e aumento da “atividade de nado” como resposta. Talvez, o arquétipo em questão seja compartilhado entre espécies predadoras locais, mesmo que filogeneticamente distantes.

Outros fatores, como a plasticidade comportamental de *A. lacustris* (Blin et al., 2018; Espinasa et al., 2020; Manna et al., 2012; Dias et al., 2005) e uma possível proximidade genética entre as populações, também podem ter contribuído para os resultados observados. Espécies generalistas e altamente plásticas, como *A. lacustris*, mantêm repertórios amplos e flexíveis, capazes de acomodar rapidamente novos estímulos (Abelha et al., 2001), favorecendo respostas adaptativas mesmo sem experiência prévia (Bhat et al., 2015). Essa flexibilidade é amplamente documentada no gênero *Astyanax* (Goulart e Young, 2013; Abelha et al., 2001; Lucena e Soares, 2016). Por fim, embora o local de origem da população sem experiência seja isolado por fortes barreiras físicas, não é possível assegurar isolamento genético completo, pois a dispersão indireta por aves aquáticas pode conectar populações de peixes mesmo entre corpos d’água isolados (Lovas-Kiss et al., 2020; Green et al., 2023).

Em conjunto, os resultados indicam que a resposta de *A. lacustris* ao predador exótico não se apoia em um único mecanismo. A neofobia contribui para a cautela inicial, mas não explica sozinha a diferenciação entre predador nativo e exótico apresentada pela população sem experiência. O reconhecimento basal de pistas comportamentais, de uso de habitat e ecológicas compartilhadas entre predadores podem estar por trás da diferenciação específica entre tratamentos. Adicionalmente, a plasticidade de *A. lacustris* e a possibilidade de conectividade genética entre populações, oferece um cenário integrado capaz de justificar a consistência das respostas observadas. Esses fatores sugerem que *A. lacustris* mantém condições para responder a novos regimes de predação mesmo quando

não há convivência prévia, reduzindo a probabilidade de expressão de ingenuidade ecológica em seu primeiro nível.

Ainda assim, é importante destacar que a ingenuidade ecológica pode se manifestar em três níveis, sendo o não reconhecimento do predador (nível 1), a resposta não apropriada (nível 2) e a resposta não eficiente (nível 3). Embora os resultados não corroborem a ocorrência da ingenuidade em seu primeiro nível, os dados indicam que a população SE pode se enquadrar em níveis subsequentes. A maior frequência de aproximações aos predadores e a menor intensidade das respostas anti-predatórias sugerem possíveis traços de ingenuidade, o que demanda estudos adicionais para avaliar a adequação e a eficiência dessas respostas sob contextos de predação real.

5 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que *Astyanax lacustris* reconhece e responde de forma específica tanto ao predador nativo quanto ao predador exótico, independentemente do histórico de exposição. Embora a intensidade das respostas tenha diferido entre as populações, o sentido geral dos comportamentos foi semelhante, indicando que a ausência de convivência direta com o predador exótico *C. kelberi* não levou à expressão do nível mais crítico de ingenuidade ecológica, associado ao não reconhecimento do predador. Ainda assim, diferenças na frequência de aproximações e na intensidade das respostas sugerem que a população sem experiência pode apresentar traços compatíveis com níveis subsequentes de ingenuidade, relacionados à adequação ou eficiência das respostas anti-predatórias. A capacidade de discriminar entre estímulos predatórios e não predatórios observada em ambas as populações indica que mecanismos complementares ao aprendizado ontogenético, incluindo neofobia, reconhecimento de arquétipos, plasticidade comportamental e possíveis conexões genéticas, podem sustentar respostas frente a predadores desconhecidos. Esses resultados reforçam que *A. lacustris* apresenta um repertório comportamental flexível, capaz de interpretar riscos mesmo em contextos de introdução recente de predadores, contribuindo para sua persistência em ambientes alterados. Ao demonstrar que a população isolada não exhibe ingenuidade completa, o estudo amplia a compreensão

sobre como presas nativas enfrentam a pressão imposta por invasões biológicas e destaca a importância de integrar aspectos comportamentais, ecológicos e populacionais na avaliação dos impactos de predadores introduzidos.

6 REFERÊNCIAS

- Agostinho AA, Júlio HF Jr, Petrere M Jr. 1994. Itaipu Reservoir (Brazil): impacts of the impoundment on the fish fauna and fisheries. In: Cowx IG, editor. Rehabilitation of freshwater fisheries. Hull (UK): Hull International Fisheries Institute, University of Hull. p. 171–184.
- AGOSTINHO AA, JÚLIO HF JR. 1999. Peixes da bacia do alto rio Paraná. In: Lowe-McConnell RH, editor. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo (SP): Edusp. p. 374–400.
- AGOSTINHO AA, GOMES LC, SUZUKI HI, JÚLIO HF JR. 1994. Spatial and temporal distribution of *Hypophthalmus edentatus* (Pisces, Siluroidei) in the area of influence of the Itaipu Reservoir (Paraná, Brazil). *Revista Unimar*. 16(3):27–40.
- AGOSTINHO AA, THOMAZ SM, GOMES LC. 1999. Patterns of colonization in neotropical reservoirs, and prognoses on aging. In: Tundisi JG, Straskraba M, editors. Theoretical reservoir ecology and its applications. São Carlos (SP): International Institute of Ecology; Leiden (NL): Backhuys. p. 227–265.
- ALBRECHT MP, PELLEGRINI-CARAMASCHI E. 2003. Feeding ecology of *Leporinus taeniofasciatus* (Characiformes: Anostomidae) before and after installation of a hydroelectric plant in the upper rio Tocantins, Brazil. *Neotropical Ichthyology*. 1(1):53–60. doi:10.1590/S1679-62252003000100006.
- ANDERSON MJ. 1998. Effects of patch size on colonisation in estuaries: revisiting the species–area relationship. *Oecologia*. 118:87–98.
- ANDERSON MJ. 2005. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics*. 62(1):245–253. doi:10.1111/j.1541-0420.2005.00440.x.
- ANDERSON MJ. 2017. Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*. p. 1–15. doi:10.1002/9781118445112.stat07841.

- BANKS PB, DICKMAN CR. 2007. Alien predation and multiple levels of prey naiveté. *Trends in Ecology & Evolution*. 22:229–230.
- BANKS PB, CARTHEY AJR, BYTHEWAY JP. 2018. Australian native mammals recognize and respond to alien predators: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 285:20180857. doi:10.1098/rspb.2018.0857.
- BHAT A, GREULICH MM, MARTINS EP. 2015. Behavioral plasticity in response to environmental manipulation among zebrafish (*Danio rerio*) populations. *PLoS ONE*. 10(4):e0125097. doi:10.1371/journal.pone.0125097.
- BLIN M, TINE E, MEISTER L, et al. 2018. Developmental evolution and developmental plasticity of the olfactory epithelium and olfactory skills in Mexican cavefish. *Developmental Biology*. 441(2):242–251.
- BLAKE CA, GABOR CR. 2016. Exploratory behaviour and novel predator recognition: behavioural correlations across contexts. *Journal of Fish Biology*. 89(2):1178–1189.
- BROWN GE, CHIVERS DP. 2005. Learning as an adaptive response to predation. In: Barbosa P, Castellanos I, editors. *Ecology of predator–prey interactions*. Oxford (UK): Oxford University Press. p. 34–54.
- BROWN GE, FERRARI MCO, ELVIDGE CK, RAMNARINE I, CHIVERS DP. 2013. Phenotypically plastic neophobia: a response to variable predation risk. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 280:20122712. doi:10.1098/rspb.2012.2712.
- CANONICO GC, ARTHINGTON A, MCCRARY JK, THIEME ML. 2005. The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 15:463–483.
- CARTHEY AJR, BANKS PB. 2014. Naïveté in novel ecological interactions. *Biological Reviews*. 89(4):932–949.

- CARTHEY AJR, BANKS PB. 2015. Responses of a vulnerable native rodent to long-term alien predators. *Oikos*. 125(7):918–926.
- CASATTI L, MENDES HF, FERREIRA KM. 2003. Aquatic macrophytes as feeding sites for small fishes. *Brazilian Journal of Biology*. 63(2):213–222.
- CASTRO RMC, ARCIFA MS. 1987. Comunidade de peixes de reservatórios no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*. 47(4):493–500.
- CELI M, ABELHA M, AGOSTINHO AA, GOULART E. 2001. Plasticidade trófica em peixes de água doce. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*. 23:441–448.
- CLAVERO M, GARCÍA-BERTHOE E. 2005. Invasive species and animal extinctions. *Trends in Ecology & Evolution*. 20:110.
- CORDOVA JÚNIOR RFS. 2021. Introdução e distribuição do tucunaré-azul e do tambaqui no Pantanal. *Acta Ambiental Catarinense*. 19(1):1–15.
- COX JG, LIMA SL. 2006. Naiveté and an aquatic–terrestrial dichotomy in the effects of introduced predators. *Trends in Ecology & Evolution*. 21:674–680.
- COX TE, MURRAY PJ, HALL GP, LI X. 2010. Pest responses to odors from predators fed diets of conspecifics and heterospecifics. *Journal of Wildlife Management*. 74:1523–1531.
- CUCHEROUSSET J, OLDEN JD. 2011. Ecological impacts of non-native freshwater fishes. *Fisheries*. 36:215–230.
- DALL SRX, GIRALDEAU LA, OLSSON O, MCNAMARA JM, STEPHENS DW. 2005. Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*. 20:187–193.
- DELARIVA RL, AGOSTINHO AA. 1999. Introdução de espécies: síntese comentada. *Acta Scientiarum*. 21(2):255–262.

- DIAMOND JM, CASE TJ. 1986. Overview: introductions and invasions. In: Diamond JM, Case TJ, editors. Community ecology. New York (NY): Harper & Row. p. 65–79.
- DIAS RM, BAILLY D, ANTÔNIO RR, AGOSTINHO AA. 2005. Colonization of the Corumbá Reservoir by the “lambari” *Astyanax altiparanae*. Brazilian Archives of Biology and Technology. 48:467–476.
- ESPÍNOLA LA, JÚLIO HF JR, BENEDITO E. 2012. Invasive non-native species of fish in the upper Paraná River Basin, Brazil: variations of caloric content in *Cichla kelberi*. Neotropical Ichthyology. 10(2):401–408.
doi:10.1590/S1679-62252012005000002.
- ESPINASA L, YAMAMOTO Y, JEFFERY WR. 2020. Vibration attraction response is a plastic trait in blind Mexican tetra (*Astyanax mexicanus*). Journal of Fish Biology. 97:1495–1503.
- FERRARI MCO, GONZALO A, MESSIER F, CHIVERS DP. 2007. Generalization of learned predator recognition: an experimental test and framework for future studies. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 274(1620):1853–1859.
doi:10.1098/rspb.2007.0297.
- FLORÊNCIO FM. 2021. Predadores abióticos e bióticos da abundância de uma macrófita nativa e uma macrófita invasora em um reservatório subtropical [dissertação de mestrado]. Maringá (PR): Universidade Estadual de Maringá.
- FRICKE R. 1987. Deutsche Meeresfische. Hamburg (DE): Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung. 219 p.
- GASQUES L, AGOSTINHO AA, GOMES LC. 2014. Introdução do gênero *Cichla* na planície do alto rio Paraná. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia. 17:17–26.
- GOMIERO LM, BRAGA FMS. 2003. Relação peso–comprimento de *Cichla ocellaris* e *Cichla monoculus*. Acta Scientiarum: Biological Sciences. 25:133–136.

- GOULART VDLR, YOUNG RJ. 2013. Selfish behaviour as an antipredator response in schooling fish? *Animal Behaviour*. 86(2):443–450.
- GREEN AJ, LOVAS-KISS Á, REYNOLDS C, SEBASTIÁN-GONZÁLEZ E, SILVA GG, VAN LEEUWEN CHA, WILKINSON DM. 2023. Dispersal of aquatic and terrestrial organisms by waterbirds. *Freshwater Biology*. 68:173–190.
- GREENBERG R. 1990. Ecological plasticity, neophobia, and resource use in birds. *Studies in Avian Biology*. 13:431–437.
- GREENBERG R. 2003. The role of neophobia and neophilia in innovative behaviour. In: Reader SM, Laland KN, editors. *Animal innovation*. Oxford (UK): Oxford University Press. p. 175–196.
- HAHN NS, AGOSTINHO AA, GOITEIN R. 1997. Feeding ecology of *Plagioscion squamosissimus*. *Acta Limnologica Brasiliensia*.
- KULLANDER SO, FERREIRA EJG. 2007. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*. 17:289–398.
- KOVALENKO K, ET AL. 2010. Recognition of non-native peacock bass by native prey. *Biological Invasions*.
- KRAMER DL, BRYANT MJ. 1995. Intestine length in tropical stream fishes. *Environmental Biology of Fishes*.
- LIEBERT AE, STARKS PT. 2004. Action component of recognition systems. *Annales Zoologici Fennici*.
- LIMA SL, DILL LM. 1990. Behavioral decisions made under predation risk. *Canadian Journal of Zoology*.
- LUCENA CAS, SOARES HG. 2016. Review of species of *Astyanax bimaculatus* group. *Zootaxa*.

- MANNA L, REZENDE C, MAZZONI R. 2012. Plasticity in the diet of *Astyanax taeniatus*. *Brazilian Journal of Biology*.
- MARQUES P, CUNICO A. 2021. Ecologia de peixes em riachos urbanos. *Oecologia Australis*.
- MAYER BA. 2020. Aspectos comportamentais de um peixe neotropical na ausência de predadores [dissertação]. Ponta Grossa (PR): Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- MITCHELL DJ, BECKMANN C, BIRO PA. 2024. Maintenance of behavioral variation under predation risk. *American Naturalist*.
- NOVAES JL, CARAMASCHI EP, WINEMILLER KO. 2004. Feeding of *Cichla monoculus* during reservoir formation. *Acta Limnologica Brasiliensia*.
- OLIVEIRA AV, et al. 2006. Genetic diversity of *Cichla*. *Journal of Fish Biology*.
- PELICICE FM, AGOSTINHO AA. 2009. Fish fauna destruction after introduction of *Cichla kelberi*. *Biological Invasions*.
- PIANA PA, GOMES LC, AGOSTINHO AA. 2006. Predator–prey models. *Ecological Modelling*.
- RAUBER R, GIACOMEL R. 2022. Efeitos da invasão de espécies de *Cichla* nos padrões taxonômicos e funcionais da assembleia de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná
<https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/42513/Rauber-Rafaela%20Giacomel-2022-D%200.pdf>
- RIBEIRO GT, FERRO DADM. 2018. Introdução do tucunaré (*Cichla*) na bacia do rio Paraná. *Anais do Fórum de Iniciação Científica do UNIFUNEC*. 9(9).
- RESENDE EK. 2005. Distribuição do tucunaré *Cichla cf. monoculus* no Pantanal. Corumbá (MS): Embrapa Pantanal.
- RUBIA M, et al. 2020. Análise de variância multivariada. *Ciência e Natura*. 42.

- SALÓ P, et al. 2007. Alien predators are more dangerous than native predators. Proceedings of the Royal Society B.
- SANTOS L, CARDOSO E, LEITÃO RP. 2024. Can prey fish (*Poecilia vivipara*) develop antipredator responses? [dissertação]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais.
- SANTOS LND, GONZALEZ AF, ARAÚJO FG. 2001. Dieta do tucunaré-amarelo *Cichla monoculus* (Bloch & Schneider) no reservatório de Lajes, Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia. 18(supl. 1):191–204.
- SHARPE D, et al. 2021. Testing the prey naiveté hypothesis. Biological Invasions.
- SHERMAN PW, REEVE HK, PFENNIG DW. 1997. Recognition systems. In: Krebs JR, Davies NB, editors. Behavioural ecology. Oxford: Blackwell.
- WISENDEN BD. 2014. Chemical cues that indicate predation risk. In: Farrell AP, editor. Encyclopedia of fish physiology. San Diego: Academic Press.
- ZANETTE LY, CLINCHY M. 2019. Ecology of fear. Current Biology. 29(9):R309–R313. doi:10.1016/j.cub.2019.02.042
- ZARET TM, PAINE RT. 1973. Species introduction in a tropical lake. Science. 182:449–455. doi:10.1126/science.182.4111.449

Anexo I

```
# Populações: COM experiência e SEM experiência  
# Tratamentos: Cichla, Hoplias, Oreochromis e Leporinus  
# Pacotes utilizados: dplyr, vegan, ggplot2, ggforce
```

```
# 0. Instalação e carregamento dos pacotes necessários  
# -----  
install.packages(c("dplyr", "vegan", "ggplot2", "ggforce"),  
                dependencies = TRUE)  
library(dplyr)  
library(vegan)  
library(ggplot2)  
library(ggforce)  
library(grid)
```

```
# 1. Importação dos dados  
# -----  
# O arquivo deve estar no formato .csv e conter:  
# - Fatores: Populacao e Tratamento  
# - Variáveis comportamentais numéricas  
file_path <- file.choose()  
dados <- read.csv(file_path, stringsAsFactors = TRUE)
```

```
# 2. Filtragem dos tratamentos de interesse  
# -----  
tratamentos_desejados <- c("Cichla", "Hoplias",  
                          "Oreochromis", "Leporinus")  
  
dados_filtrado <- dados %>%  
  filter(Tratamento %in% tratamentos_desejados) %>%  
  droplevels()
```

```
# 3. Seleção das variáveis numéricas  
# -----  
# Apenas variáveis comportamentais entram nas análises  
vars_num <- sapply(dados_filtrado, is.numeric)  
mat_vars <- dados_filtrado[, vars_num]  
  
# Remoção de linhas com valores ausentes  
complete_rows <- complete.cases(mat_vars)  
dados_filtrado <- dados_filtrado[complete_rows, ]  
mat_vars <- mat_vars[complete_rows, ]
```

```

# 4. Padronização das variáveis e cálculo da distância
# -----
# Padronização (z-score) para equalizar escalas
mat_z <- decostand(mat_vars, method = "standardize")

# Matriz de distância euclidiana
dist_euc <- vegdist(mat_z, method = "euclidean")

# 5. Teste de homogeneidade de dispersão
# -----
# Avaliação das premissas da PERMANOVA
disp_pop <- betadisper(dist_euc, dados_filtrado$Populacao)
disp_trat <- betadisper(dist_euc, dados_filtrado$Tratamento)

cat("\nTeste de dispersão – População:\n")
print(anova(disp_pop))

cat("\nTeste de dispersão – Tratamento:\n")
print(anova(disp_trat))

# 6. PERMANOVA fatorial
# -----
# Testa os efeitos de População, Tratamento e da interação
set.seed(42)

permanova_fat <- adonis2(
  dist_euc ~ Populacao * Tratamento,
  data = dados_filtrado,
  permutations = 999,
  by = "terms"
)

cat("\n==== PERMANOVA FATORIAL =====\n")
print(permanova_fat)

# 7. Análise de ordenação NMDS
# -----
set.seed(42)

nmds <- metaMDS(
  mat_z,
  distance = "euclidean",
  k = 2,
  trymax = 100

```

```

)

# Extração dos scores dos pontos
scores_df <- as.data.frame(scores(nmds, display = "sites"))
colnames(scores_df)[1:2] <- c("NMDS1", "NMDS2")

scores_df$Tratamento <- dados_filtrado$Tratamento
scores_df$Populacao <- dados_filtrado$Populacao

# 8. Ajuste das variáveis ambientais (ENVFIT)
# -----
vec <- envfit(nmds, mat_z, permutations = 999)

vec_scores <- as.data.frame(scores(vec, display = "vectors"))
vec_scores$var <- rownames(vec_scores)

# 9. Construção dos polígonos (convex hulls)
# -----
# Polígonos por combinação Tratamento × População
hull_df <- scores_df %>%
  group_by(Tratamento, Populacao) %>%
  filter(n() >= 3) %>%
  slice(chull(NMDS1, NMDS2)) %>%
  ungroup()

hull_df$Group <- paste(hull_df$Tratamento,
  hull_df$Populacao, sep = "_")
scores_df$Group <- paste(scores_df$Tratamento,
  scores_df$Populacao, sep = "_")

# 10. Visualização gráfica do NMDS
# -----
color_map <- c(
  "Cichla" = "#1f77b4",
  "Hoplias" = "#ff7f0e",
  "Oreochromis" = "#9467bd",
  "Leporinus" = "#2ca02c"
)

shape_map <- c("COM" = 17, "SEM" = 16)

fill_map <- c(
  "Cichla_COM" = "lightblue",
  "Cichla_SEM" = "skyblue",
  "Hoplias_COM" = "lightpink",
  "Hoplias_SEM" = "pink",

```

```

"Oreochromis_COM" = "plum",
"Oreochromis_SEM" = "thistle",
"Leporinus_COM" = "palegreen3",
"Leporinus_SEM" = "palegreen1"
)

p <- ggplot(scores_df,
  aes(x = NMDS1, y = NMDS2,
    color = Tratamento,
    shape = Populacao)) +

  geom_polygon(data = hull_df,
    aes(fill = Group),
    alpha = 0.2,
    color = NA,
    inherit.aes = FALSE,
    show.legend = FALSE) +

  geom_point(size = 4, alpha = 0.9) +

  geom_segment(data = vec_scores,
    aes(x = 0, y = 0,
      xend = NMDS1 * 1.5,
      yend = NMDS2 * 1.5),
    inherit.aes = FALSE,
    arrow = arrow(length = unit(0.25, "cm")),
    linewidth = 0.7) +

  geom_text(data = vec_scores,
    aes(x = NMDS1 * 1.07,
      y = NMDS2 * 1.07,
      label = var),
    inherit.aes = FALSE,
    size = 4) +

  scale_color_manual(values = color_map) +
  scale_fill_manual(values = fill_map) +
  scale_shape_manual(values = shape_map) +

  labs(title = "NMDS – Populações com e sem experiência",
    subtitle = paste("Stress =", round(nmds$stress, 3)),
    x = "NMDS1",
    y = "NMDS2",
    color = "Tratamento",
    shape = "População") +

  theme_minimal(base_size = 14) +
  theme(
    plot.title = element_text(face = "bold",
      size = 16, hjust = 0.5),

```

```
plot.subtitle = element_text(size = 13,  
                              hjust = 0.5),  
legend.title = element_text(face = "bold"),  
panel.grid.major = element_line(color = "gray85",  
                                 linewidth = 0.3)  
)  
print(p)
```

Anexo II

AUTORIZAÇÃO

A proposta de pesquisa intitulada “Testando a teoria da ingenuidade ecológica: reconhecimento do predador introduzido *Cichla kelberi* por uma presa nativa” registrada com o protocolo N° 06/2025, sob a responsabilidade de [Caroline Henn](#), que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA ITAIPU BINACIONAL / MARGEM ESQUERDA, em reunião de 29/08/2025. Esta autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do envio do relatório final de execução do projeto para sua emissão.

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	31/12/2025
Espécie/linhagem/raça	<i>Astyanax lacustris</i> <i>Cichla kelberi</i> <i>Leporinus friderici</i> <i>Hoplias mbigua</i> <i>Oreochromis niloticus</i>
Nº de animais	200
Peso/Idade	5g - <i>Astyanax lacustris</i> Cerca de 500g - demais espécies
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Canal da Piracema Reservatório de ITAIPU

Foz do Iguaçu, 09/09/2025

Aline Luiza Konell
Vice-coordenadora da CEUA

