UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

Rafael Tuma Guariento

**Eletrocomunicação em *Gymnotus carapo*:
definição de unidades linguísticas e sua relação com o
papel de dominância**

São Carlos

2018

Rafael Tuma Guariento

**Eletrocomunicação em *Gymnotus carapo*:
definição de unidades linguísticas e sua relação com o
papel de dominância**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Física Aplicada
Opção: Física Biomolecular

Orientador: Prof. Dr. Reynaldo Daniel Pinto

Versão original

**São Carlos
2018**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E
PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica revisada pelo Serviço de Biblioteca e Informação Prof. Bernhard Gross, com
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G915	<p>Guariento, Rafael Tuma</p> <p>Eletrorcomunicação em <i>Gymnotus carapo</i>: definição de unidades linguísticas e sua relação com o papel de dominância / Rafael Tuma Guariento ; orientador Reynaldo Daniel Pinto. – São Carlos, 2018.</p> <p>91 p. : il. (algumas color.) ; 30 cm.</p> <p>Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2018.</p> <p>1. <i>Gymnotus carapo</i>. 2. Peixes elétricos. 3. Aprendizagem de máquina. 4. Agrupamento. 5. Comunicação animal. I. Pinto, Reynaldo Daniel, orient. II. Título.</p>
------	--

FOLHA DE APROVAÇÃO

Rafael Tuma Guariento

Tese apresentada ao Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de Concentração: Física Aplicada - Opção: Física Biomolecular.

Aprovado(a) em: 01/02/2019

Comissão Julgadora

Dr(a). Reynaldo Daniel Pinto

Instituição: (IFSC/USP)

Dr(a). Nestor Felipe Caticha Alfonso

Instituição: (IF/USP)

Dr(a). José Antonio Alves Gomes

Instituição: (INPA/Manaus)

Dr(a). Sergio Tulio Neuenschwander Maciel

Instituição: (UFRN/Natal)

Dr(a). Mauro Copelli Lopes da Silva

Instituição: (UFPE/Recife)

À Katia Tuma Guariento, Edithe Tuma e Paulo Tuma.

Vocês me tornaram a pessoa que eu sou hoje.

Vocês estão sempre comigo.

AGRADECIMENTOS

Durante os anos deste doutoramento, iniciação científica e graduação, é impossível citar e creditar todas as pessoas que me ajudaram e me ensinaram o espírito científico que tornou possível o desenvolvimento desta tese. Farei o possível para citar todos, mas a lista não é exaustiva, e mesmo que não citado, saiba que tudo está guardado em minha mente e em meu coração,

À FAPESP/CNPq/CAPES pelo suporte financeiro associado à este projeto e ao laboratório, sem o qual nada seria possível. Instituições que fazem a ciência no Brasil acontecer,

Ao orientador e GRANDE amigo, Reynaldo Daniel Pinto, que sempre me deu liberdade para propor e desenvolver a pesquisa, além de todas as conversas humanas/morais, que não podem ser aprendidas em livros e que me deram uma formação única para a vida,

Aos professores José Alves-Gomes e Chris Braun por terem me acolhido durante a estadia em Nova Iorque,

Às amigas Yana e Michelle, que me trouxeram muito conforto durante o período em Nova Iorque, além de ótimas discussões científicas,

Aos professores Jan Slaets, Leo Maia, Roland Köberle e Guilherme Sipahi por todas as conversas, discussões e ensinamentos,

Ao técnicos Lírrio, Ivanilda, Marquinhos e Ailton, que além da imensa ajuda e vontade de ensinar, me ajudaram a desenvolver minha personalidade e como agir social e politicamente,

Aos grandes amigos Paulo Matias, Quel e Thiago Mosqueiro, que me fizeram olhar para instrumentação e análise de dados com outros olhos, além de importantíssimas conversas sobre carreira que me amadureceram imensamente,

Aos mestrandos/doutorandos/ICs Amanda, Andressa, Cesarino, Rafão, Jéssica, Lud, Boris, Dê e tantos outros que além de enriquecer essa tese com excelentes discussões, participaram de momentos de desabafo que inevitavelmente ocorrem durante um doutoramento,

À cantina do ICMC pela macarronada de 5ª e pelos salgados e coca-colas no intervalos das aulas,

Aos meus amigos, Brasil, Sam, Pré, Precoco, Bodelha, Guarda, Luis Felipe, Mariane, Velho, Ruan, Tamiris, etc., que sempre estiveram lá em momentos de dor e alegria,

Aos amigos do LASCON, Josi, Querusche e tantos outros, que abriram minha

mente sobre possibilidades de pesquisa e pensamento científico,

Aos amigos do Itau, jamais esperava encontrar em um banco o ambiente acolhedor e amigável que vocês criaram,

Aos arquitetos Thiago e Anaïs, que estão lutando conosco para que consigamos construir nossa casa dos sonhos,

À Izildinha, Marilia, Mayara, Neném e Wilson, que me acolheram como membro da sua própria família e me ajudaram inúmeras vezes,

À minha família, Pai, Chris, Mila, Ri, Flora, Vó Beatriz, Vô João, Guto, Renato por me suportarem durante o doutorado (é difícil, eu sei),

À minha esposa, Mariana, que esteve comigo nos momentos mais difíceis, e sempre me incentivou a terminar e dar o meu melhor em tudo. Aguentou todas as mudanças que nossa vida nos levou, e faz de tudo para que tenhamos um lar. Você merece mais que todo amor do mundo,

À minha mãe, Katia Tuma Guariento, e meus avós Edithe Tuma e Paulo Tuma. O amor e carinho de vocês me formaram e me tornaram quem eu sou. Ainda tornam. Sempre.

*“O que nos torna humanos, penso eu, é a capacidade de fazer perguntas,
uma consequência da nossa sofisticada linguagem falada”*
Jane Goodall

RESUMO

GUARIENTO, R.T. **Eletrocomunicação em *Gymnotus carapo*:**

definição de unidades linguísticas e sua relação com o papel de dominância. 2018. 91p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

A habilidade que peixes elétricos possuem de se comunicar por meio de um campo elétrico auto-gerado tem atraído a atenção de diversas áreas do conhecimento por mais de 50 anos. Em particular, peixes elétricos pulsadores emitem um sinal que apresenta diversas similaridades com trens de pulsos de neurônios, tornando-se um modelo animal em neurociência. Com o aumento do poder computacional e com o desenvolvimento de novas ferramentas de aprendizagem de máquina, tornou-se possível investigar interações de dominância entre um par de peixes a nível de cada pulso emitido. Até onde se sabe, a codificação e transmissão de informação se dá por modulações nos intervalos entre pulsos. Assim, a comunicação entre peixes é um problema similar à comunicação entre um par de neurônios em áreas relacionadas do sistema nervoso central: a modulação da taxa de disparo de um neurônio é codificada a partir dos pulsos do outro. Neste trabalho investigamos interações sociais entre pares de *Gymnotus carapo*, uma espécie altamente territorial. Utilizando análise de séries temporais, técnicas de aprendizagem de máquina e teoria da informação, desenvolvemos uma metodologia para detectar padrões comunicativos nos pulsos emitidos pelos peixes. Além disso, observamos uma relação de causalidade na emissão de padrões: apenas um dos peixes modifica o comportamento futuro de seu coespecífico. A direção desse fluxo de informação parece ligada ao papel de dominância/submissão assumido pelo indivíduo. A partir da literatura sobre fisiologia de emissão de novos pulsos, levantamos novas hipóteses sobre o funcionamento dos sistemas neurais responsáveis pela modulação dos intervalos entre pulsos e sobre como estes sistemas podem ter sua sensibilidade modificada por hormônios secretados durante a disputa por dominância.

Palavras-chave: *Gymnotus carapo*. Peixes elétricos. Aprendizagem de máquina. Agrupamento. Comunicação animal.

ABSTRACT

GUARIENTO, R.T. **Electrocommunication in *Gymnotus carapo***: definition of linguistic units and its relationship with the dominance role. 2018. 91p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

Weakly electric fish's ability to communicate through a self-generated electric field has attracted attention from several areas of knowledge for more than 50 years. Particularly, pulse-type electric fish emit signals that exhibits several similarities with neuronal spike trains, becoming a popular animal model in neuroscience. Due to the increase of computational power and the development of new machine learning tools, it is now possible to investigate dominance interactions between a pair of fish at the level of every single pulse. As far as we know, information is coded and transmitted by modulation of interval between pulses. Thus, communication between electric fishes presents several similarities with the communication between neurons from different regions on the central nervous system: the spike rate of one neuron is modulated by the pulses emitted by the other. Here we investigated the social interactions between pairs of *Gymnotus carapo*, a highly territorial species. Using time series analysis, machine learning techniques, and information theory, we developed a methodology to identify communicative patterns in the pulses emitted by the fish. In addition, we observed a causal relation on the pattern emission: only one of the fish modifies the future behavior of its conspecific. This flow of information seems to be related to the dominance/submission role assumed by each individual. From the literature on the physiology of the emission of new pulses, we developed new hypotheses about the functioning of the neural systems responsible for modulating the intervals between pulses and on how these systems can be modified by hormones secreted during a dominance contest.

Keywords: *Gymnotus carapo*. Electric fish. Machine learning. Clustering. Animal communication.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Linhas isopotenciais indicando a deformação do campo elétrico causado pela presença de um objeto.	25
Figura 2 – Distribuição de eletorreceptores ao longo de um peixe elétrico.	26
Figura 3 – Descargas de Órgão Elétrico do peixe elétrico ondulador <i>Eigenmannia virescens</i>	27
Figura 4 – Descargas de Órgão Elétrico do peixe elétrico pulsador <i>Gymnotus carapo</i>	27
Figura 5 – Diagrama em blocos da fisiologia responsável pela geração e detecção das DOE.	30
Figura 6 – Receptores do tipo BDC podem codificar sobreposição de pulsos com coespecífico.	32
Figura 7 – Batimento de pulsos durante interação entre dois peixes.	33
Figura 8 – Projeções dos núcleos pré-marcapasso para o núcleo marcapasso.	34
Figura 9 – Medida simultânea dos potenciais de ação das células marcapasso e células relê.	34
Figura 10 – Reflexo das modulações nas células marcapasso e relê nas DOE.	35
Figura 11 – Gravação simultânea de célula relê e DOE durante estímulos aplicados nos núcleos pré-marcapasso SPPn e PPn-C.	36
Figura 12 – Aquário e sistema de aquisição utilizado nos experimentos.	37
Figura 13 – Interface entre amplificador e placa digitalizadora com um painel de conectores BNC.	37
Figura 14 – Aquário utilizado nos experimentos, com gaiola de Faraday.	39
Figura 15 – Metodologia utilizada para classificação do peixe emissor de cada pulso quando há sobreposição.	40
Figura 16 – Seleção de variáveis para etapa de aprendizagem de máquina.	42
Figura 17 – Exemplo de sobreposição de um pulso com os últimos pulsos observados de cada peixe.	45
Figura 18 – Interface gráfica desenvolvida para visualização e correção manual da classificação dos pulsos.	47
Figura 19 – Exemplo de <i>chirp</i> observado nos experimentos.	48
Figura 20 – Melhoria na classificação de pulsos após detecção de <i>chirps</i>	49
Figura 21 – Transição do período de disputa de dominância para o período pós disputa na série de IPIs.	52
Figura 22 – Estatística dos IPIs dos animais conforme definição da disputa de dominância.	53
Figura 23 – Função perda utilizada para segmentação da série de IPIs em acelerações e desacelerações.	56

Figura 24 – Parâmetros α e β do método de segmentação da série de IPIs em acelerações e desacelerações.	57
Figura 25 – Critério da entropia para seleção do número de grupos utilizado no agrupamento por K-Médias.	58
Figura 26 – Volumetria em função do número de <i>clusters</i>	59
Figura 27 – Uso da IMM para estimar direção do fluxo de informação.	60
Figura 28 – IMM/H em função do deslocamento temporal de uma das séries temporais.	61
Figura 29 – Árvore de decisão com as regras de transição de símbolos para prever a próxima emissão do peixe submisso.	62
Figura 30 – Sequência de IPIs em trechos dos experimentos de dominância e comportamentos qualitativos associados.	64
Figura 31 – Exemplo de série temporal de um dos eletrodos, contendo um <i>chirp</i> observado nos experimentos de dominância.	65
Figura 32 – Médias de desvios padrão dos IPIs e soma dos tempos de <i>chirps</i> e interrupções para todos os experimentos.	66
Figura 33 – Resultados da segmentação da série de IPIs para diversos parâmetros α , com β fixo igual a 2.	67
Figura 34 – Resultados da segmentação da série de IPIs para diversos parâmetros β , com α fixo igual a 10^{-5}	68
Figura 35 – Histogramas dos parâmetros extraídos dos segmentos para cada um dos experimentos.	69
Figura 36 – Resultados da volumetria e da entropia dividida pelo número de <i>clusters</i> em função do número de <i>clusters</i> para cada um dos experimentos.	70
Figura 37 – IMM/H em função do deslocamento de uma das séries temporais de IPI para todos os experimentos.	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estatísticas de IPIs dos experimentos de dominância	73
Tabela 2 – Resultados de IMM/H e acurácia das árvores de decisão para todos os experimentos	74

LISTA DE ALGORITMOS

1	Critério de continuidade	44
2	Detecção de pontos de mudança da tendência	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDC	Codificadores de Duração de <i>Burst</i>
DOE	Descarga de Órgão Elétrico
ELL	Lobo Eletrosensórial
IPI	Intervalo entre Pulsos
IMM	Informação Mútua Média
IMM/H	Informação Mútua Média dividida pela Entropia
PM	Marcadores de Pulsos
PPn-C	Núcleo pré-marcapasso "chirp"
ROC	Característica de Operação do Receptor
SPPn	Núcleo pré-marcapasso sublemniscal
SVM	Máquina de Vetores de Suporte

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	DESENVOLVIMENTO	29
2.1	Revisão Bibliográfica	29
2.1.1	Estudos comportamentais	29
2.1.2	Fisiologia	30
2.1.2.1	Recepção do sinal elétrico	31
2.1.2.2	Integração multi-sensorial	31
2.1.2.3	Geração de novos pulsos	33
2.2	Técnicas experimentais	36
2.2.1	Construção do aparato experimental	36
2.2.2	Classificação do peixe emissor de cada pulso	38
2.2.2.1	Classificador supervisionado para pulsos sem sobreposição	38
2.2.2.2	Critério de continuidade para pulsos com sobreposição	43
2.2.2.3	Otimizações na metodologia	46
2.2.3	Detecção de <i>chirps</i>	46
2.3	Metodologia	49
2.3.1	Animais utilizados e manutenção	49
2.3.2	Experimentos de dominância	50
2.3.3	Análise qualitativa	51
2.3.4	Análise quantitativa	51
2.3.4.1	Relação da estatística IPIs com o papel de dominância	51
2.3.4.2	Segmentação da série de IPIs e definição de unidades linguísticas	54
2.3.4.3	Fluxo de informação e regras de transição	56
3	RESULTADOS	63
3.1	Resultados qualitativos	63
3.2	Resultados quantitativos	66
3.2.1	Relação da estatística de IPIs com o papel de dominância	66
3.2.2	Segmentação da série de IPIs	66
3.2.3	Agrupamento para definição de unidades linguísticas	69
3.2.4	Informação mútua e regras de transição de símbolos emitidos por cada peixe	71
4	DISCUSSÃO/CONCLUSÃO	75
4.1	<i>Gymnotus carapo</i> em papel de submissão emitem <i>chirps</i>	75
4.2	A estatística dos IPIs é dependente do papel social dos peixes	76

4.3	Modulações dos núcleos pré-marcapasso codificam informação comunicativa	77
4.4	A comunicação é direcional	77
4.5	A comunicação pode ser aproximada por uma gramática regular . .	78
4.6	Trabalhos futuros	78

REFERÊNCIAS	81
-----------------------	----

APÊNDICES	87
---------------------	----

	APÊNDICE A – PUBLICAÇÕES	89
A.1	Artigo publicado como autor principal	89
A.2	Trabalhos completos publicado em anais de congressos	89
A.3	Pôsteres/Resumos publicados em anais de congressos como primeiro autor	90
A.4	Pôsteres/Resumos publicados em anais de congressos como autor secundário	90

1 INTRODUÇÃO

A habilidade de certos peixes em gerar campos elétricos no seu entorno é conhecida há muito tempo.¹ Inicialmente eram conhecidos apenas peixes elétricos de campo forte, capazes de incapacitar um oponente com a intensidade do campo elétrico gerado, como a raia elétrica (*Torpedo torpedo*) ou a enguia elétrica (*Electrophorus electricus*). Quando descobertos, peixes elétricos de campo fraco intrigaram os cientistas ao longo dos anos.² A função de gerar campos elétricos tão pequenos foi compreendida somente em 1958,³ o que interessou pesquisadores das mais variadas áreas desde então.⁴⁻⁶

Este campo elétrico, de apenas alguns mV/cm, se propaga pelo ambiente e, conforme o animal se aproxima de objetos, tem sua geometria modulada de acordo com a condutividade deste objeto (Figura 1). Então, por meio de receptores espalhados por toda sua pele, chamados de receptores tuberosos (Figura 2), o peixe detecta estas modulações, utilizando-as como um sentido elétrico, capaz de "enxergar" o ambiente à sua volta na ausência de luz.⁷ A habilidade de localizar-se pelo ambiente por meio da detecção de modulações de um campo elétrico auto-gerado foi cunhada na literatura com o termo *eletrolocalização*.

Além disso, campos elétricos produzidos por outros peixes elétricos também são captados, e podem ser utilizados para sinalizar, por exemplo, territorialidade,⁹ corte

Figura 1 – Linhas isopotenciais indicando a deformação do campo elétrico causada pela presença de um objeto. **a:** Deformação causada pela presença de um objeto condutor. **b:** Deformação causada pela presença de um objeto isolante

Fonte: LISSMANN (8)

Figura 2 – Distribuição de eletrorreceptores ao longo de um peixe elétrico *Gymnotus carapo*. A maior densidade de receptores encontra-se na região próxima à cabeça (**high**), e cai ao longo do corpo (**medium** e **low**). Estão marcados três tipos de receptores: **A**: Receptor ampular, responsável pela detecção de campos elétricos de baixas frequências, geralmente induzido de forma estática por outros animais. **T**: Receptor tuberoso, responsável pela detecção de campos elétricos da faixa de frequência emitida pelo próprio peixe. **C**: Receptor de canal, responsável pela detecção de ondas mecânicas, que é integrado ao sistema da linha lateral.

Fonte: WESTBY (7).

sexual¹⁰ e submissão.⁴ Esta forma de comunicação é chamada de *eletrocomunicação*.

Quanto à produção dos sinais elétricos, os peixes podem ser classificados em dois grupos: enquanto alguns emitem suas Descargas de Órgão Elétrico (DOE) de forma contínua, gerando modulações de potencial elétrico quase senoidais e de alta frequência (Figura 3), chamados de *peixes onduladores*¹¹; outros as emitem de maneira temporalmente localizada, com intervalos de silêncio de algumas dezenas de milissegundos entre elas (Figura 4), chamados de *peixes pulsadores*.

O objetivo deste trabalho é estudar como peixes elétricos pulsadores da espécie *Gymnotus carapo* utilizam as modulações dos seus intervalos entre pulsos (IPI - do inglês *Inter Pulse Interval*) para codificar informação relevante para seu comportamento social, e como esta informação é utilizada no contexto de dominância e territorialidade destes animais.

Figura 3 – Descargas de Órgão Elétrico do peixe elétrico ondulador *Eigenmannia virescens*. **Acima:** Modulação do potencial elétrico observada ao ser colocado um par de eletrodos diferenciais, um na cabeça e um próximo a cauda. **Abaixo:** Frequência principal do sinal. Enquanto a forma de onda das descargas de órgão elétrico são similares, a frequência de disparo pode ser modulada para fins comunicativos.

Fonte: HAGENDORN (11).

Figura 4 – Descargas de Órgão Elétrico do peixe elétrico pulsador *Gymnotus carapo*. Modulação do potencial elétrico observada ao ser colocado um par de eletrodos diferenciais, um na cabeça e um próximo a cauda. Enquanto as formas de onda pulsantes das descargas de órgão elétrico são similares, o intervalo entre pulsos pode ser modulado para fins comunicativos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Estudos comportamentais

Os primeiros estudos comportamentais com peixes elétricos foram feitos por Lis-mann, em 1958,³ que foi pioneiro na compreensão da das DOE's como recurso para eletrolocalização e eletrocomunicação. Aqui já foi observado que peixes elétricos, de uma maneira geral, tendem a possuir comportamento noturno. Assim o desenvolvimento da eletrolocalização ativa apresenta uma vantagem evolutiva, diretamente relacionada com o comportamento destes animais.

O primeiro estudo dedicado exclusivamente à compreensão do comportamento de peixes elétricos em ambiente naturalístico deveu-se à Black-Cleworth, em 1970,⁹ que tratou justamente dos *Gymnotus carapo*. Em sua monografia, ela descreveu a relação de dominância entre coespecíficos, que tende a ter um único peixe dominante quando há poucos competidores no mesmo aquário, bem como uma relação direta entre a taxa de disparo e o papel social: No dominante os IPIs tendem a ser mais curtos, enquanto no submisso eles são mais longos, chegando à interrupção das DOE por alguns segundos.

Estes estudos foram revisitados e aprofundados por Westby durante as décadas de 70, 80 e 90. Abaixo, apresento uma listagem com os principais resultados relevantes para esta tese, obtidos por Westby e colaboradores neste período:

- a) Utilizando sinais gravados de outros peixes (Experimentos de *playback*), foi mostrado estatisticamente que interrupções das DOE estão diretamente relacionadas à submissão;¹²
- b) Em experimentos de *playback*, sinais gravados são incapazes de gerar comportamento submisso em peixes nadando livremente;¹²
- c) Utilizando a técnica de etogramas (Cadeias de Markov), mostrou-se que peixes dominantes tendem a possuir maior complexidade nas sequências comportamentais relacionadas às interações com o coespecífico, ao passo que o submisso tende a ter reações de fuga;⁴
- d) Tanto os IPIs como o comportamento motor tendem a apresentar uma variabilidade maior no período noturno;¹³
- e) *Gymnotus* apresenta um período de menor sensibilidade à estímulos elétricos externos até cerca de 10ms após a própria DOE;⁷
- f) Quando um pulso elétrico externo é emitido logo antes da DOE do animal, este tende a reduzir seus próximos IPIs. A este comportamento foi dado o nome de

Figura 5 – Diagrama em blocos da fisiologia responsável pela geração e detecção das DOE. **A:** Rede neural periférica responsável pela detecção das modulações de campo elétrico. **PM:** Marcadores de pulso (do inglês *Pulse Markers*), células que registram o instante de ocorrência do pulso. **BDC:** Codificadores de duração de *Bursts* (do inglês: *Burst Duration Coders*), células que codificação as modulações do campo elétrico causadas por objetos externos ou por pulsos gerados por coespecíficos. **B:** Integração multi-sensorial pelo sistema nervoso central. **C:** Circuito responsável pela geração de novos pulsos e pela modulação do intervalo entre pulsos.

Fonte: Adaptada de CAPUTI (19)

Jamming Avoidance Response;¹⁴

- g) *Gymnotus* são capazes de reconhecer um coespecífico individualmente por meio de características únicas da sua forma de onda.¹⁵ A estratégia comportamental que eles usariam para este reconhecimento foi chamada de *scanning*.¹⁶

Já em 2015, estudos comportamentais voltaram a ser realizados em *Gymnotus*.¹⁷ Em estudos liderados por Ana Silva, esta espécie atraiu particular atenção por apresentar altos níveis de agressividade em ambos gêneros. Além disso, foi descoberto que um mesmo hormônio resulta em comportamentos antagônicos no peixe dominante e no submisso.¹⁸

2.1.2 Fisiologia

Devido à habilidade de gerar sinais elétricos que podem ser captados de forma não invasiva, peixes elétricos atraíram atenção das comunidades de neurociência, neuroetologia e fisiologia. No que concerne este trabalho, a neurofisiologia associada com as DOEs pode ser, simplificada, subdividida em 3 partes (Figura 5):

- a) Detecção de sinais elétricos oriundos do próprio peixe e/ou do ambiente

- b) Integração com demais sentidos no córtex e produção de hormônios e sinais neurais para geração de comportamentos
- c) Modulação da taxa de repetição das DOEs (IPIs em caso de peixes pulsadores)

Peixes elétricos americanos (Gymnotiformes) não possuem nenhum tipo de *feedback* neural interno indicando o instante com que ele próprio gerou uma DOE, sendo necessária a detecção deste pelos eletrócitos na pele.

2.1.2.1 Recepção do sinal elétrico

A recepção do sinal elétrico é realizada por duas vias neurais distintas: uma rápida, responsável por codificar o instante de ocorrência do pulso; e uma lenta, responsável por codificar modulações do campo elétrico causadas por objetos próximos ou pulsos emitidos por coespecíficos.¹⁹

Na via rápida, a detecção ocorre por meio de receptores tuberosos do tipo "Marca-dores de Pulso" (PM, do inglês *Pulse Markers*). Estas células projetam para neurônios com um período refratário bem longo, conhecidos como células esféricas. Por sua vez, estas células projetam para um circuito comparador, similar ao circuito de *Jeffress*, presente no cerebelo de humanos.¹⁹

Resumidamente a via rápida codifica modulações de IPIs. Entretanto, devido ao longo período refratário das células esféricas, esta via detecta o pulso do próprio peixe apenas quando ele ocorre antes do pulso do seu coespecífico.¹⁹

Já na via lenta, a detecção ocorre por meio de receptores tuberosos do tipo "Codificadores de duração de *burst*" (BDC, do inglês *Burst Duration Coder*). Há diversos tipos de BDCs, cada um codifica um intervalo específico de frequências.²⁰ Quando um objeto causa uma mudança do campo elétrico do pulso, o padrão de disparo destes receptores é modificado, codificando a presença desse objeto. O padrão codificado por estes neurônios integra-se no lobo eletrosensorial (ELL, do inglês *Electrosensory Lobe*), no córtex cerebral, com sinais oriundos da linha lateral, que é responsável pela codificação de estímulos mecânicos de baixa frequência.[?]

A percepção no ELL se dá comparando o sinal atual com uma média dos últimos pulsos captados. Assim, se um objeto é subitamente removido do ambiente, ele gera uma "imagem negativa" no córtex.²¹ Além disso, interferências em um único pulso, causadas, por exemplo, pela sobreposição com o pulso emitido por um coespecífico, podem ser codificadas por este circuito^{20,22} (Figura 6).

2.1.2.2 Integração multi-sensorial

As vias rápida e lenta convergem para o Toro Semicircular (TS), no mesencéfalo, onde a informação elétrica é integrada com a informação visual, vinda do teto ótico

Figura 6 – Receptores do tipo BDC podem codificar sobreposição de pulsos com coespecífico. Neste experimento receptores do tipo BDC são medidos enquanto pulsos artificiais periódicos são gerados próximos ao peixe. **A:** Pares de pulsos artificiais são representado pelas linhas vermelhas, as fases relativas dos pulsos do peixe são representadas pelos pontos azuis (S_2s), e os potenciais de ação de um receptor BDC são representados como pontos pretos (**spikes**). **B:** Há vários tipos de receptores BDC, cada um deles emite potenciais de ação para uma sobreposição específica dos pulsos interferente e do próprio peixe, i.e., eles codificam o instante de ocorrência do pulso interferente em relação ao do peixe. As letras gregas representam diferentes tipos de receptores BDC. S_1 e S_2 representam, respectivamente, a forma de onda gerada pelo peixe e pelo pulso interferente.

Fonte: Adaptada de BAKER (20,22)

Figura 7 – Batimento de pulsos durante interação entre dois peixes. Como os peixes emitem suas DOE em taxas distintas, ocorre um batimento. Neste caso, um pulso a cada 4 do peixe A sofre interferência, enquanto no peixe B isso ocorre em um pulso a cada 5. Caso os peixes estejam emitindo suas DOEs à mesma frequência ou todos ou nenhum dos pulsos sofrerá interferência.

Fonte: Elaborada pelo autor

(colículo superior em mamíferos). Esta região possui neurônios rapidamente adaptáveis, responsáveis pela detecção de alterações rápidas no sinal elétrico detectado.²³ A detecção dessas alterações rápidas é fundamental em situações de comunicação: Como cada peixe possui uma taxa de DOE distinta, ocorre um batimento em que, periodicamente, um único pulso sofre interferência (Figura 7).

O TS projeta axônios para o Núcleo Eletrosensório, que realiza a interface entre os sinais detectados e a geração de novos comportamentos elétricos, motores, etc..²⁴

2.1.2.3 Geração de novos pulsos

O Núcleo Eletrosensório projeta axônios para dois núcleos pré-marcapasso, responsáveis pela modulação das DOE:²⁵

- a) o núcleo pré-marcapasso sublemniscal (SPPn, do inglês *Sublemniscal prepace-maker nucleus*);
- b) o núcleo pré-marcapasso "Chirp" (PPn-C, do inglês *Prepacemaker nucleus - "Chirp" subdivision*).

Estes dois núcleos pré-marcapasso projetam para o núcleo do marcapasso, composto por dois tipos de célula: as células marcapasso e as células relê (Figura 8). As células marcapasso são todas conectadas eletricamente entre si,²⁵ e formam um centro gerador de padrões, emitindo pulsos a uma taxa periódica. Já as células relê recebem os potenciais de ação das células marcapasso e disparam após um curto intervalo de tempo fixo (Figura 9).

Enquanto modulações nas células marcapasso modificam a sua taxa de potenciais de ação, e consequentemente, a taxa de DOE, modulações nas células relê podem dessincronizar

Figura 8 – Projeções dos núcleos pré-marcapasso para o núcleo marcapasso. Diferentes ativações em cada um dos núcleos pré-marcapasso causam comportamentos distintos nas DOE. As células marcapasso são todas conectadas por sinapses elétricas, e projetam-se para as células relê por meio de sinapses químicas e elétricas direcionais. Especula-se na literatura que as células relê sejam conectadas eletricamente entre si, porém com menor condutividade que as conexões entre células marcapasso.²⁵

Fonte: KAWASAKI (26)

Figura 9 – Medida simultânea dos potenciais de ação das células marcapasso e células relê. O potencial de ação da célula relê ocorre entre 0.5ms e 1ms após o da célula marcapasso.

Fonte: SPIRO (25)

Figura 10 – Reflexo das modulações nas células marcapasso e relê nas DOE. **A:** Modulações das células marcapasso causam mudanças suaves nas taxas das DOE. **B:** Já modulações nas células relê causam uma dessincronização do órgão elétrico, provocando uma interrupção abrupta das DOE. Note que enquanto as modulações nas células marcapasso refletem-se nos potenciais de ação das células relê, modulações das células relê não modificam o ritmo das células marcapasso.

Fonte: Adaptada de KAWASAKI (10)

o órgão elétrico,¹⁰ provocando uma interrupção abrupta das DOE, e com a emissão de um sinal elétrico ruidoso (*Chirp*) (Figura 10).

Os núcleos pré-marcapasso possuem projeções para ambas células marcapasso e relê. Entretanto, enquanto estímulos no PPn-C provocam modulações principalmente nas células marcapasso, culminando em acelerações suaves nas DOE, estímulos no SPPn tem um efeito maior nas células relê, culminando em interrupções bruscas das DOE, com emissão de *Chirps* (Figura 11).

Figura 11 – Gravação simultânea de célula relê e DOE durante estímulos aplicados nos núcleos pré-marcapasso SPPn e PPn-C.

Fonte: Adaptada de SPIRO (25)

2.2 Técnicas experimentais

2.2.1 Construção do aparato experimental

Devido ao comportamento agressivo e territorial dos *Gymnotus carapo*, foi necessário construir um aquário de grandes dimensões, de tal forma que o peixe submisso tenha espaço para fugir de perseguições e manter-se suficientemente longe do dominante. Para isso, construímos um aquário de 1.0x0.5x0.5 m.

Para que pudéssemos classificar cada pulso em seu peixe emissor, utilizamos uma metodologia desenvolvida em nosso laboratório,^{27,28} que utiliza um *array* de eletrodos espalhados pelo aquário e distingue o peixe emissor pela forma de onda de cada pulso. Assim, inserimos 12 eletrodos de aço inox, posicionados nos vértices e no centro das arestas de 1m. Um destes eletrodos foi escolhido como referência, e todos os demais foram diferencialmente amplificados (ganho 100) com relação a este. A saída destes 11 sinais foi digitalizada a 44.5KHz por meio de um sistema de aquisição comercial (Axon Digidata 1322) (Figura 12).

A instrumentação foi construída em módulos, de forma a facilitar integração com outros projetos. Assim, utilizamos conectores e painéis para realizar a interface entre os eletrodos, amplificador e placa digitalizadora (Figura 13).

O aquário todo foi protegido de ruídos externos com uma gaiola de Faraday. O material escolhido para esta blindagem foi uma malha de aço galvanizado com furos de

Figura 12 – Aquário e sistema de aquisição utilizado nos experimentos.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 13 – Interface entre amplificador e placa digitalizadora com um painel de conectores BNC. A alimentação do amplificador é realizada por uma fonte D.C. externa que construímos. Entradas e Saídas extras foram colocadas no painel de conectores para facilitar a integração do sistema com projetos futuros.

Fonte: Elaborada pelo autor

aproximadamente 1mm. O aço galvanizado oferece uma boa proteção contra corrosão, dado o ambiente úmido, com eventuais respingos de água, enquanto os furos permitem que o comportamento dos animais possa ser observado durante o experimento (Figura 14). O ruído máximo observado durante os experimentos, após estágio de amplificação e digitalização é da ordem de 2mV. O pulso observado nos eletrodos após amplificação varia de 2mV à 10V, dependendo da posição do peixe, havendo sempre ao menos um eletrodo com um sinal da ordem de, ao menos, 100mV. Esta boa relação sinal-ruído se mostrou fundamental para a classificação do peixe emissor de cada pulso, dado que a classificação é realizada baseando-se nas diferenças das DOE emitidas por cada peixe.

2.2.2 Classificação do peixe emissor de cada pulso

A metodologia utilizada para realizar a classificação do peixe emissor de cada pulso foi adaptada do algoritmo desenvolvido durante o mestrado do estudante Paulo Matias.^{27,28} Resumidamente a metodologia consiste em dois métodos distintos para quando DOEs de cada peixe apresentam sobreposição temporal ou não:

- a) **Quando não há sobreposição:** Aplicamos um classificador supervisionado treinado com séries temporais de cada peixe nadando sozinho no aquário;
- b) **Quando há sobreposição:** Utilizando os últimos pulsos de cada peixe, calculamos todas as sobreposições possíveis variando apenas o instante em que cada peixe teria emitido seu pulso, e classificamos utilizando a sobreposição que mais se assemelha com o sinal observado (Figura 15).

A metodologia foi modificada e otimizada em relação ao publicado em 28. A seguir, apresentamos um resumo geral da metodologia e em seguida discutimos as otimizações e modificações realizadas para este projeto.

2.2.2.1 Classificador supervisionado para pulsos sem sobreposição

Classificação supervisionada consiste em criar um modelo estatístico para discriminar duas ou mais classes a partir de amostras cujas classes são conhecidas. No nosso caso, visamos discriminar o emissor de cada pulso como peixe A ou B. Para gerar um conjunto de amostras conhecidas, coletamos 20 minutos de dados de cada um dos peixes nadando sozinho pelo aquário de medida. Dessa forma, temos duas séries de pulsos, cada um contendo um único emissor. Considerando que cada peixe emite suas DOE entre 30 e 50Hz, uma série de dados de 20 minutos contém tipicamente da ordem de 50000 pulsos.

A metodologia baseia-se nas diferenças das componentes Fourier e Wavelet nas DOEs de cada sinal. A premissa é que há um conjunto de componentes que diferencie um peixe do outro independentemente da posição em que eles se encontram. Tendo isso em vista, a metodologia segue um fluxo tradicional de aprendizagem de máquina utilizando classificador supervisionado: Construção da base de dados, pré-processamento dos dados,

Figura 14 – Aquário utilizado nos experimentos, com gaiola de Faraday. A gaiola é feita utilizando uma malha de aço galvanizado, que apresenta um bom balanço entre a blindagem elétrica e proteção a corrosão causada por eventuais respingos de água, além de permitir a visualização dos animais durante o experimento. As madeiras foram colocadas para fornecer uma proteção extra à pressão exercida pela coluna de água.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 15 – Metodologia utilizada para classificação do peixe emissor de cada pulso quando há sobreposição. **A:** Série original observada. Pulsos sem sobreposição são classificados utilizando um classificador supervisionado. **B:** Quando há sobreposição de pulsos, utilizando o último pulso observado de cada peixe, geramos várias possibilidades de sobreposição, variando os instantes de disparo do pulso ΔT_1 e ΔT_2 . **C:** Cada uma das sobreposições geradas é comparada com o sinal a ser classificado, e escolhe-se aquela que mais se assemelha com ele. Na metodologia é verificado se o sinal observado pode ser reconstruído utilizando um único pulso, sem sobreposição, não ilustrado nesta figura.

Fonte: Elaborada pelo autor

seleção de variáveis, otimização dos parâmetros por validação cruzada, treinamento do classificador, validação em conjunto teste e aplicação do modelo para cálculo da probabilidade das classes nos dados.

Inicialmente, construímos a base de dados cada entrada consistindo no conjunto das amostras de cada pulso detectado. Apesar das componentes Fourier serem invariantes por translação temporal, as componentes Wavelet não são. Assim, é importante que todos os pulsos estejam centralizados na base de dados. Para isso, seguindo a abordagem proposta por Jun,²⁹ calculamos a transformada Hilbert de cada sinal observado e realizamos o somatório em módulo para todos os sinais vindos de cada eletrodo. Com esta abordagem, cada pulso é convertido em um pico, cujo máximo tem sua posição invariante com relação ao cruzamento de zero do pulso.

Os pulsos são detectados utilizando um limiar sobre o somatório das transformadas Hilbert. Então de cada pulso, é selecionada uma janela de 256 amostras ($\approx 5.6\text{ms}$) que comporão a base de dados, sendo cada amostra uma *feature* da base.

Após realizado o janelamento dos pulsos, são calculadas todas as componentes Fourier e Wavelet (Dual-Tree Complex Wavelet Packet^{30,31}) de cada pulso. Como cada janela contém 256 amostras, há 128 componentes Fourier e 2304 componentes Wavelet, totalizando 2432 *features* (variáveis dependentes) ao todo.

Para reduzir este número de variáveis dependentes, selecionamos apenas aquelas com maior poder de discriminação entre os peixes: utilizando os dados de treinamento (peixes nadando sozinhos no aquário), construímos um histograma para cada *feature*. As 20 *features* cujos histogramas apresentarem menor sobreposição entre os peixes são selecionadas (Figura 16).

As *features* selecionadas então são utilizadas para treinar um modelo de classificação supervisionada. O modelo escolhido foi a máquina de vetores de suporte (SVM - do inglês *Support Vector Machine*) com núcleo radial.^{28,32} Esta metodologia, resumidamente, busca encontrar a superfície que melhor separa as amostras de cada classe no espaço das *features*.

Este classificador é parametrizado por 2 valores: C e γ . Enquanto C indica o grau de tolerância a erros do treinamento, evitando sobreajuste, γ indica a não linearidade da superfície ajustada: quanto menor o valor de γ , mais plana tende a ser a superfície de separação.

Um revés da técnica de SVM com núcleo radial é ser computacionalmente custosa para o treinamento. Assim, para tornar o processo mais eficiente, os parâmetros são selecionados com a metodologia de *holdout*, i.e., os dados são divididos em duas partes: treino e validação. Para cada combinação de parâmetros, é criado um modelo com o dados do conjunto treino, e medida a acurácia no conjunto teste. Após encontrado o conjunto de parâmetros que otimiza a acurácia, é treinado um modelo final com os dados dos conjuntos

Figura 16 – Seleção de variáveis para etapa de aprendizagem de máquina. **A1:** Para realizar aprendizagem supervisionada, são coletadas uma série de DOEs de cada peixe nadando sozinho no aquário. **A2:** Conforme o peixe nada, o sinal observado nos eletrodos muda. Para cada pulso detectado, são extraídas todas as componentes Fourier e Wavelet daquele pulso (*feature*). Cada uma dessas componentes é um único número. As componentes são normalizadas para que cada uma delas fique no intervalo $(-1,1)$. Na figura, abaixo de cada pulso, estão ilustrados os possíveis valores para uma única componente. **A3:** Para cada *feature* é realizado um histograma, que mostra todos os valores assumidos por aquela componente ao longo de toda aquisição. **B:** Para cada *feature*, são comparados os histogramas gerados para cada peixe. As 20 **features** que apresentam menor sobreposição são selecionadas como as com melhor poder discriminatório entre os peixes.

Fonte: Elaborada pelo autor

teste e validação.

Esta metodologia de *holdout* pode apresentar sensibilidade ao conjunto de dados escolhido para formar o conjunto teste, podendo provocar erros maiores no modelo caso o conjunto não seja suficientemente bem amostrado. Para confirmar que isto não ocorreria frequentemente, nas primeiras séries comparamos os resultados com a metodologia de validação cruzada, mais indicada na literatura, porém mais custosa computacionalmente.³³ Em 5 séries de dados testadas, a validação cruzada apresentou os mesmos resultados da técnica de *holdout*.

Para conjunto teste são utilizadas 10000 pulsos de cada peixe, e para o conjunto de validação, utilizamos de 15% à 30% (≈ 15000) dos pulsos. O restante é utilizado como conjunto teste para avaliar o poder de generalização do modelo com a Curva Característica de Operação do Receptor (ROC - do inglês *Receiver Operating Characteristic*).³⁴ Tipicamente o modelo apresenta uma área sobre a curva ROC de 95% à 99%.

No momento de aplicar o modelo gerado aos dados, temos pulsos com e sem sobreposição. Como o modelo foi gerado somente com dados sem sobreposição, o modelo é aplicado somente em detecções de pulsos cujo comprimento seja da ordem do comprimento médio (média + 1 desvio padrão) observado nas séries com peixes sozinhos.

O modelo é aplicado individualmente no sinal observado em cada eletrodo, caso aquele sinal ultrapasse um limiar que indique uma relação sinal-ruído favorável (100mV, o que indica uma relação sinal-ruído de 100). Para obter um único valor final, é tirada a média geométrica das probabilidades de saída do modelo, ponderada pela amplitude do sinal observado em cada eletrodo. Para evitar que classificações erradas se propaguem, utilizamos um limiar alto na saída da predição de probabilidade do modelo ($\geq 95\%$). Todos pulsos não classificados serão posteriormente classificados com o critério de continuidade, que tratará tanto pulsos individuais com baixa probabilidade de saída do modelo como pulsos com sobreposição.

Uma dificuldade atual da metodologia é a probabilidade de saída da SVM ser baseada em uma métrica de distância da fronteira encontrada entre os dados. Caso uma das classes esteja concentrada em uma região pequena do espaço de *features*, seus pontos podem ficar sempre mais próximos da fronteira, gerando uma probabilidade sistematicamente menor para uma das classes. No uso prático, isso se refletiu com mais pulsos sendo classificados pelo critério de continuidade, mas sem trazer grandes prejuízos ao resultado final.

2.2.2.2 Critério de continuidade para pulsos com sobreposição

O critério de continuidade se aplica para todos os pulsos não classificados pelo classificador supervisionado, o que inclui todos os pulsos com sobreposição, e alguns

isolados. A metodologia está descrita no pseudo-código do [algoritmo 1](#) (Ilustrado na [Figura 15](#)):

Algoritmo 1: Critério de continuidade

Entrada: Sequência de pulsos a serem classificados

Saída: Sequência de instantes de ocorrência de cada pulso classificado de acordo com o peixe emissor

```

1  início
2  para pulso em ListadePulsos faça
3      se pulso já foi classificado como A pela SVM então
4          |  $template_A \leftarrow pulso$ 
5          | Continue para o próximo pulso
6      se pulso já foi classificado como B pela SVM então
7          |  $template_B \leftarrow pulso$ 
8          | Continue para o próximo pulso
9       $min_A, indice_A \leftarrow \min_i \sum_t |template_A(t - i) - pulso(t)|$ 
10      $min_B, indice_B \leftarrow \min_i \sum_t |template_B(t - i) - pulso(t)|$ 
11      $min_{AB}, indiceOverlap_A, indiceOverlap_B \leftarrow$ 
12          $\min_{i,j} \sum_t |(template_A(t - i) + template_B(t - j) - pulso(t))|$ 
13     se  $min_A < min_B$  e  $min_A < min_{AB}$  então
14         |  $emissorPulso \leftarrow A$ 
15         |  $instanteDeOcorrencia_A \leftarrow indice_A$ 
16         |  $instanteDeOcorrencia_B \leftarrow NULL$ 
17     senão se  $min_B < min_A$  e  $min_B < min_{AB}$  então
18         |  $emissorPulso \leftarrow B$ 
19         |  $instanteDeOcorrencia_A \leftarrow NULL$ 
20         |  $instanteDeOcorrencia_B \leftarrow indice_B$ 
21     senão
22         |  $emissorPulso \leftarrow Sobreposição$ 
23         |  $instanteDeOcorrencia_A \leftarrow indiceOverlap_A$ 
24         |  $instanteDeOcorrencia_B \leftarrow indiceOverlap_B$ 
25 fim

```

Devido à forma de onda complexa da DOE, este é um problema de minimização não convexo ([Figura 17](#)). Assim, como uma otimização para a minimização do pulso de sobreposição, ao invés de realizar uma busca exaustiva, buscamos o mínimo somente 32 amostras em torno dos pontos ótimos encontrados pelos pulsos individuais.

Note que somente é possível classificar pulsos com o critério de continuidade após par de pulsos (um pulso de cada peixe) ter sido classificado pela SVM. Para evitar efeitos de borda nas extremidades da série, este critério é executado duas vezes, sendo na primeira correndo os pulsos do início para o final da série, enquanto na segunda a série temporal é invertida, e pulsos do futuro classificados pela SVM passam a ser utilizados para classificar pulsos do passado.

Figura 17 – Exemplo de sobreposição de um pulso com os últimos pulsos observados de cada peixe. **À esquerda, em preto:** Pulso observado a ser classificado. **À esquerda, em azul:** Último pulso classificado como peixe A pela SVM. A linha vertical corresponde ao instante de ocorrência da DOE. **À esquerda, em vermelho:** Último pulso classificado como peixe B pela SVM. A linha vertical corresponde ao instante de ocorrência da DOE. **À direita, acima e no meio:** Cálculo da distância em função do deslocamento do último pulso observado do peixe A e do peixe B, respectivamente (linhas 9 e 10 do Algoritmo 1). **À direita, abaixo:** Cálculo da distância em função do deslocamento do último pulso do peixe A e do peixe B, considerando uma sobreposição (linha 11 do Algoritmo 1). Regiões azuis representam valores menores, enquanto regiões vermelhas representam valores maiores. Neste caso, o mínimo ocorreu para $i = 100$ e $j = 75$.

2.2.2.3 Otimizações na metodologia

Em relação ao proposto por Matias,^{27,28} foram realizadas as seguintes modificações:

- a) Para encontrar o cruzamento de zero e segmentar cada pulso em uma janela com referência fixa para ser classificado pela SVM ou pelo critério de continuidade, a metodologia original propunha utilizar a soma dos sinais elevados ao quadrado. Por terem surgido resultados favoráveis na literatura,²⁹ passamos a utilizar a soma dos módulos da transformada Hilbert;
- b) Na aplicação do modelo SVM, a metodologia original propunha utilizar a média aritmética dos escores gerados pela SVM em cada eletrodo. Entretanto, obtivemos melhores resultados utilizando a média geométrica ponderada pela amplitude máxima observada no eletrodo;
- c) No critério de continuidade, trocamos a busca exaustiva na minimização do pulso com sobreposição (linha 11 do Algoritmo 1) pela busca somente em torno dos mínimos encontrados nos pulsos individuais ($indice_A$ e $indice_B$, linhas 9 e 10 do Algoritmo 1).

O código foi implementado parcialmente em C/C++, devido à performance, e parcialmente em Python, devido à facilidade do uso de bibliotecas numéricas e de desenhos de gráficos, para a detecção e correção de erros.

Além disso, a versão utilizada nesta tese contém uma interface gráfica para facilitar a entrada de arquivos pelo usuário. Apesar da metodologia apresentar uma taxa de acerto muito alta ($\approx 99\%$), dada a quantidade de pulsos emitidos em uma série temporal típica de 1h de aquisição (144 mil pulsos para cada peixe), os poucos erros podem ser facilmente percebidos, que podem trazer prejuízos para as análises. Assim, foi incluído um módulo extra que permite observar os IPIs e, para cada IPI, a série temporal de voltagem no tempo observada em cada eletrodo, sobreposta com os instantes de ocorrência classificados para cada peixe (Figura 18). Essa mesma interface permite que o usuário modifique a classificação e/ou os instantes de ocorrência dos pulsos de cada peixe.

2.2.3 Detecção de *chirps*

Como são causados pela dessincronização do órgão elétrico, *chirps* tendem a se propagar menos pelo ambiente, e assim terem uma amplitude observada mais baixa do que a das DOEs. Entretanto, caso o peixe se encontre muito próximo a um dos eletrodos de medida, o sinal observado pode ser da mesma ordem de grandeza dos pulsos (Figura 19).

Devido a alta amplitude às vezes observada e a sobreposição com o sinal do outro peixe, os *chirps* provocam detecções erradas e distorções nos pulsos, dificultando a aplicação do critério de continuidade. Estes erros exigiam um grande esforço manual de correção.

Figura 18 – **A:** Interface gráfica desenvolvida para visualização e correções manuais na classificação dos pulsos. **Acima:** IPIs (em ms) para o peixe A (em azul) e para o peixe B (em vermelho) em função do tempo (em horas:minutos:segundos. 10^{-4} s). A linha vertical em 00:01:15 corresponde à posição do cursor. **Abaixo:** O sinal observado em cada eletrodo, sobreposto com os instantes de ocorrência classificados para o peixe A (em azul) e para o peixe B (em vermelho). O sinal corresponde à região no entorno de 00:01:15, marcada pelo cursor. **B:** Ampliação do sinal observado no eletrodo 5.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 19 – Exemplo de *chirp* observado nos experimentos. Até 100ms, apenas o peixe A estava emitindo DOEs a uma taxa de $\approx 75\text{Hz}$, enquanto o peixe B estava com seu órgão elétrico silenciado. A partir de 100ms, o peixe B passa a emitir um sinal do tipo *chirp*. Por estar próximo a um dos eletrodos que captou o sinal, o *chirp* foi detectado com amplitude comparável às DOE do peixe A. Note que mesmo após o início da emissão do *chirp*, o peixe A continuou emitindo suas DOEs, cujo sinal se sobrepôs ao *chirp*.

Fonte: Elaborada pelo autor

Assim, utilizamos técnicas de aprendizagem de máquina supervisionada para realizar uma detecção automática deste comportamento.

Para isso, inicialmente construímos uma base de dados com amostras de 0.5s da série temporal de um único eletrodo, escolhidas aleatoriamente. Essas amostras foram manualmente marcadas como contendo *chirp* ou não. Então, foi gerada uma nova base de dados com segmentos de 2000 amostras ($\approx 44\text{ms}$, 11 segmentos por amostra da base de dados anterior). Esta segunda base foi utilizada para treinar um classificador de Floresta de Árvores de Decisão,³⁵ cujos parâmetros foram otimizados utilizando Validação Cruzada com 5 partições.³⁶ Por se tratar de um evento raro, as classes foram balanceadas com 1/3 das amostras de treinamento contendo *chirps* e 2/3 não contendo *chirps*.

O modelo então foi utilizado aplicado à série temporal segmentada em janelas de 44ms, gerando a probabilidade de haver um *chirp* dentro de cada janela. Como observamos empiricamente que *chirps* duram pelo menos 100ms, para evitar falsos positivos a classificação do início de um *chirp* só é considerada quando 3 janelas consecutivas são classificadas como contendo *chirp*. Similarmente, o fim é considerado apenas quando 10 janelas consecutivas são classificadas como não contendo *chirp*.

Em regiões marcadas como contendo *chirps*, o limiar de detecção utilizado para encontrar uma DOE foi modificado para 30% da amplitude máxima observada nos últimos

Figura 20 – Melhoria na classificação de pulsos após detecção de *chirps*. **Acima:** Trecho de série temporal observada em um par de eletrodos, com classificação dos pulsos antes (abaixo) e após detecção de *chirps* (acima). **Abaixo esquerda:** Série de intervalos entre pulsos antes da detecção de *chirps*. **Abaixo direita:** Série de intervalos entre pulsos após a detecção de *chirps*. Note que antes da metodologia de detecção de *chirps*, todos os pulsos classificados erroneamente deveriam ser manualmente apagados ou reclassificados.

Fonte: GUARIENTO (37)

300ms, ao invés de um limiar fixo.

Esta metodologia se mostrou eficaz para evitar detecções erradas de pulsos em regiões de *chirps* (Figura 20), apesar de apresentar uma quantidade razoável de falsos positivos. Para detecção e classificação de pulsos, isso traz poucos prejuízos. Entretanto, para análises sobre a importância comportamental dos *chirps*, selecionamos manualmente cada uma das detecções realizadas pela metodologia para remover os falsos positivos. Não foram observados falsos negativos nas séries analisadas.

2.3 Metodologia

2.3.1 Animais utilizados e manutenção

Os animais utilizados foram comprados em uma agropecuária local, que os vende como isca-viva para pescadores. Em geral, os peixes eram pescados de 3 à 4 dias antes da aquisição, e trazidos para a loja em baldes, com cerca de 100 peixes no mesmo local, e armazenados na loja em um tanque, também com todos juntos. Assim, os peixes passam por um grande estresse até sua aquisição, lembrando que esta espécie tende a ter comportamento agressivo e territorial com coespecíficos.⁹

Logo após a compra, os peixes passam de 2 à 3 dias em aquários individuais com água desclorificada, remédios bactericidas e fungicidas, e sistema de filtragem somente mecânica. Este período é chamada do período de quarentena.

Após o período de quarentena, os animais são transportados para novos aquários individuais, com água desclorificada e sistemas de filtragem mecânica, química e biológica. A alimentação se deu de 3 à 4 vezes por semana, intercalando entre minhocas, mortadela e coração bovino. Devido ao grande estresse oriundo do período pré-compra, os peixes foram utilizados nos experimentos somente 1 semana após sua aquisição.

Utilizamos ao todo 6 indivíduos adultos de 20cm à 30cm em 5 experimentos de dominância realizados em setembro e outubro de 2016. O período de acasalamento dessa espécie ocorre normalmente entre novembro e março, quando em ambiente natural.

O sexo dos *Gymnotus carapo* pode ser determinado somente durante o período de acasalamento, em condições de difícil mimetização em laboratório.^{38,39} Entretanto, há evidências que, fora desse período, o comportamento é muito similar entre os sexos, em particular em termos da agressividade e dominância.⁴⁰ Assim, o sexo não foi determinado para os nossos experimentos.

Todos os protocolos e procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos da *Society for Neuroscience* e foram aprovados pelo comitê de ética e experimentação animal do Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo.

2.3.2 Experimentos de dominância

Devido ao hábito noturno da espécie *Gymnotus carapo*,⁹ os experimentos foram todos realizados à noite, entre 20h00 e 02h00, sem nenhuma iluminação externa. Os peixes foram transportados por redes similares e colocados simultaneamente no aquário experimental, de forma a passarem por níveis de estresse comparáveis. Os experimentos tiveram duração de 1h10. Os experimentos foram o primeiro contato que os peixes tiveram após sua vinda ao laboratório.

Foi utilizada água de torneira, após ao menos 24h de repouso com uma bomba ligada para a evaporação do cloro presente no sistema de distribuição. A condutividade da água foi medida antes e após os experimentos, dentro do intervalo $55 \pm 5 \mu\text{S}/\text{cm}$. A temperatura durante os experimentos esteve dentro do intervalo $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

Para que o experimento de dominância ocorresse durante o primeiro encontro daquele par de peixes, a aquisição das séries com peixes nadando individualmente no aquário para o treinamento do SVM para classificar os pulsos foi realizado após os experimentos de dominância. Essas séries são de 20 minutos, sendo 10 com o peixe nadando livremente e 10 com o peixe tendo sua natação estimulada pelo uso de uma peneira plástica, garantindo que ele se encontre pelo máximo possível de posições no

aquário experimental, e sob diversas condições de estresse.

2.3.3 Análise qualitativa

Durante os experimentos, foram realizadas anotações comportamentais descrevendo o comportamento dos mesmos. Essas anotações foram utilizadas para indicar o final da fase de disputa por dominância, quando apenas um dos peixes apresenta comportamento agressivo, enquanto o outro apenas se afasta, fugindo das tentativas de ataque.

Além disso, essas fases comportamentais foram comparadas com os sinais elétricos após a classificação de pulsos. Por inspeção visual, descrevemos 7 comportamentos elétricos qualitativos associados à comunicação. Estes comportamentos ocorrem em múltiplas escalas temporais, desde centenas de milissegundos até comportamentos que perduram por minutos.

Maiores detalhes sobre os comportamentos estão na [seção 3.1](#).

2.3.4 Análise quantitativa

Como os peixes *Gymnotus carapo* são uma espécie altamente territorialista, com uma hierarquia de dominância bem estabelecida,⁹ buscamos encontrar padrões nos IPIs que se relacionem com o papel de dominância/submissão assumido pelo indivíduo.

Inicialmente realizamos análises estatísticas nas séries de IPI para mostrar que o peixe submisso tende a mudar seu comportamento elétrico conforme a disputa de dominância se define, enquanto o peixe dominante tende a manter sua estatística de IPIs. Os resultados dessa análise geraram uma publicação científica no *Journal of Physiology (Paris)*.³⁷

Em seguida, desenvolvemos uma metodologia para segmentar a série temporal e converter cada segmento em um símbolo, análogo ao papel de fonemas em comunicação humana. Assim, convertemos a série temporal de IPIs em uma *string* de símbolos.

Então, utilizamos técnicas de teoria da informação para estimar a *direção do fluxo de informação*, que flui do peixe dominante para o peixe submisso, e um classificador supervisionado de árvore de decisão para estimar as *regras de transição dos símbolos* emitidos, que é distinta para o peixe dominante e para o peixe submisso.

2.3.4.1 Relação da estatística IPIs com o papel de dominância

Utilizando a análise qualitativa, segmentamos a série de IPIs em 3 partes ([Figura 21](#)):

- a) **Disputa de dominância:** Neste período, de aproximadamente 10 minutos, ambos peixes possuem estatísticas de IPIs similares, com diversas acelerações sequenciais e inversões. O papel de dominante/submisso ainda não é claro comportamentalmente ([Figura 21 A](#));

Figura 21 – Transição do período de disputa de dominância para o período pós disputa na série de IPIs. **Acima:** Série de IPIs de um experimento típico. Os pontos em azul representam o peixe submisso, enquanto os pontos em vermelho representam o peixe dominante. Ocorrências de *Chirps* e interrupções estão marcadas acima da série. **Abaixo:** Ampliação para a escala de 20s dos trechos **A**, **B** e **C**, assinalados na figura acima. Trechos sombreados na figura correspondem à interrupções nas DOEs do peixe submisso e do peixe dominante, respectivamente. Sombreados em cinza representam emissão de *chirp* pelo peixe submisso.

Fonte: GUARIENTO (37)

Figura 22 – Estatística dos IPIs dos animais conforme definição da disputa de dominância. **(a)**, **(c)** e **(e)**: Distribuição dos IPIs para o peixe dominante durante a disputa de dominância, durante a transição, e durante o período pós-disputa, respectivamente. O IPI médio está representado pela linha vertical. **(b)**, **(d)** e **(f)**: Distribuição dos IPIs para o peixe submisso durante a disputa de dominância, durante a transição, e durante o período pós-disputa, respectivamente. O IPI médio está representado pela linha vertical.

Fonte: GUARIENTO (37)

- b) **Transição para papel de dominante/submisso:** Neste período, os peixes apresentam algumas interrupções nas DOEs. O peixe que se torna submisso apresenta interrupções mais longas e mais frequentes (Figura 21 B);
- c) **Período pós disputa:** O peixe submisso mantém-se apresentando interrupções, porém um pouco mais breves, e diminui seu IPI médio. O peixe dominante cessa as interrupções e mantém sua taxa de DOEs (Figura 21 C).

Então, utilizando o teste estatístico Mann-Whitney U,⁴¹ validamos essa divisão mostrando que as distribuições estatísticas de cada um desses trechos é distinta para o peixe submisso, mas não para o dominante (Figura 22).

2.3.4.2 Segmentação da série de IPIs e definição de unidades linguísticas

Baseados nas análises qualitativas e nas séries de IPIs, observamos que tratam-se de séries temporais com diversas escalas temporais envolvidas, tendo IPIs desde 5ms nas super acelerações, modulações lentas no IPI médio que perduram por toda a série temporal, até interrupções nas DOEs da ordem de 1 minuto.

Essas diversas escalas podem ser interpretadas fisiologicamente baseado nas modulações recebidas pelos núcleos pré-marcapasso: Acelerações e desacelerações rápidas ($\approx 30\text{ms}$) devem-se à modulações sinápticas PPn-C, interrupções longas intercaladas por *chirps* (Figura 21 B) devem-se à modulações no SPPn; já modulações lentas devem-se a mudanças hormonais. De fato, tem-se estudado que um mesmo hormônio (vasotocina) gera efeitos antagônicos dependendo do papel de dominância ou submissão assumido pelo animal.¹⁸

Inspirados por esses resultados, desenvolvemos uma técnica para segmentar a série de IPIs em trechos cuja tendência de aceleração ou desaceleração na taxa de DOE seja constante (algoritmo 2). Como um paralelo em línguas naturais, os segmentos seriam análogos à **sílabas**. Simplificadamente, a técnica consiste em ponderar a soma dos resíduos de um ajuste linear nos pulsos, que crescem monotonicamente, com uma penalização com a janela temporal no ajuste, penalizando intervalos muito pequenos (Figura 23).

Essa metodologia contém dois parâmetros: α , que pondera o tamanho médio dos segmentos, e β , que define o quão sensíveis as quebras são para acelerações e desacelerações bruscas nos IPIs (Figura 24). Para otimizar estes parâmetros, selecionamos diversos trechos da série temporal de IPIs e visualmente selecionamos parâmetros que equilibrassem o detalhamento de acelerações e desacelerações bruscas com segmentos suficientemente longos para serem fisiologicamente plausíveis ($\approx 1\text{s}$). Assim, selecionamos $\alpha = 10^{-5}$ e $\beta = 2$.

Tendo sido feita a segmentação, agrupamos os segmentos, de forma que segmentos com características similares sejam colocados em um mesmo grupo. Para isso, de cada segmento, extraímos 6 características:

- a) Coeficiente angular do ajuste linear do segmento;
- b) IPI médio;
- c) Resíduo máximo do ajuste linear do segmento;
- d) Desvio padrão dos resíduos do ajuste linear do segmento;
- e) Tamanho em segundos;
- f) Número de pulsos.

Note que para cada segmento geramos um vetor de 6 dimensões. Então, para cada peixe, normalizamos cada uma dessas características para ter média nula e desvio padrão

Algoritmo 2: Detecção de pontos de mudança da tendência

Entrada: Série de IPIs (IPI_n) e série de instantes de disparo ($timestamp_N$)

Saída: Instantes em que a tendência de aceleração/desaceleração mudou

```

1  início
    ▷ Inicialização das variáveis
2  início  $\leftarrow 1$ 
3  pontosDeMudança  $\leftarrow Lista()$ 
4  últimaPerda  $\leftarrow \infty$ 
5   $i \leftarrow 1$ 
6  enquanto  $i \leq N$  faça
    ▷ Realiza uma regressão linear dos pulsos no intervalo
7    coefAngular, coefLinear, resíduos  $\leftarrow$ 
      ajusteLinear(timestamp_início..timestampi, IPI_início..IPIi)
    ▷ Define função perda, que pondera resíduos do ajuste com o
      tamanho do intervalo
8    perda  $\leftarrow$  resíduos +  $\alpha/|timestamp_1 - timestamp_{início}|^\beta$ 
    ▷ Caso o pulso atual esteja em uma interrupção das DOEs,
      define fim do intervalo
9    se timestampi - timestampi-1 > 100ms então
10     início  $\leftarrow i$ 
11     Adiciona timestampi-1 à pontosDeMudança
12     início  $\leftarrow i$ 
13      $i \leftarrow i + 2$ 
14     Continue para o próximo pulso
    ▷ Caso a função perda aumente, ela está em seu mínimo, define
      fim do intervalo
15    se perda > últimaPerda então
16     início  $\leftarrow i$ 
17     Adiciona timestampi-1 à pontosDeMudança
18     início  $\leftarrow i$ 
19      $i \leftarrow i + 2$ 
20     Continue para o próximo pulso
21    perda  $\leftarrow$  últimaPerda
22  fim
23 fim
  
```

unitário, e agrupamos utilizando a metodologia K-Médias.⁴²

Após o agrupamento, cada segmento é convertido em um símbolo, transformando a série de IPIs em uma *string*. Para determinar o número ótimo de grupos (e de símbolos), calculamos a entropia de Shannon⁴³ dividida pelo número de grupos como função do número de grupos (Figura 25). Quando o número de símbolos é muito pequeno, eles tendem a ser distribuídos uniformemente, gerando altos valores de entropia. Por outro lado, quando se adiciona símbolos desnecessariamente, somente é adicionada redundância, mantendo a entropia constante. Assim, quando a entropia dividida pelo número de símbolos alcança um patamar, estimamos que este é um número adequado de símbolos. Em nossas análises,

Figura 23 – Função perda utilizada para segmentação da série de IPIs em acelerações e desacelerações. Conforme aumentamos a janela temporal do segmento, e consequentemente o número de pulsos envolvidos, os resíduos do ajuste linear tendem a crescer monotonicamente, representado nessa figura por uma função linear. Então, adicionamos à soma de resíduos uma função monotônica decrescente, que penaliza segmentos muito curtos, representada nessa figura pela função $1/t$. A função perda, representada em vermelho, possui um mínimo que indica o ponto ótimo de quebra do segmento.

Fonte: Elaborada pelo autor

o número 6 otimizou este critério.

O número de *clusters* foi validado com um gráfico de volumetria (Figura 26). Idealmente, os *clusters* devem ter tamanhos similares. No estudo das nossas séries, observamos um aumento significativo de um dos *clusters* quando aumentamos de 5 para 6, deixando-os com tamanho mais equilibrado.

2.3.4.3 Fluxo de informação e regras de transição

A definição de unidades linguísticas por segmentação e agrupamento transformou a série de IPIs em *strings* de símbolos. Entretanto, a segmentação não ocorre necessariamente nos mesmos instantes para cada peixe. Assim, para estudar a transmissão de informação entre os símbolos emitidos, precisamos sincronizar as *strings*.

Quando estudamos a transmissão de informação do peixe submisso para o peixe dominante, geramos uma nova *string* do peixe dominante, apenas com os símbolos que ocorreram logo após cada emissão do peixe submisso. Note que caso um segmento do peixe submisso seja muito longo, um símbolo do peixe dominante pode ser removido, ou

Figura 24 – Parâmetros α e β do método de segmentação da série de IPIs em acelerações e desacelerações. **Em preto:** Série original de IPIs. **Em verde:** Aproximação linear nos segmentos encontrados. **Em rosa:** Limites dos segmentos encontrados. **A:** O parâmetro α define o tamanho médio dos segmentos, sendo quando menor α , menores os segmentos. **B:** O parâmetro β define a sensibilidade dos segmentos a acelerações e desacelerações bruscas, sendo quando maior β , menor a sensibilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 25 – Critério da entropia para seleção do número de grupos utilizado no agrupamento por K-Médias. Quando há poucos *clusters*, a entropia tende a atingir seu valor máximo de $\log_2(N)$, sendo N o número de *clusters*. Entretanto, quando é adicionado um símbolo desnecessariamente, a entropia tende a ficar constante ou diminuir por razões de amostragem. Assim, quando a entropia dividida pelo número de *clusters* atinge um patamar para um determinado N^* , consideramos N^* um número adequado de símbolos. Para as nossas séries, o valor escolhido foi 6 *clusters*.

Fonte: Elaborada pelo autor

caso seja muito curto, pode ser duplicado. O conceito dessa metodologia é buscar somente informações que estejam ligadas à causalidade, i.e., olhamos somente para os símbolos que podem ter sido diretamente influenciados pela emissão anterior do outro peixe.

Do ponto de vista da Teoria da Informação, comunicação consiste em uma emissão de um símbolo por um indivíduo provocar uma mudança nas probabilidades de resposta do outro indivíduo.⁴³ Assim, utilizamos a medida Informação Mútua Média (IMM) para medir a transferência de informação de um peixe para outro. Essa métrica mede a redução média da incerteza do respondente dado o conhecimento de um símbolo do emissor.

Entretanto, como a IMM é sempre positiva, não há um valor imediato que possa ser utilizado para afirmar se ela é significativa ou não, o que dificulta afirmar a significância estatística da medida. Para contornar esta dificuldade, calculamos a IMM dividida pela entropia de cada peixe (IMM/H), que dá a redução da incerteza como uma porcentagem.

Além disso, devido ao seu caráter médio, a IMM é simétrica com relação ao emissor e ao respondente. Para contornar essa dificuldade, calculamos a IMM/H em função do deslocamento de uma das séries. Esperamos que para grandes deslocamentos não exista correlação comunicativa entre os símbolos, fazendo a IMM/H cair para seu valor basal

Figura 26 – Volumetria em função do número de *clusters*. Note que quando aumenta-se de 5 para 6 *clusters*, há um aumento significativo do *cluster* indicado pela cor vermelha.

Fonte: Elaborada pelo autor

devido à amostragem (Figura 27 e Figura 28). O número de símbolos deslocados necessário para que o pico da IMM/H retorne à linha de base é uma forma de *comprimento de correlação*. Em nossas séries esse comprimento virou de 3 à 15 símbolos.

Tendo verificado a existência de transferência de informação na metodologia de codificação proposta, buscamos encontrar as regras de transição que regem a comunicação por estes símbolos. Para isso, treinamos uma árvore de decisão, i.e., um classificador supervisionado que permite a interpretação das regras estabelecidas entre as variáveis independentes até a predição da variável dependente. Como variáveis independentes utilizamos os últimos 5 símbolos emitidos por cada peixe, ponderando o comprimento de correlação encontrado pelo gráfico da IMM/H (Figura 28) e limitações estatísticas do montante de dados (cerca de 3000 símbolos por peixe por experimento), e como variável dependente o próximo símbolo a ser emitido pelo peixe-alvo, sendo que um modelo foi treinado para cada um dos peixes.

A árvore de decisão teve o parâmetro *profundidade da árvore* otimizado por validação cruzada com 3 partições. Foi escolhido este parâmetro pela facilidade de visualização e interpretação do classificador treinado (Figura 29). A acurácia da classificação, validada com conjunto-teste de 10% dos dados variou entre 40% e 80%, dependendo da série testada e se o peixe era dominante ou submisso. As discussões e resultados sobre os modelos treinados estão na subseção 3.2.4.

Deslocamento	Símbolos emitidos	IMM / Entropia	Direção do fluxo
-2	--DBECDBACCBEDEE-- ---ABDBCECBEDBAAB	0.4%	A → B
-1	--DBECDBACCBEDEE-- ---ABDBCECBEDBAAB	0.8%	A → B
0	--DBECDBACCBEDEE-- ---ABDBCECBEDBAAB	1.2%	A B
1	--DBECDBACCBEDEE-- -ABDBCECBEDBAAB---	2.1%	A ← B
2	--DBECDBACCBEDEE-- ABDBCECBEDBAAB---	0.9%	A ← B

Figura 27 – Uso da IMM para estimar direção do fluxo de informação. Calculamos a IMM como função do deslocamento de uma das séries. Neste exemplo, deslocamentos negativos indicam que símbolos emitidos pelo peixe A são capazes de prever símbolos que ainda serão emitidos pelo peixe B, enquanto deslocamentos positivos indicam que símbolos emitidos pelo peixe B preveem símbolos que ainda serão emitidos pelo peixe A. O deslocamento cuja IMM/H é máximo é a estimativa da direção do fluxo de informação.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 28 – IMM/H em função do deslocamento temporal de uma das séries temporais. **Em azul:** Utilizamos a série temporal do peixe submisso como referência para gerar uma nova *string* apenas com os símbolos emitidos pelo peixe dominante logo após cada símbolo emitido do peixe submisso. **Em vermelho:** Utilizamos a série temporal do peixe dominante como referência para gerar uma nova *string* apenas com os símbolos emitidos pelo peixe submisso logo após cada símbolo emitido pelo peixe dominante. O pico deslocado na curva azul significa que os símbolos do peixe submisso podem ser utilizados para prever o símbolo *anterior* do peixe dominante, i.e., o comportamento do peixe dominante alterou o comportamento do peixe submisso. Note que é necessário um *delay* de 3 símbolos no entorno dos picos para que a IMM/H atinja um valor comparável à linha de base.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 29 – Árvore de decisão com as regras de transição de símbolos para prever a próxima emissão do peixe submisso. **Acima:** Para treinar a árvore de decisão, utilizamos os últimos 3 símbolos emitidos por cada peixe como variáveis independentes, e o próximo símbolo a ser emitido pelo peixe submisso como variável dependente. A árvore teve a sua profundidade otimizada por validação cruzada com 3 partições, utilizando como métrica a acurácia. **Abaixo:** Árvore de um dos experimentos após treinamento e otimização. Nos vértices está indicado qual variável independente foi utilizada para a tomada da decisão, e nas arestas as possibilidades de valores emitidos por aquela variável. Nas folhas (em azul) está indicada a proporção de classes do próximo símbolo a ser emitido, sendo a classe com maior proporção a predita da árvore de decisão.

Fonte: Elaborada pelo autor

3 RESULTADOS

3.1 Resultados qualitativos

Os 7 comportamentos observados na análise qualitativa que subjetivamente se correlacionam com comunicação são (Ilustrados pela [Figura 30](#), exceto pelo *chirp*, ilustrado pela [Figura 31](#)):

- a) **Super aceleração:** O peixe acelera suas DOEs até um IPI inferior à 10ms, situação nunca observada com o peixe nadando sozinho livremente;
- b) **Acelerações sequenciais:** Aceleração das DOEs de um peixe, seguido por aceleração das DOEs do outro;
- c) **Inversão:** Aceleração das DOEs de um peixe suficiente para este peixe ter sua frequência mais rápida que a do outro;
- d) ***Jamming Avoidance Response*:** Um dos peixes apresenta comportamento oscilatório na sua taxa de DOEs, correlacionado com coincidências nas DOEs dos peixes;
- e) **Interrupção por um único peixe:** Um dos peixes cessa sua emissão de DOEs;
- f) **Interrupção mútua:** Ambos peixe cessam suas emissões de DOEs simultaneamente;
- g) ***Chirp*:** Um dos peixes interrompe suas DOEs, emitindo um sinal ruidoso, fruto de uma dessincronização de seu órgão elétrico. O peixe frequentemente intercala longos períodos de interrupção com a emissão de *chirps*.

Enquanto acelerações podem ser observadas sem a ação de nenhum tipo de estímulo externo,⁴⁴ elas nunca chegam ao IPI de menos de 10ms espontaneamente. As super acelerações destacadas foram observadas somente em experimentos de dominância.

Acelerações sequenciais e inversões são comportamentos similares, sendo que a inversão ocorre quando as frequências dos peixes são similares. Ambos comportamentos tendem a ocorrer somente no início da disputa, cessando após a definição da dominância. Alguns pesquisadores tem hipóteses que inversões podem ter um papel mais relevante, dado que elas podem mudar o padrão de pulsos percebido pelo animal (Alves-Gomes e Braun, comunicação oral).

Jamming avoidance responses ocorrem de maneira automática como resposta a estímulos pulsantes.¹⁴ Entretanto, em todas as séries, observamos *Jamming avoidance responses* com um impacto maior que 1ms durante o período de disputa de dominância, o

Figura 30 – Sequência de IPIs em trechos dos experimentos de dominância e comportamentos qualitativos associados. Os comportamentos ocorrem em diversas escalas distintas, desde centenas de milissegundos até minutos. **Sequência de interrupções:** Após a dominância ter sido estabelecida, o peixe submisso diminui sua frequência de DOE, e intercala diversas interrupções. **Super aceleração:** Em algumas situações que precedem ataques, o peixe dominante aumenta tanto a sua taxa de DOE a ponto de ter um IPI de 5ms. Como referência, a duração de uma DOE é da ordem de 2.5ms. **Interrupção:** Exemplo de uma única interrupção do peixe submisso. **Sequência de inversões:** Durante o período de disputa por dominância, ambos peixes aceleram e desaceleram suas taxas de DOE, intercambiando qual tem a maior frequência. **Jamming Avoidance Response:** Quando há sobreposição de pulsos, o peixe com maior taxa de DOE realiza pequenas acelerações. Isto é observado somente no início dos experimentos, durante a disputa por dominância. **Reduções sequenciais:** Os peixes aceleram momentaneamente suas taxas de DOE, intercalados por cerca de 100 – 200ms. Todos os gráficos possuem eixo-y (IPI) em ms.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 31 – Exemplo de série temporal de um dos eletrodos, contendo um *chirp* observado nos experimentos de dominância. Os pontos vermelhos indicam DOE do peixe dominante. Até 40ms o peixe submisso estava em uma interrupção, e, a partir deste momento, passou a emitir um *chirp*.

Fonte: Elaborada pelo autor

que pode implicar que este comportamento é passível de inibição pelo sistema nervoso central.

Interrupções são tipicamente associadas ao comportamento de submissão.⁴ Entretanto, esta interpretação não justifica a interrupção mútua. O peixe dominante apresenta interrupções somente após o término da disputa por dominância, e com duração muito curta, inferior a 0.5s. Comparando as séries de IPI com os metadados das séries, interrupções do peixe dominante parecem preceder ataques, diferentemente das interrupções do peixe submisso, que parecem preceder aproximações cautelosas ou fugas.

Chirps foram previamente reportados em *Brachyhypopomus gauderio*, um gênero com um grande dimorfismo sexual,¹⁰ como relacionados ao ritual de corte (Estudos sobre o gênero *Brachyhypopomus* são encontrados na literatura como do gênero *Hypopomus*, que foi renomeado posteriormente⁴⁵). Já em *Gymnotus*, que é conhecido justamente pelo comportamento e fisiologia similares em ambos sexos,¹⁷ *chirps* não são completamente compreendidos. Comparando os instantes de ocorrência dos *chirps* com nossos metadados e em experimentos preliminares,⁴⁶ observamos que eles ocorrem no peixe submisso, precedendo ataques do peixe dominante.

Figura 32 – Médias de desvios padrão dos IPIs e soma dos tempos de *chirps* e interrupções para todos os experimentos. Para não serem influenciados pelas interrupções e *chirps*, foram considerados somente IPIs menores que 40ms no cálculo das médias e desvios padrão. Somente foram consideradas interrupções maiores que 1s.

Fonte: GUARIENTO (37)

3.2 Resultados quantitativos

3.2.1 Relação da estatística de IPIs com o papel de dominância

Ao todo, realizamos 5 experimentos de dominância. Em todos, foi possível observar que há mudança na estatística de IPIs do peixe submisso conforme a resolução da disputa de dominância. Além disso, *chirps* foram emitidos somente pelo peixe submisso e interrupções preferencialmente pelo submisso (Figura 32). As estatísticas de IPIs e p-valores estão apresentados na Tabela 1.

Estes resultados foram publicados no periódico científico *Journal of Physiology (Paris)*.³⁷

3.2.2 Segmentação da série de IPIs

Para otimizar os parâmetros α e β selecionamos diversos trechos da série e IPIs que apresentassem oscilações em diferentes escalas. Testamos ao todo 3 diferentes valores para α : 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} (Figura 33), e 3 valores para β : 1, 2 e 4 (Figura 34), totalizando 9 combinações.

Figura 33 – Resultados da segmentação da série de IPIs para diversos parâmetros α com o $\beta = 2$. Selecionamos diversos trechos de 15s, com características de aceleração e desaceleração distintas para comparar os resultados para diversos α . Os gráficos com contorno verde representam o resultado que, subjetivamente, consideramos adequado. O valor de α utilizado na definição de unidades linguísticas foi 10^{-5} . As linhas verticais representam as transições entre segmentos.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 34 – Resultados da segmentação da série de IPIs para diversos parâmetros β com o α escolhido. Selecionamos diversos trechos de 15s, com características de aceleração e desaceleração distintas para comparar os resultados para diversos β . Os gráficos com contorno verde representam o resultado que, subjetivamente, consideramos adequado. O valor de β utilizado na definição de unidades linguísticas foi 2. As linhas verticais representam as transições entre segmentos.

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 35 – Histogramas das variáveis extraídas dos segmentos para cada um dos experimentos. **Em vermelho:** Histogramas para o peixe dominante. **Em azul:** Histogramas para o peixe submisso.

Fonte: Elaborada pelo autor

Após a segmentação com os parâmetros $\alpha = 10^{-5}$ e $\beta = 4$, extraímos de cada segmento o coeficiente angular, o IPI médio, o resíduo máximo do ajuste, o desvio padrão dos resíduos, o tamanho do segmento em segundos e o número de pulsos. Então, observamos que estas variáveis possuem poder discriminativo se o peixe é dominante ou submisso. Histogramas de cada uma dessas variáveis para cada um dos 5 experimentos realizados estão na [Figura 35](#).

3.2.3 Agrupamento para definição de unidades linguísticas

Os resultados da volumetria e da entropia dividida pelo número de *clusters* para cada experimento estão na [Figura 36](#). Como houve bastante semelhança nestes resultados, o número de *clusters* escolhido foi 6 para todos os experimentos.

Figura 36 – Resultados da volumetria e da entropia em função do número de *clusters* para cada um dos experimentos.

Fonte: Elaborada pelo autor

3.2.4 Informação mútua e regras de transição de símbolos emitidos por cada peixe

Os resultados da IMM/H e da acurácia da árvore de decisão para prever o próximo símbolo a ser emitido por cada peixe estão na [Tabela 2](#). A árvore de decisão apresentou resultados melhores que o classificador de classe majoritária em todas as séries, entretanto em 2 das 5 ela apresentou resultados apenas do peixe dominante para o peixe submisso, e em 1 das 5 do peixe submisso para o dominante.

Em 4 das 5 séries foi possível observar um pico na IMM/H em função do deslocamento temporal de uma das séries de IPI ([Figura 37](#)). O fluxo de informação do pico ocorreu do dominante para o submisso em 2 séries e do submisso para o dominante em 2 séries.

Figura 37 – IMM/H em função do deslocamento de uma das séries temporais de IPI para todos os experimentos. Houve fluxo de informação do peixe dominante para o peixe submisso nos experimentos realizados nos dias 14/Set/2015 e 03/Out/2015. Houve fluxo de informação do peixe submisso para o dominante nos experimentos do dia 01/Set/2015 e 04/Out/2015. Entretanto, a curva da IMM/H para valores positivos de *delay* indica que houve fluxo de informação no sentido contrário, em menor intensidade. Não houve fluxo de informação no experimento realizado no dia 06/Out/2015.

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 1 – Estatísticas de IPIs dos experimentos de dominância

Experimento (Data)	Papel	Peixe sozinho (ms)	Período de disputa ($t < 430s$) (ms)	Dominância estabelecida ($t > 1000s$) (ms)	Estatística Mann-Witney U ($\times 10^6$)	p-valor
01/Set/2015	Dominante	15 $\pm$ 1	19 $\pm$ 2	19 $\pm$ 2	1637	0.00
01/Set/2015	Submisso	20 $\pm$ 2	16.0 $\pm$ 0.9	16 $\pm$ 1	1669	0.00
14/Set/2015	Dominante	25 $\pm$ 5	21 $\pm$ 1	20 $\pm$ 1	8482	0.00
14/Set/2015	Submisso	21 $\pm$ 2	23 $\pm$ 1	24 $\pm$ 2	826	0.00
03/Out/2015	Dominante	16 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	2940	0.00
03/Out/2015	Submisso	15 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	17 $\pm$ 1	863	0.00
04/Out/2015	Dominante	15 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	1013	0.00
04/Out/2015	Submisso	16 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	1013	0.00
06/Out/2015	Dominante	17 $\pm$ 1	16 $\pm$ 2	16 $\pm$ 2	2357	0.00
06/Out/2015	Submisso	17 $\pm$ 1	17 $\pm$ 2	19 $\pm$ 2	18	0.00

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 2 – Resultados de IMM/H e acurácia das árvores de decisão para todos os experimentos

Experimento (Data)	Direção do fluxo	IMM_{max} (bits)	IMM/H_{max} (%)	Profundidade da árvore	Acurácia		Há fluxo?
					do teste (%)	Acurácia do mais freqüente (%)	
01/Set/2015	<i>Submisso</i> → <i>Dominante</i>	0.03	1.5	3	45	42	Não
01/Set/2015	<i>Dominante</i> → <i>Submisso</i>	0.04	2.3%	2	67	39	Sim
14/Set/2015	<i>Submisso</i> → <i>Dominante</i>	0.02	1.0	2	48	44	Não
14/Set/2015	<i>Dominante</i> → <i>Submisso</i>	0.02	0.9	3	52	38	Sim
03/Out/2015	<i>Submisso</i> → <i>Dominante</i>	0.02	1.0	3	52	43	Sim
03/Out/2015	<i>Dominante</i> → <i>Submisso</i>	0.02	1.3	4	77	47	Sim
04/Out/2015	<i>Submisso</i> → <i>Dominante</i>	0.04	2.1	3	63	36	Sim
04/Out/2015	<i>Dominante</i> → <i>Submisso</i>	0.04	2.0	5	47	47	Não
06/Out/2015	<i>Submisso</i> → <i>Dominante</i>	0.01	0.7	2	71	41	Sim
06/Out/2015	<i>Dominante</i> → <i>Submisso</i>	0.02	1.2	4	92	48	Sim

Fonte: Elaborada pelo autor.

4 DISCUSSÃO/CONCLUSÃO

Gymnotus carapo são peixes extremamente territoriais, com um senso forte de hierarquia relacionado à exploração que cada peixe faz do seu entorno.⁹ Essa forte territorialidade é modulada por hormônios e similar em ambos sexos.¹⁸

Estudos comportamentais já haviam sido realizados por meio de estímulos gravados de outros peixes,¹² análise de trechos curtos de disputas territoriais^{4,13} e com estímulos disparados após um intervalo de tempo fixo de cada DOE do peixe.⁷ Nesses estudos, foi observado que reduções da taxa de DOE e interrupções estão associadas à sinais de submissão.

Essas modulações na taxa de DOE depende da ação dos núcleos pré-marcapasso.²⁵ De fato, estes núcleos são modulados por neurônios sensíveis à vasotocina, hormônio análogo a vasopressina de mamíferos, que possui um papel fundamental em comportamentos associados à dominância e submissão.^{18,47}

Além disso, levantou-se a hipótese que *Gymnotus carapo* seriam capazes de identificar individualmente seus vizinhos por meio de detalhes na forma de onda da DOE,^{15,48} tendo sido proposto um possível mecanismo.¹⁶ Essa hipótese concorda com a observação de que a hierarquia desses peixes se modifica após um aumento populacional substancial: Enquanto há poucos peixes, um único indivíduo domina todos os demais. Após aumento na população, é estabelecida uma hierarquia mais complexa, com um peixe dominando alguns, mas evitando adentrar no território de outros.⁹ Populações elevadas de *Gymnotus carapo* são comuns, sendo uma das espécies mais citadas por pescadores locais para uso como isca-viva.⁴⁹

Dentro desse contexto, estudamos como padrões nas modulações dos IPIs associam-se com o papel social dos *Gymnotus carapo*.

4.1 *Gymnotus carapo* em papel de submissão emitem chirps

Apesar de haver resultados na literatura indicando comportamentos elétricos específicos de peixes submissos, como interrupções e reduções da taxa de disparo de IPIs, detalhes estatísticos nunca puderam ser estudados em virtude da dificuldade de atribuir o emissor de cada pulso em experimentos com dois peixes nadando livremente no aquário.

Utilizamos a técnica do estado-da-arte,²⁸ e adaptando essa metodologia de acordo com as especificidades do nosso experimento, pudemos realizar experimentos e análises dos padrões de IPIs emitidos por pares de *Gymnotus carapo* interagindo livremente. Todos os códigos desenvolvidos são *open-source*, o que permitirá que esta metodologia seja replicada por outros laboratórios ao redor do mundo.

Em nossos experimentos, além dos padrões já conhecidos da literatura, observamos interrupções de DOE na forma de *chirps*. Estes sinais já foram observados anteriormente em *Brachyhypopomus gauderio*, relacionados à corte sexual, e recentemente tem havido relatos no gênero *Gymnotus*, ligados ao papel de submissão.¹⁷

De acordo com nossos resultados preliminares, *chirps* são emitidos antecedendo ataques do coespecífico. Por se tratar de uma dessincronização do órgão elétrico, com propagação local, acreditamos que esse comportamento funcione como uma forma de defesa. O campo elétrico local causaria um disparo em massa dos receptores tuberosos do peixe atacante, que colocaria suas vias ligadas à eletrolocalização em período refratário e dificultando uma perseguição.

Além disso, como observamos que interrupções e *chirps* ocorrem intercalados, levantamos também a hipótese que há um custo fisiológico grande para o núcleo pré-marcapasso PPn-C se manter inibido por muito tempo. Mesmo em períodos de repouso absoluto, o peixe continua emitindo suas DOEs periodicamente, provocadas pelo sinal vindo do marca-passo. Interrupções e desacelerações na taxa de DOE não ligadas à *chirps* ocorrem quando o PPn-C é inibido. Já *chirps* ocorrem por estimulação do SPPn. Em nossos experimentos observamos períodos em que o peixe submisso se mantém por cerca de 1 minuto sem emitir DOEs, intercalando entre interrupções e *chirps*.

4.2 A estatística dos IPIs é dependente do papel social dos peixes

É sabido na literatura que peixes com comportamento submisso apresentam taxas de DOE inferiores às dos dominantes.^{4,13} Entretanto, não é clara a relação de causalidade: se por ter uma frequência menor o peixe se tornaria submisso, ou se sua frequência se modularia dinamicamente conforme a definição do seu papel social.

Em nossos experimentos pudemos observar a transição entre o período de disputa e dominância, em que ambos peixes apresentaram taxa de DOE similares até o período em que a dominância já estava estabelecida, quando o submisso reduziu sua taxa de DOEs (Figura 22). Essa transição sempre ocorreu acompanhada da emissão de *chirps* e geração de interrupções do submisso.

Como o peixe submisso utiliza interrupções como um mecanismo de defesa para não ser detectado pelo dominante, acreditamos que a redução da taxa de DOE seja uma forma fisiológica de alcançar interrupções mais facilmente. Apesar de *chirps* serem gerados por estimulação do SPPn, tanto interrupções quanto desacelerações na taxa de DOE ocorrem por inibição do PPn-C. A mudança hormonal decorrente da definição do papel social pode aumentar a sensibilidade deste último núcleo à neuromoduladores inibitórios, ou reduzi-la a neuromoduladores excitatórios, tornando-o menos ativo.

4.3 Modulações dos núcleos pré-marcapasso codificam informação comunicativa

Conceitualmente, a metodologia de segmentação descrita na [subseção 2.3.4.2](#) divide a série de IPIs em excitações e inibições dos núcleos pré-marcapasso. Para cada trecho segmentado, extraímos características que contivessem informações sobre modulações rápidas na taxa de DOEs, que pudessem codificar informações mais complexas que aceleração e desaceleração.

Analizando os histogramas das variáveis extraídas dos segmentos ([Figura 35](#)), pudemos observar que as variáveis com maior poder de discriminação entre os peixes são o IPI médio, a duração em segundos, o número de pulsos do segmento, o desvio padrão e o resíduo máximo. O IPI médio é esperado, tendo em vista que o peixe submisso tende a ter uma taxa de DOE inferior ao dominante. Entretanto, mesmo tendo uma taxa menor, a duração dos segmentos e o número de pulsos contidos neles são tipicamente menores, indicando uma maior oscilação na modulação dos núcleos pré-marcapasso. Isso está de acordo com a informação no desvio padrão e no resíduo máximo, que possui valores maiores para o peixe submisso do que para o peixe dominante.

Assim, acreditamos que o peixe submisso apresenta uma maior atividade dos núcleos pré-marcapasso, sendo modulados de diversas maneiras para codificar informações rápidas, enquanto o peixe dominante os mantém com modulações mais constantes.

4.4 A comunicação é direcional

Comunicação consiste na emissão de símbolos por um indivíduo estar correlacionada com a emissão de símbolos de outro indivíduo, i.e., *dado* o conhecimento de um conjunto de símbolos do emissor (uma frase), as probabilidades de emissão do receptor se alteram (possíveis respostas). Tomando como exemplo o português, após uma pessoa perguntar "Como foi o seu dia?", caso o receptor possua conhecimento da língua, apenas algumas respostas são possíveis. Em contrapartida, caso o receptor não possua conhecimento algum da língua, ou não esteja prestando atenção no assunto, casos em que a comunicação não ocorre, é possível a emissão de qualquer outro conjuntos de fonemas.

A IMM é uma medida do quanto as respostas do receptor se tornaram previsíveis após o conhecimento das "frases" emitidas pelo emissor. A existência de IMM dada uma certa definição de símbolos indica que aqueles símbolos são possíveis candidatos para a execução da comunicação. Em 4 de 5 séries analisadas, houve picos de IMM ([Figura 37](#)), indicando que a metodologia que desenvolvemos de segmentar e agrupar a série de IPIs gera bons candidatos a unidades comunicativas.

Além disso, em 3 dessas 4 séries o pico de informação ocorreu quando a série do peixe dominante era transladada temporalmente para o passado, i.e., sequências de símbolos do peixe dominante provocaram previsibilidade no próximo símbolo a ser emitido

pelo peixe submisso. Essa interpretação é coerente com o comportamento de dominância e com a hipótese levantada de que o peixe submisso apresenta modulações intermitentes nos seus núcleos pré-marcapasso.

Acreditamos que há sequências de símbolos que são emitidas de forma estacionária pelos peixes. A recepção de sequências específicas, provoca a emissão de respostas específicas, associadas à modulações rápidas, presentes somente no peixe submisso.

4.5 A comunicação pode ser aproximada por uma gramática regular

Do ponto de vista de teoria linguística, gramáticas formais consistem em um conjunto de *regras de produção* que substituem símbolos não-terminais por símbolos terminais, que são efetivamente emitidos para o meio.⁵⁰ As gramáticas formais classificam-se hierarquicamente em 4 categorias:

- a) **Gramáticas regulares:** Os símbolos são emitidos sequencialmente da esquerda para a direita (ou, sem perda de generalidade, da direita para a esquerda). Exemplo: Expressões regulares;
- b) **Gramáticas livres de contexto:** Inclui todas as gramáticas regulares e gramáticas que blocos de texto podem ser inseridos independentemente dos seus arredores. Exemplo: Linguagens de programação imperativas - um mesmo bloco de código pode ser inserido em uma expressão condicional ou em um laço;
- c) **Gramáticas dependentes de contexto:** Inclui todas as gramáticas livres de contexto e gramáticas em que blocos de texto podem ser inseridos, dependendo de condições específicas dos seus arredores. Exemplo: Linguagens naturais - Uma oração subordinada pode ser incluída, caso a região seja sintaticamente uma oração nominal.
- d) **Gramáticas recursivamente enumeráveis:** Inclui todas as possíveis regras de geração de texto.

Essa divisão hierárquica é conhecida como *Hierarquia de Chomsky*.^{51,52}

Sob esta ótica, nossa abordagem de prever o próximo símbolo a ser emitido baseando-se nos últimos 5 símbolos modela a comunicação dos *Gymnotus carapo* como uma gramática regular.

4.6 Trabalhos futuros

Os experimentos realizados nesta tese abordaram a comunicação de peixes *Gymnotus carapo* sob o ponto de vista inteiramente comportamental. A partir de estudos anteriores à respeito da fisiologia da recepção e emissão de novos pulsos elétricos, levantamos hipóteses sobre a função dos núcleos pré-marcapasso durante disputas pela dominância.

São necessários experimentos com medidas dos núcleos pré-marcapasso durante interações sociais que provoquem interrupções e *chirps* para uma melhor compreensão sobre as razões do peixe intercalar estes dois comportamentos. Além disso tem havido um interesse considerável na literatura sobre a influência de hormônios, em particular a vasotocina, sobre o papel de dominância e a influência no sistema nervoso destes peixes. Estudos sob o ponto de vista de dinâmica não-linear⁵³ podem trazer novas hipóteses sobre o papel destes hormônios e como eles atuam nas interações comunicativas destes animais.

Do ponto de vista linguístico, criamos um modelo que aproxima a comunicação desses peixes por uma gramática regular. Com mais dados disponíveis, é possível utilizar metodologias de aprendizagem de máquina para criar modelos que busquem padrões mais complexos na emissão de símbolos, modelando as emissões como gramáticas livres de contexto. A complexidade da gramática utilizada por um meio comunicativo é um indício da complexidade do sistema nervoso subjacente, e pode levantar novas hipóteses sobre as funções dessa comunicação.

Além disso, esses modelos podem ter sua capacidade preditiva testada com experimentos em ciclo fechado, criando um estímulo que se adapta em tempo-real conforme as emissões do peixe. Experimentos nessa linha tem sido realizados com peixes elétricos africanos *Gnathonemus petersii*.^{6,54}

REFERÊNCIAS

- 1 WALSH, J. et al. Of the electric property of the torpedo. **Philosophical transactions**, v. 63, p. 461–480, 1773.
- 2 DARWIN, C. **On the origin of species, 1859**. [S.l.]: Routledge, 2004.
- 3 LISSMANN, H. On the function and evolution of electric organs in fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 35, n. 1, p. 156–191, 1958.
- 4 WESTBY, G. M. Comparative studies of the aggressive behaviour of two gymnotid electric fish (*Gymnotus carapo* and *Hypopomus artedi*). **Animal Behaviour**, v. 23, p. 192–213, 1975.
- 5 CAPUTI, A.; BUDELLI, R.; GRANT, K.; BELL, C. The electric image in weakly electric fish: physical images of resistive objects in *gnathonemus petersii*. **Journal of Experimental Biology**, v. 201, n. 14, p. 2115–2128, 1998.
- 6 FORLIM, C. G.; PINTO, R. D.; VARONA, P.; RODRÍGUEZ, F. B. Delay-dependent response in weakly electric fish under closed-loop pulse stimulation. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. e0141007, 2015.
- 7 WESTBY, G. M. Has the latency dependent response of *gymnotus carapo* to discharge-triggered stimuli a bearing on electric fish communication? **Journal of Comparative Physiology**, v. 96, n. 4, p. 307–341, 1975.
- 8 LISSMANN, H.; MACHIN, K. The mechanism of object location in *gymnarchus niloticus* and similar fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 35, n. 2, p. 451–486, 1958.
- 9 BLACK-CLEWORTH, P. The role of electrical discharges in the non-reproductive social behaviour of *gymnotus carapo* (gymnotidae, pisces). **Animal Behaviour Monographs**, v. 3, p. 1–IN1, 1970. Disponível em: <[https://dx.doi.org/10.1016/S0066-1856\(70\)80001-2](https://dx.doi.org/10.1016/S0066-1856(70)80001-2)>. Acesso em: 10 nov. 2018.
- 10 KAWASAKI, M.; HEILIGENBERG, W. Distinct mechanisms of modulation in a neuronal oscillator generate different social signals in the electric fish *hypopomus*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 165, n. 6, p. 731–741, 1989.
- 11 HAGEDORN, M.; HEILIGENBERG, W. Court and spark: electric signals in the courtship and mating of gymnotoid fish. **Animal Behaviour**, v. 33, n. 1, p. 254–265, 1985.
- 12 WESTBY, G. M. Assessment of the signal value of certain discharge patterns in the electric fish, *gymnotus carapo*, by means of playback. **Journal of Comparative Physiology**, v. 92, n. 3, p. 327–341, 1974.
- 13 _____. Further analysis of the individual discharge characteristics predicting social dominance in the electric fish, *gymnotus carapo*. **Animal Behaviour**, v. 23, p. 249–260, 1975.

- 14 _____. Electrical communication and jamming avoidance between resting gymnotus carapo. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 4, n. 4, p. 381–393, 1979.
- 15 MCGREGOR, P. K.; WESTBY, G. M. Discrimination of individually characteristic electric organ discharges by a weakly electric fish. **Animal Behaviour**, v. 43, n. 6, p. 977–986, 1992.
- 16 HOPKINS, C. D.; WESTBY, G. M. Time domain processing of electric organ discharge waveforms by pulse-type electric fish (part 1 of 2). **Brain, Behavior and Evolution**, v. 29, n. 1-2, p. 77–90, 1986.
- 17 ZUBIZARRETA, L.; STODDARD, P. K.; SILVA, A. Aggression levels affect social interaction in the non-breeding territorial aggression of the weakly electric fish, gymnotus omarorum. **Ethology**, v. 121, n. 1, p. 8–16, 2015.
- 18 PERRONE, R.; SILVA, A. C. Status-dependent vasotocin modulation of dominance and subordination in the weakly electric fish gymnotus omarorum. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, p. 1, 2018. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00001>. Acesso em: 10 nov. 2018.
- 19 CAPUTI, A. A. **Active electroreception in weakly electric fish**. Oxford: Oxford University Press, 2017. Disponível em: <http://neuroscience.oxfordre.com/view/10.1093/acrefore/9780190264086.001.0001/acrefore-9780190264086-e-106>. Acesso em: 10 nov. 2018.
- 20 BAKER, C. L. Sensory control of pacemaker acceleration and deceleration in gymnotiform electric fish with pulse-type discharges. **Journal of Comparative Physiology**, v. 141, n. 2, p. 197–206, 1981.
- 21 BASTIAN, J. Pyramidal-cell plasticity in weakly electric fish: a mechanism for attenuating responses to reafferent electrosensory inputs. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 176, n. 1, p. 63–78, 1995.
- 22 BAKER, C. L. Jamming avoidance behavior in gymnotoid electric fish with pulse-type discharges: sensory encoding for a temporal pattern discrimination. **Journal of Comparative Physiology**, v. 136, n. 2, p. 165–181, 1980.
- 23 GRAU, H. J.; BASTIAN, J. Neural correlates of novelty detection in pulse-type weakly electric fish. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 159, n. 2, p. 191–200, 1986.
- 24 HEILIGENBERG, W.; KELLER, C. H.; METZNER, W.; KAWASAKI, M. Structure and function of neurons in the complex of the nucleus electrosensorius of the gymnotiform fish eigenmannia: detection and processing of electric signals in social communication. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 169, n. 2, p. 151–164, 1991.
- 25 SPIRO, J. E. Differential activation of glutamate receptor subtypes on a single class of cells enables a neural oscillator to produce distinct behaviors. **Journal of Neurophysiology**, v. 78, n. 2, p. 835–847, 1997.
- 26 KAWASAKI, M.; HEILIGENBERG, W. Different classes of glutamate receptors and gaba mediate distinct modulations of a neuronal oscillator, the medullary pacemaker of a gymnotiform electric fish. **Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 12, p. 3896–3904, 1990.

- 27 MATIAS, P. **Novo método para assinatura e identificação de sinais de eletrocomunicação de peixes elétricos de campo fraco da espécie *Gymnotus carapo***. 2011. 51p. Tese (Doutorado em física) — Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2011.
- 28 MATIAS, P.; SLAETS, J. F. W.; PINTO, R. D. Individual discrimination of freely swimming pulse-type electric fish from electrode array recordings. **Neurocomputing**, v. 153, p. 191–198, 2015.
- 29 JUN, J. J.; LONGTIN, A.; MALER, L. Precision measurement of electric organ discharge timing from freely moving weakly electric fish. **Journal of Neurophysiology**, v. 107, n. 7, p. 1996–2007, 2011.
- 30 SELESNICK, I. W. et al. On the dual-tree complex wavelet packet and m -band transforms. **IEEE Transactions on Signal Processing**, v. 56, n. 6, p. 2298–2310, 2008.
- 31 WEICKERT, T.; BENJAMINSEN, C.; KIENCKE, U. Analytic wavelet packets—combining the dual-tree approach with wavelet packets for signal analysis and filtering. **IEEE Transactions on Signal Processing**, v. 57, n. 2, p. 493–502, 2009.
- 32 MEYER, D.; LEISCH, F.; HORNIK, K. The support vector machine under test. **Neurocomputing**, v. 55, n. 1-2, p. 169–186, 2003.
- 33 KOHAVI, R. A study of cross-validation and bootstrap for accuracy estimation and model selection. In: INTERNATIONAL JOINT CONFERENCE ON ARTIFICIAL INTELLIGENCE, IJCAI,1995,Montreal,CA. **Proceedings...** Stanford,1995. p. 1137–1145.
- 34 SWETS, J. A. **Signal detection theory and ROC analysis in psychology and diagnostics**. Collected papers. Psychology Press, 2014.
- 35 BREIMAN, L. Random forests. **Machine learning**, v. 45, n. 1, p. 5–32, 2001.
- 36 BISHOP, C. M. **Pattern recognition and machine learning**. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2006.(Information Science and Statistics).
- 37 GUARIENTO, R. T.; MOSQUEIRO, T. S.; MATIAS, P.; CESARINO, V. B.; ALMEIDA, L. O.; SLAETS, J. F.; MAIA, L. P.; PINTO, R. D. Automated pulse discrimination of two freely-swimming weakly electric fish and analysis of their electrical behavior during dominance contest. **Journal of Physiology-Paris**, v. 110, n. 3, p. 216–223, 2016.
- 38 ROTTA, M.; PEDROSO, M.; ACORCI, L. Determinação do sexo da *tuvira gymnotus* sp. através da análise de imagem de ultra-som. In. **BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO (INFOTEC-A-E)**. Corumbá: Embrapa Pantanal. 2007.
- 39 RESENDE, E. de; PEREIRA, R.; SÓRIO, V.; GALVÃO, E. Biologia da *tuvira*, *gymnotus* cf. *carapo* (pisces, gymnotidae) no baixo rio negro, pantanal, mato grosso do sul, brasil. In. **BOLETIM DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO (INFOTEC-A-E)**. Corumbá: Embrapa Pantanal. 2006.

- 40 BATISTA, G.; ZUBIZARRETA, L.; PERRONE, R.; SILVA, A. Non-sex-biased dominance in a sexually monomorphic electric fish: Fight structure and submissive electric signalling. **Ethology**, v. 118, n. 4, p. 398–410, 2012.
- 41 FAY, M. P.; PROSCHAN, M. A. Wilcoxon-mann-whitney or t-test? on assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules. **Statistics Surveys**, v. 4, p. 1, 2010.
- 42 HARTIGAN, J. A.; WONG, M. A. Algorithm as 136: A k-means clustering algorithm. **Journal of the Royal Statistical Society. Series C**, v. 28, n. 1, p. 100–108, 1979.
- 43 SHANNON, C. E. A mathematical theory of communication. **ACM SIGMOBILE Mobile Computing and Communications Review**, v. 5, n. 1, p. 3–55, 2001.
- 44 FORLIM, C. G.; PINTO, R. D. Automatic realistic real time stimulation/recording in weakly electric fish: long time behavior characterization in freely swimming fish and stimuli discrimination. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e84885, 2014.
- 45 FRANCHINA, C. Ontogeny of the electric organ discharge and the electric organ in the weakly electric pulse fish brachyhypopomus pinnicaudatus (hypopomidae, gymnotiformes). **Journal of Comparative Physiology A**, v. 181, n. 2, p. 111–119, 1997.
- 46 PINTO, R. D.; OLIVEIRA, A. C. Freires de; GUARIENTO, R. T.; ALMEIDA, L. O. de; STEFANI, I. H. D.; GONÇALVES, M. R. Movement and electric analysis of freely swimming pulse type weakly electric fish. In: ANNUAL MEETING ON SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, 46th, 2016, San Diego, CA. **Proceedings...** San Diego, CA, 2016.
- 47 POUSO, P.; RADMILOVICH, M.; SILVA, A. An immunohistochemical study on the distribution of vasotocin neurons in the brain of two weakly electric fish, gymnotus omarorum and brachyhypopomus gauderio. **Tissue and Cell**, v. 49, n. 2, p. 257–269, 2017.
- 48 MCGREGOR, P.; WESTBY, G. Individually characteristic eod waveforms and discrimination by gymnotus carapo. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 173, p. 741, 1993.
- 49 OLIVEIRA, G. Z.; SILVA, C. J. da. Conhecimento ecológico tradicional de pescadores profissionais sobre peixes da baía caiçara, pantanal de mato grosso, cáceres, brasil. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 15, n. 1, 2, 3, 2013.
- 50 SIPSER, M. **Introduction to the theory of computation**. [S.l.]: Thomson Course Technology Boston, 2006. v. 2.
- 51 CHOMSKY, N. Three models for the description of language. **IRE Transactions on Information Theory**, v. 2, n. 3, p. 113–124, 1956.
- 52 CHOMSKY, N.; SCHÜTZENBERGER, M. P. The algebraic theory of context-free languages. In: BRADFORD, P.; HIRSCHBERG, D. (ED.) **Studies in logic and the foundations of mathematics**. New York: Elsevier, 1963. v. 35, p. 118–161.
- 53 IZHIKEVICH, E. M. **Dynamical systems in neuroscience**. [S.l.]: MIT press, 2007.

- 54 MUÑIZ, C.; FORLIM, C. G.; GUARIENTO, R. T.; PINTO, R. D.; RODRÍGUEZ, F. B.; VARONA, P. Online video tracking for activity-dependent stimulation in neuroethology. **BMC Neuroscience**, v. 12, n. 1, p. P358, 2011.
- 55 MOSQUEIRO, T.; STRUBE-BLOSS, M.; TUMA, R.; PINTO, R.; SMITH, B. H.; HUERTA, R. Non-parametric change point detection for spike trains. In: ANNUAL CONFERENCE ON INFORMATION SCIENCE AND SYSTEMS, CISS, 2016, Princeton, NJ. **Proceedings...** Princeton, NJ, 2016.
- 56 MATIAS, P.; GUARIENTO, R. T.; ALMEIDA, L. O. de; SLAETS, J. F. Modular acquisition and stimulation system for timestamp-driven neuroscience experiments. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON APPLIED RECONFIGURABLE COMPUTING, 11th, ARC, 2015, Bochum, Alemanha. **Procedings...** Bochum, Alemanha, 2015.
- 57 GUARIENTO, R. T.; MATIAS, P.; SLAETS, J. F.; ALMEIDA, L. O. de; PINTO, R. D. Pulse discrimination from two freely swimming gymnotus sp. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEUROETHOLOGY, 12th, ICN, 2016, Montevideo, Uruguai. **Procedings...** Montevideo, Uruguai, 2016.
- 58 GUARIENTO, R. T.; MOSQUEIRO, T. S.; CESARINO, V.; ALMEIDA, L. O. de; PINTO, R. D. Dynamics of electrical behavior of gymnotus carapo electric fish during dominance contest. In: ANNUAL MEETING ON SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, 46th, 2016, San Diego, CA. **Proceedings...** San Diego, CA, 2016.
- 59 GUARIENTO, R. T.; MOSQUEIRO, T. S.; CAPUTI, A. A.; PINTO, R. D. A simple model for eletrocommunication—"refractoriness avoidance response"? **BMC Neuroscience**, v. 15, n. 1, p. P68, 2014.
- 60 RIOS, A. S.; GUARIENTO, R. T.; ALMEIDA, L. O. de; STEFANI, I. H. D.; PINTO, R. D. Non-invasive inference of neuronal refractory time in pulse type weakly electric fish communication. In: ANNUAL MEETING ON SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, 46th, 2016, San Diego, CA. **Proceedings...** San Diego, CA, 2016.
- 61 MATIAS, P.; GUARIENTO, R. T.; ALMEIDA, L. O. B. de; SLAETS, J. F. W. Low-resource bluespec design of a modular acquisition and stimulation system for neuroscience. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FIELD PROGRAMMABLE GATE ARRAYS,23, ACM/SIGDA,2015. **Proceedings...** Monterey,CA., 2015. p. 274–274.

Apêndices

APÊNDICE A – PUBLICAÇÕES

A.1 Artigo publicado como autor principal

2017 - GUARIENTO, R. T.; MOSQUEIRO, T. S. ; MATIAS, P. ; CESARINO, V. B. ; ALMEIDA, L.O.B. ; SLAETS, J.F.W. ; MAIA, L. P. ; PINTO, R. D. . Automated pulse discrimination of two freely-swimming weakly electric fish and analysis of their electrical behavior during dominance contest³⁷

Revista: Journal Physiology Paris

Neste artigo apresentamos as modificações no algoritmo de discriminação dos pulsos dos peixes e análises da relação da estatística de IPIs com o papel de dominância dos peixes. O desenvolvimento e os resultados abordados neste artigo estão descritos nessa tese em: [subseção 2.2.2.3](#), [subseção 2.3.4.1](#) e [subseção 3.2.1](#).

A.2 Trabalhos completos publicado em anais de congressos

2016 - MOSQUEIRO T.; STRUBE-BLOSS M.; TUMA R.; PINTO R.; SMITH B.H.; HUERTA R. . Non-parametric change point detection for spike trains⁵⁵

Conferência: Information Science and Systems (CISS)

Neste artigo foi desenvolvida uma detecção de ponto de mudança estatístico para séries de trens de pulso, com um aplicação nas séries de IPIs extraídas de nossos peixes. A análise é genérica para qualquer tipo de mudança estatística, e seus resultados inspiraram a metodologia desenvolvida em [subseção 2.3.4.2](#).

2015 - MATIAS, P. ; GUARIENTO, R. T. ; ALMEIDA, L. O. B. ; , J. F. W. . Modular Acquisition and Stimulation System for Timestamp-Driven Neuroscience Experiments⁵⁶

Conferência: Applied Reconfigurable Computing (ARC)

Desenvolvemos um sistema de *hardware* portátil para obtenção dos tempos de disparo das DOE em experimentos com um único peixe com precisão de $1\mu s$. O sistema envia os dados coletados *online* para um computador por meio de uma interface USB facilmente configurável. Por não ter sido utilizado nos experimentos principais que embasaram a detecção de padrões comunicativos, o desenvolvimento deste projeto não está descrito nesta tese.

A.3 Pôsteres/Resumos publicados em anais de congressos como primeiro autor

2016 - GUARIENTO, R. T.; MATIAS, P. ; SLAETS, J. F. W. ; ALMEIDA, L. O. B. ; PINTO, R. D. . Pulse discrimination from two freely swimming *Gymnotus* sp.⁵⁷

Evento: International Congress of Neuroethology (ICN)

Apresentamos as modificações na metodologia de discriminação de pulsos em experimentos com dois peixes nadando livremente, com resultados preliminares de experimentos. O resultado atraiu interesse por parte de alguns pesquisadores da comunidade de peixes elétricos, que culminou com o estágio em pesquisa no exterior em 2017 ligado a esta tese desenvolvido no laboratório do prof. Christopher B Braun, em Nova Iorque.

2016 - GUARIENTO, R. T.; MOSQUEIRO, T. S. ; MATIAS, P. ; CESARINO, V. ; ALMEIDA, L. O. B. ; PINTO, R. D. . Dynamics of electrical behavior of *Gymnotus carapo* electric fish during dominance contest.⁵⁸

Evento: Neuroscience Meeting (SfN)

Apresentamos resultados preliminares dos experimentos de dominância, indicando que seria possível diferenciar o peixe dominante do submisso pela complexidade de regras de transição a partir dos IPIs. Ainda não havíamos desenvolvido a metodologia utilizando segmentação e agrupamento.

2014 - GUARIENTO, R. T.; MOSQUEIRO, T. S. ; CAPUTI, A. A. ; PINTO, R. D. . A simple model for electrocommunication "Refractoriness avoidance response"⁵⁹

Evento: Computacional Neuroscience Society (CNS)

Estudamos a influência das células esféricas, presentes na via rápida de detecção de pulsos elétricos. Para isso, implementamos um circuito eletrônico que mimetizasse o comportamento populacional dessas células, e comparamos com simulações computacionais. Estes resultados não estão descritos nessa tese.

A.4 Pôsteres/Resumos publicados em anais de congressos como autor secundário

2016 - PINTO, R. D. ; FREIRES DE OLIVEIRA, A. C. ; GUARIENTO, R. T. ; ALMEIDA, L. O. B. ; DE STEFANI, I. H. Z. ; GONÇALVES, M. R. . Movement and electric analysis of freely swimming pulse type weakly electric fish.⁴⁶

Evento: Neuroscience Meeting (SfN)

Apresentamos resultados preliminares de um experimento sobre a relação entre a emissão de *chirps* e o comportamento social dos peixes. Observamos que *chirps* costumam

ser emitidos pelo peixe submisso, precedendo ataques do peixe dominante.

2016 - RIOS, A. S. ; GUARIENTO, R. T. ; ALMEIDA, L. O. B. ; , I. H. Z. ; PINTO, R. D. . Non-invasive inference of neuronal refractory time in pulse type weakly electric fish communication.⁶⁰

Evento: Neuroscience Meeting (SfN)

Utilizamos o conceito de entropia de transferência para mostrar que o peixe processa menos informação em pulsos de seu coespecífico disparados durante o período refratário de suas células esféricas. Com esta análise, medimos o período refratário dessas células de forma completamente não invasiva.

2015 - MATIAS, P. ; GUARIENTO, R. T. ; DE ALMEIDA, L. O. B. ; SLAETS, J. F. W. . Low-Resource Bluespec Design of a Modular Acquisition and Stimulation System for Neuroscience (Abstract Only)⁶¹

Evento: International Symposium on Field-Programmable Gate Arrays (FPGA - ACM/SIGDA)

Resultados preliminares do sistema de aquisição portátil para obtenção dos tempos de disparo das DOE em experimentos com um único peixe. Os resultados completos foram publicados em ([56](#))