

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

VINICIUS BURANI CESARINO

A propagação dos pulsos elétricos gerados por *Gymnotus carapo*

São Carlos

2022

VINICIUS BURANI CESARINO

A propagação dos pulsos elétricos gerados por *Gymnotus carapo*

Dissertação 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 Mestre em Ciências.

Área de concentração: Física Aplicada
Opção: Física Biomolecular

Orientador: Prof. Dr. Reynaldo Daniel Pinto.

Versão corrigida

(versão original disponível na Unidade que aloja o Programa)

São Carlos
2022

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

Cesarino, Vinicius Burani

A propagação dos pulsos elétricos gerados por *Gymnotus carapo* / Vinicius Burani Cesarino; orientador Reynaldo Daniel Pinto - versão corrigida -- São Carlos, 2022.
74 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada Biomolecular) -- Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2022.

1. Peixe elétrico. 2. *Gymnotus carapo*. 3. Neurofisiologia de vertebrados. 4. Neuroetologia. 5. Comunicação animal. I. Pinto, Reynaldo Daniel, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A minha passagem pela universidade até o momento da produção deste documento foi marcada por muitos altos e baixos. Cito aqui, com grande reconhecimento, carinho e admiração, as personalidades que fizeram desta trajetória uma experiência enriquecedora e que ajudaram a manter vivo o meu encanto pela ciência. A minha mais sincera gratidão:

Ao meu orientador, Reynaldo Daniel Pinto, por me guiar pelo meu projeto de pesquisa e, principalmente, pelas conversas inspiradoras que mudaram a forma que eu enxergo a ciência e a vida.

Aos técnicos do nosso grupo de pesquisa, Lírio e Marquinhos, não só por providenciarem uma ajuda insubstituível na conclusão do meu projeto, mas também pela amizade, conversas e cafezinho das 16h.

Aos meus colegas de grupo, Rafinha, Bia e Renan, pelo engrandecimento das discussões científicas no laboratório e pelos momentos de descontração que renderam boas histórias.

Aos professores do IFSC, Leonardo Maia, Ilana Camargo, Luiz Nunes de Oliveira, Claudio Magon, Luiz Vitor, Nelma Regina, Rafael Guido e Leonardo De Boni, pelo modelo de excelência profissional dentro da sala de aula que levarei para toda minha vida profissional.

À memória do professor Ricardo De Marco. Sua falta será sentida, dentro e fora da sala de aula.

A todos os funcionários e trabalhadores do IFSC, que me auxiliaram em tantos momentos de dúvidas e necessidades com muita prontidão.

Aos funcionários que trabalham no RU do Caaso, por servirem um alimento saboroso e, sem o qual, minha permanência estaria comprometida durante o período deste projeto.

Aos meus amigos Kevin, Drama, Febem, Amanda, Jake, Cosplay, Sara, André, Camila, Erika, Letícia, Bruna, Clara, Akemi Colors, Akemi Black, Renita, Moises, Bruno e tantos outros, que não só estiveram presente nos momentos mais divertidos da minha passagem pela universidade, mas também foram uma base de apoio vital durante os períodos de tristeza. Independente da distância, vocês estarão sempre comigo.

Aos meus colegas e veteranos de república, Gina, Felipe, Zé, Saulo, André e Paraná que me receberam de braços abertos em São Carlos e facilitaram muito a minha adaptação em uma cidade nova.

À minha namorada, Emily, por me apoiar durante este trajeto, o amor e gratidão que sinto pela sua presença na minha vida não cabe em palavras.

À minha família, vó Landa e tio Ká, que amo incondicionalmente, ao Mateus, que me prestou auxílio em momentos críticos durante a minha formação universitária e, em especial, à minha mãe Lucimara, pedra angular da minha formação como pessoa e companheira em todas as minhas conquistas. Sem o amor e dedicação de vocês nada disso seria possível.

RESUMO

CESARINO, V. B. **A propagação dos pulsos elétricos gerados por *Gymnotus carapo***. 2022. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

Peixes elétricos de campo fraco da espécie *Gymnotus carapo* têm hábitos noturnos e possuem um sistema sensorial e um órgão gerador especializados para captar e produzir pulsos elétricos. O sistema nervoso desses animais evoluiu de modo a utilizar este sentido elétrico para navegação (eletrolocalização) e para comunicação social (eletrocomunicação). Os pulsos elétricos são facilmente detectáveis e podem também ser usados para interagir diretamente com o sistema nervoso dos animais de modo não-invasivo. Além disso, esses peixes são muito sensíveis às condições ambientais e existe um grande interesse em suas aplicações como biossensores. Muitos trabalhos têm sido feitos utilizando dipolos elétricos simples como modelos para simular o órgão elétrico em “peixes artificiais” e estudar sua interação elétrica com peixes reais. Neste contexto, desenvolvemos um aparato para estudar como o sinal elétrico se propaga na água em experimentos com os animais e com dipolos artificiais. Mostramos que a propagação do sinal nos peixes apresenta um decaimento exponencial em função da distância ao transmissor, e que a constante de decaimento independe do tamanho do peixe e das condições de contorno impostas por um ambiente espacialmente limitado, como é o caso do habitat natural dos animais. Mostramos também que as características invariantes de propagação do sinal são devido à distribuição espacial do órgão elétrico ao longo do corpo do peixe. Nos dipolos, o decaimento ocorre de modo diferente e depende muito de seu tamanho e das condições de contorno, limitando bastante sua aplicação como “peixes artificiais”. Acredita-se que o sentido elétrico dos peixes tenha um alcance da ordem de centímetros, sendo mais comparável a uma espécie de tato do que com visão. Nossos resultados indicam que esse alcance é muito maior e que a complexidade do órgão elétrico pode ter evoluído de modo a permitir aos animais navegar usando uma sensação direta de distância, sem paralelo em nossos sentidos. Por fim, verificamos que a condutividade da água também não afeta as características do decaimento. A resistência equivalente da água, ao redor do animal, funciona como se fosse uma carga elétrica passiva para seu órgão elétrico gerador, limitando seu alcance por estabelecer a amplitude inicial do sinal, sem alterar a constante do decaimento exponencial de sua propagação.

Palavras chave: Peixe elétrico. *Gymnotus carapo*. Neurofisiologia de vertebrados. Neuroetologia. Comunicação animal.

ABSTRACT

CESARINO, V.B. **The electric pulse propagation generated by *Gymnotus carapo***. 2022. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

Weakly electric fishes, such as *Gymnotus carapo*, evolved nervous systems able to control specialized sensory and generator organs, providing abilities such as navigation (electrolocation) and social communication (electrocommunication), by using a kind of “electric sense”. Their electric pulses can be easily recorded, by using non-invasive techniques, allowing interaction with their nervous systems in an electrical level. These animals are also very sensitive to environmental properties and could be used as remote biosensors. Several studies address the question of such electrical interactions by using a kind of artificial fish, where the real electric organ is emulated by using simple electric dipoles. Here we describe the development of an experimental apparatus to study the water propagation of electrical pulses from real fish and from artificial dipoles. We found the real fish pulses amplitude exponentially decays in water as a function of the distance to the pulse source. Moreover, the decay constant found is invariant with respect to the fish size and to the boundary conditions commonly found in the natural fish habitat. We show the invariant properties of the propagation are due to the spacial distribution of the electric organ along the fish body. In dipoles the propagation is very sensitive to the dipoles size and boundary conditions, revealing several limitations to their use as effective artificial fishes. There are some ideas of the electric sense in fish having a short range, more related to a kind of tactile sense than to some sort of visual sense. Our results point that the reach of the electrical sense is much higher. Moreover, we propose the complex and spatial distributed electric organ evolved to provide animals with navigation abilities based in a direct sense of distance, without similar in humans. The conductivity of water also does not affect the properties of the fish pulses propagation. The water surrounding the fish body has an equivalent resistance that acts as a passive load for the electric organ. Its effect is to set the initial amplitude of the pulse, without changing the exponential decay constant.

Keywords: Electric fish. Vertebrate neurophysiology. Neuroethology. Animal communication.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção e captação de campos elétricos em <i>Gymnotus carapo</i>	21
Figura 2 – Alinhamento dos Peixes.....	23
Figura 3 - Dipolo artificial.....	26
Figura 4 – Esquema do “peixe-dipolo”.....	28
Figura 5 - Esquema experimental.....	29
Figura 6 - Sonda construída para a medida de campos elétricos dentro da água em nossos experimentos.....	30
Figura 7 - Foto do tanque utilizado nos experimentos.....	31
Figura 8 - Tanque experimental e eletrônica de pré-processamento.....	33
Figura 9 – Detecção de pulsos.....	34
Figura 10 – Método de aplicação de Spike Triggered Average.....	36
Figura 11 - Diagrama em blocos do aparato experimental.....	38
Figura 12 - Valores máximos de pico obtidos para o peixe 3.....	44
Figura 13 - Valores máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala mono-log, como função da distância entre o peixe e a sonda, obtidos para peixes com comprimento entre 13 cm e 20 cm em escala mono-log.....	46
Figura 14 - Valores normalizados dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala di-logarítmica, como função da distância entre as fontes e a sonda.....	50
Figura 15 - Valores normalizados dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala mono-log, como função da distância entre as fontes e a sonda para dipolo simples.....	52
Figura 16 - Valores normalizados dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala mono-log, como função da distância entre as fontes e a sonda para dipolo duplo.....	53
Figura 17 - Esboço do efeito da estrutura espacial do OE na produção do sinal captado pela sonda.....	54
Figura 18 - Valores dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2 (sem normalizar), em escala mono-log, como função da distância entre as fontes e a sonda incluindo curtas e longas distâncias.....	55

Figura 19 - Valores dos máximos de pico do pulso registrados CH2 (sem normalizar), como função da distância entre um peixe de 20 cm e a sonda para valores de condutividade diferentes	57
Figura 20 - Valores dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2 normalizados, em escala mono-log, como função da distância entre um peixe de 20 cm e a sonda para valores de condutividade diferentes	58
Figura 21 - Amplitude máxima V_0 do pulso medida a 10 cm de distância do peixe em função da condutividade da água em cada experimento.....	59

SUMÁRIO

1	Introdução	13
2	Metodologia	19
2.1	Animais.....	19
2.1.1	Produção e captação de campos elétricos em <i>Gymnotus carapo</i>	20
2.1.2	Definição da geometria utilizada nos experimentos	22
2.2	Fontes de sinal (ou transmissores).....	24
2.2.1	Peixes reais e aproximação do OE por um dipolo equivalente.....	24
2.2.2	Dipolos artificiais	24
2.2.3	Peixe real convertido em dipolos (peixe-dipolo).....	26
2.3	Medidas do sinal propagado na água	28
2.4	Tanque de experimentos.....	30
2.5	Eletrônica para tratamento dos sinais captados	31
2.6	Aquisição, armazenamento e Análise dos dados	32
2.7	Protocolos experimentais.....	37
3	Resultados e Discussões	43
3.1	Decaimento típico dos pulsos de um peixe	43
3.2	Propagação dos pulsos do OE de peixes reais	45
3.3	Propagação dos pulsos de dipolos artificiais.....	49
3.4	Propagação dos pulsos de um peixe-dipolo.....	51
3.5	Comportamento do sinal propagado nas proximidades das fontes.....	54
3.6	Efeito da condutividade da água	56
4	Conclusão.....	61
4.1	O sinal elétrico de <i>Gymnotus carapo</i> decai exponencialmente ao se propagar na água.....	61
4.2	Implicações para o processamento sensorial no sistema nervoso	61
4.3	Importância da estrutura espacial do órgão elétrico	62
4.4	Efeitos da condutividade da água.....	62
___	REFERENCIAS	65
___	APÊNDICE A - Características típicas da EOD em um <i>Gymnotus carapo</i>	71

1 Introdução

A existência de peixes capazes de gerar efeitos elétricos é conhecida há mais de 6000 anos de acordo com registros das civilizações egípcia, grega e romana. (1-4)

Os estudos sistemáticos da bioeletricidade remontam aos séculos XVII e XVIII. (5-7) Nesta época efervescente, a multidisciplinaridade era regra e quase nenhuma segregação havia entre áreas relacionadas às ciências exatas e às biomédicas. Assim, foi descoberto que os mesmos efeitos da “eletricidade dos seres vivos” também podiam ser obtidos a partir de fenômenos atmosféricos, ou por meios químicos e mecânicos. O próprio inventor da pilha Voltaica chegou a mencionar que seu dispositivo era como um “órgão elétrico artificial de peixe”. (3)

Entretanto, apenas no século XIX, durante o desenvolvimento da teoria eletromagnética moderna, ficou estabelecido que todos estes efeitos eram manifestações das mesmas propriedades elétricas fundamentais da matéria. O próprio Michael Faraday, realizou diversos experimentos com uma espécie de enguia elétrica, (8) e fez contribuições seminais sobre a interação entre a eletricidade e os seres vivos, em especial quanto aos efeitos da eletricidade no comportamento do sistema nervoso.

A compreensão do funcionamento do sistema nervoso dos animais revelou-se um dos maiores desafios científicos da atualidade. Acreditamos que estudar a maneira como peixes elétricos interagem com o ambiente ainda pode contribuir muito para esta tarefa. Hoje em dia, o campo de atuação da Neurociência abrange desde estudos moleculares e celulares de neurônios individuais, até a aplicação de técnicas de imagem em atividades cognitivas, motoras e sensoriais do cérebro humano, e envolve o esforço multidisciplinar cooperativo de biólogos, químicos, físicos, médicos, matemáticos, engenheiros e outros.

Uma técnica poderosa e bastante comum na Física consiste em fazer abstrações e simplificar sucessivamente um problema, até chegarmos a um modelo que pode ser completamente compreendido e usado para descobrir os princípios que regem certos aspectos da natureza. Podemos exemplificar esta abordagem através de problemas em dinâmica, na mecânica newtoniana, onde buscamos soluções considerando que as massas envolvidas são pontuais, presas por cordas inextensíveis e sem massa, que por sua vez passam por roldanas sem inércia, e assim por diante. Na Biologia/Neurociência, por outro lado, durante o processo de construção de um modelo, as simplificações são limitadas pela riqueza de detalhes e a grande quantidade de variáveis. Por isso, apesar de todo o esforço, o entendimento do funcionamento

de um sistema complexo como o sistema nervoso central, mesmo em um animal dos mais simples, ainda está em fase bastante preliminar.

Podemos considerar, a grosso modo, que existe uma espécie de paralelo das simplificações da Física em algumas linhas de pesquisa da Neurociência. O sucesso evolutivo de uma espécie animal depende muito da capacidade de seu sistema nervoso traduzir os estímulos sensoriais biologicamente relevantes em comportamentos adequados ao meio onde ela vive. Assim, é bastante razoável considerar que os princípios darwinianos da evolução e seleção natural devem ter dado origem à existência de espécies animais relativamente simples, mas com comportamentos altamente especializados (e bastante incomuns!) para resolver problemas presentes em seu hábitat.

Analogamente ao que acontece com os modelos simplificados na Física, a grande vantagem de estudar “comportamentos especializados peculiares” em animais com sistema nervoso mais simples é evitar os problemas de clareza que aparecem em animais superiores ou funções cognitivas refinadas, mas sem a necessidade de desprezar tais características. (9) Assim, a partir de uma especialização da etologia, (10) aplicada ao sistema nervoso, surgiu a Neuroetologia, (11) que procura revelar princípios gerais do sistema nervoso, estudando comportamentos naturais peculiares e seu controle em animais mais simples.

Como exemplo de uma abordagem neuroetológica, podemos citar o estudo do sistema auditivo dos morcegos. Neste sistema peculiar os sons produzidos e refletidos são convertidos pelo sistema nervoso num mapa sensorial que dá a estes animais uma grande vantagem evolutiva para navegar e procurar presas. (12) De maneira parecida aos morcegos, que criam essa espécie de imagem sonora do ambiente ao seu redor, diversas espécies de peixes utilizam sinais elétricos para navegar, se proteger e/ou encontrar e capturar presas.

A presença de receptores de campo elétrico (ampolas de Lorenzini) é uma característica primitiva dos vertebrados, e a maioria das espécies modernas de peixes cartilagosos e anfíbios possuem este tipo de eletorrecepção ampular. Os peixes ósseos perderam a capacidade de eletorrecepção ampular no início de sua evolução, mas algumas espécies modernas apresentam outros tipos de eletorrecepção, não homólogo às ampolas de Lorenzini. A capacidade de produzir eletricidade em órgãos especializados é bem menos comum, muito embora esta tenha aparecido nos peixes, de maneira convergente, por pelo menos 8 vezes. (13) Metade dessas versões diferentes de órgãos elétricos geram descargas com potência suficiente para produzirem choques elétricos fortes. Os “peixes elétricos fortes”, como aqueles conhecidos pelos egípcios a 6000 anos e o famoso poraquê amazônico, *Electrophorus electricus*, estudado por Faraday, só disparam seus órgãos elétricos para se defender ou para atacar uma presa. As outras versões

de órgãos elétricos produzem descargas de pequena voltagem, e as espécies que os possuem são conhecidas como peixes elétricos de campo fraco. (14-15)

Nos peixes elétricos de campo fraco, a produção de eletricidade é tão importante, que é mantida mesmo enquanto o peixe “dorme”. (16) Um sistema sensorial, distribuído por toda a epiderme, mas com maior concentração de receptores na cabeça, ao redor da mandíbula do animal, é capaz de captar perturbações do campo elétrico, devidas à presença de objetos nas proximidades, e produzir uma espécie de imagem elétrica das vizinhanças. (17) Esse processo é chamado de eletrolocalização ativa. (18) Assim, conseguem navegar de modo preciso mesmo em condições muito precárias de iluminação, podem habitar águas turvas e ter hábitos noturnos. Esses peixes também utilizam seus órgãos geradores e sensores elétricos para eletrocomunicação, (2) quando se comunicam socialmente para identificar o sexo e o tamanho dos vizinhos, praticar rituais de acasalamento e resolver disputas territoriais com coespecíficos.

A descarga do órgão elétrico (DOE ou “EOD” do inglês *Electric Organ Discharge*) produzida pelo órgão elétrico (OE) é estereotipada e característica de cada espécie. De acordo com o formato da DOE, os peixes elétricos de campo fraco são classificados como onduladores ou pulsadores. (3) Nas espécies onduladoras, as DOE se justapõem, produzindo um formato semelhante ao de uma onda senoidal com frequência constante (entre 100 Hz e 2000 Hz) e possuem uma regularidade notável. O OE destes animais é tão estável que é considerado o mais acurado dos relógios biológicos - em alguns casos, a precisão dos pulsos chega a frações de microssegundos. (19) Em pulsadores, o intervalo entre pulsos (“IPI” do inglês *InterPulse Interval*) é irregular e geralmente bem maior do que a duração de cada pulso individual estereotipado. Nestes animais a taxa média de produção de pulsos pode variar entre alguns por minuto até cerca de 100 por segundo, dependendo da espécie.

A eletrolocalização ativa e a eletrocomunicação em peixes elétricos de campo fraco são comportamentos que historicamente tem atraído grande atenção na neuroetologia. (3) Elas envolvem mecanismos especializados e bastante complicados, devido ao processamento de uma enorme quantidade de informação espaço-temporal pelo sistema nervoso do animal. O grande apelo vem do sinal elétrico produzido pelos peixes ser fácil de ser detectado através de uma medida relativamente simples e não invasiva, possibilitando estudar o comportamento elétrico de um animal enquanto se move livremente, (20-21) e até mesmo registrar a interação elétrica entre dois coespecíficos em um mesmo ambiente, onde técnicas de aprendizado de máquina foram utilizadas para classificar e separar os pulsos de cada peixe. (22-23)

Uma das grandes contribuições da neuroetologia foi a compreensão de um comportamento conhecido como *Jamming Avoidance Response* (JAR). O estudo deste

comportamento permitiu desvendar o funcionamento de parte do sistema nervoso dos animais inclusive no nível dos circuitos neurais envolvidos. O JAR é um mecanismo que evita a interferência entre sinais elétricos de dois peixes onduladores que estejam produzindo DOEs com frequência muito próxima, degradando a eletrolocalização ativa de ambos. Quando dois peixes operando quase na mesma frequência se aproximam, o que está com frequência maior aumenta um pouco sua frequência, enquanto o outro a diminui. Deste modo as frequências se afastam e a interferência é evitada. Surpreendentemente, o mesmo mecanismo de JAR e um circuito neural associado idêntico foram descobertos em espécies Sul-Americanas e Africanas muito distantes entre si, revelando uma evolução convergente (24-25) e um princípio de funcionamento do processamento sensorial.

Várias tentativas de encontrar um comportamento equivalente ao JAR em peixes elétricos pulsadores tem sido feitas ao longo do tempo. (26) Parece que realmente existe algum mecanismo que diminui a probabilidade de dois animais produzirem pulsos ao mesmo tempo e até foi proposto um modelo para explicar como isto ocorreria. (27) Entretanto, tal mecanismo é bem mais sutil do que o que ocorre nos onduladores.

Em pulsadores existe um outro comportamento interessante, chamado *Novelty Response* (NR), que corresponde a um aumento rápido e transiente da taxa média de disparos do OE quando o animal percebe algum estímulo sensorial novo no ambiente. (28)

Entre as espécies de peixe elétrico de campo fraco pulsador, *Gymnotus carapo* é amplamente distribuída por toda a América do Sul, sendo facilmente encontrável desde as planícies Venezuelanas até os pampas da Argentina. Além do interesse neuroetológico, e das contribuições para o entendimento dos mecanismos de processamento sensorial do sistema nervoso, existe uma outra vertente que torna muito interessante o trabalho com esta espécie. *Gymnotus carapo* têm demonstrado uma alta sensibilidade sensorial às condições ambientais, o que pode viabilizar sua utilização como sensor biológico em água doce. Existem várias evidências (29-31) de que tais animais podem perceber e indicar contaminações da água em substâncias nocivas como petróleo, produtos químicos, pesticidas, etc.

O potencial deste tipo de aplicação seria enormemente elevado se tivéssemos a capacidade de extrair dados ambientais a partir dos padrões de comunicação elétrica destes animais durante seu comportamento natural cotidiano. Neste contexto, nosso grupo tem se dedicado a estudar o comportamento e os padrões de comunicação destes animais em experimentos não invasivos, (21) onde estudamos alguns aspectos da interação e da comunicação elétrica natural entre os animais. (23) Nossa ideia é desenvolver um protocolo em que sejamos capazes de interagir com os animais através de pulsos elétricos produzidos por

computador, (21) que se comunicaria com os peixes reais mimetizando um peixe artificial suficientemente convincente.

Iniciamos o desenvolvimento do presente projeto investigando qual seria o real alcance da comunicação entre dois peixes em um ambiente espacialmente limitado. Para isso, montamos um aparato preliminar em que a série de instantes de tempo de disparo de dois peixes era registrada em função da distância fixada entre os animais, mantidos em paralelo relativamente um ao outro, em um pequeno tanque retangular. Procuramos analisar estes dados quanto à probabilidade de ocorrência de coincidências entre pulsos dos dois animais em função da distância. Buscávamos encontrar algo similar ao mecanismo de JAR (26) a partir de uma distância mínima que fosse necessária para os animais “perceberem eletricamente” a presença um do outro. Entretanto, como já havíamos reportado anteriormente, em experimento com estímulo usando peixe artificial, (21) nossos resultados de JAR analisando 2 peixes reais ficaram muito longe de ser conclusivos, e resolvemos mudar nossa abordagem. Decidimos tentar usar a NR (28) como indicativo da presença de um coespecífico. Neste caso não poderíamos simplesmente manter os peixes próximos um ao outro a uma distância fixa, porque não haveria nenhuma novidade nisso. Então nossa estratégia foi projetar um experimento em que um peixe artificial fosse usado para estimular um peixe real, ambos mantidos a uma mesma distância fixa um do outro. Os pulsos elétricos do peixe artificial seriam gerados por computador e ligados e desligados de modo controlado para provocar as NRs do peixe real, que teria os instantes de ocorrência de seus pulsos registrados para análise posterior. Além disso, pretendíamos usar diferentes amplitudes de pulso no peixe artificial para simular diferentes distâncias entre ele e o peixe real sem ter que alterar manualmente a geometria do sistema, evitando estressar os animais.

Implementamos nosso peixe artificial colocando na água um tubo de PVC, dentro do qual, dois eletrodos (formando um dipolo elétrico), seriam usados para estimular o peixe real com os pulsos gerados por computador, como já havíamos feito em trabalhos anteriores. (21) Esta escolha foi naturalmente inspirada pelo fato de os peixes terem o hábito de se esconder em tubos plásticos em seus tanques no biotério, de modo similar ou que fazem na natureza ao se embrenhar entre as raízes de plantas aquáticas. A geometria de eletrodos formando um dipolo elétrico para mimetizar o órgão elétrico é ampla e tradicionalmente usada nos trabalhos em que peixes são estimulados de modo artificial. (32-35) Essa técnica tem sido sempre justificada como inspirada no modo como o sinal dos peixes é produzido e se propaga na água.

Assim, decidimos usar um sensor de campo elétrico posicionado a uma certa distância e fazer medidas da intensidade dos pulsos produzidos na água, tanto por um peixe verdadeiro,

quanto por um dipolo artificial. Pretendíamos usar estes dados para calibrar a amplitude do sinal elétrico em função da distância que desejávamos simular com o peixe artificial.

Nossos experimentos demonstraram que o OE de *Gymnotus carapo* produz um sinal com características peculiares de propagação, surpreendentemente independentes do tamanho dos peixes, dos limites espaciais do ambiente e da condutividade da água. Portanto, o uso de dipolos elétricos não é adequado para estimular de modo realístico *Gymnotus carapo*, quando os peixes podem se movimentar livremente e se aproximarem. Em nossa interpretação, estes resultados são evidências de que a sensação de distância a um objeto, produzida pelo sistema nervoso dos peixes, durante a eletrolocalização ativa, segue uma das leis da psicofísica (a amplitude da sensação é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo), observada em animais superiores e no sistema nervoso humano. (36-38)

2 Metodologia

2.1 Animais

Conduzimos os experimentos utilizando peixes elétricos da espécie *Gymnotus carapo*. Nativamente encontrados em toda América do Sul, estes espécimes foram obtidos de comerciantes locais de artigos para pesca no município de São Carlos no estado de São Paulo, onde são conhecidos pelo nome popular “tuvira” e vendidos para serem usados como iscas-vivas.

Mantivemos os animais em um biotério composto de aquários individuais, sem plantas, de 31,5 L (30 x 35 x 30 cm), expostos à iluminação natural, com circulação e filtragem de água promovida por bombas. Cada aquário é equipado com um pedaço de tubo plástico que o animal pode usar para abrigo. A temperatura e a condutividade da água são mantidas em $(23 \pm 1) ^\circ\text{C}$ e $(0,12 \pm 0,01) \text{ mS/cm}$, respectivamente, tanto no biotério quanto nos experimentos, a não ser quando explicitamente indicado de outro modo. A temperatura no biotério é mantida por um controlador digital programável, do tipo “P.I.D.”, que monitora constantemente a temperatura da água e aciona aquecedores elétricos no módulo de filtragem, de acordo com a necessidade. A condutividade é ajustada efetuando-se pequenas trocas parciais de água (no máximo 10% do volume) com periodicidade quinzenal, se necessário. Os animais são alimentados *ad libitum* duas ou três vezes por semana com pedaços de coração de boi, e eventualmente com minhocas (*Lumbricus terrestris*), artêmias (*Artemia salina*), peixes pequenos e tenébrios (*Tenebrio obscurus*). Os restos de comida são removidos logo após o fim da alimentação, para evitar a deterioração da qualidade da água. A quantidade de amônia tóxica e o pH da água são monitorados eventualmente e também mantidos em valores fisiologicamente adequados.

Utilizamos 5 animais, independentemente do sexo, e de tamanhos variados, com comprimentos indo de 13 cm a 20 cm. Imediatamente após as sessões de aquisição de dados, retornamos os animais aos seus respectivos módulos no biotério.

Planejamos os experimentos e realizamos todos os procedimentos envolvendo animais seguindo as normas éticas sugeridas pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – do IFSC, e pela *Society for Neuroscience* (www.sfn.org). Nosso biotério e procedimentos relacionados são registrados junto ao SISBIO – ICMBio – IBAMA e são supervisionados por veterinários do Serviço de Biotério da USP.

2.1.1 Produção e captação de campos elétricos em *Gymnotus carapo*

Na Figura **1A** mostramos um dos animais usados nos experimentos. Em *Gymnotus carapo* o órgão que produz os pulsos elétricos (OE) é localizado no centro da região ventral do animal, um pouco acima da nadadeira anal e estende-se desde a região abaixo da nadadeira peitoral até a ponta da cauda (Figura **1B**).

O OE é constituído por uma longa associação de células especializadas, chamadas eletrócitos, que são acionadas pelo sistema nervoso e produzem correntes elétricas locais que fluem pelo corpo, pela pele e também pela água ao redor do animal. A contribuição de todas estas correntes locais somadas ao longo da extensão do OE produz um potencial elétrico no espaço em função do tempo, na forma de pulsos elétricos. Assim, muito embora o OE seja fisiologicamente uma fonte de correntes elétricas, ele pode ser considerado também como uma fonte de tensão. Apesar das duas abordagens serem equivalentes, (39-40) como os aparelhos de medida dão acesso mais diretamente aos potenciais elétricos, é bastante comum encontrar a descrição do OE como uma fonte que produz pulsos de tensão.

Os pulsos elétricos produzidos pelo OE são estereotipados e, quando registados a partir de eletrodos posicionados entre a cabeça e a cauda do animal, apresentam uma duração de alguns milissegundos e o formato típico representado na Figura **1C**. Muito embora existam medidas do campo elétrico ao longo do OE, (41) evidenciando que o pulso tem uma estrutura espaço-temporal bastante complexa, a propagação de seus campos elétricos na água (Figura **1D**) tem sido tradicionalmente representada de modo análogo à propagação dos campos por um dipolo elétrico. Esta aproximação tem sido usada de modo bastante recorrente na literatura, (42-45) para produzir estímulos artificiais realistas para os animais. (21, 32-35)

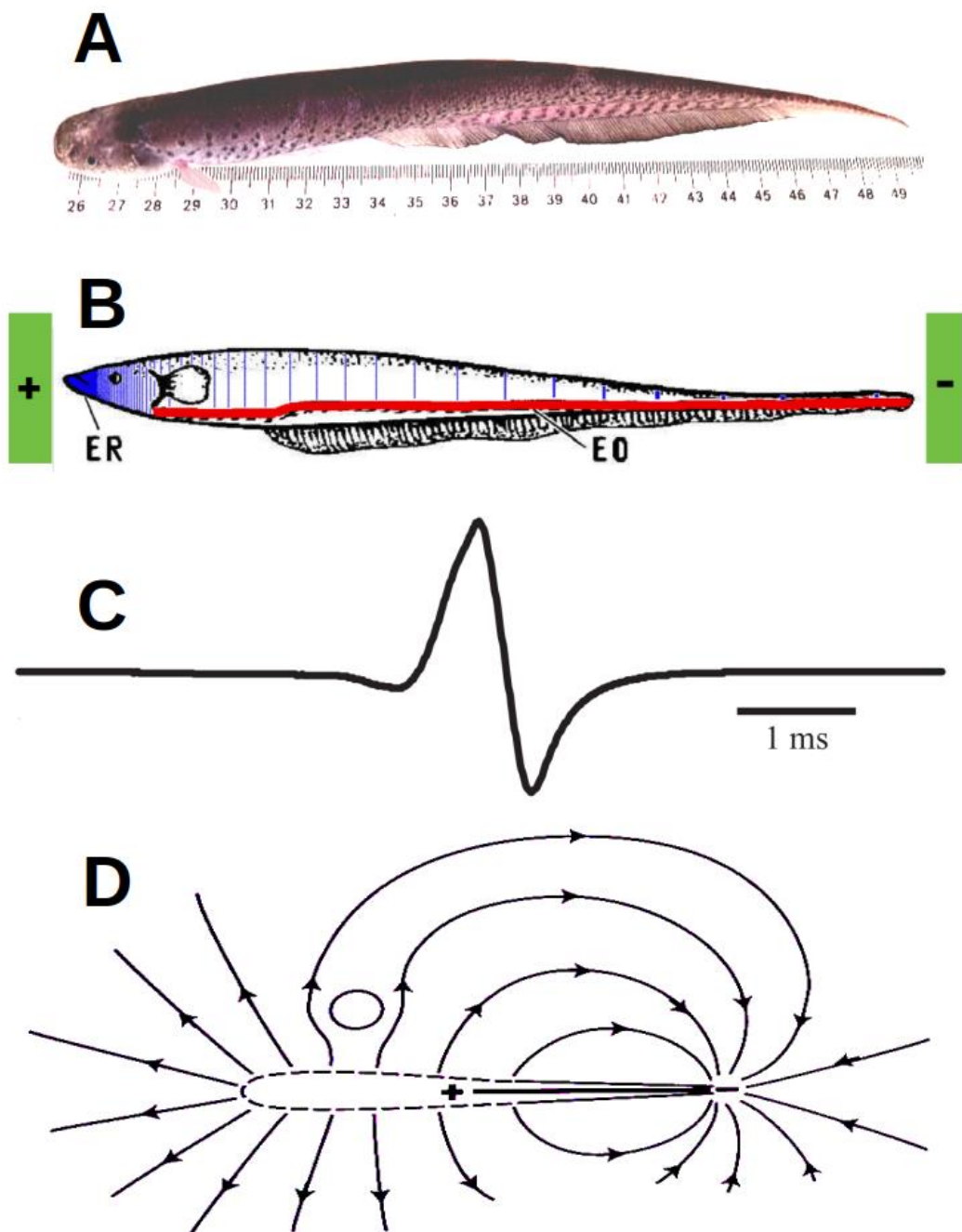


Figura 1 - Produção e captação de campos elétricos em *Gymnotus carapo*. **A:** Imagem de um dos espécimes utilizados nos experimentos (escala em cm). **B:** Em vermelho é representada a geometria do órgão elétrico (EO) que se estende ventralmente, desde a nadadeira peitoral até a ponta da cauda; a região azul (ER) indica uma alta densidade local de eletroreceptores, que diminui conforme nos distanciamos da mandíbula, os retângulos verdes representam eletrodos colocados para medir os pulsos elétricos do animal. **C:** Pulso elétrico típico medido com os eletrodos arranjados como mostrado em **B**. **D:** Representação da propagação do campo elétrico produzido pelo EO na água e sua interação com um objeto oval próximo ao peixe, sugerindo um comportamento similar ao de um dipolo elétrico.

Fonte: Elaborada pelo autor

2.1.2 Definição da geometria utilizada nos experimentos

Existem estudos com evidências de que os peixes são capazes de detectar campos elétricos de amplitude muito pequena, com um limiar de aproximadamente $0,2 \mu\text{V}/\text{cm}$ (46). Essa grande sensibilidade é encontrada na região da cabeça dos peixes, onde a presença de eletrorreceptores ocorre com maior densidade, especialmente ao redor da mandíbula (17). Desse modo, ao estimular eletricamente um peixe é fundamental considerar a amplitude do campo elétrico que chega à região da cabeça.

Gymnotus carapo assim que percebe a presença de um coespecífico tende a se aproximar alinhando seu corpo com as linhas de campo elétrico do outro animal (32). Esse comportamento foi compreendido através de estudos da sensibilidade dos receptores elétricos, que depende fortemente da direção do campo elétrico incidente (47), e das assimetrias na resposta aos campos incidentes, devido a distribuição dos receptores ao longo do corpo dos peixes. A direcionalidade da assimetria pode ser localmente representada através de lobos em gráficos polares, conforme mostrado na Figura 2.

A direção do campo elétrico incidente é percebida pelo peixe através da assimetria da sensibilidade direcional dos receptores em sua pele. O comportamento do peixe tende a orientar seu corpo de modo a maximizar as respostas dos receptores alinhados na direção do corpo (Figura 2A) e minimizar a diferença entre as respostas dos receptores alinhados lateralmente (Figura 2B).

Assim, optamos por estudar o campo elétrico que chega na região da cabeça do peixe receptor na direção paralela ao seu corpo quando os dois estão em paralelo (cabeça a cabeça) como representado na Figura 2A ou em antiparalelo (cabeça a cauda).

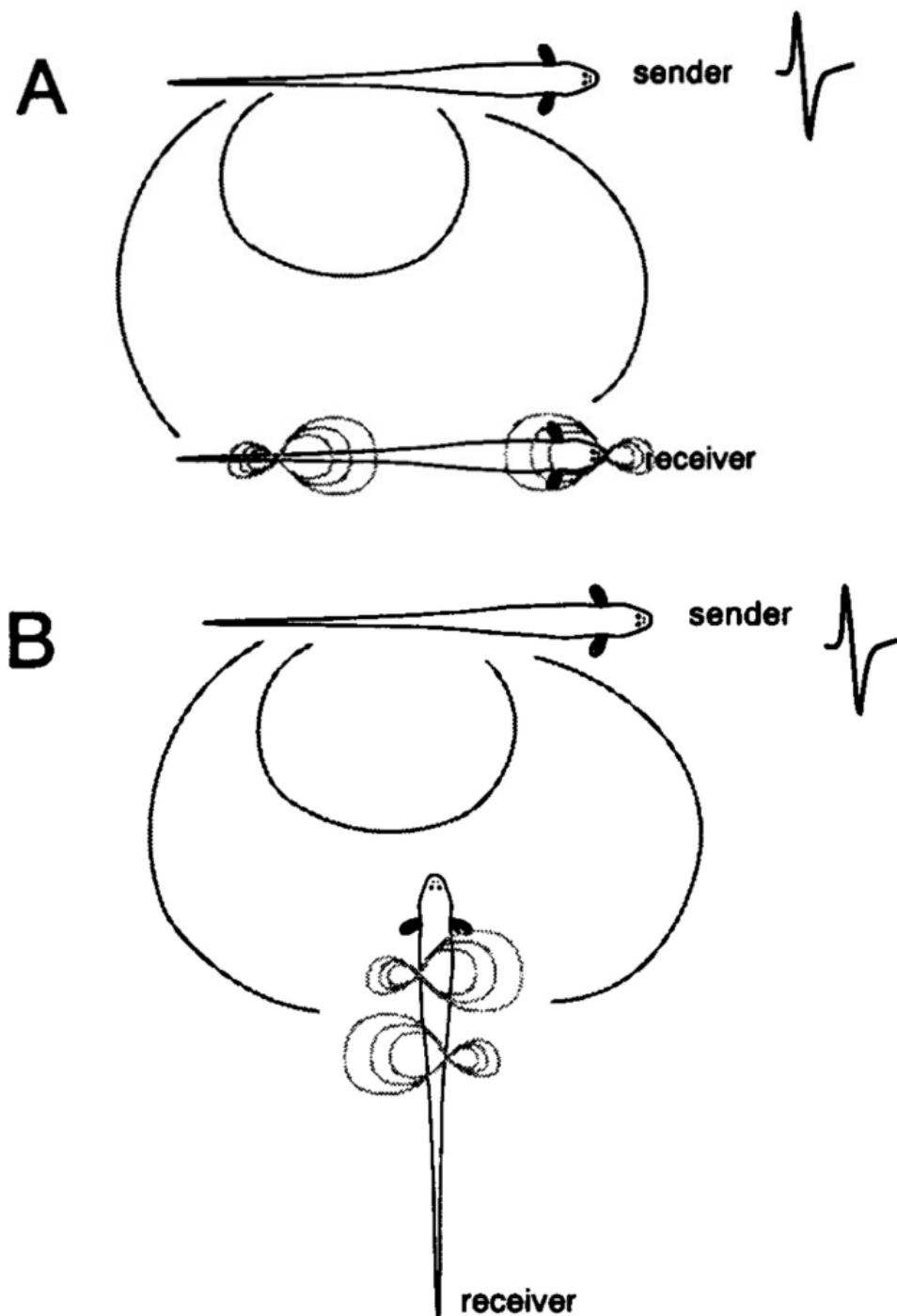


Figura 2 – **A:** Peixes alinhados em paralelo. As linhas de campo produzidas pelo peixe emissor (sender) estão alinhadas com o corpo do peixe receptor (receiver). Os receptores que tem curva de sensibilidade (representada por lobos assimétricos) na direção do comprimento do corpo respondem fortemente ao campo incidente tanto na região da cabeça quanto na região da cauda, enquanto os receptores alinhados na direção lateral (não mostrados) não são sensibilizados. **B:** Peixes em direções perpendiculares. Os receptores com curvas de sensibilidade na direção lateral ao corpo (representados por lobos assimétricos) respondem ao campo incidente, informando o sentido do campo, enquanto os receptores alinhados com a direção do corpo (não mostrados) não são sensibilizados.

Fonte: Adaptada de MCKIBBEN. (47)

2.2 Fontes de sinal (ou transmissores)

Projetamos nosso aparato para explorar as características de propagação na água do campo elétrico produzido pelo OE de peixes reais. Entretanto, para fins de comparação, além dos peixes utilizamos também outros dois tipos de transmissor em nossos experimentos.

2.2.1 Peixes reais e aproximação do OE por um dipolo equivalente

Para determinarmos, em um determinado animal, qual seria a distância entre os eletrodos de um dipolo submerso que fosse equivalente ao OE, utilizamos um método simples, que consistiu em medir o pulso elétrico captado por dois eletrodos pontuais que podiam ser movidos individualmente, dentro da água, ao longo da direção longitudinal do peixe.

Mantendo um dos eletrodos encostado ao corpo do animal, em uma posição fixa, observamos a amplitude dos pulsos obtidos na tela de um osciloscópio quando variamos a posição do outro eletrodo. Ao encontrar a posição do eletrodo móvel que correspondia à máxima amplitude do pulso, fixamos este eletrodo nesta posição e repetimos o procedimento para o outro eletrodo. Assim, repetindo iterativamente esta técnica algumas vezes para corrigir desvios da posição dos máximos, obtivemos os dois pontos que correspondiam à maior amplitude de pulso observável. Em todos os animais usados nos experimentos estes pontos corresponderam ao início e ao fim do OE. Ou seja, um ponto logo abaixo da nadadeira peitoral, perto da cabeça, e o outro na ponta da cauda. Neste trabalho chamamos a distância entre estes pontos de “distância de dipolo” L .

Curiosamente, estes mesmos pontos são mencionados por Faraday em seus experimentos com *Electrophorus electricus*, (8) em suas próprias palavras: “*The shock of this animal was very powerful when the hands were placed in a favourable position, i.e., one on the body near the head, and the other near the tail*”.

2.2.2 Dipolos artificiais

Para comparar os resultados de um dipolo artificial com aqueles obtidos com os peixes reais, desenvolvemos um circuito eletrônico simples, baseado no circuito integrado 555, montado como oscilador. Este circuito é capaz de produzir pulsos elétricos com frequência, amplitude, formato e duração compatíveis com aquelas dos pulsos de um peixe vivo. O esquema elétrico do circuito é apresentado na Figura 3A. Montado dentro de um frasco estanque (Figura 3B), juntamente com uma bateria de 9V para alimentação, o circuito pôde funcionar dentro da

água por várias horas. Dois fios, que atravessam o frasco para fazer contato elétrico com a água, têm a distância L entre suas pontas expostas ajustada de acordo com o comprimento do dipolo que queremos implementar (Figura 3C). Nos experimentos aqui reportados usamos dois valores de L , 11 cm e 22 cm. Para garantir que o dispositivo ficasse submerso, o espaço interior remanescente do frasco estanque foi preenchido com pequenas pedras até sua densidade volumétrica ficar maior que a da água. O aparato foi montado sobre uma estrutura em PVC, de modo que as pontas do dipolo ficassem na mesma profundidade do OE dos peixes reais. A posição destes dipolos artificiais foi ajustada de maneira análoga à posição dos peixes verdadeiros.

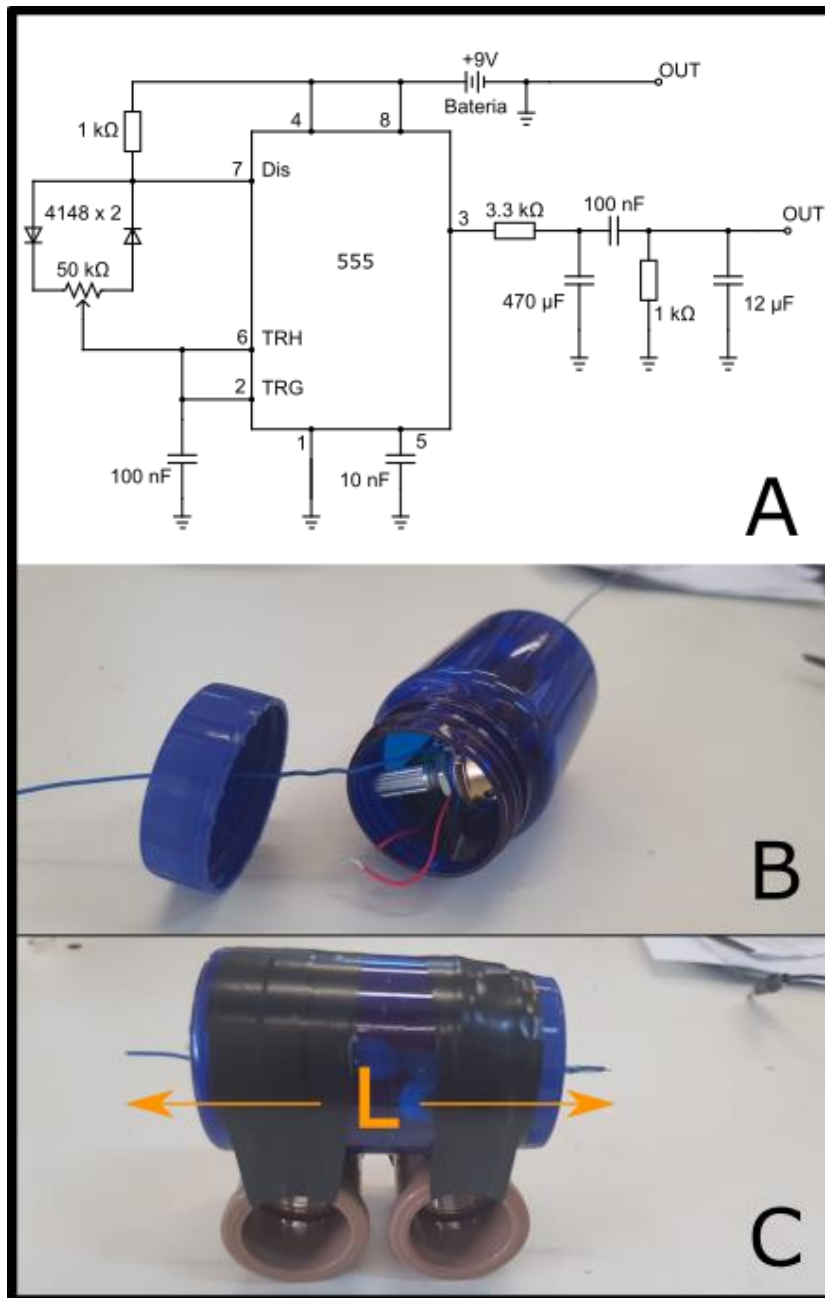


Figura 3 - Dipolo artificial. **A:** O circuito do dipolo artificial. Montamos um oscilador simples do tipo "flip-flop" usando um circuito integrado 555. Os pontos marcados com OUT correspondem aos extremos do dipolo, onde a antena foi conectada. **B:** Frasco estanque onde foi montado o dispositivo, permitindo sua imersão na água do tanque. **C:** Dipolo artificial montado. Adaptamos um suporte na base da estrutura para que o par de eletrodos de tamanho de dipolo ajustável "L" estivesse alinhado e na mesma profundidade que os peixes reais. Esta imagem ilustra $L = 11$ cm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.2.3 Peixe real convertido em dipolos (peixe-dipolo)

Projetamos e implementamos também um dispositivo para observar alguns efeitos de simplificar a distribuição espacial do OE dos peixes reais. Assim, poderíamos comparar os

resultados obtidos com estas simplificações com os resultados obtidos com dipolos artificiais e com peixes intactos.

Para isso, utilizando tubos e conexões de PVC, montamos uma estrutura em “U” que, hospedando um peixe elétrico, isolasse eletricamente o seu OE da água do tanque de medidas (Figura **4A**). A partir daí implementamos alguns poucos contatos, usando pequenos segmentos condutores de cobre estanhado, que atravessavam a parede do tubo, aproximando-se do OE em pontos de interesse.

Montamos os tubos laterais do dispositivo com tamanhos diferentes, mas ambos com bordas acima do nível de água do tanque (Figura **4B**). Durante os experimentos, aproximadamente a cada 5 min, entre registros dos sinais, adicionamos água ao tubo mais comprido e a deixamos vaziar para o tanque pelo tubo mais curto, estabelecendo um fluxo de água fresca para manter o peixe oxigenado, sem colocá-lo diretamente em contato elétrico com a água do tanque. Quatro segmentos de fio de cobre rígido, de ~ 2 mm de diâmetro, foram estanhados e usados como eletrodos condutores. Estes eletrodos foram introduzidos de maneira bem justa através de furos feitos em um pedaço de tubo de PVC. O tubo tinha 3/4” de diâmetro, o suficiente para acomodar, em seu interior, um peixe de ~ 20 cm de comprimento (Figura **4C**), mantido em posição estável com auxílio de uma malha de tule.

Os dois eletrodos mais distantes foram colocados a uma distância de 18 cm (Figura **4A**) para ajustar aproximadamente a distância L do dipolo equivalente do peixe (Figura **4D**). Os outros dois eletrodos foram colocados entre eles, distando 3,5 cm de cada um, para formar um dipolo duplo, conforme sugerido na Figura **4E**. Inicialmente todos os eletrodos foram cobertos com cola de silicone (isolante elétrico), que foi removida para estabelecer os contatos conforme desejado, sem ter que retirar o peixe do tubo.

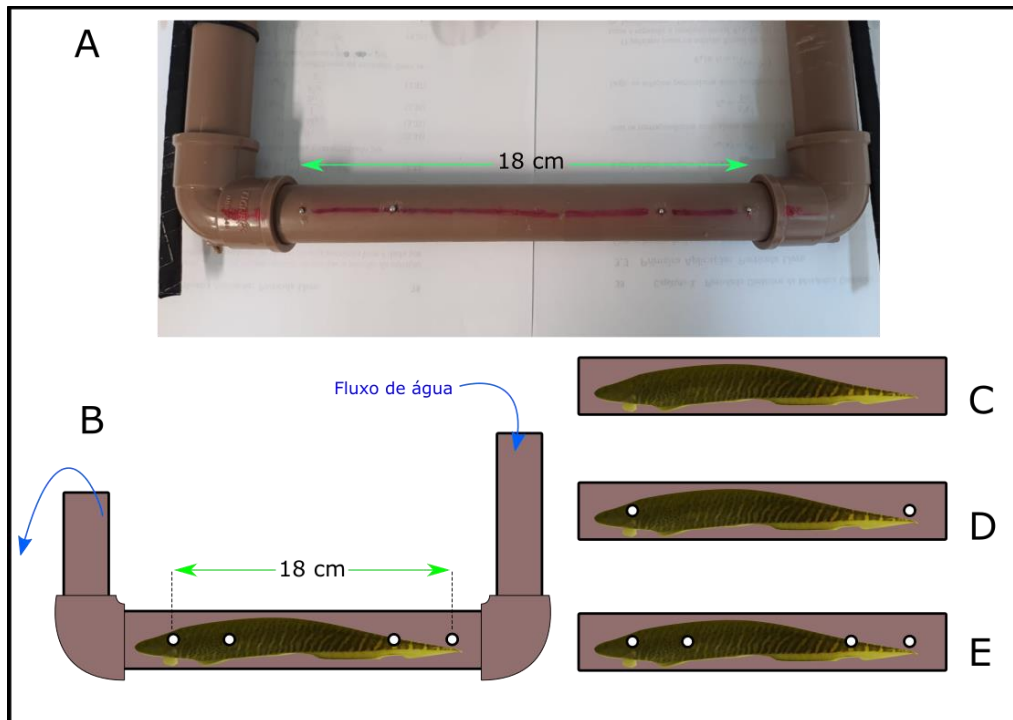


Figura 4 – Esquema do “peixe-dipolo”. **A:** foto do dispositivo desenvolvido para aproximar um peixe real a dipolos elétricos. Um tubo de PVC é usado para isolar eletricamente o peixe da água no tanque de medidas, a não ser por 4 eletrodos introduzidos através das paredes do tubo, mas que são inicialmente cobertos externamente por gotas de isolante elétrico de fácil remoção manual. **B:** Posicionamos o peixe dentro do tubo de PVC, usando uma malha de tule, ajustando sua posição para que os eletrodos mais externos do tubo estejam próximos dos pontos de dipolo equivalente do OE do peixe. Foi utilizado um peixe cuja distância de dipolo equivalente do OE tinha um valor de ~ 18 cm. Um fluxo de água fresca é frequentemente estabelecido para oxigenar o peixe. **C:** Com todos os eletrodos isolados fazemos algumas medidas para checar se o dispositivo está realmente evitando o contato elétrico do peixe com o tanque. **D:** Removendo a camada isolante dos dois eletrodos mais distantes fazemos medidas do campo induzido quando o contato do peixe com a água se limita a dois pontos espaciais (peixe-dipolo simples). **E:** Tirando a isolação dos eletrodos mais centrais observamos como uma arquitetura similar a um dipolo duplo altera os resultados.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.3 Medidas do sinal propagado na água

Como a densidade de eletrorreceptores é muito maior na cabeça dos animais do que no resto do corpo, (43) é importante avaliar a intensidade do campo elétrico que se propaga na água e chega nesta região do peixe receptor. Considerando a realização de experimentos com animais de diferentes comprimentos, resolvemos generalizar a metodologia e medir, para cada peixe transmissor, qual a intensidade de campo elétrico que seu OE produz nos pontos onde estariam os eletrodos do dipolo equivalente ao OE de um peixe receptor de mesmo tamanho que o transmissor.

Esta geometria permite registrar tanto o campo elétrico induzido na região da cabeça do peixe receptor, quanto o campo induzido na região da cauda, o que é equivalente a considerar

tanto o alinhamento dos animais em paralelo quanto em antiparalelo. Para cada comprimento de peixe, ajustamos a posição dos eletrodos da sonda para deixar transmissor e receptor alinhados, conforme mostrado na Figura 2. Um esquema da montagem experimental é mostrado na figura 5.

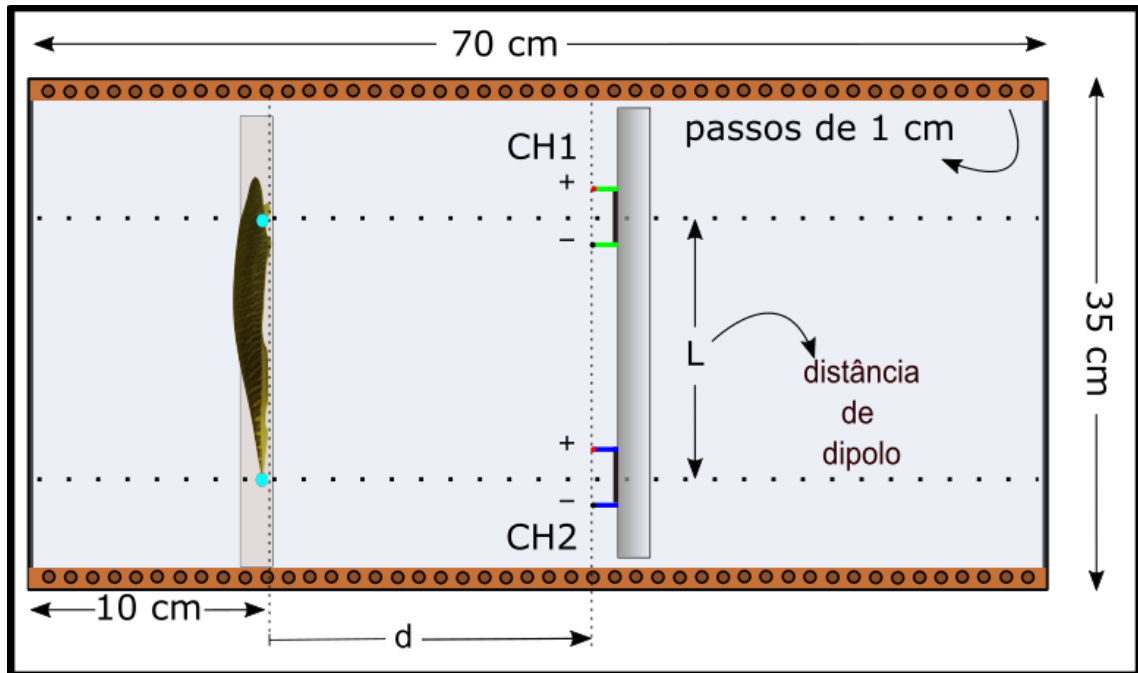


Figura 5 - Esquema experimental. representação pictórica sem escala. O tanque usado nos experimentos é de plástico, tem 70 x 35 x 15 cm e é preenchido por água, com a temperatura e condutividade desejadas, até uma profundidade de 10 cm. O peixe transmissor é envolto por uma malha muito fina de tecido sintético tipo tule e fixado, geralmente a 10 cm de distância, em paralelo à parede interna esquerda do tanque. A sonda para medição dos campos elétricos induzidos fica do lado direito e é fixada em paralelo ao peixe. Ambos podem ser movidos ao longo de dois trilhos presos às bordas superiores longitudinais do tanque, permitindo ajustar o valor da distância d entre eles em passos de 1,0 cm. L representa a distância do dipolo equivalente ao OE do transmissor, ajustada para cada comprimento de peixe usado. Medimos o campo elétrico que chegaria ao receptor nos pontos da sonda marcados CH1 e CH2. A posição destes pontos é individualmente ajustável para alinhar a sonda ao transmissor, usando como base a distância e a posição vertical relativa do dipolo equivalente ao OE, indicadas por linhas horizontais pontilhadas, que passam pelos pontos marcados em ciano no peixe transmissor.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Medimos o campo elétrico que chegaria ao receptor devido à presença do peixe transmissor usando sensores de campo elétrico colocados em dois pontos da sonda (CH1 e CH2). A posição de CH1 e CH2 é ajustada na sonda para adaptar-se à posição do dipolo equivalente de cada transmissor. Implementamos cada sensor usando um par trançado de fios encapados, com apenas um pequeno pedaço da ponta de cada fio exposto, estanhados com solda para evitar a corrosão desses eletrodos pelo contato com a água. Fixamos a distância entre cada par de eletrodos em $(2,0 \pm 0,1)$ cm para permitir uma medida com boa relação sinal/ruído após o processamento do sinal, conforme descrevemos adiante. Na Figura 6 apresentamos uma foto

da sonda que desenvolvemos para os experimentos. Como os sinais captados passam por uma grande amplificação, todas as emendas de fios e ligações com os cabos de entrada dos amplificadores tiveram que ser blindadas e esta blindagem teve que ser aterrada para evitar a captação de ruídos eletromagnéticos diversos.

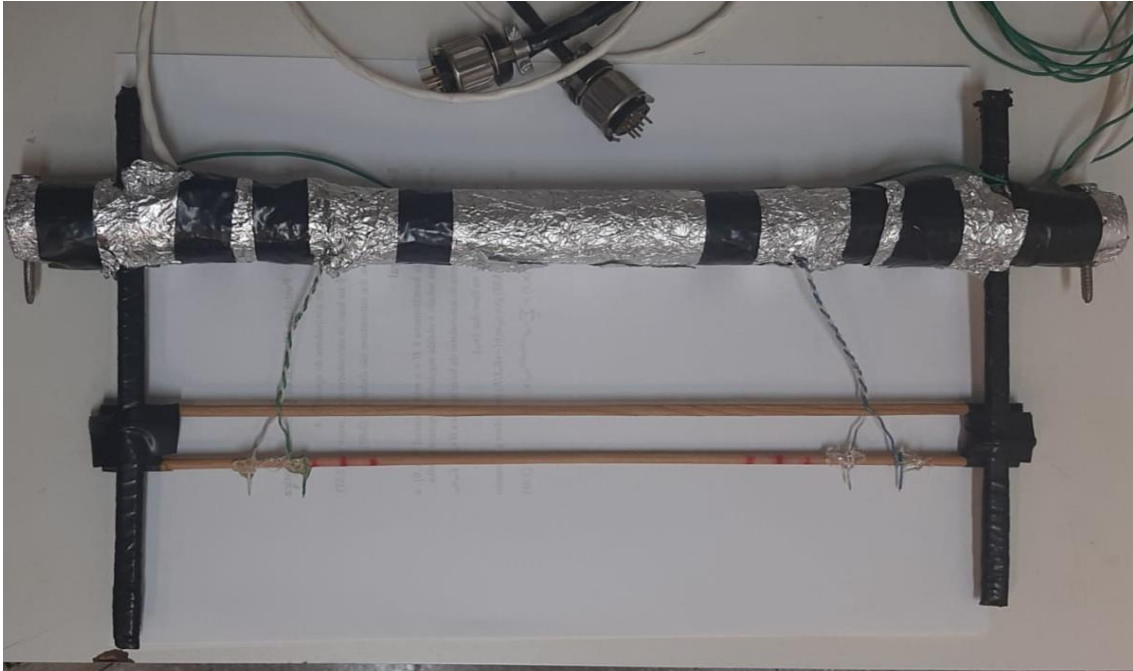


Figura 6 - Sonda construída para a medida de campos elétricos dentro da água em nossos experimentos. Uma estrutura de madeira e tubos de PVC mantém o conjunto em uma posição estável e permite fixá-la e ajustar a posição do conjunto no tanque de medidas. Ajustamos esta estrutura para que os eletrodos ficassem na mesma profundidade que a linha do peixe transmissor. O par de fios à esquerda é o sensor **CH1**, que mede o campo na região da cabeça do receptor. O par da direita é o sensor **CH2**, na região da cauda. Cada sensor possui dois eletrodos, obtidos pela exposição de uma pequena parte da ponta de cada fio. A distância entre os eletrodos em cada sensor é de ~ 2 cm. Para adaptar a sonda a cada tamanho de transmissor, a posição dos eletrodos é ajustável e mantida fixa durante cada experimento com a aplicação de cola quente, usando uma pistola apropriada. Para evitar a captação de ruídos eletromagnéticos, tivemos que embalar toda a parte exposta fora da água usando material condutor (papel alumínio) e aterrar eletricamente esta blindagem.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.4 Tanque de experimentos

Realizamos todos os experimentos dentro de um tanque, esquematizado na figura 5, construído a partir de uma caixa organizadora de PVC de cor preta, não refletora de luz, com dimensões 70 x 35 x 15 cm, apoiada sobre uma base metálica conforme mostramos na foto exibida na Figura 7. A mesma sonda é utilizada para medir os campos elétricos que se propagam na água a uma distância ajustável d entre a sonda e a fonte de sinal, ou transmissor. As fontes de sinal (ou transmissores) utilizadas nos experimentos podem ser de três tipos:

- (i) peixes reais de diversos tamanhos;
- (ii) dipolos artificiais, com 11 ou 22 cm;
- (iii) peixe real dentro de um dispositivo que limita o contato elétrico entre seu OE e a água do tanque (peixe-dipolo).

As únicas diferenças entre estes casos são os detalhes de fixação e ajuste da posição do transmissor em particular. Os ajustes e posicionamento da sonda, o tratamento do sinal, a aquisição e análise de dados são os mesmos para todos.



Figura 7 - Foto do tanque utilizado nos experimentos. Adaptamos dois trilhos de madeira para ajustar a distância d entre a fonte emissora de sinal (esquerda) e a sonda (direita), mantendo seu paralelismo e profundidade. Desse modo podemos ajustar o valor de d em passos de 1 cm. Abaixo do suporte de PVC, do lado esquerdo, podemos ver um peixe transmissor submerso, mantido em uma posição fixa usando uma malha de tule. Os fios verdes que saem da sonda, à direita, são para aterramento da blindagem. Os cabos brancos são as conexões dos sensores **CH1** e **CH2** aos amplificadores diferenciais.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.5 Eletrônica para tratamento dos sinais captados

Os sinais captados pelos sensores CH1 e CH2 foram pré-processados por um amplificador diferencial (*Model 1700 Differential AC Amplifier, A-M Systems, WA-USA*), usando ganho de 10.000X, filtros passa-baixas ajustado em 10 Hz, passa-altas em 5 kHz e filtro de rejeição de ruído 60 Hz do tipo *Notch*.

Devido ao alto ganho que utilizamos foi necessário implementar uma gaiola de Faraday ao redor do aparato para evitar a contaminação dos sinais com ruídos eletromagnéticos externos

e manter uma relação sinal ruído adequada para nossas análises. Uma foto do aparato dentro da gaiola de Faraday e da eletrônica de pré-processamento do sinal é mostrada na Figura 8.

As saídas do amplificador são conectadas por cabos coaxiais a um módulo conversor analógico-digital (*Axon Instruments Digidata 1322A, Molecular Devices, San Jose, CA-USA*), onde os sinais são convertidos em dados digitais a uma taxa de 50 kHz e transferidos por uma interface do tipo SCSI para um microcomputador IBM-PC compatível. Este computador de aquisição é mantido sem conexão à internet para evitar problemas de vulnerabilidade devido ao sistema operacional antigo (*Windows XP, Microsoft, CA-USA*) necessário para rodar um software dedicado de aquisição de dados (*Axoscope 9.0, Molecular Devices, San Jose, CA-USA*).

2.6 Aquisição, armazenamento e Análise dos dados

Para cada conjunto de condições experimentais específicas (propriedades da água, transmissor, valor da distância entre o transmissor e sonda), o software dedicado armazena em disco séries temporais digitalizadas de CH1 e CH2, com 10 segundos de duração (contendo aproximadamente 400 pulsos do OE do peixe transmissor), em arquivos binários comprimidos (formato ABF). Posteriormente, o mesmo software converte os dados para o formato texto (ATF). Neste formato os dados são transferidos, usando um disco externo USB, para um computador de análise de dados com sistema operacional Linux (*Ubuntu 22.04 LTS, Canonical, London, UK*). No computador de análise, programas desenvolvidos pelo próprio autor, em linguagem Python (*Python 3.10, www.python.org*), importam e processam os dados, produzindo os resultados e gráficos necessários.

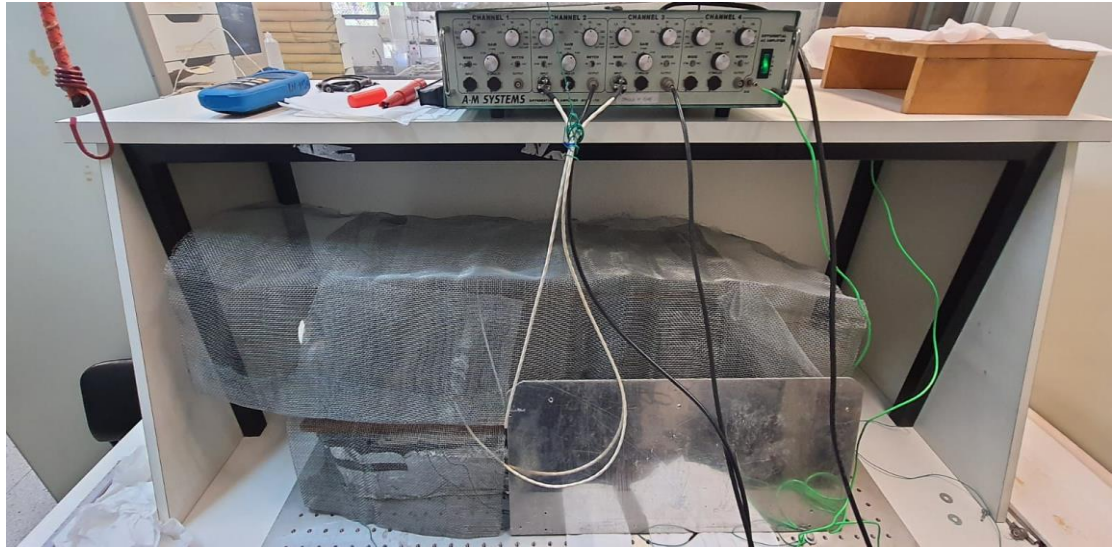


Figura 8 - Tanque experimental e eletrônica de pré-processamento. A gaiola de Faraday foi feita com uma malha de aço galvanizado, blindando o sistema contra possíveis ruídos externos e montada de maneira a facilitar o manuseio entre as sessões de gravação. Posicionamos o amplificador logo acima do aparato para evitar cabos longos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os arquivos com as séries digitalizadas do sinal elétrico captado pelos sensores são carregados em um *dataframe* com três colunas, correspondentes aos instantes de tempo, a voltagem medida em CH1 e a voltagem medida em CH2. Para isso, utilizamos as bibliotecas Numpy, Pandas, Matplotlib, plotly e sklearn e código Python desenvolvido especialmente para fazer as operações estatísticas e gráficas com os dados de todos os experimentos. Iniciamos a análise dos dados transformando o valor aferido de diferença de potencial (Volts) para campo elétrico ($\mu\text{V}/\text{cm}$) e posteriormente implementando um algoritmo simples para detectar o instante de ocorrência de cada pulso numa série, comparando o valor de cada ponto da série com um valor de limiar.

Para obter o valor local médio do campo elétrico, em cada um dos canais, devemos dividir o valor do potencial obtido pelo ganho do amplificador diferencial (10,000 X) e pela distância entre os eletrodos sensores (2,00 cm). Um pico de 1,00 V (tipicamente registrado à distância de 30 cm), corresponde a um campo elétrico **E** de intensidade $50 \mu\text{V}/\text{cm}$. Para termos uma ideia da ordem de grandeza dos potenciais medidos, um pico de 1,00 V registrado após amplificação corresponde localmente a $100 \mu\text{V}$ de diferença de potencial induzido nos eletrodos do sensor, daí a necessidade de tantos cuidados com blindagem para manter uma relação sinal/ruído adequada.

Apresentamos a seguir um exemplo de nosso algoritmo de processamento de sinais aplicado ao sinal do campo elétrico produzido por um peixe quando a sonda estava a 50 cm de

distância. Na Figura 9 apresentamos um trecho do sinal elétrico gravado em que a amplitude dos pulsos parece ter valores irregulares, por se aproximar muito do nível do ruído.

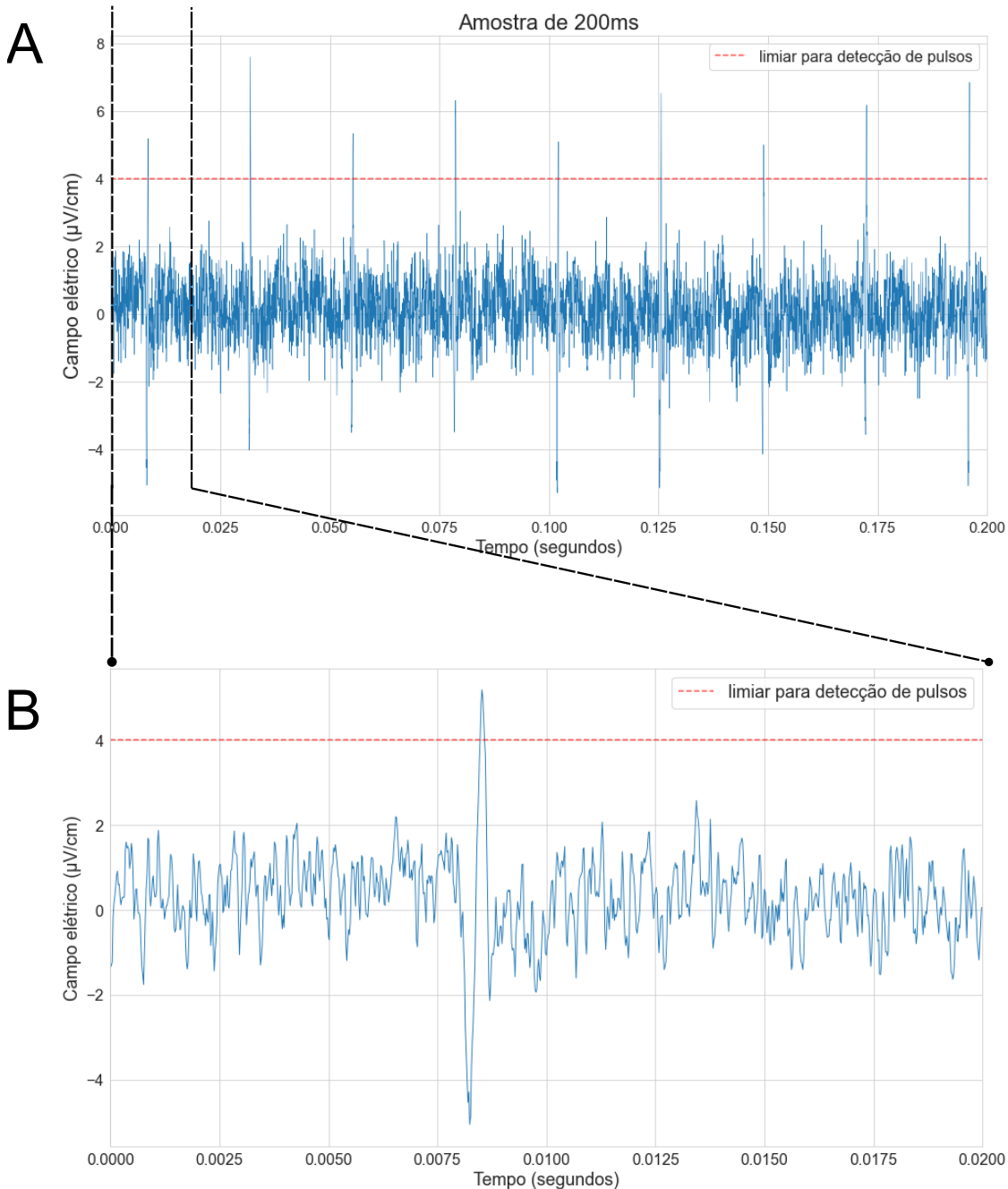


Figura 9 – Detecção de pulsos. **A:** Um trecho de 200 ms de gravação do campo elétrico medido por um dos sensores. O valor de limiar usado para detectar a ocorrência de um pulso é representado pelo tracejado em vermelho. **B:** Expansão da região delimitada pelo tracejado preto vertical. Apenas os máximos e mínimos dos pulsos são distinguíveis do ruído, mas, devido à pequena amplitude do sinal, cada pulso apresenta-se muito distorcido pela adição do ruído.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Como desejávamos observar o comportamento da amplitude do campo elétrico do peixe transmissor medido em diversas distâncias em relação à sonda, tivemos que resolver o problema que aparece quando, em distâncias muito grandes (maiores que 40 cm), a amplitude do ruído de fundo apresenta a mesma ordem de grandeza que o sinal que desejamos observar e, o método do limiar começa a falhar, produzindo resultados com uma variabilidade muito grande.

Para contornar este problema, desenvolvemos um algoritmo de detecção e estatística capaz de extrair o formato médio de um pulso, a partir dos dados gravados de um grande número de pulsos. Nosso algoritmo é inspirado em uma técnica bastante comum em neurociência conhecida como *Spike-Triggered Average*. (44)

Partindo do pressuposto que todos os pulsos gerados pelo mesmo organismo são idênticos entre si, caso aferidos no mesmo ponto do espaço, definimos o instante de ocorrência de um pulso como sendo o instante que corresponde a seu maior pico positivo. Assim, implementamos um algoritmo de busca que retorna todos os instantes em que a série temporal se encontra acima de um limiar e os valores da derivada discreta da série temporal passa de positivo para negativo ou nulo.

Definimos um quadro de comprimento fixo em índices, representando um intervalo de tempo bem maior que a duração de um pulso típico e usamos os intervalos de ocorrência de pulso obtidos anteriormente para centralizar cada um dos pulsos neste mesmo quadro. O intervalo de tempo entre dois índices sequenciais é $1 / 50$ kHz; assim nosso quadro, que tem um comprimento de 1300 índices, equivale a 26 ms em intervalo de tempo, quase 10 vezes maior que um pulso típico, que tem ~ 3 ms. Somando os pulsos centralizados, índice a índice, obtemos um sinal médio. Como o ruído é aleatório e assíncrono aos pulsos centralizados, esse método destaca o pulso e elimina (ou minimiza muito) a interferência externa. Após obtermos o perfil do sinal médio, podemos extrair o valor do pico máximo positivo e mínimo negativo desse sinal médio e usar estes valores em nossas análises, assim como o desvio padrão desses valores, que permitem obter as incertezas nessas avaliações (iguais ao desvio padrão da média).

Na Figura **10** mostramos a técnica aplicada em uma série com uma relação sinal/ruído bastante pobre. Geralmente conseguimos detectar pelo menos 300 pulsos em cada arquivo gravado com 10 s de duração total. Este número de pulsos é suficiente para observarmos o pulso médio com uma ótima resolução. Vale ressaltar, entretanto, que este procedimento não se aplica aos dados obtidos a qualquer distância, ele falha se os picos positivos (ou negativos) não se destacarem minimamente do nível do ruído.

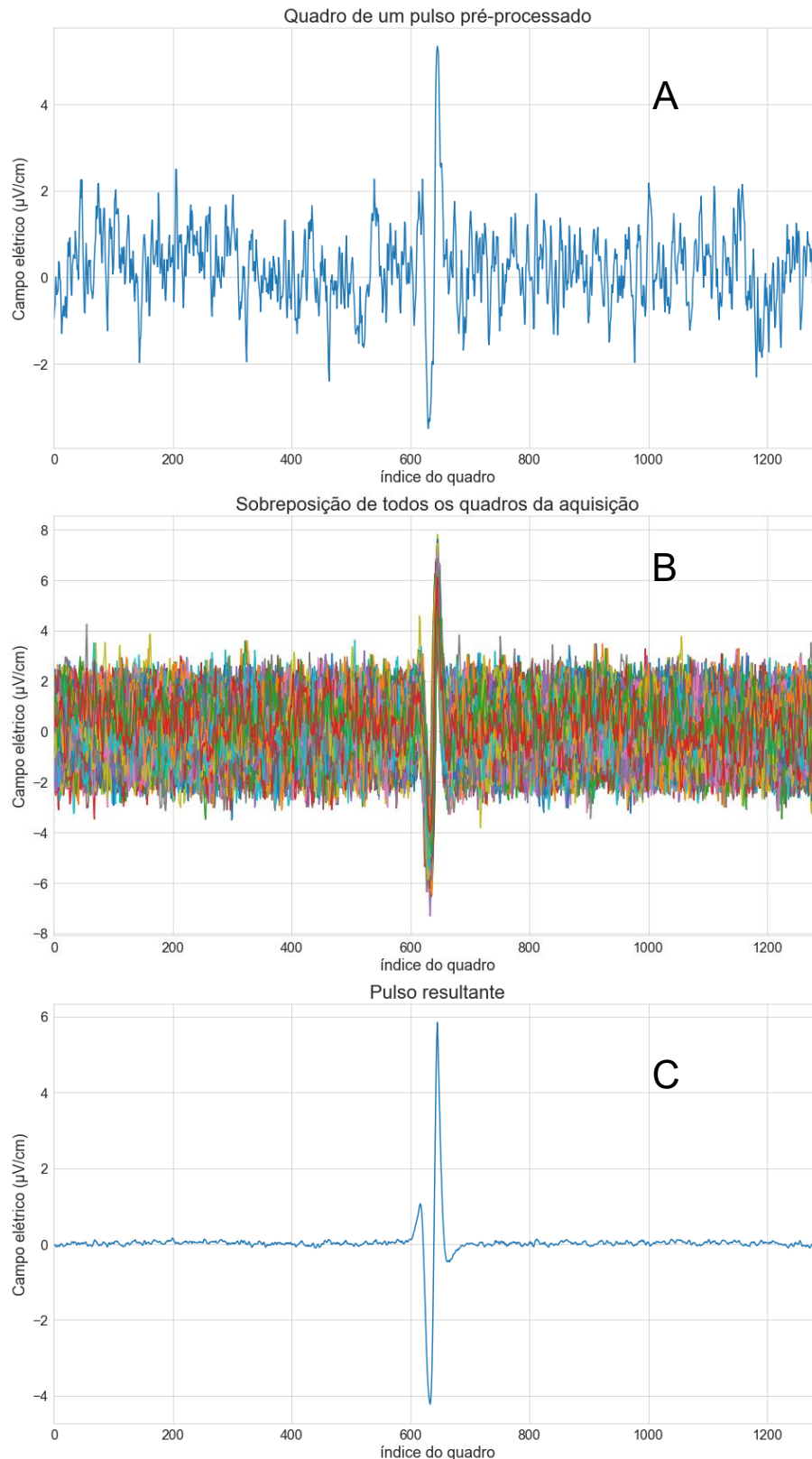


Figura 10 – Método de aplicação de Spike Triggered Average. **A:** Exemplo de um pulso gravado com a sonda a 50 cm de distância de um peixe de 15 cm de comprimento. Observa-se uma relação sinal/ruído bastante pobre. **B:** Sobreposição de todos os 336 pulsos da série após detectados e centralizados. O valor médio é obtido para cada índice neste quadro. **C:** Representação do “pulso médio”, onde uma boa relação sinal/ruído é recuperada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.7 Protocolos experimentais

Apresentamos na Figura **11** um diagrama em blocos simplificado do aparato experimental. A fonte de sinal e a sonda de medida são mantidas em paralelo, a uma distância **d** uma da outra (Figura **11A**). Usamos três tipos diferentes de transmissores ou fontes de sinal: peixes reais, dipolos artificiais e peixes convertidos em dipolos por um dispositivo específico, já descrito anteriormente. Na Figura **11B** representamos o tratamento dado ao sinal desde sua captação até o seu armazenamento para posterior análise. Cada sessão de aquisição de dados consiste no registro de séries temporais do campo elétrico induzido na sonda pela fonte de sinal, com 10 s de duração. A seguir, descrevemos uma sessão típica de experimentos.

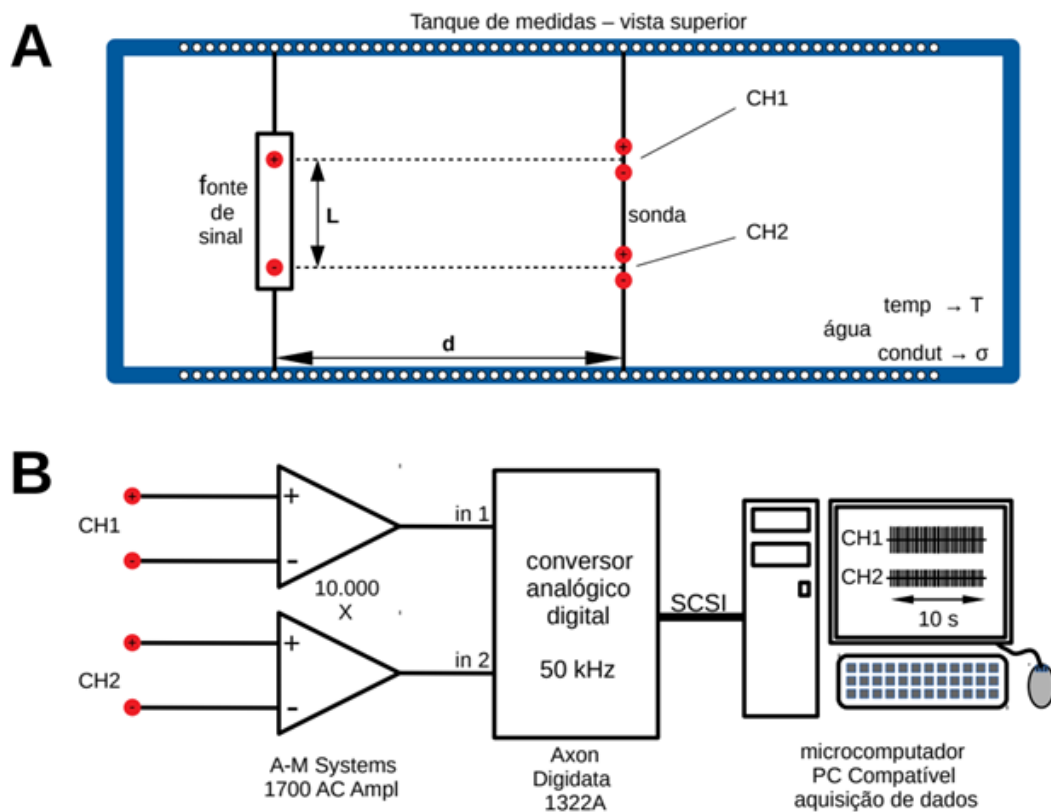


Figura 11 - Diagrama em blocos do aparato experimental. **A:** Tanque de medidas. A temperatura T e a condutividade da água σ são previamente ajustadas. A sonda mede o campo elétrico local produzido pelo transmissor ou fonte de sinal em dois sensores, CH1 e CH2, a uma distância L um do outro, igual a distância do dipolo equivalente da fonte (entre as linhas horizontais tracejadas). A fonte de sinal pode ser um peixe real, um dipolo artificial ou um "peixe convertido em dipolo". A fonte/transmissor e a sonda são sempre mantidas em paralelo a uma distância d uma da outra, que pode ser ajustada com uma resolução de 1 cm. **B:** Tratamento dos sinais e aquisição de dados. Os sinais medidos pela sonda passam por um amplificador AM-Systems modelo 1700, onde são filtrados e amplificados diferencialmente com ganho 10.000X. Após a amplificação, são convertidos em sinais digitais a uma taxa de 50 ksamples/s em um conversor A-D Axon Digidata 1322A controlado via interface SCSI por um computador de aquisição de dados. Em cada aquisição é registrada uma amostra de 10 s dos sinais CH1 e CH2, contendo ~ 400 pulsos cada uma. Os dados são gravados em formato binário (ABF) no disco rígido do computador, para análise posterior.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Antes de iniciar os experimentos, a temperatura da água do tanque de medidas foi ajustada entre 22 e 24 °C, com o uso de um aquecedor e de uma bomba de água, mesmo quando não usamos peixes reais. Como a temperatura do ar do laboratório é desta mesma ordem, a temperatura da água do tanque de medidas acaba se mantendo dentro desta faixa durante todo o período de coleta de dados. Na maioria dos casos, foi utilizada água com uma condutividade de $(0,12 \pm 0,01)$ mS/cm, a mesma que é estabelecida no biotério e que é compatível com os valores encontrados nos habitats naturais dos animais. Utilizamos um condutímetro digital tipo caneta (*CD-880, instrutherm, São Paulo-SP*) com resolução de 0,01 mS/cm para medir a condutividade da água. Nos casos em que estudamos os efeitos da condutividade da água nos resultados, partimos de água da torneira com condutividade inicial de $(0,05 \pm 0,01)$ mS/cm,

vamos acrescentando gotas de uma solução saturada de NaCl e misturando bem, até chegarmos ao valor desejado.

Quando o transmissor usado é um peixe real, este é trazido do biotério, pouco tempo antes do início da seção de aquisição de dados. Medimos o comprimento do animal e determinamos a distância L do dipolo equivalente ao seu OE. Usamos o valor obtido de L para ajustar a posição dos sensores da sonda de medidas conforme descrito anteriormente. Transferimos então o peixe para o tanque de medidas e, usando um tubo aberto, fazemos com que o animal entre em uma malha de tule muito leve e macia, costurada em formato tubular, com linha de nylon bem fina, e eletricamente transparente. Fixamos as extremidades desta malha de tule a um suporte que mantém o peixe estendido a uma profundidade de 7 cm na água, a 10 cm de distância da parede lateral do tanque e em paralelo com a mesma, numa posição relativa ao tule que é preservada durante os experimentos. Imediatamente após o fim da seção de aquisição de dados o animal é retirado da malha de tule e devolvido a seu nicho no biotério.

Quando usamos um dipolo artificial para produzir os pulsos, a alimentação com bateria é ligada pouco antes da imersão do dispositivo na água. Ajustamos a posição do transmissor diretamente no suporte do frasco estanque. Sua profundidade é ajustada em 7 cm e seu paralelismo com a parede lateral é cuidadosamente estabelecido.

Se a fonte de sinal é o peixe-dipolo, o animal é colocado no tule e inserido no tubo-dipolo imediatamente antes do início da aquisição. A malha de tule é ajustada para alinhar os eletrodos com o OE do peixe e esta posição é mantida fixa. O tubo em “U” é fixado aos trilhos superiores do tanque de modo similar ao usado com os peixes apenas envoltos em tule, permanecendo em paralelo com a parede lateral e a uma profundidade de 7 cm. Como o volume de água dentro do tubo é pequeno e não está em contato com a água do tanque, durante a aquisição de dados, o animal recebe um fluxo de água fresca para oxigenação, a intervalos de aproximadamente 5 min.

A partir do ponto em que estabelecemos e ajustamos a posição da fonte de sinal ou transmissor, todos os experimentos conduzidos ao longo da execução deste projeto utilizaram um protocolo experimental muito semelhante. A distância L e a posição dos sensores da sonda são ajustados com base nas medidas do transmissor e em seu alinhamento com o mesmo. Estabelecemos manualmente a distância d entre o transmissor e a sonda, mantidos em paralelo pelo encaixe nos trilhos. Aguardamos alguns segundos para que qualquer oscilação mecânica da água seja dissipada, e acionamos a aquisição de dados. O programa automaticamente registra por 10 segundos a série temporal dos sensores CH1 e CH2, após amplificação e digitalização a 50 kHz, e armazena os dados em disco para posterior análise, como descrevemos anteriormente.

Na Tabela 1, resumimos as seções de aquisição de dados com peixes reais de diferentes tamanhos usados como fontes de sinal (ou transmissores), para um mesmo valor de condutividade da água (0,12 mS/cm).

Tabela 1 - Peixes usados nos experimentos e sua respectiva rotina de coleta de dados

Peixe utilizado	distância L do dipolo equivalente ao OE do peixe (cm)	faixa de distâncias d entre o peixe e a sonda (cm)	número de distâncias aferidas
Peixe 1	13	4 a 57	24
Peixe 2	15	10 a 50	41
Peixe 3	18	10 a 50	41
Peixe 4	20	10 a 57	48

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nos experimentos com dipolos artificiais, foram usados dois valores de L, 11 cm e 22 cm. Para cada valor de L registramos em arquivos digitais os campos induzidos na sonda para distâncias **d** ajustadas entre 2 cm e 50 cm.

Para o peixe-dipolo, os campos induzidos na sonda foram medidos com o dispositivo montado a 10 cm da parede lateral do tanque, como nos outros casos, e a distância **d** entre a sonda e o peixe-dipolo foi ajustada entre 4 cm e 57 cm. A aquisição de dados foi repetida para dois casos: apenas 2 eletrodos estabelecendo contato com o OE do peixe (peixe-dipolo-simples – Figura 4D) e com 4 eletrodos em contato com o OE do peixe (peixe-dipolo-duplo – Figura 4E).

O efeito da condutividade da água foi estudado usando um único peixe (peixe 5) com L de 20 cm. Os valores de condutividade da água e distâncias **d** entre o peixe e a sonda são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Medidas realizadas com o Peixe 5 em diferentes condutividades

condutividade ($\pm 0,01$ mS/cm)	faixa de distâncias d entre o peixe e a sonda (cm)	número de distâncias aferidas
0,05	5 a 55	11
0,20	5 a 55	11
0,33	5 a 55	11
0,48	5 a 55	11
0,62	4 a 30	11
0,99	4 a 14	11

Fonte: Elaborada pelo autor.

3 Resultados e Discussões

Conforme descrito anteriormente, nossa metodologia de pré-análise consistiu em computar a média (e o desvio padrão) dos valores de pico (máximo e mínimo) do campo elétrico em cada pulso presente em uma série temporal. Em um registro típico, com 10 segundos de duração, esta média representa N pulsos da fonte, com N entre 300 e 400. A incerteza apresentada nos gráficos foi calculada usando o desvio padrão da média obtida com os N valores. Apresentamos os valores dos mínimos (negativos) em módulo, para facilitar a comparação visual de seu comportamento com o dos máximos. Como nossa sonda possui dois sensores, CH1 na região da cabeça do receptor e CH2 na região da cauda, para cada valor da distância d estabelecida entre a fonte de sinal e a sonda, temos quatro valores médios de pico.

Muitos trabalhos se dedicaram a descrever algumas características da propagação do sinal elétrico ao redor do corpo dos peixes. (48-53) Todos esses resultados se mostraram fortemente dependentes das condições de contorno estabelecidas pela geometria e propriedades elétricas do material do tanque usado para obter as medidas. Em um trabalho que usou um tanque de dimensões bastante grandes e outros artifícios para minimizar as reflexões do sinal elétrico (54), observou-se que o campo elétrico da EOD decai como o campo de um dipolo elétrico ao propagar-se na água, como era esperado de acordo com a teoria do eletromagnetismo. Entretanto, em todos os casos observa-se que para distâncias da ordem de grandeza do tamanho dos peixes (distâncias menores que 20 ou 30 cm) o comportamento do campo elétrico apresenta distorções em relação ao que se espera do campo elétrico produzido por um dipolo. Neste trabalho procuramos estudar o comportamento nesta região em que o sinal não decai como o de um dipolo, mas que, no entanto, é uma região muito importante para o animal, pois é onde a eletrolocalização ocorre. Trata-se de uma questão interessante, pois se a propagação do campo elétrico depende das dimensões do ambiente, um mesmo objeto à mesma distância produziria diferentes sensações ao refletir o sinal elétrico do mesmo OE em diferentes ambientes.

3.1 Decaimento típico dos pulsos de um peixe

Na Figura 12 apresentamos o comportamento dos máximos obtidos em função da distância entre o sensor e um peixe de 18 cm de comprimento, usado como fonte de sinal.

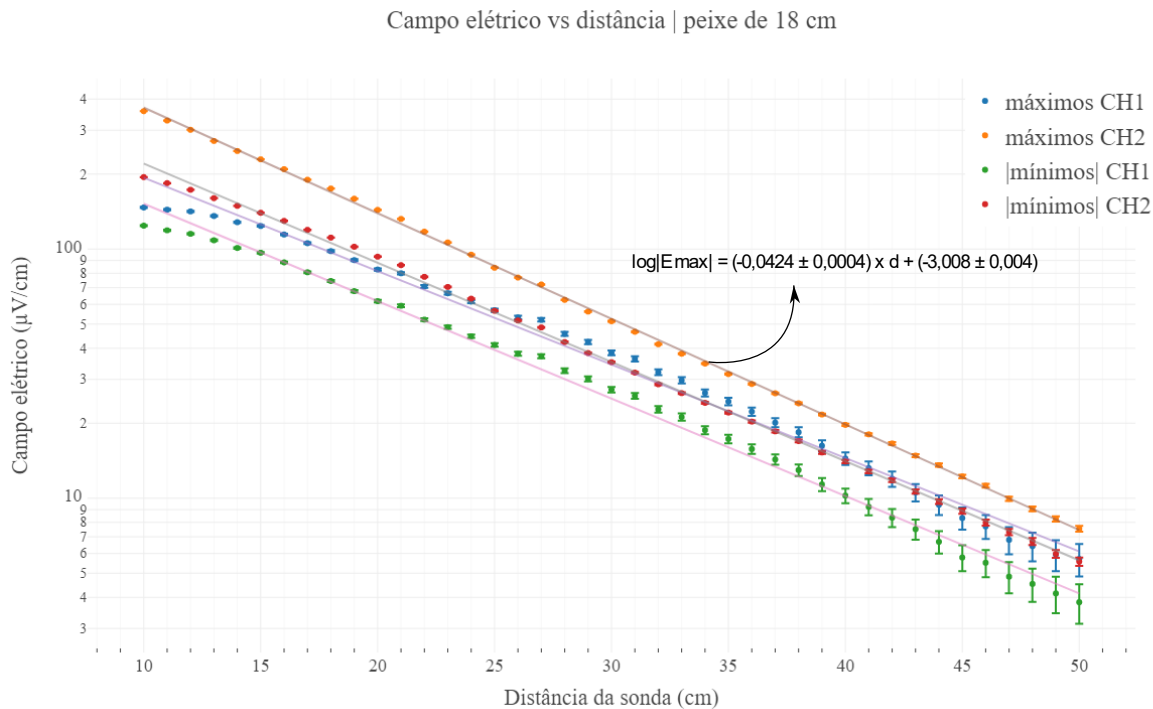


Figura 12 - Valores máximos de pico obtidos para o peixe 3 (OE com 18 cm de comprimento) em função de sua distância até a sonda, em escala mono-log. O comportamento dos máximos e mínimos sugere um decaimento do tipo exponencial, como pode ser observado pelos ajustes lineares. CH2 (sensor na direção da cauda) apresenta valores maiores e com comportamento mais linear para pequenos valores da distância. A voltagem de pico varia em uma faixa de 2 décadas, por isso as barras de incerteza parecem graficamente maiores na região à direita do gráfico que corresponde a amplitudes 100X menores que as iniciais.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os valores de pico registrados por CH2 (direção da cauda) são sempre aproximadamente 2 vezes maiores que os registrados por CH1 (direção da cabeça), evidenciando que o OE tem uma estrutura não homogênea, já que sua porção caudal deve ter uma resistência interna menor ou produzir localmente um sinal maior que o produzido por sua parte frontal. Estes resultados estão de acordo com medidas reportadas pela literatura, (43) realizadas diretamente no OE, na ausência de carga externa e os valores para a intensidade do campo elétrico são compatíveis com o observado em trabalhos anteriores. (54)

Observamos também que todos os valores médios dos picos apresentam comportamento compatível com um decaimento do tipo exponencial, com o mesmo valor característico de constante de decaimento, e isso ocorre para toda a faixa das distâncias d entre o peixe e a sonda consideradas (entre 10 e 50 cm). Considerando esta relação entre E e d , obtida graficamente, o comportamento observado pode ser descrito por:

$$|E_{(d)}| = E_0 e^{-\alpha d}, \quad (1)$$

com E_0 e α constantes.

Ajustando uma reta aos picos máximos do CH2 nos dados do gráfico mono-log da Figura 12, obtemos: $\log_{10}(e) \cdot \alpha = 0,0424$ (detalhe na Figura 12) e, portanto $\alpha = 0,0976 \text{ cm}^{-1}$. Se definirmos um comprimento característico de decaimento $l_0 = 1/\alpha$, como a distância em que a amplitude do sinal cai para $1/e$ de seu valor inicial, temos $l_0 \sim 10 \text{ cm}$.

O valor obtido para l_0 é da mesma ordem de grandeza do comprimento do órgão elétrico do peixe e das dimensões envolvidas nos nichos onde os peixes costumam se proteger em seu hábitat natural. Como os sinais analisados são fundamentais para os mecanismos de eletrocomunicação e eletrolocalização, podemos inferir que, nesta espécie, o alcance desses mecanismos seja da ordem de algumas vezes este valor de l_0 , compatível com as dimensões quotidianas experimentadas pelos animais, ao contrário de algumas ideias que se tem sobre a eletrolocalização ter um alcance muito limitado (apenas alguns cm) e constituir, portanto, uma modalidade de sentido muito mais parecido com o tato do que com a visão. (45, 55)

Os picos correspondentes ao sensor posicionado na direção da cabeça (CH1) apresentam um pequeno desvio em relação ao comportamento exponencial de decaimento quando o sensor está em distâncias pequenas ($d < 15 \text{ cm}$), o que não acontece com os picos medidos na direção da cauda. Podemos interpretar este resultado como sendo um outro efeito da não homogeneidade da distribuição de eletrócitos geradores de campo elétrico ao longo do OE. Curiosamente, os peixes no biotério têm o hábito de primeiro moverem suas cabeças para longe de pedaços de alimento, nadando para a frente e aproximando-os do meio de seu corpo, e só então nadam para trás para abocanhá-los. Este comportamento pode ser um indício de que o espaço ao redor do animal, onde o decaimento do sinal emitido é exponencial, tenha vantagens para a eletrolocalização ativa.

3.2 Propagação dos pulsos do OE de peixes reais

As linhas de campo elétrico na água são muito sensíveis às condições de contorno, um modelo preciso do efeito final deve levar em conta a geometria das paredes limítrofes e as interfaces entre meios com propriedades elétricas distintas. Geralmente as soluções têm que ser encontradas usando aproximações e métodos numéricos. Como nossos experimentos foram feitos em um tanque com dimensões reduzidas, compatíveis com o hábitat natural, e da mesma ordem de grandeza do comprimento dos animais, esperávamos que o comportamento observado

deveria depender do tamanho do OE gerador. Assim, procuramos verificar como a propagação dos pulsos ocorria no mesmo tanque experimental usando peixes de diversos tamanhos.

Para permitir uma comparação visual mais simples, normalizamos todos os dados dos valores de pico dividindo os potenciais de cada conjunto de pontos pelo valor do potencial inicial, obtido para $d = 10$ cm. Assim, o potencial normalizado tem sempre um valor arbitrário inicial igual a 1, como mostramos na Figura 13, para peixes com comprimentos entre 13 cm e 20 cm, mas sua faixa de variação continua sendo de 100 X em escala mono-log. Como já mostramos que o comportamento é o mesmo para todos os mínimos e máximos, optamos por apresentar apenas os resultados para os valores dos picos máximos de CH2 que têm a maior amplitude inicial e uma melhor relação sinal ruído que os outros em longas distâncias.

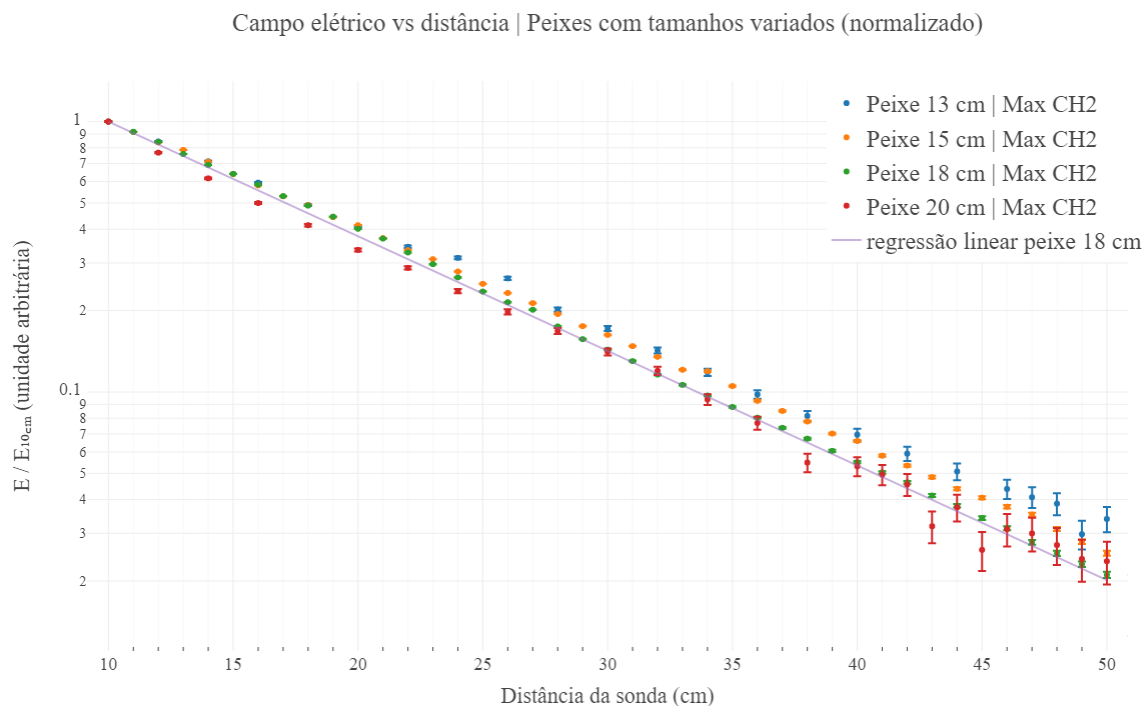


Figura 13 - Valores máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala mono-log, como função da distância entre o peixe e a sonda, obtidos para peixes com comprimento entre 13 cm e 20 cm em escala mono-log. Todos os conjuntos de dados foram normalizados de acordo com os valores obtidos para distância da sonda de 10 cm. A linha contínua representa o ajuste de uma exponencial aos valores correspondentes ao peixe de 18 cm, para comparação.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados mostrados na Figura 13 sugerem que o comportamento de decaimento exponencial, compatível com a equação (1), ocorre de maneira independente do tamanho dos animais. Para comparar quantitativamente o comportamento entre os animais de diferentes tamanhos fizemos o ajuste de uma reta aos dados em cada caso, sem normalizar, de acordo com:

$$\log_{10}(|E(d)|) = C_0 - \alpha d, \quad (1)$$

onde, de acordo com a equação (1), $C_0 = \log_{10}(E_0)$, e α é a constante de decaimento.

Tabela 3 - Resultados dos ajustes de decaimento exponencial aos dados obtidos com peixes de diferentes tamanhos e seu comprimento característico de decaimento l_0 .

Peixe utilizado	comprimento do OE do peixe (cm)	C_0	α (cm ⁻¹)	l_0 (cm)
Peixe 1	13,0 ± 0,1	-3,45 ± 0,01	-0,0385 ± 0,0007	~11,3
Peixe 2	15,0 ± 0,1	-3,146 ± 0,003	-0,040 ± 0,001	~11
Peixe 3	18,0 ± 0,1	-3,008 ± 0,004	-0,0423 ± 0,0004	~10,3
Peixe 4	20,0 ± 0,1	-3,23 ± 0,02	-0,0393 ± 0,0008	~11,1

Fonte: Elaborada pelo autor

De acordo com os resultados quantitativos apresentados na Tabela 3, podemos afirmar que o decaimento exponencial dos pulsos ocorre da mesma maneira, e independentemente do tamanho do peixe. Mesmo ao praticamente dobrarmos o tamanho do peixe o comprimento característico de decaimento se mantém próximo a 11 cm. Este resultado não era esperado, especialmente no caso do peixe maior, já que seu comprimento é apenas pouco menor que a largura do tanque e o sinal resultante deveria ter muitas componentes de reflexão nas paredes próximas.

Do ponto de vista da Física, apesar de nossas medidas serem restritas às direções perpendiculares ao OE, na “altura” da cabeça e da ponta da cauda do peixe, esses resultados sugerem que o sinal emitido pelo OE parece se propagar na água de modo parecido com o de uma onda plana, de acordo com o modelo de Drude-Lorentz (56) da dispersão óptica em meios materiais. Segundo este modelo, a propagação de uma onda em um meio material se dá pela absorção da energia da onda e sua reemissão por cargas não-livres que dissipam parte dessa energia para oscilar em torno de suas posições de equilíbrio no material, produzindo o efeito de decaimento exponencial com a distância de propagação. As ondas planas têm uma grande utilidade na Física porque contêm muitas simplificações que permitem a obtenção de resultados analíticos. Entretanto não é uma tarefa fácil produzir ondas planas sem utilizar artifícios como

considerar grandes distâncias (como a luz do Sol que chega ao planeta Terra), ou então que o gerador tem a mesma dimensão que o lugar onde acontece a propagação, como no caso de um batedor de ondas mecânicas com o comprimento igual à largura de uma cuba de ondas. Nossos resultados apontam que os peixes elétricos resolveram este problema, de alguma maneira, sem usar estes artifícios.

É interessante lembrar que o OE de *Gymnotus carapo* evoluiu como uma adaptação de tecido muscular. Assim, seria intuitivo imaginar que, durante o crescimento, um OE com o dobro do tamanho em relação a outro, deveria gerar um pulso com o dobro da amplitude. Mas isso não é o que acontece, como podemos verificar analisando os valores do parâmetro ajustado C_0 , que é proporcional ao logaritmo da amplitude do pulso inicial quando a distância ao OE é nula.

Uma vez que os resultados encontrados não dependem das condições de contorno, acreditamos que devem existir mecanismos anatômico/morfológico, que compensam o efeito das reflexões em um ambiente pequeno e também o crescimento do animal durante seu desenvolvimento. Além disso é natural imaginar que estes mecanismos tragam alguma vantagem/utilidade do ponto de vista evolutivo. Como os pulsos são gerados para a eletrolocalização ativa, relacionada à navegação em ambientes escuros, uma possível explicação seria a vantagem desses mecanismos permitirem ao animal avaliar objetos em sua vizinhança de maneira independente do tamanho do lugar onde ele está e também de seu próprio tamanho.

Nesse contexto, podemos considerar que as características de propagação do sinal produzido pelo OE, que demonstramos ser conservadas em diferentes animais, revelam uma estratégia de codificação de informação sensorial do sistema nervoso. O efeito sensorial de um estímulo em animais superiores e no sistema nervoso humano segue uma regra bastante conhecida e comumente citada como uma das leis da psicofísica. (36-38) De acordo com a lei de Weber-Fechner (37) a intensidade de um estímulo produz uma sensação cognitiva que é proporcional ao logaritmo dessa intensidade. Esta lei se aplica a todos os sentidos humanos e é dessa maneira do sistema nervoso codificar os estímulos que nos permite ver simultaneamente os detalhes de regiões do campo visual que estejam pouco e muito iluminadas.

Foi experimentalmente comprovado, (38) neste sentido, que existem populações de neurônios cuja taxa de disparo média é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo, de acordo com: sensação = $\log(\text{estímulo})$. No sistema sensorial elétrico dos peixes é bastante comum encontrar neurônios sensoriais que disparam a uma taxa proporcional à intensidade do campo elétrico incidente, se considerarmos que o campo elétrico incidente seja do formato

sugerido pela equação (1) e que os neurônios sensoriais produzam uma sensação compatível com a lei de Weber-Fechner, esta sensação será diretamente proporcional à distância d .

Em suma, o fato de o OE dos peixes produzir um sinal espaço-temporal complexo que se propaga de maneira semelhante a uma onda plana, com uma intensidade que decai exponencialmente na água, interage com os objetos ao redor e retorna para o sistema sensorial, pode permitir que o sistema nervoso dos peixes infira a distância em que estão os objetos próximos diretamente através de uma “sensação”.

3.3 Propagação dos pulsos de dipolos artificiais

Estudamos a propagação dos pulsos de dipolos elétricos com dimensões semelhantes ao OE dos peixes, nas mesmas condições de contorno (tanque experimental), para avaliar a eficiência destes dispositivos na mimetização do OE dos peixes, como tem sido tradicionalmente feito na literatura.

Implementamos, para isso, dois dipolos baseados no mesmo gerador artificial de pulsos, mas com distâncias entre eletrodos de 11 cm e de 22 cm, colocados como fonte de sinal na mesma posição que os peixes reais. Apresentamos os resultados obtidos na Figura 14, juntamente com os resultados do peixe de 18 cm, para comparação. Conforme descrito anteriormente normalizamos os conjuntos de dados pelo valor do pico obtido para $d = 10$ cm, para facilitar a comparação.

Campo elétrico vs distância | Peixe e dipolos artificiais (normalizado)

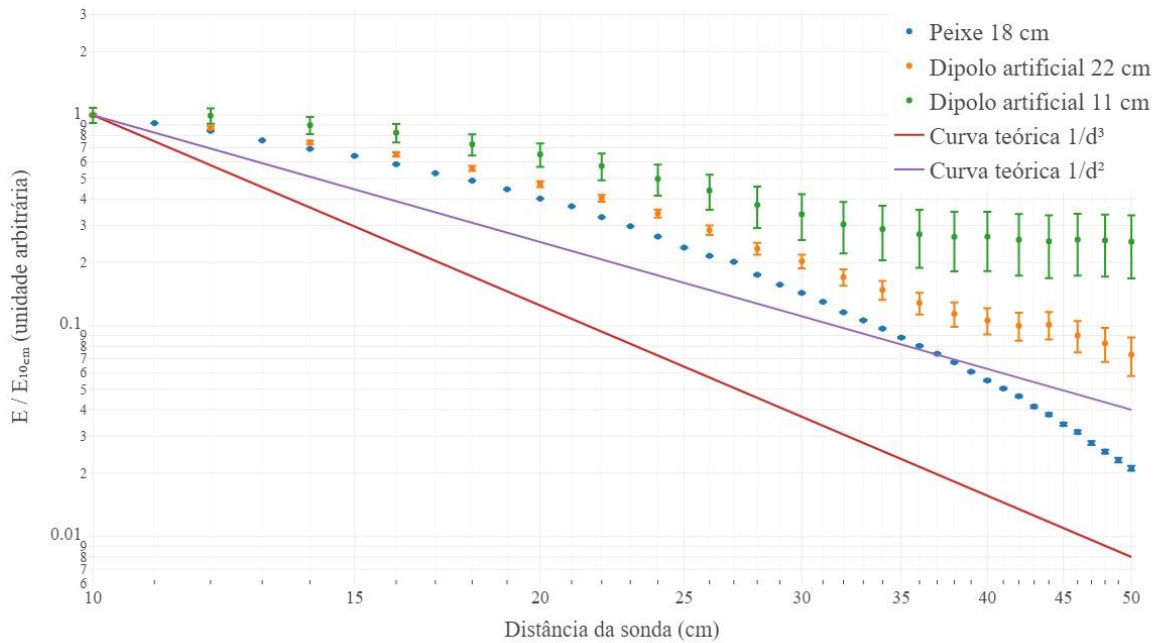


Figura 14 - Valores normalizados dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala di-logarítmica, como função da distância entre as fontes e a sonda. Os resultados foram obtidos para dipolos artificiais com comprimento de 11 cm e 22 cm e um peixe real de 18 cm. As linhas contínuas representam curvas teóricas de modelos proporcionais a $1/d^2$ e a $1/d^3$ também normalizados, para comparação.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O comportamento esperado para campo produzido por um dipolo elétrico na ausência de reflexões é representado na Figura 14 pela reta de maior inclinação ($1/d^3$). Também representamos uma reta correspondente ao esperado para o decaimento do campo elétrico de uma carga puntiforme ou monopolo elétrico ($1/d^2$). Para distâncias menores que 35 cm tanto o decaimento do campo dos peixes quanto o decaimento dos dipolos artificiais é mais lento do que $1/d^2$. Para $d > 35$ cm, apenas o decaimento observado nos peixes se aproxima de $1/d^3$. Os dipolos artificiais apresentam comportamentos que não apenas divergem do comportamento ($1/d^3$) para toda a faixa de distâncias medidas, como também divergem entre si, evidenciando a importância das reflexões devido ao tamanho limitado e o material isolante das paredes do tanque de medidas. O fato de peixes de diferentes tamanhos (entre 13 e 20 cm) apresentarem todos o mesmo decaimento evidencia que de alguma maneira o OE dos peixes compensa as reflexões do campo em diferentes geometrias do ambiente.

3.4 Propagação dos pulsos de um peixe-dipolo

Apesar do grande apelo em aproximar-se o OE de um peixe por um dipolo elétrico, mostramos que o comportamento dos pulsos elétricos produzidos pelo OE ao se propagar na água possui propriedades muito particulares, que não dependem nem do tamanho do peixe nem das condições de contorno. Nada parecido ocorre quando usamos dipolos como fonte de pulsos. A grande vantagem de usar um dipolo para simular um peixe seria diminuir a complexidade do problema, substituindo uma rede de eletrócitos, distribuídos de maneira não homogênea ao longo do OE (direção r), que gera um sinal $V_0(r, t)$, por apenas dois pontos aos quais é aplicado um sinal $V_0(t)$ mais simples, reduzindo assim um problema espaço-temporal a um problema apenas temporal. Infelizmente, esta simplificação demonstrou não ser satisfatória em reproduzir um decaimento similar ao observado nos peixes.

Para verificar esta hipótese sobre a importância da distribuição espacial do OE na propagação do sinal, decidimos investigar se seríamos capazes de fazer o contrário: eliminar parte da complexidade espacial do OE e observar se o comportamento original era substituído pelo observado nos dipolos. Assim, implementamos um dispositivo que isola eletricamente um peixe real no tanque de experimentos e estabelece um contato elétrico apenas em alguns pontos, como ocorre nos dipolos. No primeiro experimento permitimos apenas o contato entre o peixe e água do tanque através de 2 pontos, como se o OE do peixe fosse um dipolo simples, com distância entre eletrodos igual ao comprimento do OE.

Os resultados desse experimento com nosso “peixe-dipolo-simples” de 18 cm (Figura 4D) são mostrados na Figura 15, juntamente com os dados obtidos para um dipolo elétrico artificial de 22 cm e com os dados do mesmo peixe diretamente colocado no tanque, com seu OE inteiramente em contato com água.

Campo elétrico vs distância | Peixe e dipolos diferentes (normalizado)

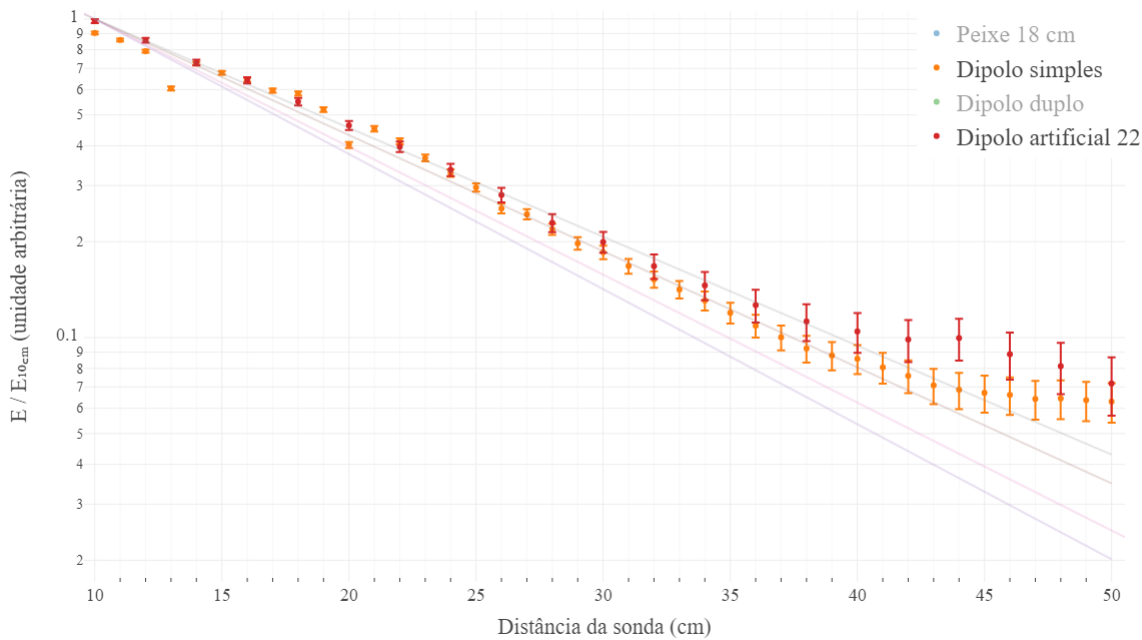


Figura 15 - Valores normalizados dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala mono-log, como função da distância entre as fontes e a sonda para dipolo simples. Os resultados foram obtidos para o peixe-dipolo-simples de 18 cm (laranja), para um dipolo artificial de 22 cm (vermelho) e o mesmo peixe diretamente dentro da água (em transparência). As linhas contínuas representam ajustes de exponenciais aos dados, para comparação.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Observamos que os dados do peixe-dipolo-simples desviam do comportamento exponencial para $d > 30$ cm, do mesmo modo que acontece com os dados do dipolo de 22 cm. Assim, mostramos que reduzir o contato do OE do peixe com a água do tanque a apenas 2 pontos elimina o comportamento compatível com decaimento exponencial em grandes distâncias.

Uma grande vantagem do dispositivo desenvolvido é permitir que a complexidade espacial do OE seja aumentada gradualmente. Assim, realizamos um novo experimento para estudar o comportamento de um peixe-dipolo-duplo (Figura 4E). Apresentamos os resultados deste experimento na Figura 16.

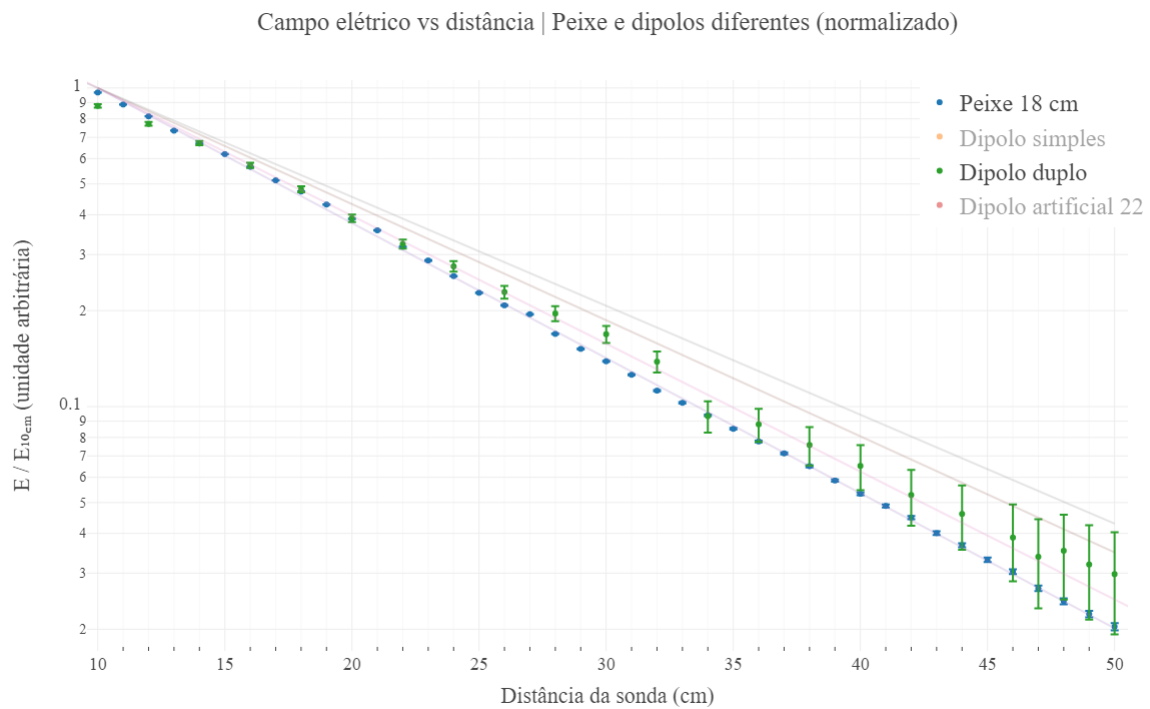


Figura 16 - Valores normalizados dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2, em escala mono-log, como função da distância entre as fontes e a sonda para dipolo duplo. Os resultados foram obtidos para o peixe-dipolo-duplo (em verde), para o mesmo peixe diretamente dentro da água (em azul) e para dipolos simples (em transparência). As linhas contínuas representam ajustes de exponenciais aos dados, para comparação.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nossos resultados mostram que aumentar a complexidade espacial da produção do pulso elétrico recupera a característica de decaimento exponencial, que estava bastante deteriorada no peixe-dipolo-simples, especialmente nas distâncias maiores. Em especial podemos afirmar que um peixe-dipolo-duplo seria capaz de reproduzir razoavelmente bem o comportamento de decaimento do peixe real até uns 40 cm de distância.

Podemos entender estes resultados sobre a influência da estrutura espacial do OE na capacidade de produzir um sinal que se propaga de modo semelhante a uma onda plana se considerarmos que as diferentes porções do OE produzem sinais distintos que se somam no espaço e no tempo para produzir o efeito observado, conforme o esquema esboçado na Figura 17.

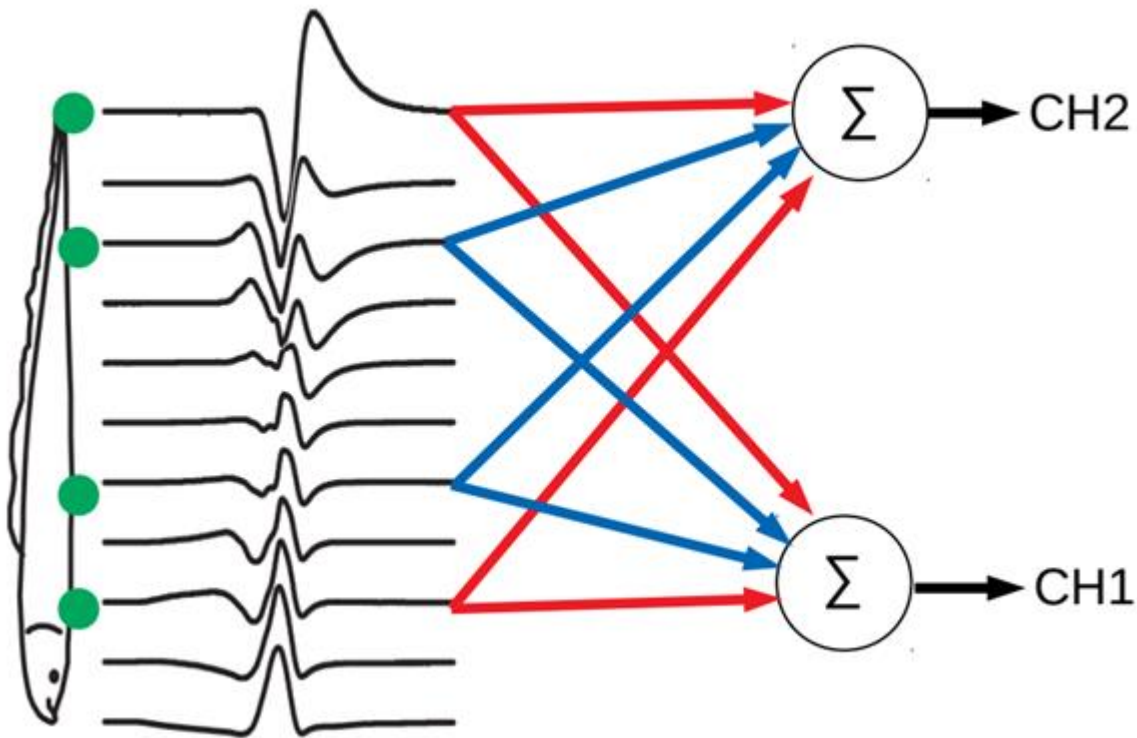


Figura 17 - Esboço do efeito da estrutura espacial do OE na produção do sinal captado pela sonda. Ao lado do peixe estão os sinais registrados localmente ao longo do OE. Os círculos verdes representam os pontos de contato entre o OE e a água permitidos pelo dispositivo experimental que desenvolvemos. No caso do dipolo simples, apenas os contatos mais externos estavam ativos, assim, o sinal captado pelos sensores CH1 e CH2 era apenas a soma das componentes vermelhas do sinal, que reproduz o comportamento elétrico dos dipolos artificiais. Quando aumentamos a complexidade da estrutura do OE, ativando os 4 contatos, os sinais em azul também são somados e, devido à diferença de caminhos e atenuações sofridas, o comportamento do OE inteiro é parcialmente recuperado.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O sinal captado em CH1 e CH2 é a somatória das componentes que chegam das diferentes partes do OE e sofrem diferentes atenuações devido aos diferentes caminhos percorridos. Quando implementamos o peixe-dipolo-simples, apenas as componentes em vermelho chegam até os sensores, replicando o que acontece com um dipolo simples. Quando permitimos que as componentes em azul sejam acrescentadas às vermelhas, implementado o peixe-dipolo-duplo, a diferença de fases, caminhos e atenuações que as componentes sofrem ao se propagar na água se compensam e recuperam parcialmente o comportamento observado com o OE inteiramente exposto à água.

3.5 Comportamento do sinal propagado nas proximidades das fontes

Mimetizar a presença de um peixe verdadeiro é de especial interesse para estudarmos a eletrocomunicação implementando um peixe artificial capaz de se comunicar com um peixe

verdadeiro e livre para se movimentar e se aproximar de seu colega “virtual”. O uso de dipolos para tentar estimular de modo realista os animais reais tem sido amplamente adotado na literatura. (21,32-35)

Nossos resultados até agora têm mostrado que o uso de dipolos não é adequado quando o peixe real está livre pra se mover e a distância entre ele e o peixe artificial é maior que algumas dezenas de cm, pois ele vai perceber que seu colega produz um sinal que varia no espaço de um modo estranho, não natural, ou pelo menos não como deveria variar se ele fosse da mesma espécie. Por outro lado, talvez, o comportamento anômalo dos dipolos à maiores distâncias, não seja tão importante, já que o peixe real pode se aproximar do peixe artificial e interagir de alguma forma.

Para investigarmos o comportamento do sinal produzido por peixes e dipolos a pequenas distâncias, como se estivessem sendo observados de perto por um “coespecífico” real, analisamos os dados de dipolos e peixes incluindo pequenas distâncias ($d < 10$ cm). Os resultados desta análise são mostrados na Figura 18.

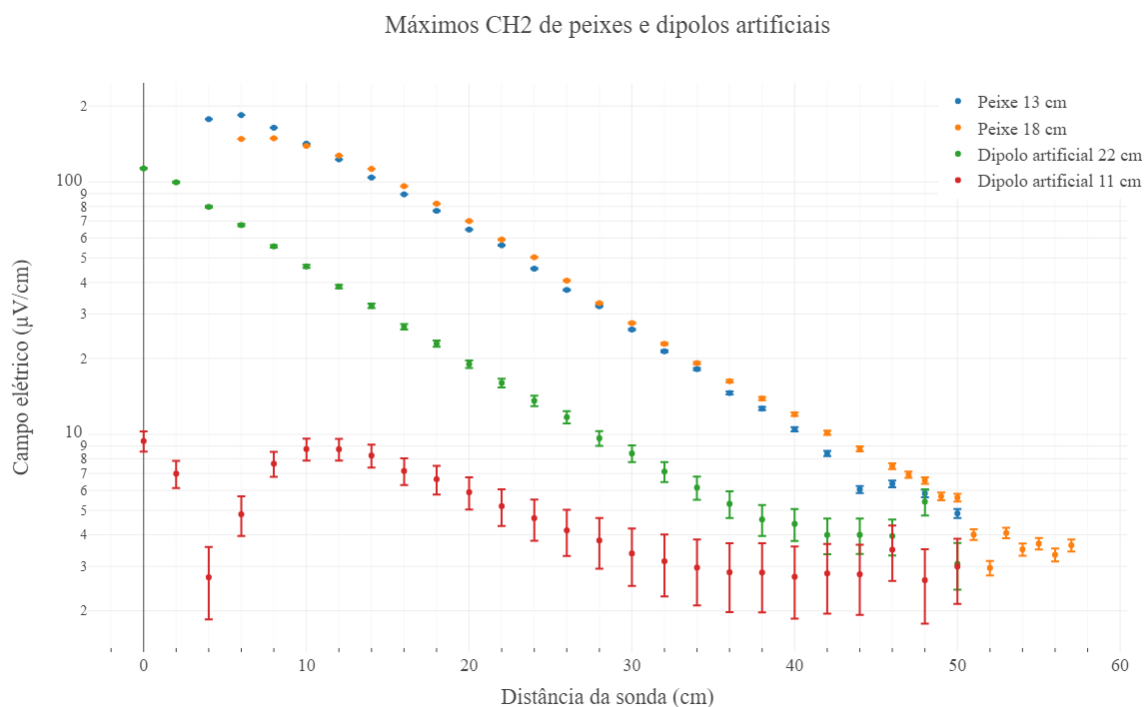


Figura 18 - Valores dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2 (sem normalizar), em escala mono-log, como função da distância entre as fontes e a sonda incluindo curtas e longas distâncias. Os resultados são mostrados para peixes de 13 cm (azul) e 18 cm (laranja), e para dipolos artificiais de 11 cm (vermelho) e 22 cm (verde) para comparação.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nossos resultados mostram que o comportamento elétrico observado para os peixes de 13 cm e 18 cm é praticamente idêntico em toda a faixa de distâncias implementadas. Ele se ajusta muito bem a um decaimento exponencial até distâncias d de aproximadamente 60 cm, no limite de nossa capacidade de detecção. Para distâncias abaixo de 10 cm o comportamento elétrico dos peixes desvia-se um pouco do decaimento exponencial, como já discutimos anteriormente, no início da seção de resultados.

Em pequenas distâncias o dipolo artificial de 22 cm apresenta um comportamento elétrico muito similar a uma onda plana que decai de modo perfeitamente exponencial, o que pode ser compreendido se levarmos em conta que a largura do tanque é de 35 cm, o que significa que um dipolo de 22 cm é comparável a um batedor de ondas mecânicas que se estende por quase toda a lateral de uma cuba de ondas.

O dipolo de 11 cm, entretanto, apresenta um comportamento elétrico bastante distinto do observado nos peixes. Quando nos aproximamos a distâncias menores que 10 cm, o campo diminui e depois volta a aumentar. Este comportamento pode ser explicado pelo que ocorre com as linhas de campo do dipolo elétrico nas proximidades das cargas. Quando nos aproximamos muito de uma das cargas o campo paralelo ao dipolo tende a se anular. Se nos aproximarmos ainda mais observamos uma inversão do campo no sentido paralelo e a partir daí um novo aumento da concentração de linhas. Na Figura 18 esta anulação seguida da inversão do campo claramente aparece nos dados do dipolo de 11 cm para distâncias d menor que 5 cm, e observamos o aumento do valor do campo em módulo à medida em que nos aproximamos ainda mais.

Desta maneira, podemos argumentar que um peixe livre para se aproximar de um peixe artificial, implementado por um dipolo elétrico pequeno, irá perceber uma inversão das linhas de campo que não ocorre nos peixes reais e concluirá que não se trata de um peixe real, ou quem sabe, é um peixe real que está com alguma lesão ou má formação em seu OE. De qualquer maneira nossos dados indicam que o uso de dipolos simples não parece ser um modo convincente de estimular comportamentos sociais realísticos.

3.6 Efeito da condutividade da água

Uma dúvida que surgiu durante o desenvolvimento deste trabalho foi qual seria a implicação de aumentar a condutividade da água no alcance dos pulsos do OE. Intuitivamente poderíamos imaginar que devido à maior condutividade o decaimento do sinal ocorreria de

modo mais rápido, deteriorando a capacidade de eletrolocalização em distâncias menores do que acontece quando a condutividade é menor. Realizamos, para investigar esta questão, experimentos com um peixe de 20 cm, aumentando progressivamente a condutividade da água, dentro de valores fisiologicamente plausíveis. Os resultados desses experimentos, para a condutividade da água variando desde 0,05 mS/cm até perto de 1 mS/cm, são apresentados na Figura 19. Os valores dos picos máximos dos pulsos medidos em CH2 são mostrados sem normalização, em função da distância da sonda ao peixe.

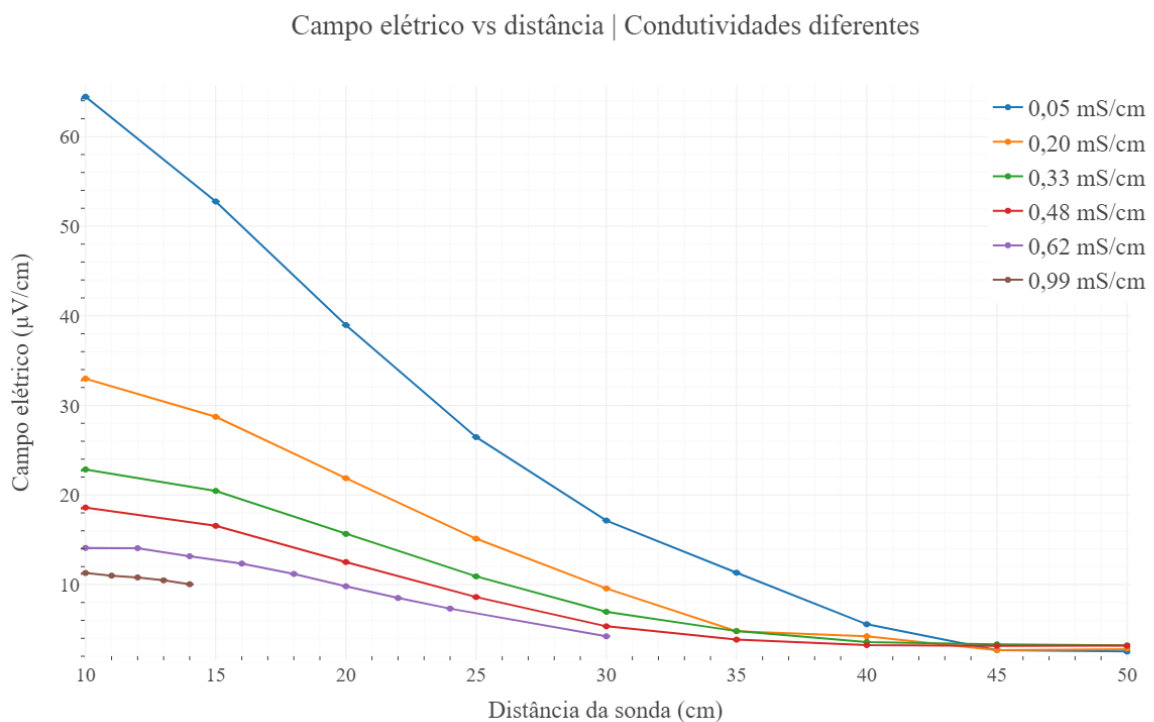


Figura 19 - Valores dos máximos de pico do pulso registrados CH2 (sem normalizar), como função da distância entre um peixe de 20 cm e a sonda para valores de condutividade diferentes. Os resultados são mostrados para condutâncias entre 0,05 mS/cm e 0,99 mS/cm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A variação da condutividade impacta a amplitude do sinal que emerge do peixe elétrico, como podemos verificar nos valores obtidos para a distância de 10 cm que correspondem a diferentes condutividades. Para verificar se a condutividade afeta a constante de decaimento plotamos os dados normalizados para distâncias entre 15 e 35 cm, conforme mostrado na Figura 20, onde também representamos o ajuste do decaimento exponencial

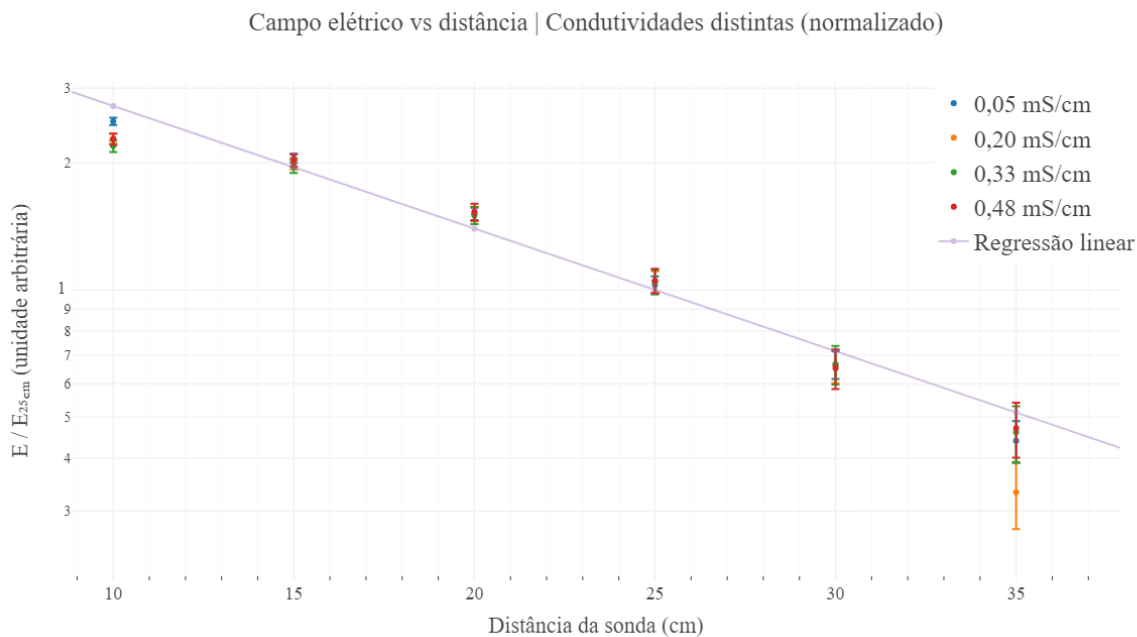


Figura 20 - Valores dos máximos de pico do pulso registrados pelo CH2 normalizados, em escala mono-log, como função da distância entre um peixe de 20 cm e a sonda para valores de condutividade diferentes. Os resultados são mostrados para condutâncias entre 0,05 mS/cm e 0,48 mS/cm. A linha contínua é um ajuste de exponencial aos dados obtidos para condutividade de valor 0,05 mS/cm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Alterar a condutividade da água não muda o valor da constante de decaimento do sinal dos pulsos.

Uma clara consequência de adicionar íons livres à solução, entretanto, foi a diminuição da amplitude inicial dos pulsos. Um modelo elétrico bastante simples do OE consiste em considerá-lo como um gerador ideal com uma força eletromotriz ε , em série com uma resistência interna r_i . (3) Se considerarmos que o valor de V_0 , medido a 10 cm de distância do OE, representa o potencial resultante sobre a resistência equivalente da água que a corrente produzida pelo OE tem que atravessar nestes 10 cm de água, essa resistência da água ficaria em série com o gerador e r_i , representando a carga aplicada ao OE. O valor de $r_{\text{água}}$ seria inversamente proporcional à condutividade ajustada em cada experimento. O gráfico dos dados de V_0 em função da condutividade da água são mostrados na Figura 21, o modelo elétrico simplificado do OE é mostrado no detalhe e a linha contínua azul representa a curva teórica prevista pelo modelo usando a lei de Ohm, ajustada aos dados experimentais. Ressaltamos aqui que o gráfico da figura 21, para simplificar nosso argumento, apresenta valores não convertidos em campo elétrico, ou seja, é o valor de diferença de potencial induzido entre os terminais do CH 2 pós amplificação dos nossos equipamentos.

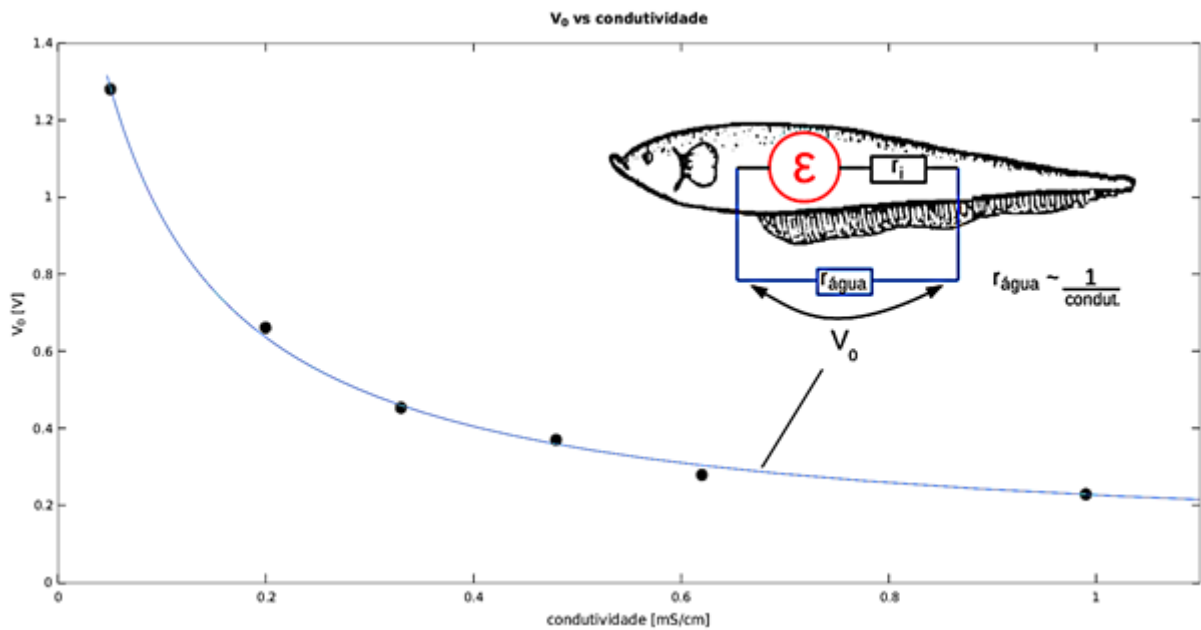


Figura 21 - Amplitude máxima V_0 do pulso medida a 10 cm de distância do peixe em função da condutividade da água em cada experimento. As medidas experimentais estão representadas com círculos pretos. A curva azul ajustada é baseada na lei de Ohm aplicada a um modelo simples (detalhe da figura): o órgão elétrico é considerado como um gerador ideal, com força eletromotriz ϵ , em série com uma resistência interna r_i . V_0 é medido sobre a carga deste gerador, que é a resistência da água e seu valor $r_{\text{água}}$ é inversamente proporcional à condutividade ajustada em cada experimento.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Todos os dados se ajustam muito bem à curva teórica, indicando que a diminuição do valor inicial de pico dos pulsos, quando aumentamos a condutividade da água, é devido ao aumento da carga que a água representa para o OE.

4 Conclusão

4.1 O sinal elétrico de *Gymnotus carapo* decai exponencialmente ao se propagar na água

Gymnotus carapo têm hábitos noturnos e usam o sinal elétrico pulsado como parte de um mecanismo de eletrolocalização ativa, que permite a navegação em locais com pouca ou nenhuma iluminação e dimensões restritas, como tocas e em meio a raízes de plantas.

O decaimento do sinal elétrico dos pulsos de *Gymnotus carapo* em função da distância d ao peixe ocorre de maneira exponencial $e^{-\frac{d}{l_0}}$. O comprimento característico de decaimento l_0 independe do tamanho do animal (entre 10 cm e 25 cm) em um tanque experimental com dimensões reduzidas, compatíveis com os ambientes naturais onde os peixes habitam. O valor obtido para l_0 é de aproximadamente 11 cm, a mesma ordem de grandeza do tamanho típico dos animais e das dimensões características do hábitat. Acreditava-se que a eletrolocalização teria um alcance bem restrito, de uns poucos cm, sendo mais comparável ao sentido de tato que ao de visão. Nosso resultado para $l_0 \sim 11$ cm mostrou que o alcance da eletrolocalização é bem maior, podendo chegar a 1 m em ambientes abertos e água com baixa condutividade, como é o caso nas épocas de chuvas, que coincide com o período de acasalamento.

Do ponto de vista do sistema nervoso, preservar as características de propagação dos sinais emitidos pelo órgão elétrico em diferentes ambientes e ao longo da vida do peixe (de jovem a adulto) pode ser parte de um esquema eficiente de percepção espacial, otimizando o tempo de resposta frente a oportunidades ou perigos, e em contextos sociais, como disputa e acasalamento.

4.2 Implicações para o processamento sensorial no sistema nervoso

Mostramos que a amplitude dos pulsos usados para eletrolocalização decai exponencialmente com a distância. Estes pulsos interagem com o meio, ao longo de sua propagação, produzindo um sinal reafereente que contém informações sobre os objetos ao redor do animal. Este sinal é percebido pelo animal através de eletrorreceptores, que respondem de maneira proporcional à intensidade do campo elétrico incidente. Assim, o estímulo sensorial elétrico codifica a distância a um objeto de modo exponencial. O sistema nervoso processa esses estímulos sensoriais, produzindo as sensações que controlam o comportamento do peixe.

No sistema nervoso de animais superiores, a sensação produzida por um estímulo sensorial é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo (Lei de Weber-Fechner da psicofísica). Neste contexto, a eletrolocalização produz uma sensação proporcional à distância.

Acreditamos que o órgão elétrico desses peixes tenha evoluído de modo a produzir um padrão espaço-temporal capaz de interagir com os objetos próximos, de modo independente do tamanho do animal e do ambiente, permitindo aos animais navegar e se comportar guiados por uma sensação de distância sem paralelos no sistema sensorial humano.

4.3 Importância da estrutura espacial do órgão elétrico

Apesar do uso de dipolos elétricos simples ser bastante comum para simular o sinal elétrico dos peixes, os dipolos não reproduzem as características de propagação dos sinais do órgão elétrico. Mostramos que a propagação do sinal produzido por um peixe, que teve a estrutura espacial de seu órgão elétrico reduzida a um dipolo simples, desvia-se do comportamento observado nos peixes reais do mesmo modo que ocorre com os dipolos artificiais. Além disso também foi observado que o comportamento natural vai sendo reestabelecido à medida em que mais complexidade é introduzida, evidenciando a importância da estrutura não homogênea do órgão elétrico e de sua distribuição espacial para a produção de um sinal espaço-temporal complexo adequado para a eletrolocalização ativa.

4.4 Efeitos da condutividade da água

A condutividade da água não altera as características de decaimento do sinal elétrico ao se propagar na água. Adicionar cargas livres ao meio não altera as propriedades dielétricas da água que produzem o decaimento observado. Entretanto, considerando que a água ao redor representa uma carga resistiva para o órgão elétrico, que por sua vez possui uma resistência interna, mostramos que a condutividade determina a amplitude inicial do pulso produzido pelo órgão elétrico.

Se considerarmos, assim, que o sistema sensorial do animal tem um limiar mínimo de sensibilidade, a partir do qual um estímulo não é percebido, e se a condutividade da água for muito alta, o valor inicial de amplitude do pulso será muito pequeno e o decaimento exponencial do sinal irá reduzir o alcance da eletrolocalização. Esse fato tem implicações importantes no comportamento dos animais. Um exemplo é a época de reprodução ocorrer junto com a chegada das chuvas que, à princípio aumentam a dificuldade de acasalamento, tanto com o aumento do

volume quanto da correnteza dos rios. Por outro lado, a condutividade da água diminui bastante, aumentando o alcance do sentido elétrico e promovendo a eletrocomunicação entre animais de nichos distantes que antes não se percebiam.

REFERENCIAS

- 1 MORGAN, C. E. **Electro-physiology and therapeutics**. New York: Williams Wood and Co., 1868. 714 p.
- 2 MOLLER, P. **Electric fishes: history and behavior**. Netherlands: Springer, 1995. 584 p.
- 3 BULLOCK, T. H. *et al.* **Electroreception**. New York: Springer, 2005. 472 p.
- 4 KEYSER, P. T. The purpose of the parthian galvanic cells: a first-century a. d. electric battery used for analgesia. **Journal of Near Eastern Studies**. v. 52, n. 2, p. 81-98, 1993.
- 5 LORENZINI, S. **Osservazioni intorno alle torpedini**. Florence: Onofri, 1678. 160p.
- 6 GALVANI, L.; WHITTAKER, E. T. **A history of the theories of aether and electricity**, 2nd ed. London: Nelson, 1951. 434 p.
- 7 VOLTA, A. On the electricity excited by the mere contact of conducting substances of different kinds. **Philosophical Transactions of the Royal Society**. v. 90, p. 403-431, 1800.
- 8 FARADAY, M. **Notice of the character and direction of the electric force of the Gymnotus**. London: The Royal Society, 1839.
- 9 HOYLE, G. The scope of Neuroethology. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 7, n. 3, p 367-381, 1984.
- 10 LORENZ, K. **Os fundamentos da etologia**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1995. 466 p.
- 11 EWERT, P. **Neuroethology: an introduction to the neurophysiological fundamentals of behavior**. New York: Springer-Verlag, 1980. 352 p.
- 12 SUGA, N. Principles of auditory information-processing derived from neuroethology. **Journal of Experimental Biology**, v. 146, p. 277-286, 1989.
- 13 BULLOCK, T. H.; BODZNICK, D. A.; NORTHCUTT, R. G. The phylogenetic distribution of electroreception: Evidence for convergent evolution of a primitive vertebrate sense modality. **Brain Research Reviews**, v. 6, n. 1, p 25-46, 1983.
- 14 BULLOCK, T. H. The future of research on electroreception and electrocommunication. **Journal of Experimental Biology**. v. 202, n. 10, p. 1455-1458, 1999.
- 15 BAFFA, O.; CÔRREA, S. L. Magnetic and electric characteristics of the electric fish *Gymnotus carapo*. **Biophysical Journal**, v. 63, n. 2, p. 591-593, 1992.
- 16 STOPA, R. M.; HOSHINO, K. Electrolocation-communication discharges of the fish *Gymnotus carapo* L. (Gymnotidae: Gymnotiformes) during behavioral sleep. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 10, p. 1223-1228, 1999.

- 17 CAPUTI, A.; BUDELLI, R. The electric image in weakly electric fish: I. A data-based model of waveform generation in *Gymnotus carapo*. **Journal of Computational Neuroscience**, v. 2, n. 2, p. 131-147, 1995.
- 18 VON DER EMDE, G. Active electrolocation of objects in weakly electric fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 202, n. 10, p. 1205-1215, 1999.
- 19 MOORTGAT, K. T.; KELLER, C. H.; BULLOCK, T. H.; SEJNOWSKI, T. J. Submicrosecond pacemaker precision is behaviorally modulated: the gymnotiform electromotor pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, p. 4684-4689, 1998.
- 20 WESTBY, G. M. Further analysis of the individual discharge characteristics predicting social dominance in the electric fish. **Animal Behaviour**, v. 23, n. 2, p. 249-260, 1975.
- 21 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, e84885, 2014.
- 22 MATIAS, P.; SLAETS, J. F.; PINTO, R. D. Individual discrimination of freely swimming pulse-type electric fish from electrode array recordings. **Neurocomputing**, v. 153, p. 191-198, 2015.
- 23 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 contest, **Journal of Physiology**, v. 110, p. 216-223, 2016.
- 24 BULLOCK, T. H.; HAMSTRA, R. J.R.; SCHEICH, H. The jamming avoidance response of high frequency electric fish. **Journal of Comparative Physiology**, v. 77, n. 1, p. 1-22, 1972.
- 25 HEILIGENBERG, W. Electrolocation and jamming avoidance in the electric fish *Gymnarchus niloticus* (Gymnarchidae, Mormyriiformes). **Journal of Comparative Physiology A**, v. 103, n. 1, p. 55-67, 1975.
- 26 CAPURRO, A.; PAKDAMAN, K.; PERRONE, R.; MACADAR, O. Analysis of the jamming avoidance response in the electric fish *Gymnotus carapo*. **Biological Cybernetics**, v. 80, p. 269-283, 1999.
- 27 CAPURRO, A.; MACADAR, O.; PERRONE, R.; PAKDAMAN, K. Computational model of the jamming avoidance response in the electric fish *Gymnotus carapo*. **BioSystems**, v. 48, p. 21-27, 1998.
- 28 CAPUTI, A. A.; AGUILERA, P.A.; CASTELLÓ, M. E. Probability and amplitude of novelty responses as a function of the change in contrast of the reafferent image in *G. Carapo*. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 999-1010, 2002.

- 29 SCHWERTNER FILHO, G. **Sensoriamento ambiental com gymnotiformes (pisces)**. 2010. 114 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2010.
- 30 CASTRO, M. A. **Fatores estruturantes e possíveis espécies indicadoras da assembleia de peixes de riachos afluentes do reservatório de Três Marias, MG**. 2012. 111 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- 31 FERRI, G. H. **Avaliação do potencial de *Gymnotus carapo* (Teleostei: Gymnotidae) como bioindicador no monitoramento do Masoten®**. 2019. 77 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP, 2019.
- 32 DAVIS, E. A.; HOPKINS, C. D. Behavioural analysis of electric signal localization in the electric fish, *Gymnotus carapo* (Gymnotiformes). **Animal Behaviour**. v. 36, p. 1658-1671, 1988.
- 33 KELLY, M.; BABINEAU, D.; LONGTIN, A.; LEWIS, J.E. Electric field interactions in pairs of electric fish: modeling and mimicking naturalistic inputs. **Biological Cybernetics**. v. 98, n. 6, p. 479-490, 2008.
- 34 AMMARI, H.; BOULIER, T.; GARNIER, J.; WANG, H. Mathematical modelling of the electric sense of fish: the role of multi-frequency measurements and movement. **Bioinspiration & Biomimetics**. v. 12, n. 2, p. 025002, 2017.
- 35 WADDELL, J. C.; CAPUTI, A. A. Electrocommunication in pulse Gymnotiformes: the role of electric organ discharge (EOD) time course in species identification. **Journal of Experimental Biology**, v. 223, n. 16, jeb226340, 2020.
- 36 STEBBINS, W. C. Principles of Animal Psychophysics. *In*: STEBBINS, W. C. **Animal psychophysics: the design and conduct of sensory experiments**. Boston: Springer, 1970. p. 1-19.
- 37 STEVENS, S. S. **Psychophysics: introduction to its perceptual, neural, and social prospects**. New York: Wiley, 1975. 329 p.
- 38 MALONE, J. Animal psychophysics: The study of sensation in nonverbal organisms. *In*: CALL, J. *et al.* **APA handbook of comparative psychology: perception, learning, and cognition**. Massachusetts: American Psychological Association, 2017, p. 3-24.
- 39 BELL C.C.; BRADBURY J.; RUSSELL C.J. Electric organ of a mormyrid as a current and voltage source. **Journal of Comparative Physiology**, v. 110, p. 66-88, 1976.
- 40 BAFFA, O.; CÔRREA, S. L. Magnetic and electric characteristics of the electric fish *Gymnotus carapo*. **Biophysical Journal**, v. 63, n. 2, p. 591-593, 1992.
- 41 CAPUTI, A. A. The electric organ discharge of pulse gymnotiforms: the transformation of a simple impulse into a complex spatio-temporal electromotor pattern. **Journal of Experimental Biology**, v. 202, n. 10, p. 1229-1241, 1999.

42 HEILIGENBERG, W. Principles of electrolocation and jamming avoidance studies of brain function. *In*: HEILIGENBERG, W, **The mechanism of electrolocation**. Berlin: Springer-Verlag, 1977. v. 1, p. 12-76.

43 CASTELLÓ, M. E.; AGUILERA, P.A.; TRUJILLO-CENÓZ, O.; CAPUTI, A. A. Electroreception in *Gymnotus carapo*: pre-receptor processing and the distribution of electroreceptor types. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, n. 21, p. 3279-3287, 2000.

44 BOER, R.; KUYPER, P. Triggered correlation. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 15, n. 3, p. 169-179, 1968.

45 CAPUTI, A. A.; CASTELLÓ, M.E.; AGUILERA, P.; TRUJILLO-CENÓZ, O. Electrolocation and electrocommunication in pulse gymnotiforms: signal carriers, pre-receptor mechanisms and the electrosensory mosaic. **Journal of Physiology Paris**, v. 96, n. 5-6, p. 493-505, 2002.

46 KNUDSEN, E. Behavioral thresholds to electric signals in high frequency electric fish. **Journal of Comparative Physiology**, v. 91, p. 333-353, 1974.

47 MCKIBBEN, J. R.; HOPKINS, C. D.; YAGER, D. D. Directional sensitivity of tuberous electroreceptors: polarity preferences and frequency tuning. **Journal of Comparative Physiology**, v. 173, p. 415-424, 1993.

48 LISSMANN H. W. On the function and evolution of electric organs in fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 35, n. 1, p. 156-191, 1958.

49 BULLOCK T. H.; CHICHIBU S. Further analysis of sensory coding in electroreceptors of electric fish. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 54, n. 2, p. 422-429, 1965.

50 GRANATH, L. P.; ERSKINE, F. T.; MACCABEE, B. S.; HOWARD, G. S. Electric field measurements on a weakly electric fish. **Biophysik**, v. 4, p. 370-372, 1968.

51 HEILIGENBERG, W. Electrolocation of objects in the electric fish *Eigenmannia* (Rhamphichthyidae, Gymnotoidei). **Journal of Comparative Physiology**, v. 87, p. 137-164, 1973.

52 HOSHIMIYA, N.; SHOGEN, K.; MATSUO T.; CHICHIBU S. The *Apteronotus* EOD field: Waveform and EOD field simulation. **Journal of Comparative Physiology**, v. 135, p. 283-290, 1980.

53 RASNOW, B.; BOWER, J. M. The electric organ discharges of the gymnotiform fishes: I. *Apteronotus leptorhynchus*. **Journal of Comparative Physiology**, v. 178, p. 383-396, 1996.

54 KNUDSEN, E. I. Spatial aspects of the electric fields generated by weakly electric fish. **Journal of Comparative Physiology**, v. 99, p. 103-118, 1975.

55 PEREIRA, A. C. **Alcance espacial y efectos de contexto en el sentido eléctrico activo de *Gymnotus omari***. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) - UDELAR, Montevideo, Uruguai, 2009.

56 ROSENFELD, L. **Theory of electrons**. New York: Dover,1966.

APÊNDICE A - Características típicas da EOD em um *Gymnotus carapo*

Na figura **A1** apresentamos um trecho de uma série temporal típica do sinal elétrico medido com eletrodos colocados alinhados com o corpo do peixe, conforme mostrado na Figura **1B**. Os dados foram obtidos usando um ganho de 100X, com o filtro “NOTCH” e os filtros passa banda do amplificador desligados. Foi utilizada a taxa de aquisição mais alta possível (500 Ksamples/s). Na Figura **A-1a** são apresentados 3 pulsos do OE e na Figura **A-1b** apresentamos um pulso típico em detalhe.

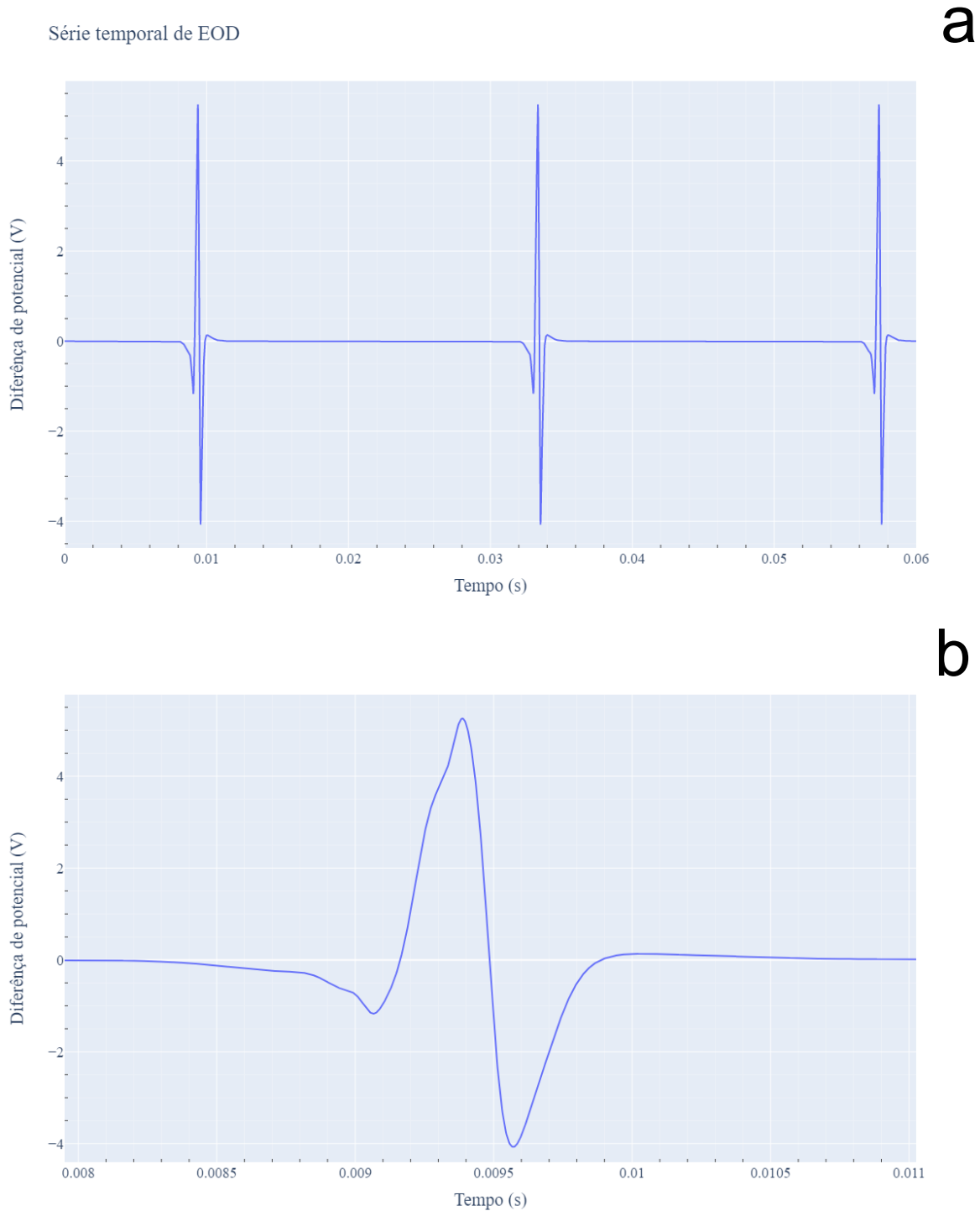


Figura A-1 - Série temporal de EODs. **a**: Exemplo de um trecho de uma série temporal obtida com os eletrodos alinhados ao corpo do peixe: o eletrodo positivo posicionado logo após a cabeça e o negativo logo após a ponta da cauda, com todos os filtros do amplificador desligados. **b**: Uma EDO em detalhe.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Espectros de potência com filtros diferentes

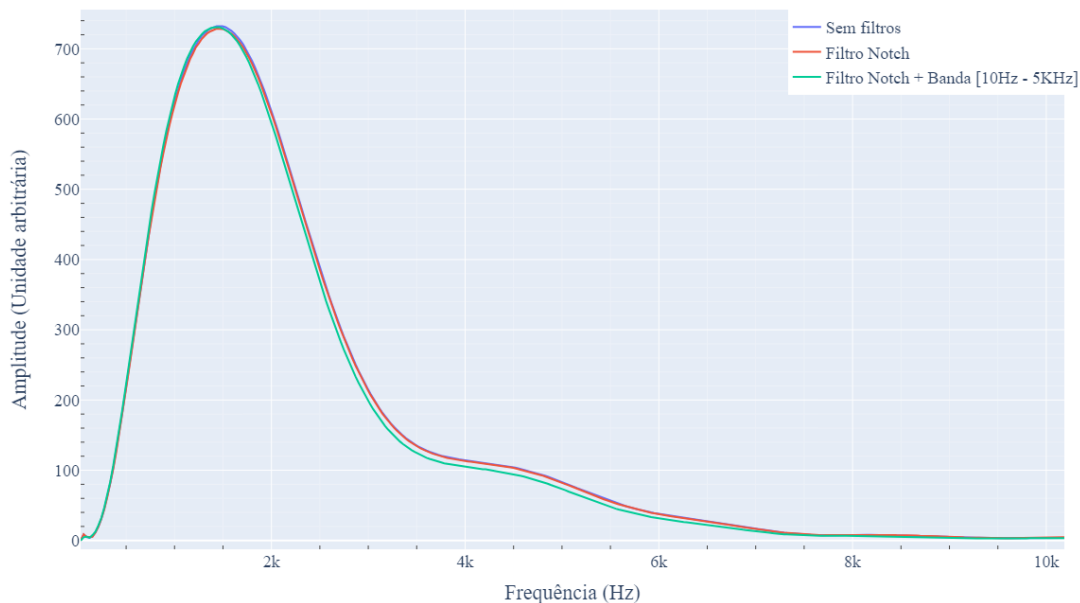


Figura A-2 - Espectros de potência para a EOD de um peixe gravado com e sem a ativação de filtros de ruído. Está presente neste gráfico três conjuntos de dados. Nenhum filtro ativado (azul). Somente o filtro de 60Hz tipo NOTCH (vermelho). Filtros NOTCH e passa-banda limitada entre 10Hz e 5KHz ativados (verde).
Fonte: Elaborada pelo autor.

Na Figura **A-2** apresentamos os espectros de potência obtidos para este pulso e também para os pulsos em séries temporais onde utilizamos o filtro NOTCH (60 Hz) e o filtro passa banda entre 10HZ e 5KHz.

Observamos que o acionamento dos filtros *NOTCH* e passa-banda entre 10 Hz e 5 KHz não altera significativamente o perfil do espectro de potência da EOD, ou seja, o acionamento destes filtros não altera o formato da EOD original do peixe.

Para verificar a presença de ruído intrínseco nos dados adquiridos, retiramos o peixe do aquário e acionamos a aquisição de dados nas mesmas condições (sem os filtros) para gravar uma série e calcular o espectro de potência de um trecho de mesmo tamanho. O espectro obtido para o ruído (não mostrado aqui) apresenta picos com pequena amplitude em torno de 60Hz e acima de 8Khz. Como estas frequências estão fora do espectro típico de uma EOD, decidimos obter todos os nossos dados utilizando o filtro eliminador de 60 Hz tipo *NOTCH* e limitando a banda de frequências do amplificador entre 10Hz e 5Khz.

Na figura **A2** também podemos observar a frequência característica típica da EOD, que corresponde ao pico de amplitude em $f \sim 1450$ Hz. Podemos utilizar esta frequência para calcular qual seria o comprimento de onda associado à uma suposta onda eletromagnética que transportasse os campos elétricos da EOD pelo espaço dentro da água. Para isto, partimos da

equação que associa a velocidade de propagação v , o comprimento da onda λ com a frequência f :

$$v = \lambda \cdot f$$

Como a velocidade de propagação do campo elétrico na água é dada por

$$v = c/n,$$

onde c é a velocidade da luz no vácuo e n é o índice de refração da água ($n=1,33$), temos:

$$\lambda = c/(n \cdot f) = 300.000.000 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} / (1,33 \times 1450 \text{ s}^{-1}) \approx 156 \text{ km}.$$

O comprimento de onda característico é 5 ordens de grandeza superior às dimensões envolvidas em nossos experimentos e experimentadas pelos animais em seu comportamento normal ($d \sim 0,5\text{m}$). Dessa forma nenhum efeito de onda pode ser percebido e tudo se passa como se o campo elétrico chegasse instantaneamente em toda a região que contém o peixe emissor. Podemos assim, considerar o caso eletrostático.