Mariene Mitie Nomura

**Efeitos dos ciclos de iluminação e de marés
na ritmicidade da atividade locomotora de
Bathygobius soporator (Valenciennes 1837)
(Teleostei: Perciformes: Gobiidae)**

São Paulo

2008

Mariene Mitie Nomura

**Efeitos dos ciclos de iluminação e de marés
na ritmicidade da atividade locomotora de
Bathygobius soporator (Valenciennes 1837)
(Teleostei: Perciformes: Gobiidae)**

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo,
para a obtenção de Título de Doutor em
Ciências, na Área de Zoologia.

Orientadora: Profa Dra Eleonora Trajano

São Paulo

2008

Nomura, Mariene Mitie

Efeitos dos ciclos de iluminação e de marés na ritmicidade da atividade locomotora de *Bathygobius soporator* (Valenciennes 1837) (Teleostei: Perciformes: Gobiidae)

79 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia.

1. Cronobiologia 2. Ritmo circadiano
3. Ritmo circa-maré 4. Peixes Gobiidae

I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Profa Dra Eleonora Trajano

Aos meus pais, Mario e Marina,
por tudo

AGRADECIMENTOS

À Profa Dra Eleonora Trajano pela amizade, orientação e conselhos durante o projeto, sem os quais este não teria sido realizado e concluído. Pelo apoio às minhas escolhas, e puxões de orelha e “croques” quando necessários.

Ao Prof. Luiz Menna-Barreto e toda equipe do GMDRB (Grupo Multidisciplinar de Desenvolvimento e Ritmos Biológicos), em especial Maria Raquel de Carvalho e Leandro Lourenção Duarte, pelos conselhos e idéias, discussões sobre cronobiologia e estudos de textos sobre peixes, que permitiram a realização deste projeto.

À Profa Dra Valéria Flora Hadel e ao Prof. Dr. Cláudio Gonçalves Tiago pela amizade, apoio, valiosos conselhos de como este trabalho deveria ser encaminhado; por disponibilizarem computadores, espaço e tempo para dividir seus conhecimentos.

Aos meus pais, Mario e Marina Nomura, à minha irmã Mariliza (Lika), que sempre estiveram ao meu lado, mesmo quando eu estava longe, e que sempre me apoiaram e me incentivaram em todas as minhas escolhas.

Ao meu marido Aric que me deu o que faltava, trouxe muitas risadas, tirou momentos tensos e estive o tempo todo ao meu lado na finalização deste trabalho, com seu apoio e amor incondicionais.

Aos meus novos parentes, que vieram num pacote muito bom: meus sogros Jan e Dick, Tia Nette, Vó Lois, Vó Grover que foram companhia constante durante a redação da tese.

Aos colegas do CEBIMar, em especial à Alice, Fernando, Leandro, Cynthia Santos, Almir, Gisele, Cleide, Isabel, Rafaella e Miriam, pela maravilhosa convivência ao longo de todos esses anos, amizade, apoio, ajuda e companhia nos momentos de alegria ou de dificuldades.

A todos os funcionários do CEBIMar por todo o carinho, os serviços prestados, ajuda nas coletas, montagem e manutenção de equipamentos em laboratório, e na obtenção de livros e artigos científicos.

Ao CEBIMar – Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo, pela infra-estrutura e mão-de-obra cedidos para que o projeto fosse realizado.

Ao Departamento de Zoologia, pela infra-estrutura.

Ao CAPES – Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida.

Ao CAPES-PROAP e à Pró Reitoria de Pesquisa pelos recursos liberados para realização de viagens de campo.

ÍNDICE

Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. Introdução.....	3
2. Justificativa.....	10
3. Objetivos.....	12
4. Material e Métodos.....	13
4.1. Trabalho de campo.....	14
4.1.1. Área de estudo.....	14
4.1.2. Coleta de exemplares.....	16
4.2. Trabalho de laboratório.....	17
4.2.1. Manutenção de exemplares.....	18
4.2.2. Registro da atividade locomotora.....	19
4.2.3. Controle da luminosidade.....	20
4.2.4. Controle da turbulência da água.....	22
4.2.5. Controle da variação na altura da coluna d'água.....	22
4.2.6. Experimentos.....	23
4.2.6.1. Ciclo de luz.....	23
4.2.6.2. Ciclo de marés: turbulência da água.....	23
4.2.6.3. Ciclo de marés: variação na altura da coluna d'água.....	24
4.2.6.4. Ciclo de luz e de marés (turbulência) simultaneamente.....	24
4.3. Análise dos dados.....	25
5. Resultados.....	27
5.1. Ciclos de luz, claro/escuro (CE).....	27
5.2. Ciclos de turbulência da água.....	28
5.3. Ciclos de variação na altura da coluna d'água.....	29
5.4. Ciclos de luz e de turbulência da água simultaneamente.....	31
5.5. Síntese dos resultados.....	32
6. Discussão.....	35
7. Conclusões.....	42
8. Anexos.....	43
9. Referências Bibliográficas.....	70

RESUMO

Muitos trabalhos sobre comportamento consideram que os ritmos observados são simplesmente uma resposta aos estímulos ambientais. No entanto, desde o século XVIII, sabe-se que a temporização é real e muitos organismos exibem ritmos endógenos que são arrastados por *zeitgebers* ou "doadores de tempo". Para a grande maioria dos seres vivos, o principal *zeitgeber* é o ciclo claro/escuro (CE). No entanto, para os organismos das zonas entremarés, o ciclo das marés é tão importante quanto o ciclo de luz. A maré e seus componentes agindo como *zeitgeber* têm sido estudados com invertebrados e pouca atenção tem sido dada aos peixes que vivem nas zonas entremarés. Uma das espécies mais comuns destes ambientes é o *Bathygobius soporator*, conhecido como amborê, e o presente trabalho teve como objetivo verificar a presença de ritmicidade em sua atividade locomotora, avaliando as contribuições endógenas e exógenas dos ciclos de luminosidade, da variação da coluna d'água e da turbulência da água sobre este ritmo. Para isso, os amborês foram mantidos em aquários individuais onde as condições abióticas puderam ser controladas de acordo com os experimentos em andamento. A atividade locomotora foi registrada com câmeras de segurança e fontes de luz infravermelha acopladas a um vídeo "time-lapse" que fez o registro de um quadro a cada trinta segundos. As distâncias percorridas a cada trinta segundos foram categorizadas em quatro classes discretas, e esses valores foram agrupados a cada trinta minutos, compondo 48 pontos a cada 24 horas. A análise das séries temporais foi feita através do programa "El Temps" que gerou actogramas e periodogramas de Lomb-Scargle, que permitem identificar ritmos com períodos significativos. Diante dos resultados obtidos, pôde-se concluir que o ciclo CE e de variação na coluna d'água são *zeitgebers*, enquanto a turbulência é um agente mascarador para a ritmicidade locomotora dos amborês. Concluiu-se, também, que os relógios biológicos nos amborês não são rígidos e possuem acoplamento extremamente frágil, gerando uma alta plasticidade na expressão dos ritmos endógenos e exógenos, o que está de acordo com o modo de vida dos amborês observados no ambiente natural.

ABSTRACT

Many organisms' rhythms are considered to be simple reactions to the cyclical changes in the environment. However, the endogenous rhythms entrained by *zeitgebers* are well known and have been described for many organisms since the 18th century. Although the light/dark cycle (LD) is the main *zeitgeber* for most living beings, the tidal cycles are as important for the intertidal organisms. It has been studied as a *zeitgeber* mainly for invertebrates, and little attention has been given to the intertidal fish. *Bathygobius soporator*, also known as frillfin goby, is one of the most abundant species in the tropical intertidal zone, and this project was designed to verify the rhythmicity in its locomotor activity, and measure how the LD cycle, the cyclical change in water level, and the turbulence cycle affect the endogenous and/or exogenous aspects of this rhythm. The gobies were kept in individual aquariums where all abiotic conditions were controlled according to the requirements of each experiment. The locomotor activity was recorded with security cameras and infrared light bulbs connected to a time-lapse video recorder that taped one frame every thirty seconds. The distance moved by each fish every thirty seconds was categorized into four discrete classes. The values assigned to these classes of movements were added into thirty minutes blocks, thus giving 48 numbers for every 24 hours. The collected data was analyzed by the "El Temps" software that provided actograms and Lomb-Scargle periodograms which allowed the detection of rhythms and significant periods. The results led us to conclude that LD cycle and the cyclical change in water level are *zeitgebers* to locomotor activity of *B. soporator*, and that the turbulence is a masking agent. We could also affirm that the frillfin gobies' biological clocks are weak and have a very fragile coupling, giving the fish a malleable expression of their endogenous and exogenous rhythms. This concurs with the natural history of *B. soporator*.

1. INTRODUÇÃO

A coexistência de várias espécies em um mesmo hábitat é possível graças às diversas adaptações comportamentais, morfológicas e fisiológicas que permitem a ocupação diferenciada dos nichos ecológicos (Sabino & Castro, 1990; Gibson, 1972), cujas principais dimensões são a espacial, a alimentar e a temporal (Pianka, 1978).

O nicho espacial é representado pelos micro-hábitats que os organismos ocupam em um mesmo ambiente (Pianka, 1978). Já o nicho alimentar compreende a dieta e diversos padrões comportamentais para a obtenção de alimento (Keenleyside, 1979; Pianka, 1978). O nicho temporal é relativo às fases dos ciclos ambientais em que os organismos expressam atividade nas escalas diária, sazonal ou mesmo anual (Pianka, 1978).

Os comportamentos relacionados a um ciclo ambiental (dia e noite, estação do ano etc) são expressos de forma rítmica (Piet & Guruge, 1997). Além dos comportamentos, organismos vivos expressam variações fisiológicas e bioquímicas que também são rítmicas, e estas possuem períodos que podem variar desde segundos, como o ritmo cardíaco, até vários anos, como a formação dos anéis de crescimento em algumas plantas (Palmer, 1974).

Os ritmos que apresentam uma relação com um ciclo ambiental são mais óbvios e muitos trabalhos descrevem as fases desses ciclos (presença ou ausência de atividade alimentar, locomotora, migratória, reprodutiva etc) como respostas aos estímulos impostos pelos fatores bióticos e abióticos a que o organismo está exposto (eg. Piet & Guruge, 1997; Ross, 1986). No entanto, muitos trabalhos têm mostrado que alguns ritmos são endógenos, isto é, um ritmo em livre-curso continua a ser expresso pelos organismos mesmo quando os fatores ambientais são impostos de forma constante.

Os ritmos endógenos são controlados por sistemas internos de temporização que sofrem influência de variáveis ambientais cíclicas. Estas sincronizam tais ritmos por um

mecanismo denominado arrastamento, e o resultado é a coincidência dos períodos do ritmo endógeno e os do ciclo ambiental.

O período do ritmo expresso em livre-curso é ligeiramente diferente daquele exibido quando este está submetido aos ciclos ambientais. Daí o prefixo “circa” adotado para ritmos com períodos semelhantes ao do dia (circadianos), das marés (circa-marés) ou do ano (circanuais) (Marques et al., 2003). Um ritmo circadiano, por exemplo, que é expresso com período de 20 a 28 horas quando o organismo está em livre-curso, é sincronizado por arrastamento pelo ciclo claro/escuro ambiental e passa a ser expresso com um período exato de 24 horas. Essa diferença entre os períodos de um ciclo ambiental e os expressos em livre-curso é evidência da existência de um ritmo endógeno independente de qualquer variável periódica ambiental, mesmo que residual (Pittendrigh, 1960).

O sinal temporal ambiental cíclico responsável pela sincronização por arrastamento é chamado de *zeitgeber* ou doador de tempo (Volpato & Trajano, 2005; Marques et al., 2003). Além de ciclos geofísicos, ciclos de disponibilidade alimentar ou ciclos determinados pela organização social podem constituir *zeitgebers*, dependendo das características das espécies (Marques et al., 2003).

Outra característica do ritmo endógeno é a capacidade de antecipação, isto é, a atividade tem início antes da imposição de estímulo, o que permite a organização de recursos e atividades antes que esses sejam necessários sendo, portanto, uma vantagem adaptativa (Marques et al., 2003). A compensação à temperatura é outra característica dos ritmos endógenos, que permite a expressão de ritmo independentemente da temperatura (desde que dentro de uma faixa aceitável) a que o organismo está exposto (Marques et al., 2003; Palmer, 1974).

Os ritmos endógenos são forte evidência de que a temporização é uma realidade biológica (Sharma, 2003). Já foi demonstrada a existência dos “genes relógio” (“clock genes”) relacionados à ritmicidade que é, portanto, hereditária (Whitmore et al. 2000; Tamai et al., 2003). Todavia, nem todo ritmo expresso por um organismo é endógeno, e a existência e importância evolutiva destes não reduzem a importância dos ritmos exógenos, estes presentes como respostas imediatas às variações dos ciclos ambientais.

Os ritmos exógenos não são expressos em livre-curso e os ciclos ambientais sincronizam esses ritmos por um mecanismo chamado de mascaramento, sendo que sua importância na adaptação temporal é conferir plasticidade aos organismos (Volpato & Trajano, 2005; Marques *et al.*, 2003). Essa flexibilidade observada na ritmicidade biológica, juntamente com a variação individual dos ritmos endógenos capacita as espécies à adaptação temporal através da evolução dos sistemas de temporização (Marques & Waterhouse, 1994).

A ritmicidade de vários padrões comportamentais observada no hábitat natural é o resultado de interações entre mecanismos internos e oscilações externas (Rotenberg *et al.*, 2003). Determinar o quanto esta ritmicidade é influenciada por fatores endógenos e exógenos tornou-se, nos últimos anos, tema de diversos trabalhos (eg. Gray & Hodgson, 1999; Kim *et al.*, 1999; McFarland, 1986).

Os ritmos circadianos relacionados ao ciclo claro/escuro (CE), um *zeitgeber* presente na maioria dos ambientes, são os mais estudados e estão presentes em diversos grupos de organismos (Helfman, 1993; McFarland, 1986). Na literatura ictiológica, ritmos circadianos são vastamente encontrados, como no caso de *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae, "rainbow trout"), *Danio rerio* (Cyprinidae, "zebrafish") e *Carassius auratus* (Cyprinidae, "goldfish"), que expressam atividade locomotora com maior intensidade nas fases claras do ciclo diário (Bolliet *et al.*, 2001; Hurd *et al.*, 1998; Iigo & Tabata, 1996; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1996), enquanto peixes *Tinca tinca* (Cyprinidae, "tench") e *Silurus glanis* (Siluridae, "European catfish") são noturnos, isto é, expressam atividade locomotora predominantemente na fase escura (Herrero *et al.*, 2003; Bolliet *et al.*, 2001).

Outros exemplos de comportamentos rítmicos em peixes, que não a atividade locomotora, também são encontrados na literatura. Como exemplos, temos o labrídeo *Halichoeres chrysus* ("yellow wrasse"), que antecipa em cerca de 50 minutos a fase da noite escondendo-se em tocas ou sob a superfície da areia (Gerkema *et al.*, 2000), e a enchova *Trachinotus carolinus* (Carangidae, "Florida pompano"), cuja atividade alimentar sofre influência da luz e é expressa quase que exclusivamente nas fases claras do ciclo (Heilman & Spieler, 1999).

Em todos esses trabalhos, uma parte dos indivíduos observados apresentou-se arrítmicos ou com uma fase de atividade diferente da maioria dos peixes, evidência de que a ritmicidade nos peixes é muito plástica e exibe uma grande variação individual, diferentemente do que ocorre em mamíferos (Volpato & Trajano, 2005; Reeb, 2002).

Nas áreas marinhas costeiras, além dos ciclos de luz, os ciclos das marés, com período aproximado de 12,4 horas, e seus componentes (agitação da água, subida e descida do nível da água, variação de temperatura, salinidade, pH e concentração de gases dissolvidos) também são sinais temporais para os organismos que ali vivem (Gibson, 1992). A variação da maré impõe extremos ecológicos e a capacidade desses organismos em prever tais mudanças é importante para a sua sobrevivência (Gibson, 1993). Todos esses ciclos ambientais podem apresentar uma relação hierárquica entre si e atuar de forma concomitante, mas com forças diferentes, na sincronização das atividades rítmicas dos organismos das zonas entremarés (Carvalho, 2006; Marques *et al.*, 2003).

Poças de maré são ambientes costeiros que sofrem influência direta das marés, sendo formadas durante as marés baixas, quando uma pequena porção de água fica retida em depressões da zona entremarés (Fangue *et al.*, 2001). As poças são ambientes únicos (Ganning, 1971) e os animais que ali vivem estão sujeitos à ação das marés e às mudanças acentuadas e bruscas de seus fatores físico-químicos (Metaxas & Scheibling, 1993). Essas variações podem ter amplitudes elevadas, dependendo da insolação, dos ventos e do volume de água na poça (Ganning, 1971; Barlow, 1958). Várias espécies de peixes são encontradas nesses ambientes, algumas ocasionalmente, outras ao longo de todo o ano e em qualquer fase do seu ciclo de vida, sendo então chamadas de “residentes” (Rosa *et al.*, 1997; Gibson, 1993; Grossman, 1982). Para sobreviver nas poças de maré, muita dessas espécies possuem adaptações fisiológicas para lidar com as variações extremas nas condições físico-químicas (*eg.* Rantin *et al.*, 1998; Bond, 1996), e adaptações comportamentais, como a procura de abrigo e sombra durante as horas mais quentes e com maior insolação do dia (Fangue *et al.*, 2001; Barlow, 1958).

Peixes que ocupam regiões costeiras também exibem uma variedade de comportamentos que são sincronizados pelo ciclo das marés (Horn *et al.*, 1999; Gibson, 1992). Nas zonas costeiras tropicais, representantes das famílias Cottidae

(Scorpaeniforme), e Pholidae, Stichaeidae, Gobiidae e Gobiesocidae (Perciformes) são as mais abundantes, apresentando algumas características em comum, tais como a forma do corpo, que é geralmente deprimido, e o pequeno porte, raramente acima de 15 cm ou 20 cm de comprimento-padrão (Gibson, 1993).

A maioria dos trabalhos sobre ritmos em peixes de áreas costeiras disponíveis na literatura descreve as atividades cíclicas a partir de observações realizadas no habitat natural, não sendo possível afirmar se o ritmo é exógeno ou endógeno, isto é, se o padrão rítmico exibido é uma resposta imediata do organismo às alterações ambientais cíclicas, ou se é um ritmo regulado por um sistema de temporização interno e arrastado pelos fatores ambientais.

A principal atividade cíclica observada e descrita na literatura para peixes costeiros é o deslocamento dos peixes para as regiões entremarés durante a maré alta e seu retorno para o infralitoral durante a maré baixa, o que evita exposição ao ar. Este comportamento é exibido, por exemplo, por *Cebidichthys violaceus* (Stichaeidae) (Ralston & Horn, 1986) e *Pleuronectes platessa* (Pleuronectidae) (Gibson, 1973). O deslocamento sincronizado com as marés também foi observado em peixes que vivem em poças de maré. *Bathygobius soporator* (Gobiidae), por exemplo, desloca-se para as áreas inundadas da zona entremarés durante as marés altas e abrigam-se nas poças durante as marés baixas (Nomura, 2004; Palmer, 1995; Aronson, 1951). Dados sobre ciclos de atividade alimentar em peixes relacionados com as marés foram descritos para *Trematomus borchgrevinki* (Nototheniidae) (Hoshiai, 1980), *P. platessa* (Kuipers, 1973), e *Acanthogobius flavimanus* e *Gobius minutus* (Gobiidae) (Kanou *et al.* 2005; Healey, 1971). Essas espécies exibem um aumento considerável na quantidade de alimento capturado e ingerido durante a subida das marés.

Algumas espécies de peixes de áreas costeiras foram estudadas em condições constantes em laboratório. Os resultados mostram que a atividade locomotora destas espécies possui ritmo circa-maré quando em livre-curso. São exemplos: *Coryphoblennius galerita* e *Lipophrys (Blennius) pholis* (Blenniidae) (Gibson, 1970; Gibson, 1967; Gibson, 1965), *Anguilla anguilla* e *A. japonica* (Anguillidae) (Edeline *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2002), *Zoarcetes viviparus* (Zoarcidae) (Cummings & Morgan, 2001), *Pleuronectes platessa* (Pleuronectidae) (Burrows *et al.*, 1994), *Tomicodon*

humeralis e *Gobiesox pinniger* (Gobiesocidae) (Gollub, 1974 *apud* Gibson, 1978), *Blennius cristatus* (Blenniidae) (Stahl, 1973 *apud* Gibson, 1978), *Trinectes maculatus* (Achiridae) (O'Connor, 1972), e *Acanthocottus bubalis* (Cottidae) (Gibson, 1967). No entanto, poucos estudos foram realizados com o objetivo de se verificar de que forma ou quais componentes das marés agiriam como *zeitgebers* para os ritmos dos peixes que vivem nas zonas entremarés (Volpato & Trajano, 2005).

Já a ritmicidade de invertebrados influenciada pelas marés vem sendo extensivamente estudada. Esses trabalhos demonstram que um único fator dentre os vários que compõem a maré pode ser suficiente para sincronizar o ritmo nos organismos. A movimentação da água nas cheias e vazantes sincroniza a atividade natatória de fêmeas ovígeras e a liberação de larvas em decápodos braquiúros, como *Callinectes sapidus*, *Macrophthalmus hirtipes*, *Hemigrapsus sanguineus*, *Sesarma reticulatum* e *Dissodactylus mellitae* (Forward Jr *et al.*, 2003; Williams, 1998; Saigusa & Kawagoye, 1997; Morgan, 1996); a variação na pressão hidrostática sincroniza a atividade natatória do crustáceo peracarido *Dimorphostylis asiatica* (Akiyama, 1997); a agitação mecânica sincroniza a atividade locomotora do decápodo anomuro *Emerita talpoida* e do anfípodo *Gammarus finmarchicus* (Forward *et al.*, 2005; Gusev & Golubev, 2001); a variação na salinidade sincroniza o consumo de oxigênio no bivalve *Ruditapes philippinarum* (Veneridae) e a atividade natatória no crustáceo decápodo *Callinectes sapidus* (Kim *et al.*, 2001; Welch & Forward, 2001); e a exposição cíclica ao ar sincroniza a atividade alimentar do bivalve *Mya arenaria* (Myidae) e a atividade locomotora do gastrópodo *Helcion pectunculus* (Patellidae) (Gusev & Golubev, 2001; Gray & Hodgson, 1999).

No caso dos peixes de zonas entremarés, foram encontradas publicações referentes a duas espécies, o bleniídeo *Lipophrys pholis* e o gobiídeo *Gobius paganellus*. Ciclos de temperatura, agitação mecânica da água ou alimentação foram usados em uma tentativa, sem sucesso, de sincronizar a atividade de *L. pholis* em laboratório (Gibson, 1971). Por outro lado, indivíduos arrítmicos voltam a expressar ritmo circa-maré após serem submetidos a ciclos de variação na pressão hidrostática (Gibson, 1971). Este resultado foi confirmado posteriormente por Northcott *et al.* (1991a,b), que também demonstraram que este fator altera a fase de atividade de

indivíduos rítmicos, isto é, adianta ou atrasa o pico da atividade locomotora do animal dependendo do momento em que o estímulo é imposto. Os resultados obtidos para *G. paganellus* não são tão claros, mas a pressão hidrostática também é um *zeitgeber* para a atividade locomotora desse gobiídeo (Northcott, 1991). Morgan & Cordiner (1994) repetiram alguns experimentos com *L. pholis* e sincronizaram e alteraram a fase do ritmo de indivíduos arrítmicos com o ciclo de agitação mecânica da água, demonstrando assim que este componente da maré é também um *zeitgeber* para a atividade locomotora deste bleniídeo.

A espécie nominal *Bathygobius soporator* é uma das espécies mais abundantes nas zonas entremarés do Atlântico. Incluída na subordem Gobioidaei, *B. soporator* pertence à família Gobiidae, que é considerada monofilética e que inclui 212 gêneros e 1.875 espécies (Pezold, 1993; Nelson, 1984). Também conhecido como amorê, *B. soporator* tem uma distribuição registrada para a África ocidental tropical, do Senegal a Luanda, e Atlântico oriental, das Ilhas Bermudas e Flórida (EUA) até o Estado do Rio Grande do Sul, no Brasil (Menezes *et al.*, 2003; Miller & Smith, 1989).

Os amorês são considerados um dos peixes mais comuns nas áreas litorâneas, e podem ser encontrados em desembocaduras de rios e manguezais até as zonas recifais, mas sempre com hábitos bentônicos e em águas rasas com menos de um metro de profundidade. Frequentemente são observados em poças de maré (Garzón-Ferreira & Acero, 1992; Tavalga, 1950a; Beebe, 1931).

Em campo, a atividade locomotora de *B. soporator* é mais intensa nas fases de subidas das marés, mesmo quando isto ocorre nas fases escuras do ciclo diário (Nomura, 2004). Antes mesmo que a água do mar invada a poça, os indivíduos já se deslocam para a borda da poça e nadam para as áreas inundadas na maré alta, voltando à poça na maré baixa subsequente (Martins *et al.*, 2006; Nomura, 2004; Aronson, 1951). Por outro lado, os animais apresentam atividade alimentar somente nas fases diurnas e crepusculares vespertinas, tendo sido observados letárgicos quando as poças eram formadas nas fases noturnas.

2. JUSTIFICATIVA

Os estudos acima citados indicam que, no hábitat natural, *Bathygobius soporator* tem sua ritmicidade sincronizada com os ciclos das marés e de luz. No entanto, como os fatores abióticos e suas oscilações não puderam ser controlados isoladamente, a caracterização dos ritmos não foi devidamente realizada uma vez que respostas simultâneas às mudanças da intensidade luminosa podem modificar as atividades sincronizadas com o ciclo de marés e vice-versa, o que leva a um complexo de padrões comportamentais cuja natureza exata depende da relação de fase entre os ciclos diários e de marés (Gibson, 1992). Em laboratório, os fatores abióticos podem ser isolados, variando-se somente um deles. Dessa forma, a caracterização da ritmicidade de um determinado comportamento pode ser feita com mais exatidão.

Os peixes, apesar da sua grande diversidade, têm recebido pouca atenção e grande parte dos trabalhos utiliza espécies ornamentais de água doce. Como o conhecimento a respeito de aspectos cronobiológicos da biologia dos peixes marinhos, em especial dos que vivem nas zonas entremarés, é escasso, pretendeu-se estudar *B. soporator* da região de São Sebastião, como modelo que ajudará a melhor compreender como estes ciclos agem sobre a atividade de peixes das regiões entremarés.

A espécie *B. soporator* foi escolhida como sujeito experimental por serem peixes abundantes em poças de maré das praias do município de São Sebastião. Sua manutenção em cativeiro é relativamente simples devido ao pequeno porte e por serem onívoros, podendo ser alimentados com rações industrializadas. Além disso, são resistentes a variações de temperatura, salinidade e pH da água (Rantin *et al.*, 1998; Garzón-Ferreira & Acero, 1992; Tavalga, 1950a). Além disso, dados importantes sobre a biologia dessa espécie foram coletados por mim durante a realização dos projetos de Iniciação Científica e Mestrado. Essas informações obtidas em campo ajudaram a interpretar os resultados dos experimentos realizados em laboratório, além de permitir que as inferências a respeito da ritmicidade locomotora desses animais e a influência da luz e de alguns dos componentes das marés sejam feitas de forma mais concreta.

São Sebastião foi o município escolhido devido à presença de poças de marés em locais de fácil acesso para a coleta de exemplares. A Praia de Calhetas, em particular, apresenta diversas poças de maré formadas nas marés baixas, onde indivíduos de *B. soporator* puderam ser facilmente encontrados e capturados com puçás e sacos plásticos. Além disso, esta praia é próxima ao Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo (CEBIMar-USP), em cujos laboratórios os experimentos foram realizados, o que minimizou o tempo de transporte dos peixes. O CEBIMar-USP ainda oferece toda infra-estrutura necessária com mão-de-obra, embarcações para as coletas e espaço adequados para a montagem e manutenção dos aquários e equipamentos usados no registro da atividade locomotora de *B. soporator*.

3. OBJETIVOS

- Verificar a presença e descrever a ritmicidade na atividade locomotora de *Bathygobius soporator* em laboratório;
- Avaliar as contribuições endógenas e exógenas dos ciclos de luminosidade, de variação da altura na coluna da água e da turbulência da água nos ritmos da atividade locomotora desses animais.
- Estabelecer uma possível relação hierárquica entre os ciclos de luz e de turbulência da água na sincronização de ritmo da atividade locomotora em *B. soporator*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Bathygobius soporator (Figura 1) é de pequeno porte, com comprimento total máximo conhecido de 16,5 cm (Menezes & Figueiredo, 1985). No entanto, os exemplares utilizados nos experimentos possuíam entre 3 cm e 5 cm de comprimento-padrão, faixa de tamanho mais abundante no local das coletas, devido ao tamanho dos aquários disponíveis para os experimentos.

Figura 1: Exemplar de *Bathygobius soporator* (comprimento-padrão aproximado de 8 cm) em uma poça de maré formada no Istmo do Baleeiro, Praia do Segredo, em São Sebastião, SP.

Os amborês apresentam atividade locomotora em surtos, com deslocamentos curtos, rápidos e repentinos, que puderam ser observados tanto em laboratório (Tavolga, 1950a, Beebe, 1931) quanto em poças de maré nas praias de São Sebastião (Nomura, 2004). As nadadeiras ventrais nos amborês são unidas formando uma espécie de ventosa que permite uma melhor aderência ao substrato, conferindo uma adaptação à vida bentônica em áreas costeiras (Beebe, 1931).

É possível que o nome *Bathygobius soporator* esteja sendo usado para mais de uma espécie. A distribuição registrada para *B. soporator* é ampla (Menezes *et al.*, 2003), mas inconsistente com a biologia desses animais. Larvas de amborês da Flórida precisam de águas com salinidade em torno de 28 ‰ para que se desenvolvam, menor do que a água dos oceanos que é, em média, 35 ‰ (Peters, 1983), e as larvas dos amborês de Bimini, nas Bahamas, precisam de água do mar 50 ‰ (diluída em água destilada) para sobreviver (Tavolga, 1950b). Além disso, essas larvas ficam em águas rasas (Tavolga, 1950b), e os adultos não devem migrar grandes distâncias uma vez que exibem fidelidade à poça ou toca (Martins *et al.*, 2006; Beebe, 1931). Uma revisão do gênero se faz necessária, podendo haver instabilidades taxonômicas (Menezes *et al.*, 2003).

4.1. Trabalho de campo

4.1.1. Área de estudo

Os exemplares de *B. soporator* foram coletados em poças de maré na Praia de Calhetas (23° 49' 51" S – 45° 31' 14" W). A parte norte desta praia (Figura 2) possui inúmeras rochas de diversos tamanhos, entremeadas por areia, onde a água do mar fica retida em diversas depressões durante a marés baixas, formando assim, as poças de maré. As dimensões e locais exatos das poças, bem como a fisionomia do local, variam diariamente.

As poças de maré na Praia de Calhetas possuem pequenas dimensões, com no máximo 1 m de diâmetro. Na parte mais funda das poças mais distantes da linha do mar, a profundidade varia entre 10 cm nas marés baixas e 25 cm nas marés altas. Como a água é sempre transparente, a intensidade luminosa no fundo da poça é semelhante à da superfície. O fundo das poças é coberto por pequenas rochas com no máximo 10 cm de diâmetro que fornecem sombra e são utilizadas como tocas pelos amborês.

A

B

Figura 2: (A) Costão norte da Praia de Calhetas, local de coleta dos exemplares de *Bathygobius soporator*. (B) Detalhe de poça de maré formada entre as rochas do costão.

A amplitude anual das marés medida para o Porto de São Sebastião é de 1,2 m (Marinha do Brasil: Diretoria de Hidrografia e Navegação, 2004), mas a amplitude da variação da altura da água sobre as poças é menor, dependendo da distância entre local onde se forma e a linha d'água na maré baixa. O fotoperíodo da região é de aproximadamente CE 11:13h no inverno e de CE 13:11h no verão (Observatório Nacional, 2004) e a temperatura média anual da água medida na Ponta do Jarobá, próximo à Praia do Araçá, variou entre 22,4 °C e 25,0 °C entre 1980 e 1999, sendo a mínima de 16,5 °C em 1989 e a máxima de 32,5 °C em 1994 (Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo, 2004).

4.1.2. Coleta de exemplares

A coleta, realizada nas marés baixas das fases diurnas, foi feita com puçás e sacos plásticos, e os animais transportados para o CEBIMar em sacos plásticos individuais dispostos em caixa isotérmica. O transporte, sempre de barco, durava no máximo 90 minutos, dependendo das condições do mar, e os animais eram imediatamente transferidos para os aquários experimentais, onde as filmagens tinham início em até 36 horas.

No total, 52 amborês foram coletados e cada um utilizado uma única vez nos experimentos. Descartou-se, no momento da coleta, amborês com ferimentos no corpo ou com nadadeiras danificadas. Também se evitou a coleta de indivíduos em tocas com desovas, uma vez que estes exibem alterações em seu comportamento, quase não deixando a toca, nem mesmo para o forrageio, até que os ovos eclodam (Tavolga, 1956; Breder Jr, 1943). Outros sete exemplares foram coletados em 20 de setembro de 2006 e estão depositados como material testemunho no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, sob o número MZUSP 94010. Após os experimentos, os indivíduos foram mantidos em aquários e tanques de manutenção e devolvidos ao ambiente natural somente após o fim de todos os testes, para se evitar a recaptura dos animais.

4.2. Trabalho de laboratório

Testes preliminares foram realizados para se adequar a metodologia dos experimentos e da coleta de dados. Para estes testes, animais foram coletados e mantidos em tanques de manutenção com água corrente, ciclos de luz ambiental, sem sinais temporais relacionados às marés, e com alimento industrializado (Marca Alcon, variedade Marin Flakes) oferecido de forma irregular. Os animais foram mantidos por pelo menos sete dias nestes tanques antes de serem transferidos para os aquários de experimentação.

Nos testes preliminares, os aquários de experimentação não continham tocas, aeração ou água corrente, e não se ofereceu alimento aos animais. Para os testes, quatro peixes foram filmados sob luminosidade ambiental natural, ciclos CE 12:12h com simulação de crepúsculo por trinta minutos, ou sob turbulência da água de uma hora a cada 12 horas. Todos os animais se mostraram arrítmicos mesmo depois do estímulo ser imposto por sete dias e cerca de 75 % destes deixaram de exibir qualquer tipo de atividade locomotora a partir do quarto dia. Após o décimo dia, muitos indivíduos passaram a morrer, provavelmente de inanição.

Na tentativa de se evitar a entrada do experimentador no laboratório, um bloco alimentador foi testado (alimentador para 15 dias, marca Holiday), mas este se deteriora e os amborês passam a recusar o alimento liberado. Assim, optou-se por alimento industrializado em flocos para peixes marinhos (Marca Alcon, variedade Marin Flakes). O pesquisador entrou no laboratório e alimentou apenas metade dos indivíduos que estavam sendo monitorados. Isso mostrou que os amborês respondem à presença do alimento com uma maior atividade locomotora, mas não respondem à presença do pesquisador, uma vez que não houve alteração na atividade dos exemplares não alimentados.

Para se determinar a melhor janela temporal a ser adotada para a espécie, filmagens contínuas foram feitas com animais recém-coletados, em aquários com tocas, aeração e alimento oferecido irregularmente, sob luminosidade natural, e sem sinais temporais relacionados às marés. A partir destes testes preliminares, estabeleceram-se os protocolos a seguir.

4.2.1. Manutenção de exemplares

Os peixes foram transferidos diretamente para aquários individuais de experimentação, cujas medidas são de 34 cm x 18 cm x 30 cm (altura). Todas as laterais dos aquários foram cobertas com placas de isopor, impedindo qualquer contato visual entre os indivíduos que estavam em experimento, uma vez que os amborês exibem padrões comportamentais agonísticos, como o aumento da atividade locomotora, na presença de outros indivíduos da mesma espécie ou de espécies diferentes (Nomura, 2004).

A temperatura da água foi mantida constante em $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com o uso de aparelho condicionar de ar que ficou ligado ininterruptamente. A intensidade luminosa foi mantida ou alterada de acordo com o experimento em andamento (ver os protocolos abaixo), com a utilização de temporizadores mecânicos, conhecidos como “timers” (127V/220V 60Hz, marca Brasfort), e de resistores variáveis, conhecidos como “dimmers”. Para simular a turbulência da água ou para a retirada de água, cada aquário era equipado com uma bomba de circulação de água (marca Champion, modelo CX-300, potência 14W/16W) que era ligada ou desligada de acordo com o protocolo do experimento em andamento (ver os protocolos abaixo).

Nos experimentos preliminares, verificou-se que os amborês permaneciam letárgicos na falta de água corrente e na ausência de tocas. O CEBIMar conta com água do mar filtrada encanada, o que permitiu que os aquários de observação fossem mantidos com água do mar corrente. Nos experimentos com ciclos de luz, frascos plásticos pretos de filmes fotográficos vazios foram disponibilizados como tocas. Como nos experimentos com ciclos de marés os peixes utilizaram o espaço entre a bomba e a parede do aquário como tocas, mesmo quando estas estavam em funcionamento, não se disponibilizou os frascos.

Alimento industrializado em flocos foi fornecido pelo pesquisador de forma irregular para impedir que os amborês tivessem outro sinal temporal, já que peixes que são alimentados nas mesmas horas do dia podem passar a expressar ritmicidade sincronizada com a alimentação (Boujard & Leatherland, 1992).

4.2.2. Registro da atividade locomotora

A maioria dos trabalhos em cronobiologia de comportamentos de peixes é feita com a utilização de fotocélulas de luz infravermelha. As fotocélulas emitem constantemente feixes de luz infravermelha que são captados por receptores, e um evento de atividade é registrado todas as vezes que o feixe de luz é interrompido pela passagem do peixe (e.g. Hurd *et al.*, 1998; Iigo & Tabata, 1996; Naruse & Oishi, 1994).

Os amborês são bentônicos o que impede a detecção de atividade por fotocélulas dispostas nas paredes dos aquários. Esses animais deslocam-se em pequenos surtos com menos de um minuto de duração e exibem muitos movimentos sem deslocamento, como giros em torno do próprio corpo ou simplesmente movimentos da cabeça. Esse tipo de movimento não é detectado por fotocélulas dispostas no sentido vertical do aquário. Assim, optou-se pelo uso de câmeras de segurança (eg. Burrows & Gibson, 1995). dispostas sobre os aquários e que estavam conectadas a fontes de luz infravermelha (Figura 3a), o que permitiu o registro de imagens na ausência de luminosidade. As câmeras foram conectadas a um Quad (B/W Quad Processor, marca Kean, modelo KA-104), equipamento que permite o registro simultâneo de imagens capturadas por até quatro câmeras (Figura 3b). O Quad foi conectado a um aparelho de vídeo cassete com opção “time-lapse” (Time Lapse Recorder, marca LG, modelo TL-AT130M, registro de até 960 horas contínuas com fita VHS comum de duas horas), que permite o ajuste para captura de somente um quadro dentro de um intervalo determinado de tempo.

No presente trabalho, o vídeo foi ajustado para captura de uma imagem (quadro) a cada 30 segundos. Janelas temporais para coleta de dados são espécie-específicas e experimentos preliminares com *B. saporator* mostraram que a duração dos pulsos de atividade é geralmente menor do que um minuto, mas que inspeções a cada dez, quinze, vinte ou trinta segundos geram os mesmos resultados similares. Daí a escolha da janela temporal de 30 segundos. As imagens eram inspecionadas quadro-a-quadro, observando-se a distância percorrida pelo animal a cada 30 segundos. Essas distâncias foram categorizadas em classes discretas: (0) ausência de atividade, (1) movimento do corpo sem deslocamento, (2) deslocamento até a metade da maior distância do fundo do

aquário, e (3) deslocamento superior à metade da maior distância do aquário. Esses valores anotados a cada 30 segundos foram, então, agrupados em intervalos de trinta minutos, compondo 48 pontos a cada 24 horas.

4.2.3. Controle da luminosidade

Para os experimentos com o objetivo de se verificar como o ciclo CE influencia a atividade locomotora de *B. soporator*, uma lâmpada incandescente comum (100 Watts) foi disposta sobre cada aquário a uma altura de 50 cm da coluna d'água, permitindo uma luminosidade máxima de 550 lux na superfície da água, o que simularia a fase de claro em um dia nublado. A adição de mais uma lâmpada e, portanto, aumento da intensidade luminosa e da temperatura na superfície da água, gerou a proliferação de algas nos aquários, o que impedia a visualização adequada dos animais. A fase de escuro foi simulada com a ausência de luz (0 lux) e especial atenção foi dada para que não houvesse entrada de luz no laboratório durante a realização dos experimentos, vedando-se todas as possíveis frestas e as janelas.

Os crepúsculos matutinos e vespertinos, com duração de trinta minutos cada, foram simulados com a variação contínua na intensidade luminosa de 550 a 0 lux, e vice-versa. Para tal, as lâmpadas incandescentes foram conectadas a resistores variáveis, (Figura 3c) e a manipulação do interruptor era feito de forma gradual em sete etapas: uma diminuição ou um aumento a cada cinco minutos.

A

B

C

Figura 3: Equipamentos utilizados nos experimentos. (A) Câmera de segurança no interior do canhão de luz infravermelha. (B) Quad, vista da frente e de trás, que permite a gravação simultânea de imagens capturadas por até quatro câmeras. (C) Resistor variável, também conhecido como “dimmer”, que permite variar a intensidade luminosa e simular as fases de crepúsculo matutino e vespertino.

4.2.4. Controle da turbulência da água

Conforme mencionado, bombas de circulação de água para aquários foram utilizadas nos experimentos realizados para se verificar como os ciclos de turbulência da água, causada pelas ondas na subida e descida das marés, interferem no ritmo da atividade locomotora de *B. soporator*. Utilizando-se os temporizadores mecânicos, as bombas eram ligadas por uma hora em cada ciclo de maré, tendo este período 12 ou 13 horas. Nesses experimentos, a condição constante foi de claro (550 lux) e ausência de turbulência.

4.2.5. Controle da variação na altura da coluna d'água

Bombas de circulação de água para aquários foram utilizadas nos experimentos realizados para se verificar como os ciclos na variação da altura da coluna d'água, causada pela subida e descida das marés, interferem no ritmo de atividade locomotora de *B. soporator*.

Para tanto, canos foram acoplados à saída das bombas para que a água fosse retirada dos aquários. Para que a coluna d'água, inicialmente com 30 cm, atingisse 4 cm de altura nos aquários, simulando a maré baixa, as bombas eram ligadas por 15 minutos. Como os aquários estavam em sistema de água corrente com entrada permanente de água, o aumento na coluna d'água era atingido com o desligamento das bombas. Utilizaram-se canos de pequeno calibre, de tal modo que o intervalo de tempo para se atingir a altura máxima do aquário foi de 40 minutos. O ligamento e o desligamento das bombas foram controlados com o uso de temporizadores mecânicos. Nesses experimentos, a condição constante foi de claro (550 lux) e maré alta (altura máxima).

4.2.6. Experimentos

4.2.6.1. Ciclo de luz

Doze indivíduos, identificados pelos códigos CE1 a CE12, foram submetidos a três dias em condições constante (CC) de claro com intensidade luminosa de 550 lux, seguidos por três dias em claro-escuro CE 12:12h, seguidos por seis dias em CE 13:13h, seguidos por três dias em CE 12:12h (em anti-fase com o primeiro ciclo CE), e finalmente seguidos por três dias em CC de claro (550 lux): *3 dias em CC → 3 dias CE 12:12h → 6 dias CE 13:13h → 3 dias CE 12:12h → 3 dias CC*. A transição entre claro e escuro foi sempre feita com simulação de crepúsculo por trinta minutos.

O primeiro ciclo CE foi de 12:12h. A luz era acesa às 06:00 h e apagada às 18:00 h. No segundo ciclo CE, um período de 26 horas foi imposto para se verificar de que forma a luz influencia a atividade locomotora de *B. soporator*, e quão plástico é o ritmo de *B. soporator*. Além disso, sob ciclo de luminosidade de 26 horas, qualquer atividade antecipatória com período de 24 horas é facilmente observado nos actogramas. O terceiro ciclo CE foi de 12:12h, com a luz sendo acesa às 18:00 h e apagada às 06:00 h.

4.2.6.2. Ciclo das marés: turbulência da água

Neste experimento o registro foi feito em claro (550 lux) e as condições constantes (CC) foram de coluna d'água com 30 cm de altura, sem turbulência da água. O estímulo era aplicado por uma hora em cada período. No primeiro dia com turbulência, o estímulo foi aplicado no horário de maré alta previsto para o local em que os animais foram coletados.

Doze indivíduos, identificados pelos códigos T1 a T12, foram submetidos a três dias em condições constantes (CC), seguidos por três dias em que o estímulo tinha início a cada 12 horas (11 horas sem estímulo e 1 hora sob turbulência); em seguida, os animais foram submetidos a três dias em que o estímulo era aplicado a cada 13 horas (12 horas sem estímulo e 1 hora sob turbulência), seguidos por três dias em que o

estímulo era novamente aplicado a cada 12 horas, e finalmente seguidos por três dias em CC: *3 dias em CC → 3 dias Turbulência a cada 12 horas → 3 dias Turbulência a cada 13 horas → 3 dias Turbulência a cada 12 horas → 3 dias CC.*

4.2.6.3. Ciclo das marés: variação na altura da coluna d'água

Neste experimento os dados foram tomados em claro (550 lux) e as condições constantes (CC) foram de coluna d'água com 30 cm de altura. A maré baixa foi simulada esvaziando-se os aquários até que a coluna d'água tivesse 4 cm de altura. No primeiro dia com variação na altura da coluna d'água, o estímulo foi aplicado no horário de maré baixa previsto para o local onde os animais foram coletados.

Doze indivíduos, identificados respectivamente pelos códigos H1 a H12, foram submetidos a três dias em CC, seguidos por três dias em que o estímulo era aplicado a cada 12 horas, seguidos por três dias em que o estímulo era aplicado a cada 13 horas, seguidos por três dias em que o estímulo era aplicado a cada 12 horas, e finalmente seguidos por três dias em CC: *3 dias em CC → 3 dias Maré baixa a cada 12 horas → 6 dias Maré baixa a cada 13 horas → 3 dias Maré baixa a cada 12 horas → 3 dias CC.*

4.2.6.4. Ciclo de luz e das marés (turbulência) simultaneamente

Este experimento foi realizado para se verificar a influência dos ciclos CE 12:12h e de turbulência da água sobre a atividade locomotora de *B. soporator*, quando os ciclos são impostos em conjunto.

A intensidade luminosa simulando a fase clara foi de 550 lux, naquela simulando a fase escura tendeu a zero, e o estímulo de marés foi aplicada por uma hora, com início no meio das fases de claro e escuro. A condição constante (CC) foi de claro (550 lux) e ausência de turbulência da água. Foram feitos dois testes e em ambos a luz começou a se acender às 06:00 h e se apagar às 18:00 h. A turbulência imposta por uma hora tinha início às 01:00 h e às 13:00 h.

Teste 1:

Neste teste, oito indivíduos identificados pelos códigos CET1 a CET8 foram submetidos ao ciclo CE 12:12h por três dias, seguidos por três dias sob ciclo CE 12:12h e turbulência da água a cada 12 horas simultaneamente, e finalmente por três dias em CC: *3 dias CE 12:12h → 3 dias CE 12:12h e turbulência a cada 12 horas → 3 dias CC.*

Teste 2:

No segundo teste, outros oito indivíduos identificados pelos códigos TCE1 a TCE8 foram submetidos ao ciclo das marés com estímulo a cada 12 horas por três dias, seguidos por três dias sob ciclo das marés e ciclo CE 12:12 h, e finalmente por três dias em CC: *3 dias turbulência a cada 12 horas → 3 dias turbulência a cada 12 horas e CE 12:12h → 3 dias CC.*

4.3. Análise dos dados

Dada a variação individual já registrada na literatura cronobiológica para peixes, as séries temporais para cada exemplar foram analisadas separadamente, de modo que as diferenças individuais puderam ser ressaltadas (Benedito-Silva, 2003). As séries foram processadas utilizando-se o programa de computador “El Temps” (Diez-Noguera, 2005), que gerou actogramas e periodogramas Lomb-Scargle para cada indivíduo.

Actogramas são recursos gráficos utilizados para se representar a distribuição da atividade e repouso ao longo do tempo em relação a um ciclo. A sincronização da atividade ao ciclo ambiental pode ser verificada de forma preliminar a partir da análise visual dos actogramas. Para melhor visualização dos padrões da atividade e repouso, cada linha dos actogramas apresentados neste trabalho representa dois dias, representação em “double plot”, que é uma opção oferecida pelo “El Temps”.

Periodogramas de Lomb-Scargle (Schimmel, 2001; Ruf, 1999; Van Dongen *et al*, 1999) resultantes da análise espectral (Benedito-Silva, 2003) foram utilizados para se identificar as periodicidades significativas na atividade locomotora de *B. soporator*. O

método Lomb-Scargle de análise é mais restritivo do que outros métodos disponíveis e não detecta oscilações de ritmos mais fracas (Trajano *et al.*, 2005), mas é um método prático e é o recomendado na análise de ritmos biológicos (Van Dongen *et al.*, 1999). Por ser um método restritivo, adotou-se o nível crítico para significância de 5 % ($p < 0,05$), representado pela linha horizontal nos periodogramas. Acima desta linha, podemos considerar os períodos correspondentes dos componentes como significativos. O eixo da abscissa nos periodogramas representa a potência espectral do ritmo. Quando maior o valor deste, maior a regularidade do ritmo.

Um ritmo foi considerado circadiano quando variou entre 20 e 28 horas, que é o intervalo mais amplamente usado em trabalhos científicos (Marques *et al.*, 2003). Este valor é um tanto quanto arbitrário uma vez que alguns autores consideram circadiano somente ritmos com períodos entre 23 e 25 horas (Gerkema, 1992). Não se encontrou na literatura um intervalo que compreenda ritmos circa-marés. Assim, consideraram-se ritmos circa-marés aqueles com períodos entre 10 e 15 horas, intervalo determinado usando-se aproximadamente a mesma proporção do usado para o intervalo circadiano.

5. RESULTADOS

5.1. Ciclos de luz, claro/escuro (CE)

Os actogramas e periodogramas gerados a partir dos dados coletados neste experimento estão representados no Anexo, as Figuras 4 a 15, e as periodicidades significativas detectadas constam da Tabela 1, a seguir.

Tabela 1: Periodicidades significativas dos ritmos de *Bathygobius soporator* sob ciclos de luz. CC: condições constantes em claro constante; CE 12:12h: ciclo claro-escuro com período de 24 horas; CE 13:13h: ciclo claro-escuro com período de 26 horas, NS: períodos não significativos.

Indivíduo	CC1	CE 12:12h	CE 13:13h	CE 12:12h	CC2
CE1	NS	23,83	26,92	26,25	24,08
CE2	NS	22,67	16,17 25,58	26,33	12,25
CE3	NS	24,42	27,33	29,67	NS
CE4	NS	23,92	25,17	19,08	21,83
CE5	NS	24,33	27,00	28,50	22,00
CE6	NS	23,00	16,33 26,08	27,17	12,08
CE7	NS	23,08	25,92	26,75	12,08
CE8	NS	23,58	26,33	27,08	23,17
CE9	NS	23,58	26,58	27,75	23,58
CE10	NS	24,08	27,17	29,08	23,58
CE11	NS	24,00	27,08	28,50	23,83
CE12	NS	23,75	26,50	26,00	24,25

Nenhum exemplar exibiu ritmo em livre-curso no início dos experimentos, mas todos tiveram seus ritmos sincronizados pelos ciclos CE 12:12h. Esses ritmos foram arrastados quando os ciclos passaram a ter um período de 26 horas (CE 13:13h), mas não sofreram redução nos períodos quando os animais foram submetidos ao CE 12:12h novamente. Em livre-curso, somente um exemplar deixou de exibir ritmo significativo, três peixes passaram a exibir ritmo circa-maré e oito, ritmo circadiano.

5.2. Ciclos de turbulência da água

A partir dos dados deste experimento, gerou-se actogramas e periodogramas que estão representados nas Figuras 16 a 27 do Anexo. As periodicidades significativas são apresentadas na Tabela 2.

No início dos experimentos, somente dois indivíduos expressaram ritmo significativo, com períodos no limite superior do que consideramos circadiano. Ciclos de turbulência da água por três dias sincronizaram ritmos em oito peixes, mas somente em um deles o ritmo observado esteve na faixa do circa-maré. Os mesmos ciclos sincronizaram ritmos circa-marés em sete peixes quando aplicados por mais dias. Os ciclos de turbulência aplicados a cada 13 horas não sincronizaram ritmos circa-marés em nenhum exemplar, mas sim ritmos circadianos em nove deles. Em condições constantes, somente dois peixes expressaram ritmos significativos, ambos ultradianos, isto é, com períodos menores do que 20 horas (Marques & Menna-Barreto, 2003), mas não circa-marés.

Tabela 2: Periodicidades significativas dos ritmos de *Bathygobius soporator* sob ciclos de turbulência. CC: condições constantes em claro e sem turbulência; NS: períodos não significativos.

Indivíduo	CC1	Ciclo 12 horas	Ciclo 13 horas	Ciclo 12 horas	CC2
T1	NS	NS	NS	NS	NS
T2	NS	NS	24,33	12,08 23,00	NS
T3	NS	18,75 32,75	23,67	11,08 18,17 25,75	19,42
T4	NS	30,25	16,25 21,17	25,92	NS
T5	NS	12,08	NS	NS	NS
T6	NS	NS	NS	NS	NS
T7	28,50	31,92	21,83	11,00 18,58 25,50	NS
T8	NS	NS	22,25	23,33	NS
T9	NS	34,17	24,08	12,08 23,00	NS
T10	NS	18,67 32,42	23,25	11,00 18,08 25,83	19,50
T11	NS	32,17	22	11,25 19,58 24,33	NS
T12	27,58	31,83	21,83	10,92 18,17 25,83	NS

5.3. Ciclos de variação na altura da coluna d'água

Os actogramas e periodogramas gerados a partir dos dados deste experimento estão representados nas Figuras 28 a 39 do Anexo. As periodicidades significativas dos ritmos encontrados são apresentadas na Tabela 3.

Nenhum indivíduo exibiu ritmo significativo assim que transferido para o aquário, porém os ciclos na variação da coluna d'água impostos sincronizaram, após

três dias de experimento, ritmos circa-marés em oito exemplares. Os ciclos com período de 13 horas não sincronizaram ritmos circa-maré ou circadianos. Após nove dias, os ciclos com período de 12 horas sincronizaram ritmos circa-marés em três peixes, e ritmos circadianos em oito. Em condições constantes, somente três amorêns continuaram a expressar ritmos significativos, todos circa-marés.

Tabela 3: Periodicidades significativas dos ritmos de *Bathygobius soporator* sob ciclos de variação na coluna d'água. CC: condições constantes em claro, e coluna d'água com 30 cm de altura; NS: períodos não significativos.

Indivíduo	CC1	Ciclo 12 horas	Ciclo 13 horas	Ciclo 12 horas	CC2
H1	NS	30,42	NS	14,08 25,17	NS
H2	NS	NS	NS	25,42	11,92
H3	NS	12,17	NS	NS	NS
H4	NS	12,58	NS	23,50	NS
H5	NS	12,08 29,00	NS	NS	12,33
H6	NS	11,92 29,25	NS	NS	NS
H7	NS	12,25 28,75	NS	24,25	NS
H8	NS	12,50 27,50	NS	23,50	NS
H9	NS	12,25	NS	NS	NS
H10	NS	30,58	NS	13,50 25,67	11,92
H11	NS	30,50	33,42	13,83 26,00	NS
H12	NS	12,25 29,33	19,92	24,83	NS

5.4. Ciclos de luz e de turbulência da água simultaneamente

Os actogramas e periodogramas gerados a partir dos dados deste experimento estão representados no Anexo, Figuras 40 a 55, e as periodicidades dos ritmos significativas são apresentadas nas Tabelas 4 e 5.

Quando submetidos somente aos ciclos de luz no início do experimento (primeiro teste; Tabela 4), todos os indivíduos expressaram ritmos significativos. Seis expressaram ritmos circadianos e, dentre estes, dois também expressaram ritmos circa-marés. O ritmo circa-maré foi observado em um terceiro indivíduo, mas nenhum destes tiveram seus ritmos sincronizados pelos ciclos das marés, que foi imposto com os ciclos de luz a partir do terceiro dia de experimento. Em condições constantes, somente dois indivíduos continuaram a expressar ritmos significativos, sendo um circadiano e outro ultradiano que não circa-maré.

Tabela 4: Periodicidades significativas dos ritmos de *Bathygobius soporator* sob ciclos de luz, e sob ciclos de luz e turbulência da água simultâneos. CE 12:12h: ciclo claro escuro com período de 24 horas; CC: condições constantes em claro e sem turbulência; NS: períodos não significativos.

Indivíduo	CE 12:12h	CE 12:12h / maré 12h	CC
CET1	20,25	28,00	NS
CET2	15,33 19,75	NS	NS
CET3	22,67	NS	NS
CET4	12,42	NS	NS
CET5	20,92	28,42	NS
CET6	15,83 22,17	NS	19,92
CET7	20,50	29,08	NS
CET8	12,50 21,08	25,67	20,67

Quando submetidos somente aos ciclos das marés no início do experimento (segundo teste; Tabela 5), seis peixes expressaram ritmos circa-marés. Com a imposição dos ciclos de luz em conjunto com os ciclos das marés, dois passaram a expressar também ritmos circadianos, um deixou de expressar ritmo circa-maré para expressar somente o circadiano e, dos dois exemplares inicialmente arrítmicos, um sincronizou ritmo circa-maré, e o outro circadiano. Em condições constantes de claro e sem turbulência da água, somente um indivíduo expressou ritmo circadiano.

Tabela 5: Periodicidades significativas dos ritmos de *Bathygobius soporator* sob ciclos de turbulência da água, e sob ciclos de turbulência da água e de luz simultâneos. CE 12:12h: ciclo claro escuro com período de 24 horas; CC: condições constantes em claro e sem turbulência; NS: períodos não significativos.

Indivíduo	Maré: ciclo 12h	Maré 12h / CE 12:12h	CC
TCE1	14,33	24,17	NS
TCE2	12,83	NS	NS
TCE3	NS	11,92	NS
TCE4	14,92	NS	NS
TCE5	14,50	11,83 26,33	NS
TCE6	12,92	NS	NS
TCE7	NS	23,58	23,33
TCE8	13,17	11,75 22,75	NS

5.5. Síntese dos resultados

Os números de indivíduos que expressaram ritmos significativos em cada um dos experimentos são apresentados na tabela 6.

Tabela 6: números de indivíduos que expressaram ritmos circa-maré (períodos de 10 a 15 horas), circadiano (períodos de 20 a 28 horas), ultradianos e infradianos significativos nos periodogramas de Lomb-Scargle. CC: condição constante; CE: claro/escuro; T: turbulência da água; H: variação na altura da coluna d'água.

Experimento	Períodos			
	10 a 15 h	20 a 28 h	Outros ultradianos (<20h)	Outros infradianos (>28h)
Luz (N=12)				
CC ₁	0	0	0	0
CE 12:12h ₁	0	12	0	0
CE 13:13h	0	12	2	0
CE 12:12h ₂	0	7	1	4
CC ₂	3	8	0	0
Turbulência (N=12)				
CC ₁	0	1	0	1
T 12h ₁	1	0	2	7
T 13h	0	9	1	0
T 12h ₂	7	9	5	0
CC ₂	0	0	2	0
Altura d'água (N=12)				
CC ₁	0	0	0	0
H 12h ₁	8	1	0	7
H 13h	0	0	1	1
H 12h ₂	3	8	0	0
CC ₂	3	0	0	0
Luz e maré (N=8)				
CE 12:12h	2	6	3	0
CE 12:12h / T12h	0	2	0	2
CC	0	1	1	0
Maré e luz (N=8)				
T 12h	6	0	0	0
T12h / CE 12:12h	3	4	0	0
CC	0	1	0	0

Nenhum amorê exibiu ritmos significativos assim que foi transferido para condições constantes. Os ciclos de luz sincronizaram ritmos circadianos em todos os peixes, enquanto os ciclos de marés sincronizaram ritmos circa-marés em nove dos 24 amorês testados. Os ciclos de variação da coluna d'água sincronizaram ritmos circa-maré tão logo impostos, enquanto mais ciclos de turbulência foram necessários para que os animais passassem a exibir ritmo circa-maré. Quando os ciclos de turbulência foram impostos logo após a coleta, estes sincronizaram ritmos circa-marés na maioria dos peixes testados (6 em 8), mas estes ritmos deixaram de ser expressos em alguns exemplares com a adição dos ciclos de luz, e em todos os peixes quando submetidos a condições constantes. Ritmos circa-marés em livre-curso só foram observados em animais submetidos aos ciclos de variação da coluna d'água.

6. DISCUSSÃO

O ambiente marinho costeiro está sujeito a muitos fatores que variam de forma cíclica, como a luz, as marés e todos os seus componentes, a lua, entre outros. Todos esses fatores podem sincronizar ritmos nos organismos que ali vivem, mas nenhum deles se aplica a todas as espécies (Gibson, 1992). Esses ciclos não possuem uma relação de fase entre si, mas os organismos estão sujeitos a esses fatores simultaneamente, havendo uma sincronização entre seus ritmos e o ambiente. Quando gerada por mecanismos endógenos, essa sincronização é controlada por diversos osciladores que estão acoplados entre si (Golombek *et al.*, 2003).

No ambiente natural, os amborês exibem um padrão temporal regular: alimentam-se e deslocam-se somente nas fases claras e crepusculares, permanecendo praticamente letárgicos nas fases de escuro, e exibem aumento na atividade locomotora na subida das marés, mesmo nas fases noturnas, quando se dirigem para a borda da poça momentos antes desta ser invadida pela água do mar (Nomura, 2004). Assim, esperava-se encontrar ritmos endógenos circadianos ou circa-marés em livre-curso assim que os peixes fossem transferidos para o laboratório, mas isto não foi observado. Logo após a coleta, os peixes mostraram-se arrítmicos em condições constantes.

A presença de ritmo em livre-curso em alguns indivíduos ao fim dos experimentos é indício da existência de mecanismos internos no controle da atividade locomotora de *Bathygobius soporator* e de que condições não permissíveis, que são condições na qual um ritmo biológico não se expressa (Marques & Menna-Barreto, 2003), estavam presentes no começo dos experimentos. Como as condições constantes foram as mesmas no início e ao fim dos testes, cabe supor que o transporte dos animais e a transferência aos aquários de observação são as condições não permissíveis para a expressão de ritmo endógeno nos amborês. Logo, podemos supor que os relógios biológicos presentes nos amborês são fracamente acoplados, o que gera um desarranjo em sua organização temporal pouco depois de serem retirados de seu ambiente natural.

Os resultados obtidos no presente trabalho são indícios de que a luz e a variação na coluna d'água podem agir como *zeitgebers* da atividade locomotora dos ambrorês, uma vez que, em livre-curso, oito dos doze animais submetidos a ciclos de luz passaram a expressar ritmo circadiano, e três dos doze submetidos a ciclos de variação da coluna d'água passaram a expressar ritmo circa-maré.

Para os ambrorês, o ritmo circadiano era esperado: os animais são observados letárgicos no meio ambiente durante as fases noturnas (Nomura, 2004), e os animais utilizados no presente trabalho viviam em águas rasas e claras, onde a intensidade luminosa é praticamente a mesma da superfície da água. Os ambrorês estão comumente entocados, mas os animais mantêm suas cabeças para fora, na defesa de suas tocas ou na espreita de possíveis presas (Nomura, 2004).

O ciclo claro/escuro (CE) é um *zeitgeber* presente na maioria dos ambientes e os ritmos circadianos são os mais óbvios e, portanto, os mais estudados (Volpato & Trajano, 2005). Em peixes, a glândula pineal foi reconhecida como órgão envolvido na geração de ritmos biológicos, por sua capacidade fotorreceptora e através do hormônio melatonina (Fálcon *et al.*, 2003; Ooka-Souda *et al.*, 2000). Espera-se, portanto, que ritmos circadianos sejam encontrados na maioria dos peixes, com exceção dos que vivem em cavernas ou em zonas abissais. No entanto, não se encontraram componentes circadianos nos ritmos do bleniídeo de zonas entremarés *Lipophrys pholis* (Northcott *et al.*, 1991a,b). Os autores não descrevem o ambiente onde esses animais foram coletados e a luz teria menos influência sobre o comportamento desses peixes caso estes vivam em águas turvas.

Os relógios circadianos são normalmente mais estáveis do que os relógios circa-marés, uma vez que o ciclo claro-escuro possui uma frequência de 24 horas, a qual não varia no tempo biológico graças à rotação da Terra, enquanto que as marés são menos regulares, dependendo das condições meteorológicas nos diferentes dias (Palmer, 1996). Assim, teria havido menor pressão evolutiva para que relógios biológicos precisos e rígidos fossem selecionados em organismos costeiros, gerando uma maior diversidade e complexidade na expressão dos ritmos comportamentais e fisiológicos relacionados às marés (Palmer, 1996).

Apesar do ritmo circa-maré em livre-curso ter sido observado em somente três dos doze amorêns testados nos experimentos de variação na coluna d'água, pode-se supor que este ritmo tem componentes endógenos nos amorêns. Na literatura, o arrastamento do ritmo circa-maré em 20 % dos bleniídeo *Lipophrys pholis* testados foi o suficiente para que a variação na pressão hidrostática fosse considerada um *zeitgeber* para o ritmo na atividade locomotora desses peixes (Northcott *et al.*, 1991a).

Existem, na literatura, três principais hipóteses para explicar os mecanismos de temporização de ritmos circa-maré: (1) a hipótese do relógio circa-maré, (2) a hipótese de ritmos circadianos bimodais, e (3) a hipótese do relógio circalunadiano (referente ao dia lunar de 24,8 horas). A primeira hipótese, do relógio circa-maré, é mais intuitiva e supõe a existência de um relógio com frequência de aproximadamente 12,4 horas. Esta é corroborada por diversos trabalhos como, por exemplo, o estudo da atividade locomotora do caranguejo *Carcinus maenas* (Decapoda Brachyura). O ritmo circa-maré foi sincronizado sem interferir na expressão do ritmo circadiano deste crustáceo, o que demonstra a existência de dois diferentes relógios, um circa-maré e um circadiano (Reid & Naylor, 1989, 1993). Northcott (1991) também acredita em um oscilador circa-maré para *L. pholis*, pois o ritmo circa-maré é bem marcado e o ritmo circadiano, ausente. No presente trabalho, três amorêns submetidos aos ciclos de variação na coluna d'água continuaram a expressar ritmos circa-maré em livre-curso, mas quando estes indivíduos estavam sob influência do estímulo, exibiram ritmos circa-maré, circadianos e infradianos, o que não corrobora a hipótese do relógio circa-maré para *B. saporator*.

A segunda hipótese de ritmos circadianos bimodais foi formulada a partir de resultados que mostram ritmos com dois picos com relação de fase, mas com amplitudes diferentes. Assim, o ritmo seria circadiano, sincronizado e modificado pelas marés (Palmer & Round, 1967). No presente trabalho, alguns indivíduos, quando submetidos aos ciclos das marés, apresentaram dois picos de atividade, um circadiano e outro circa-maré. No entanto, isso não corrobora a hipótese circadiana bimodal, uma vez que esse padrão não se manteve em livre-curso. Além disso, se um oscilador é verdadeiramente circadiano, é improvável que este tenha um fator das marés como *zeitgeber* (Northcott, 1991). Vários trabalhos na literatura também apresentam resultados que contradizem

essa hipótese (eg. Harris & Morgan, 1984; Petroom & Morgan, 1983), o que levou Palmer a apresentar a terceira hipótese.

Na hipótese do relógio circalunadiano, o ritmo circa-maré seria controlado por dois relógios com frequência de 24,8 horas, mas acoplados em anti-fase de 180° (Palmer, 1974, 1990, 1995). Cada pico de atividade é controlado por um relógio e, uma vez sob condições não-naturais de laboratório, esses relógios podem ser desacoplados, sendo que um ou o outro pode ser suprimido (Palmer 1995). No entanto, o motivo da supressão de um relógio ou de outro não é claro (Kim *et al.*, 2003). Northcott (1991) concluiu que o gobiídeo *G. paganellus* possui um oscilador circalunadiano a partir de ritmos circa-marés menos precisos do que os exibidos por *L. pholis*. Essa hipótese explicaria os casos em que *B. soporator* exibiu ritmo circa-maré quando submetido aos ciclos de luz no presente estudo, ou ritmo circadiano quando sob ciclos das marés. O ciclo de luz, por exemplo, suprimiria um dos osciladores, levando alguns indivíduos de *B. soporator* a expressar somente ritmo circadiano. A supressão ou não de um dos osciladores dependeria do fator ambiental imposto e da variação individual.

Diferentemente do que foi observado nos experimentos com variação da coluna d'água, a imposição de ciclos turbulência da água não gerou a expressão de ritmo circa-maré em livre-curso. No entanto, este foi capaz de gerar respostas, na maioria circadianas, de aumento na atividade locomotora em *B. soporator*, sendo, portanto, um agente mascarador. Como o ciclo de turbulência da água gerou a expressão de ritmos ultradianos em livre-curso em dois dos doze indivíduos testados, é preciso que mais testes sejam realizados antes que se descarte a turbulência da água como um *zeitgeber* para os ritmos dos ambrôs. A turbulência imposta por um intervalo maior do que uma hora a cada ciclo, ou por um maior número de ciclos, deve produzir outros resultados, os quais poderiam explicar o papel deste componente das marés na atividade locomotora de *B. soporator*.

A imposição da turbulência da água assim que os animais foram transferidos para os aquários (teste 2 do experimento com ciclos de luz e de turbulência simultaneamente) gerou sincronização do ritmo circa-maré em seis dos oito indivíduos. Já no experimento somente com ciclos de turbulência, quando submetidos às condições constantes por três dias ao início do experimento, somente um indivíduo (indivíduo T5)

responde aos ciclos de turbulência e expressa ritmo circa-maré. Após nove dias de experimento, sete dos doze amorês testados passaram a responder ao estímulo, isto é, a expressão do ritmo, mesmo que seja um mascaramento, depende do tempo em que o animal está sujeito ao ciclo ambiental, bem como do tempo que este está sendo mantido em cativeiro.

Northcott *et al.* (1991a), testando a variação da pressão hidrostática sobre a atividade locomotora de *L. pholis*, também obteve respostas em um maior número de indivíduos quando estes eram recém-coletados (100%) do que em peixes arrítmicos que estavam sendo mantidos em cativeiro (41%). Isso é indício de um acoplamento muito frágil entre os sistemas de temporização internos, tanto em *B. soporator* quanto em *L. pholis*, e que, no caso dos amorês, podem ser desacoplados logo após a retirada dos animais do meio.

Nos experimentos em que os amorês foram simultaneamente submetidos aos ciclos de luz e de turbulência da água, observou-se diversas respostas. Como não foi possível manter ritmos em livre-curso quando os animais foram submetidos às condições constantes, pode-se afirmar que todos os ritmos observados foram uma resposta aos estímulos impostos. Para os indivíduos sob turbulência, a introdução dos ciclos CE, que é um *zeitgeber*, levou à expressão de ritmo circadiano por mascaramento em quatro dos oito peixes, suprimiu o ritmo circa-maré em três amorês e, também levou à expressão de ritmo circa-maré em um indivíduo arrítmico. O mesmo sinal temporal pode sincronizar por arrastamento e mascaramento (Marques & Waterhouse, 1994; Mrosovsky, 1994), e o mascaramento pode ser negativo, quando causa uma diminuição da expressão em estudo, ou positivo, promovendo o aumento da expressão (Mrosovsky, 1999). Para os indivíduos sob CE, a introdução dos ciclos de marés levou à supressão de ritmos significativos em quatro dos oito peixes testados, e ao aumento do período do ritmo nos demais.

A variedade individual na expressão na atividade locomotora demonstra que o conceito de plasticidade temporal, que é amplamente aplicado para ritmos endógenos, também pode ser aplicado aos exógenos, como sugerido por Carvalho (2006). A alta variedade individual nas respostas observadas nos amorês em laboratório é vantajosa para a espécie: por viver num ambiente restrito como as poças das marés, diferentes

respostas expressas quando submetidos aos mesmos fatores ambientais reduzem a competição por recursos como alimento e tocas.

Em *B. soporator*, os actogramas gerados mostram muitas interferências e a visualização do ritmo não se dá de forma clara, como também acontece com várias espécies de mamíferos, ou mesmo com o bleniídeo *L. pholis* (Gibson, 1971; Northcott *et al.*, 1991a,b). A falta de precisão na curva de atividade também é verificada em outro gobiídeo, *Gobius paganellus*. Northcott (1991) defende que, diferentemente do que ocorreu com *L. pholis*, as marés exerceram uma menor pressão evolutiva para que o relógio fosse preciso em *G. paganellus* uma vez que a dieta deste gobiídeo é composta basicamente de organismos móveis e não depende da antecipação das marés.

Os amorêns são onívoros oportunistas e sua dieta é composta de animais, em sua maioria copépodos harpacticóides, que são bentônicos, e algas (Nomura, 2004), dieta que também não depende da antecipação das marés. Mas a alimentação não seria o único motivo para uma menor pressão evolutiva sobre os relógios biológicos de *B. soporator*. As poças de maré são ambientes extremamente instáveis, mais do que as demais áreas costeiras, devido às suas dimensões reduzidas. Chuvas, ventos e a temperatura do ar, por exemplo, exerceriam grande influência nos fatores das marés. A turbulência da água e o tempo de isolamento da poça variam diariamente de acordo com os ventos, não sendo incomuns poças que, em alguns dias, recebem somente alguns respingos de água na maré alta. A variação na coluna d'água também varia de acordo com os ventos, a variação na temperatura da água pode ocorrer ou não dependendo da temperatura do ar, a variação na salinidade sofre grande influência das chuvas, que são irregulares, e os gases dissolvidos variam dependendo da quantidade de luz que a poça recebe, do número de organismos presentes no hábitat, e da temperatura. Assim, os amorêns precisam ser plásticos o suficiente para responder às mais variadas condições.

Em zonas entremarés, a antecipação das marés baixas por diversas espécies de organismos se faz fundamental para que evitem dessecação e/ou exposição ao ar. Para os amorêns, ambos são importantes também, mas a evolução deve ter selecionado outras características que não um relógio biológico rígido. Esses animais são capazes de sobreviver, por um ciclo de maré baixa, no lodo sob as rochas (Nomura, 2004) ou pelo menos por três horas no seco (Beebe, 1931). Além disso, os indivíduos respondem às

variações na temperatura e salinidade da água com mudanças fisiológicas. Diferente do que acontece com muitos peixes, mesmo outros que vivem nas zonas entremarés, o ritmo cardíaco nos amborês sofre redução em temperaturas elevadas (40 °C), e este é um mecanismo que permite que a integridade do coração desses animais seja mantida (Rantin *et al.*, 1998). Além disso, os amborês sofrem alterações na adenohipófise que libera a prolactina, hormônio importante no mecanismo de osmorregulação, sob variações extremas na salinidade (Zagha & Val-Sella, 1985). Assim, por viver em um ambiente altamente instável, possuir uma dieta onívora oportunista e possuir mecanismos fisiológicos que permitem sua sobrevivência sob condições extremas, relógios rígidos não são fundamentais para a sobrevivência dos amborês.

A observação em campo de que os animais exibem um aumento em sua atividade locomotora associado à subida das marés (Nomura, 2004) sugere a existência de um ritmo endógeno circa-maré. A variação da coluna d'água parece ser um *zeitgeber* e outros fatores relacionados às marés que não foram testados no presente trabalho também podem ser *zeitgebers* para os ritmos dos amborês, e estes devem interagir simultaneamente sobre o organismo (Volpato & Trajano, 2005). Mas há a possibilidade de que o ritmo observado em campo seja um mascaramento: os amborês são peixes bentônicos e podem ter um mecanismo tátil que os permite sentir e responder às vibrações no substrato causadas pelas subidas das águas (Gibson, 1992).

Assim, a adaptação temporal em *B. soporator* estaria basicamente relacionada a uma alta plasticidade e um acoplamento muito frágil entre os sistemas de temporização envolvidos, que os capacita a responder aos diversos ciclos ambientais de forma simultânea, ou não, permitindo, assim, uma ação rápida de acordo com as variações que o meio sofre, e com a presença de presas e predadores.

7. CONCLUSÕES

- Os ciclos CE e de variação na altura da coluna d'água são *zeitgebers* para a atividade locomotora do amborê, *Bathygobius soporator*, isto é, são capazes de sincronizar por arrastamento os ritmos circadianos e circa-marés endógenos;

- A turbulência da água é um agente mascarador da ritmicidade locomotora dos amborês. Quando presente de forma cíclica, sincroniza o ritmo circa-maré exógeno que é exibido como uma resposta às alterações no meio;

- Os relógios biológicos em *B. soporator* não são rígidos e possuem acoplamento frágil e instável, o que confere plasticidade aos amborês e variação individual na expressão dos seus ritmos endógenos e exógenos.

- O conceito de plasticidade temporal de uma espécie, que define a variedade de padrões temporais nos indivíduos e é aplicado a ritmos endógenos, pode ser também usado para ritmos exógenos.

8. ANEXOS

Figura 4: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE1) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 5: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE2) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 6: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE3) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 7: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE4) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 8: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE5) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 9: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE6) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 10: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE7) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 11: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE8) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 12: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE9) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 13: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE10) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 14: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE11) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 15: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CE12) no experimento com o ciclo de luz. CC: condição constante em claro, CE 12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h, CE 13:13h: com período de 26h. ■ fase escura, ■ oferta de alimento.

Figura 16: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T1) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 17: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T2) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 18: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T3) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 19: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T4) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 20: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T5) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 21: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T6) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 22: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T7) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 23: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T8) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 24: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T9) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 25: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T10) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 26: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T11) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 27: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (T12) no experimento com o ciclo de turbulência da água. CC: condição constante em claro sem turbulência, T12h: ciclo com período de 12h, T13h: com período de 13h. ■ estímulo presente, ■ oferta de alimento.

Figura 28: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H1) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 29: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H2) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 30: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H3) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 31: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H4) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 32: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H5) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 33: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H6) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 34: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H7) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 35: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H8) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 36: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H9) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 37: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H10) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 38: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H11) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 39: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (H12) no experimento com o ciclo de variação na altura da coluna d'água. CC: condição constante em claro e altura máxima, H12h: ciclo com período de 12h, H13h: com período de 13h. ■ início do estímulo, ■ oferta de alimento.

Figura 40: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET1) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 41: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET2) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 42: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET3) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 43: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET4) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 44: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET5) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 45: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET6) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 46: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET7) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 47: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes à atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (CET8) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12 horas; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 48: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE1) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 49: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE2) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 50: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE3) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 51: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE4) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 52: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE5) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 53: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE6) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 54: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE7) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

Figura 55: Actograma (A) e periodogramas Lomb-Scargle (B) referentes a atividade locomotora de um exemplar de *Bathygobius soporator* (TCE8) no experimento com os ciclos de luz e de turbulência da água. T12h: ciclo de turbulência da água com período de 12h; CE12:12h: ciclo claro/escuro com período de 24h; CC: condição constante em claro e sem turbulência. ■ estímulo de turbulência, ■ oferta de alimento.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akiyama, T. 1997. Tidal adaptation of a circadian clock controlling a crustacean swimming behaviour. *Zoological Science*, 14(6):901-906
- Aronson, L.R. 1951. Orientation and jumping behavior in the gobiid fish *Bathygobius soporator*. *American Museum Novitates*, 1486:1-22
- Barlow, G.W. 1958. Daily movements of desert Pupfish, *Cyprinodon macularius*, in shore pools of the Salton Sea, Califórnia. *Ecology*, 39(4):580-587
- Beebe, W. 1931. Notes on the gill-finned Goby. *Zoologica*, 12(5):55-66
- Benedito-Silva, A.A. 2003. Aspectos metodológicos da cronobiologia. In: *Cronobiologia: princípios e aplicações* (ed N. Marques & L. Menna-Barreto). São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo e Editora Fiocruz. 435p.
- Bolliet, V.; Aranda, A. & Boujard, T. 2001. Demand-feeding rhythm in rainbow trout and European catfish Synchronisation by photoperiod and food availability. *Physiology & Behavior*, 73:625-633
- Bond, C.E. 1996. *Biology of fishes*. New York, Saunders College Publishing. 750 p.
- Boujard, T. & Leatherland, J.F. 1992. Circadian rhythms and feeding time in fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 35:109-131.
- Breder Jr, C.M. 1943. The eggs of *Bathygobius soporator* (Cuvier and Valenciennes) with a discussion of other non-spherical teleost eggs. *Bulletin of the Bingham Oceanographic Collection*, 8(3):1-49
- Burrows M.T. & Gibson R.N. 1995. The effects of food, predation risk and endogenous rhythmicity on the behaviour of juvenile plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Animal Behaviour* 50(1):41-52
- Burrows, M.T.; Gibson, R.N. & Maclean, A. 1994. Effects of endogenous rhythms and light conditions on foraging and predator-avoidance in juvenile plaice. *Journal of Fish Biology*, 45(Supplement A):171-180
- Carvalho, M.R. 2006. Sincronização da atividade locomotora em robalos juvenis (*Centropomus parallelus* e *C. undecimalis*) pelo ciclo claro/escuro e ciclo de disponibilidade alimentar. Tese de doutorado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP. 60p.

- Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo. Informações ambientais. Disponível em <http://www.usp.br/cbm/ambientais/medias.html#inicio> [13 de julho de 2004].
- Cummings, S.M & Morgan, E. 2001. Time-keeping system of the eel pout, *Zoarces viviparus*. *Chronobiology International*, 18(1):27-46
- Diez-Noguera, A. 2005. El Temps version 214. <http://www.el-temps.com/principal.html>
- Edeline, E.; Dufour, S.; Briand, C.; Fatin, D. & Elie, P. 2004. Thyroid status is related to migratory behavior in *Anguilla anguilla* glass eels. *Marine Ecology Progress Series*, 282:261-270
- Falcón, J.; Gothilf, Y.; Coon, S.L.; Boeuf, G. & Klein, D.C. 2003. Genetic, temporal and developmental differences between melatonin rhythm generating systems in the teleost fish pineal organ and retina. *Journal of Neuroendocrinology*, 15:378-382
- Fangue, N.A.; Flaherty, K.E.; Rummer, J.L.; Cole, G.; Hansen, K.S.; Hinote, R.; Noel, B.L.; Wallman, H. & Bennett, W.A. 2001. Temperature and hypoxia tolerance of selected fishes from a hyperthermal rockpool in the Dry Tortugas, with notes on diversity and behavior. *Caribbean Journal of Science*, 37(1-2):81-87
- Forward Jr, R.B.; Diaz, H. & Cohen, J.H. 2005. The tidal rhythm in activity of the mole crab *Emerita talpoida*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85:895-901
- Forward Jr, R.B.; Tankersley, R.A. & Pochelon, P.N. 2003. Circatidal activity rhythms in ovigerous blue crabs, *Callinectes sapidus*: implications for ebb-tide transport during the spawning migration. *Marine Biology*, 142(1):67-76
- Ganning, B. 1971. Studies on chemical, physical and biological conditions in Swedish rockpool ecosystems. *Ophelia*, 9(1):51-105
- Garzón-Ferreira, J. & Acero-P., A. 1992. Los peces del género *Bathygobius* (Perciformes: Gobiidae) del Caribe Colombiano. *Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta de Betín*, 21:23-32
- Gerkema, M.P. 1992. Biological rhythms: mechanisms and adaptative values. In: *Rhythms in Fishes* (ed. M.A. Ali). New York, Plenum Press. 348p.

- Gerkema, M.P.; Videler, J.J.; Wiljes, J. de; Van Lavieren, H.; Gerritsen, H. & Karen, M. 2000. Photic entrainment of circadian activity patterns in the tropical labrid fish *Halichoeres chrysus*. *Chronobiology International*, 17(5):613-622
- Gibson, R.N. 1965. Rhythmic activity in littoral fish. *Nature*, 4996:544-545
- Gibson, R.N. 1967. Experiments on the tidal rhythm of *Blennius pholis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 47(1):97-111
- Gibson, R.N. 1970. The tidal rhythm of activity of *Coryphoblennius galerita* (L.) (Teleostei, blenniidae). *Animal Behaviour*, 18:539-543
- Gibson, R.N. 1971. Factors affecting the rhythmic activity of *Blennius pholis* L. (Teleostei). *Animal Behaviour*, 19(2):336-343
- Gibson, R.N. 1972. The vertical distribution and feeding relationships of intertidal fish on the Atlantic coast of France. *Journal of Animal Ecology*, 41(1):189-207
- Gibson, R.N. 1973. The intertidal movements and distribution of young fish on a sandy beach with special reference to the plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 12(12):79-102
- Gibson, R.N. 1978. Lunar and tidal rhythms in fish. In: *Rhythmic Activity of Fishes* (ed. J.E. Thorpe). London, Academic Press. 312p.
- Gibson, R.N. 1992. Tidally-synchronised behaviour in marine fishes. In: *Rhythms in Fishes* (ed. M.A. Ali). New York, Plenum Press. 348p.
- Gibson, R.N. 1993. Intertidal teleosts: life in a fluctuating environment. In: *The Behaviour of teleost fishes* (ed. T.J. Pitcher). London, Chapman & Hall. 715p.
- Golombek, D.; Cardinali, D. & Aguilar-Roblero, R. 2003. Mecanismos de temporização em vertebrados. In: *Cronobiologia: princípios e aplicações* (ed. N. Marques & L. Menna-Barreto). São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo e Editora Fiocruz. 435p
- Gray, D.R. & Hodgson, A.N. 1999. Endogenous rhythms of locomotor activity in the high-shore limpet, *Helcion pectunculus* (Patellogastropoda). *Animal Behaviour*, 57(2):387-391
- Grossman, G.D. 1982. Dynamics and organization of a rocky intertidal fish assemblage: the persistence and resilience of taxocene structure. *American Naturalist*, 119(5):611-637

- Gusev, O.A. & Golubev, A.I. 2001. Tide-associated biological rhythms of some white sea littoral invertebrates. *Advances in Space Research*, 28(4):613-615
- Harris, G.J. & Morgan, E. 1984. The effects of salinity changes on the endogenous circatidal rhythm of the amphipod *Corophium volutator* (Pallas). *Marine Behavior and Physiology*, 10:199-217
- Healey, M. 1971. The distribution and abundance of sand gobies, *Gobius minutus*, in the Ythan estuary. *Journal of Zoology*, 163(2):177-229
- Heilman, M.J. & Spieler, R.E. 1999. The daily feeding rhythm to demand feeders and the effects of timed meal-feeding on the growth of juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture*, 180:53-64
- Helfman, G.S. 1993. Fish behaviour by day, night and twilight. In: *The Behaviour of teleost fishes* (ed. T.J. Pitcher). London, Chapman & Hall. 715p.
- Herrero, M.J.; Madrid, J.A. & Sánchez-Vázquez, F.J. 2003. Entrainment to light of circadian activity rhythms in Tench (*Tinca tinca*). *Chronobiology International*, 20(6):1001-1017
- Horn, M.H.; Martin, K.L.M. & Chotkowski, M.A. 1999. Introduction. In: *Intertidal fishes: life in two worlds*. (eds. M.H. Horn, K.L.M. Martin & M.A. Chotkowski). San Diego, Academic Press. 399p.
- Hoshiai, T. 1980. Feeding behaviour related to tidal rhythm in the young *Trematomus borchgrevinki*. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 27(2):285-290
- Hurd, M.W.; Debruyne, J.; Straume, M. & Cahill, G.M. 1998. Circadian rhythms of locomotor activity in Zebrafish. *Physiology & Behavior*, 65(3):465-472
- Iigo, M. & Tabata, M. 1996. Circadian rhythms of locomotor activity in the goldfish *Carassius auratus*. *Physiology & Behavior*, 60(3):775-781
- Kanou, K.; Sano, M. & Kohno, H. 2005. Ontogenetic diet shift, feeding rhythm, and daily ration of juvenile yellowfish goby *Acanthogobius flavimanus* on a tidal mudflat in the Tama River estuary, central Japan. *Ichthyological Research*, 52(4):319-324
- Keenleyside, M.H.A. 1979. *Diversity and adaptation in fish behaviour*. Berlin, Springer-Verlag. 208p.

- Kim, W.S.; Huh, H.T.; Huh, S.H. & Lee, T.W. 2001. Effects of salinity on endogenous rhythm of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). *Marine Biology*, 138(1):157-162
- Kim, W.S.; Huh, H.T.; Je, J.G. & Han, K.N. 2003. Evidence of two-clock control of endogenous rhythm in the Washington clam, *Saxidomus purpuratus*. *Marine Biology*, 142:305-309
- Kim, W.S.; Huh, H.T.; Lee, J.H.; Rumohr, H. & Koh, C.H. 1999. Endogenous circatidal rhythm in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). *Marine Biology*, 134(1):107-112
- Kim, W.S.; Yoon, S.J.; Moon, H.T. & Lee, T.W. 2002. Effects of water temperature changes on the endogenous and exogenous rhythms of oxygen consumption in glass eels *Anguilla japonica*. *Marine Ecology Progress Series*, 243:209-216
- Kuipers, B. 1973. On the tidal migration of young plaice (*Pleuronectes platessa*) in the Wadden Sea. *Netherlands Journal of Sea Research*, 6(3):376-388
- Marinha do Brasil: Diretoria de Hidrografia e Navegação. Tábuas das marés. Disponível em: <http://www.mar.mil.br/dhn/chm/tabuas/50210Jan2008.htm> [13 de julho de 2004].
- Marques, M.D.; Golombek, D. & Moreno, C. 2003. Adaptação temporal. In: *Cronobiologia: princípios e aplicações* (ed. N. Marques & L. Menna-Barreto). São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo e Editora Fiocruz. 435p.
- Marques, M.D. & Waterhouse, J.M. 1994. Masking and the evolution of the circadian rhythmicity. *Chronobiology International*, 11(3):146-155
- Marques, N. & Menna-Barreto, L. 2003. Glossário. In: *Cronobiologia: princípios e aplicações* (ed. N. Marques & L. Menna-Barreto). São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo e Editora Fiocruz. 435p.
- Martins, R.F.; Nomura, M.N. & Hadel, V.F. 2006. Fidelidade de *Bathygobius soporator* (Valenciennes, 1837) (Pisces: Gobiidae) à poça de maré do Istmo do Baleeiro, São Sebastião (SP). In: XXVI Congresso Brasileiro de Zoologia, Resumos. Londrina. Em CD-ROM
- McFarland, W.N. 1986. Light in the sea – correlations with behavior of fishes and invertebrates. *American Zoologist*, 26:389-401

- Menezes, N.A.; Buckup, P.A.; Figueiredo, J.L. & Moura, R.L. 2003. *Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil*. São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 160p.
- Menezes, N.A. & Figueiredo, J.L. 1985. *Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil. V. Teleostei(4)*. São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 105p.
- Metaxas, A. & Scheibling, R.E. 1993. Community structure and organization of tidepools. *Marine Ecology Progress Series*, 98:187-198
- Miller, P.J. & Smith, R.McK. 1989. The West African species of *Bathygobius* (Teleostei: Gobiidae) and their affinities. *Journal of Zoology*, 218:277-318
- Morgan, E. 1996. Influence of tidal variation on reproductive timing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 206(1-2):237-251
- Morgan, E. & Cordiner, S. 1994. Entrainment of a circa-tidal rhythm in the rock-pool blenny *Lipophrys pholis* by simulated wave action. *Animal Behaviour*, 47:663-669
- Mrosovsky, N. 1994. In praise of masking: behavioral responses of retinally degenerate mice to dim light. *Chronobiology International*, 11(3):343-348
- Mrosovsky, N. 1999. Masking: history, definitions, and measurement. *Chronobiology International*, 16(4):415-429
- Naruse, M. & Oishi, T. 1994. Effects of light and food as Zeitgebers on locomotor activity rhythms in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Zoological Science*, 11(1):113-119
- Nelson, J.S. 1984. *Fishes of the world*. New York, John Willey & Sons. 523 p.
- Nomura, M.M. 2004. Aspectos comportamentais de *Bathygobius soporator* na área costeira de São Sebastião (SP) com ênfase na alimentação (Perciformes: Gobiidae). Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP. 85p.
- Northcott, S.J. 1991. A comparison of circatidal rhythmicity and entrainment by hydrostatic pressure cycles in the rock goby, *Gobius paganellus* and the shanny *Lipophrys pholis*. *Journal of Fish Biology*, 39(1):25-33
- Northcott, S.J.; Gibson, R.N. & Morgan, E. 1991a. The effect of tidal cycles of hydrostatic pressure on the activity of *Lipophrys pholis* (L.) (Teleostei). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 148:35-45

- Northcott, S.J.; Gibson, R.N. & Morgan, E. 1991b. Phase responsiveness of the activity rhythm of *Lipophrys pholis* (L.) (Teleostei) to a hydrostatic pressure pulse. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 148:47-57
- Observatório Nacional. Anuário Interativo do Observatório Nacional. Disponível em <http://euler.on.br/ephemeris/index.php> [13 de julho de 2004].
- O'Connor, J.M. 1972. Tidal activity rhythm in the hogchoker, *Trinectes maculatus* (Bloch & Schneider). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 7:173-177
- Ooka-Souda, S., Kadota, T. & Takeuchi, H. 2000. Circadian rhythms in locomotor activity of the hagfish, *Eptatretus burgeri* VI. The effects of cutting the spinal cord. *Zoological Science* 17:329-333
- Palmer, J.D. 1974. *Biological clock in marine organisms: the control of physiological and behavioral tidal rhythms*. New York, John Wiley & Sons. 173p.
- Palmer, J.D. 1990. The rhythmic lives of crabs. *Bioscience*, 40:352-358
- Palmer, J.D. 1995. *The biological rhythms and clocks of intertidal animals*. New York, Oxford University Press. 217p.
- Palmer, J.D. 1996. Time, tide and the living clocks of marine organisms. *American Scientist*, 84(6):562-569
- Palmer, J.D. & Round, F.E. 1967. Persistent, vertical migration rhythms in benthic microflora. VI. The tidal and diurnal nature of the rhythm in the diatom *Hantzschia virgata*. *The Biological Bulletin*, 132:44-55
- Peters, K.M. 1983. Larval and early juvenile development of the frillfin goby, *Bathygobius soporator* (Perciformes: Gobiidae). *Northeast Gulf Science*, 6(2):137-153
- Petroon, S. & Morgan, E. 1983. Observations on the tidal activity rhythm of the periwinkle *Littorina nigrolineata* (Gray). *Marine Behavior and Physiology*, 9:171-192
- Pezold, F. 1993. Evidence for a monophyletic Gobiidae. *Copeia*, 1993(3):634-643
- Pianka, E.R. 1978. *Evolutionary ecology*. New York, Harper & Row. 397 p.
- Piet, G.J. & Guruge, W.A.H.P. 1997. Diel variation in feeding and vertical distribution of ten co-occurring fish species: consequences for resource partitioning. *Environmental Biology of Fishes*, 50(3):293-307

- Pittendrigh, C.S. 1960. Perspectives in the study of biological clocks. *In: Perspectives in Marine Biology*, Symposium at Scripps Institution of Oceanography, 1956 (ed. A.A. Buzzati-Traverso). Berkeley e Los Angeles, University of California Press. 621p.
- Ralston, S.L. & Horn, M.H. 1986. High tide movements of the temperate zone herbivorous fish *Cebidichthyes violaceus* (Girard) as determined by ultrasonic telemetry. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 98(1-2):35-50
- Rantin, F.T.; Gesser, H.; Kalinin, A.L.; Guerra, C.D.R.; Freitas, J.C. de & Driedzic, W.R. 1998. Heart performance, Ca^{2+} regulation and energy metabolism at high temperatures in *Bathygobius soporator*, a tropical marine teleost. *Journal of Thermal Biology*, 23(1):31-39
- Reebs, S.G. 2002. Plasticity of diel and circadian activity rhythms in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12(4):349-371
- Reid, D.G. & Naylor, E. 1989. Are there separate circatidal and circadian clocks in the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Ecology Progress Series*, 52:1-6
- Reid, D.G. & Naylor, E. 1993. Different free-running periods in split components of the circatidal rhythm in the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Ecology Progress Series*, 102:295-302
- Rosa, R.S.; Rosa, I.L. & Rocha, L.A. 1997. Diversidade da ictiofauna de poças de maré da Praia do Cabo Branco, João Pessoa, Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 14(1):201-212
- Ross, S.T. 1986. Resource partitioning in fish assemblages: a review of field studies. *Copeia*, 1986:352-388
- Rotenberg, L.; Marques, N. & Menna-Barreto, L. 2003. História e perspectivas da cronobiologia. *In: Cronobiologia: princípios e aplicações* (ed. N. Marques & L. Menna-Barreto). São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo e Editora Fiocruz. 435p.
- Ruf, T. 1999. The Lomb-Scargle periodogram in biological rhythm research: analysis of incomplete and unequally spaced time-series. *Biological Rhythm Research*, 30(2):178-201

- Sabino, J. & Castro, R.M.C. e. 1990. Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da floresta atlântica (Sudeste do Brasil). *Revista Brasileira de Biologia*, 50(1):23-36
- Saigusa, M. & Kawagoye, O. 1997. Circatidal rhythm of an intertidal crab, *Hemigrapsus sanguineus*: synchrony with unequal tide height and involvement of a light-response mechanism. *Marine Biology*, 129(1):87-96
- Sánchez-Vázquez, F.J.; Madrid, J.A.; Zamora, S.; Iigo, M. & Tabata, M. 1996. Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: dual and independent phasing. *Physiology & Behavior*, 60(2):665-674
- Sánchez-Vázquez, F.J.; Zamora, S. & Madrid, J.A. 1995. Light-dark and food restriction cycles in sea bass: effect of conflicting Zeitgebers on demand-feeding rhythms. *Physiology & Behavior*, 58(4):705-714.
- Schimmel, M. 2001. Emphasizing difficulties in the detection of rhythms with Lomb-Scargle periodogramas. *Biological Rhythm Research*, 32(3):341-345
- Sharma, V.K. 2003. Adaptative significance of circadian clocks. *Chronobiology International*, 20(6):901-919
- Tamai, T.K.; Vardhanabhuti, V.; Arthur, S.; Foulkes, N.S. & Whitmore, D. 2003. Flies and fish: birds of a feather. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(4):344-349
- Tavolga, W.N. 1950a. Pattern variability among populations of the gobiid fish *Bathygobius soporator*. *Copeia*, 1950(3):182-194
- Tavolga, W.N. 1950b. Development of the gobiid fish, *Bathygobius soporator*. *Journal of Morphology* 87:467-492
- Tavolga, W.N. 1956. Pre-spawning behavior in the gobiid fish, *Bathygobius soporator*. *Behaviour*, 9:53-74.
- Trajano, E.; Duarte, L. & Menna-Barreto, L. 2005. Locomotor activity rhythms in cave fishes from Chapada Diamantina, northeastern Brazil (Teleostei: Siluriformes). *Biological Rhythm Research*, 36(3):229-236
- Van Dongen, H.P.A.; Olofsen, E.; VanHarteveldt, J.H. & Kruyt, E.W. 1999. A procedure of multiple period searching on unequally spaced time-series with the Lomb-Scargle method. *Biological Rhythm Research*, 30(2):149-177

- Volpato, G.L. & Trajano, E. 2006 Biological rhythms. *In: Fish Physiology. Vol 21: The physiology of tropical fishes* (eds. A.L. Val, V.M. Val & D.J. Randall). London, Elsevier Academic. 634p.
- Welch, J.M. & Forward Jr, R.B. 2001. Flood tide transport of blue crab, *Callinectes sapidus*, postlarvae: behavioral responses to salinity and turbulence. *Marine Biology*, 139(5):911-918
- Whitmore, D.; Foulkes, N.S. & Sassone-Corsi, P. 2000. Light acts directly on organs and cells in culture to set the vertebrate circadian clock. *Nature*, 404(6773):87-91
- Williams, B.G. 1998. The lack of circadian timing in two intertidal invertebrates and its significance in the circatidal/circalunidian debate. *Chronobiology International*, 15(3):205-218
- Zagha, K.A. & Val-Sella, M.V.do. 1985. Análise estrutural da hipófise e alterações na adenohipófise em função da salinidade, em *Bathygobius soporator*. *Boletim de Fisiologia Animal*, 9:111-118