

## Respostas comportamentais de peixes expostos à hipoxantina-3-n-óxido e perspectivas de aplicabilidade no setor hidrelétrico

A recepção olfativa de sinais químicos em habitats aquáticos pode aumentar a sobrevivência dos peixes, permitindo que os indivíduos evitem situações de riscos. As substâncias de alarme, extraídas após danos às células epidérmicas de peixes, é um dos sinais mais eficientes no grupo Ostariophysi (72% das espécies de água doce). A hipoxantina-3-N-óxido (H3NO) é indicada como um dos possíveis componentes ativos das substâncias de alarme que causam alterações comportamentais. A possibilidade de confinamento da ictiofauna no tubo de sucção em usinas hidrelétricas, durante manutenções preventivas das unidades geradoras, demanda estratégias eficazes para proteção da ictiofauna. Nesta perspectiva, foi analisada a potencialidade da hipoxantina-3-N-óxido como método de dissuasão da ictiofauna. Ensaio em aquários (100 L) instrumentalizados com sistemas de introdução de amostra e de aquisição de imagens remotamente foram desenvolvidos com diferentes concentrações de hipoxantina-3-N-óxido (1,5 a 6,0 µg L<sup>-1</sup>) e espécies (n=30) de Matrinxã (Brycon cephalus) e Tambaqui (Colossoma macropomum). Os resultados indicaram nas concentrações de H3NO de 3,0 e 6,0 µg L<sup>-1</sup> alterações comportamentais incomuns como letargia, forrageio para o fundo dos aquários e ataques entre os peixes, inferindo potencialidade da hipoxantina-3-N-óxido na indução de sinais de alarme como candidata para desenvolvimento de métodos de proteção da ictiofauna aplicados ao setor hidrelétrico.

**Palavras-chave:** Células epidérmicas; Proteção da ictiofauna; Resposta repulsiva; Substâncias de alarme.

## Behavioral responses of fish exposed to hypoxanthine-3-n-oxide and perspectives for applicability in the hydroelectric sector

The olfactory reception of chemical signals in aquatic habitats can increase fish survival, allowing individuals to avoid risky situations. The alarm substances, extracted after damage to the epidermal cells of fish, is one of the most efficient signals in the Ostariophysi group (72% of freshwater species). Hypoxanthine-3-N-oxide (H3NO) is indicated as one of the possible active components of alarm substances that cause behavioral changes. The possibility of confining the ichthyofauna in the suction tube in hydroelectric plants, during preventive maintenance of the generating units, demands effective strategies to protect the ichthyofauna. In this perspective, the potential of hypoxanthine-3-N-oxide as a method of deterring ichthyofauna was analyzed. Assays in aquariums (100 L) instrumented with sample introduction and image acquisition systems remotely were developed with different concentrations of hypoxanthine-3-N-oxide (1.5 to 6.0 µg L<sup>-1</sup>) and species (n=30) of Matrinxã (Brycon cephalus) and Tambaqui (Colossoma macropomum). The results indicated, at H3NO concentrations of 3.0 and 6.0 µg L<sup>-1</sup>, unusual behavioral changes such as lethargy, foraging for the bottom of aquariums and attacks among fish, inferring the potential of hypoxanthine-3-N-oxide in inducing alarm signals as a candidate for the development of ichthyofauna protection methods applied to the hydroelectric sector.


**Keywords:** Epidermal cells; Protection of the ichthyofauna; Repulsive response; Alarm substances.

Topic: **Desenvolvimento, Sustentabilidade e Meio Ambiente**


Reviewed anonymously in the process of blind peer.


Received: **16/10/2022**


Approved: **27/10/2022**

**Wllyane Silva Figueiredo**   
Universidade de Brasília, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/5474933764398587>  
<http://orcid.org/0000-0002-5311-1279>  
[willyane@gmail.com](mailto:willyane@gmail.com)

**Tania Machado da Silva**   
Universidade de Brasília, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/3803828856011519>  
<http://orcid.org/0000-0002-4144-4949>  
[taniamachado91@gmail.com](mailto:taniamachado91@gmail.com)

**Edilene Cristina Pereira Sargentini**   
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/7141191458909290>  
<http://orcid.org/0000-0002-3965-0081>  
[sargentinedilene@gmail.com](mailto:sargentinedilene@gmail.com)

**Marcos Alexandre Bolson**   
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/9257604085010313>  
<http://orcid.org/0000-0002-3491-4463>  
[mabolson@gmail.com](mailto:mabolson@gmail.com)

**Ézio Sargentini Júnior**   
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/7206359564567605>  
<http://orcid.org/0000-0002-7434-0484>  
[eziosargentini@gmail.com](mailto:eziosargentini@gmail.com)



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2022.010.0019

### Referencing this:

FIGUEIREDO, W. S.; SILVA, T. M.; SARGENTINI, E. C. P.; BOLSON, M. A.; SARGENTINI JUNIOR, É.. Respostas comportamentais de peixes expostos à hipoxantina-3-n-óxido e perspectivas de aplicabilidade no setor hidrelétrico. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, v.13, n.10, p.248-257, 2022. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2022.010.0019>

## INTRODUÇÃO

A comunicação química na ictiofauna pode ser intencional quando fêmeas estimulam os machos para reprodução liberando feromônios na água ou acidental quando lesões na pele de peixes liberam substâncias que provocam comportamentos de alerta ou fuga em outros peixes (VOLPATO et al., 2006). Estudos histológicos demonstraram que essas substâncias estão armazenadas em células especializadas “club”, as quais estão localizadas nas camadas médias e inferiores da epiderme, sem acesso direto pelos poros (PFEIFFER, 1977). Tais substâncias foram inicialmente denominadas por Frisch (1938) como “Schreckstoff”, em alemão. Atualmente essa substância também é conhecida como “Scary stuff” em inglês, e “Substância do medo” ou “Substância de alarme”, em português (VOLPATO et al., 2006).

A composição das substâncias de alarme ainda está sendo estudada pela ciência, contudo estudos sugerem a presença da hipoxantina-3-N-óxido (PFEIFFER et al., 1985; BROWN et al., 2000; PARRA et al., 2009). Os principais comportamentos decorrentes da exposição do peixe a essa substância são busca por abrigo, formação de cardumes, natação rápida e imobilidade (BROWN et al., 2000).

A capacidade de um indivíduo detectar e responder à substância de alarme e/ou à hipoxantina-3-N-óxido, aumenta a probabilidade de evitar a predação, sendo um importante fator no processo evolutivo (VOLPATO et al., 2006). A adaptação de metodologias eficazes no comportamento anti-predador de peixes com uso da hipoxantina-3-N-óxido pode ser promissora na proteção da ictiofauna. Embora a maioria dos estudos com tais substâncias se restrinjam a algumas espécies e tenham sido analisadas em laboratório, existem alguns estudos com conclusões muito similares em ambiente natural (PARRA et al., 2009).

Em usinas hidrelétricas muitas espécies de peixes, sobretudo as migradoras, concentram-se em suas proximidades. Ocasionalmente, as unidades geradoras demandam revisões técnicas e/ou manutenções, onde a vazão turbinada é reduzida a zero, e os peixes presentes no canal de fuga podem entrar no tubo de sucção, na caixa espiral ou no poço de esgotamento. Essa situação demanda procedimentos complexos, devido às questões de segurança dos trabalhadores que adentram nas áreas de risco e ao tempo de confinamento até o resgate eficiente dos peixes (CEMIG, 2016).

Novas regras de operação e soluções construtivas como as barreiras físicas (telas e grades), sistemas de transposição de peixes (STP), escadas, elevadores, eclusas e caminhões tanque são alguns dos métodos usualmente empregados em diversas usinas hidrelétricas, entretanto, é de grande interesse o desenvolvimento de barreiras que utilizem estímulos comportamentais que sejam mais eficientes, simplificadas e que não influenciem no fluxo de água das unidades geradoras (CEMIG, 2016).

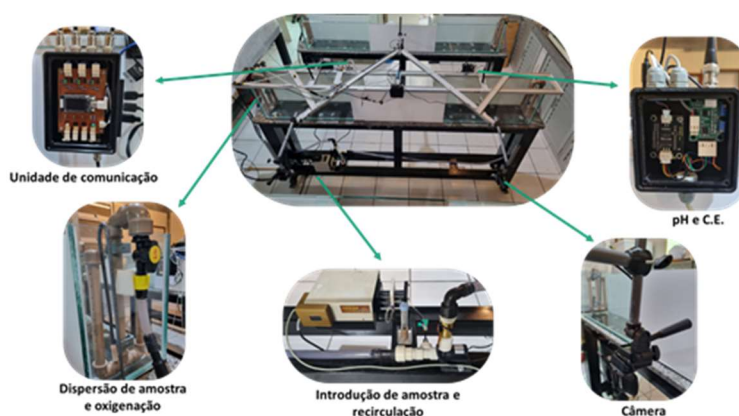
A hipoxantina-3-N-óxido é uma candidata promissora na repulsão de peixes, e alguns estudos indicam mudanças comportamentais de peixes expostos a ela em ensaios laboratoriais (PFEIFFER et al., 1985; BROWN et al., 2000; BROWN et al., 2001; CHIVERS et al., 2007). Além disso, a hipoxantina é facilmente adquirida e manuseada, além de não ser um método perigoso ou invasivo aos peixes (PARRA et al., 2009). Neste estudo foi avaliada em ambiente controlado a potencialidade da hipoxantina-3-N-óxido, como substância de dissuasão da ictiofauna, analisando alterações comportamentais das espécies Matrinxã

(*Brycon cephalus*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*).

## METODOLOGIA

### Aquários instrumentalizados para análises comportamentais de peixes

Para avaliar o efeito da hipoxantina-3-N-óxido no comportamento da ictiofauna foram utilizados 03 aquários (100 L) com as dimensões 20x30x200 cm (LxAxC), equipados com sistemas de circulação de água, oxigenação, injeção e dispersão de amostra líquida. O sistema de captura de imagens foi desenvolvido com 3 câmeras *Full HD*, com resolução de 1080p/30fps, dispostas num perfil móvel de alumínio em formato “V”, sendo a câmera central oposta às câmeras das extremidades evitando sobreposição de imagem (**Figura 1**). Um software específico detecta e registra a posição dos espécimes ao longo do aquário, bem como controla a introdução da hipoxantina-3-N-óxido. O software utiliza linguagem computacional *C# (C Sharp)* e as funcionalidades da biblioteca *open source* de visão computacional *OpenCvSharp*.



**Figura 1:** Detalhes dos acessórios e componentes do aquário instrumentalizado utilizado nos ensaios para avaliação do comportamento da ictiofauna sobre o efeito da hipoxantina-3-N-óxido.

### Síntese da hipoxantina-3-N-óxido

A síntese da hipoxantina-3-N-óxido ( $H_3NO$ ) partindo da hipoxantina adquirida comercialmente (CAYM-22254) foi feita com a adição de peróxido de hidrogênio e ácido acético, sendo o tempo de reação de 17 dias (KAWASHIMA et al., 1969). A síntese da hipoxantina-3-N-óxido foi confirmada por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC, seguindo a metodologia de Kawashima et al. (1969). Para os experimentos desenvolvidos no aquário instrumentalizado a hipoxantina-3-N-óxido foi previamente diluída com água destilada (50°C) em banho de ultrassom.

### Protocolo experimental

As espécies juvenis Matrinxã (*Brycon cephalus*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*) foram adquiridas comercialmente e mantidas em tanque de aclimação (5.000 L) por 60 dias à temperatura média de  $26 \pm 1$  °C, sendo alimentados com ração comercial e expostos ao fotoperíodo natural de 12/12 horas. Os estudos de Brown et al. (2000) e Parra et al. (2009) apontaram a ineficácia dos efeitos de alarme da hipoxantina-3-N-óxido em ambientes ácidos, isso deve-se a uma ligação covalente no  $H_3NO$ , resultando na

perda do grupo funcional N-óxido. Contudo, o  $H_3NO$  é estável em solução aquosa sob condições neutras ou ligeiramente alcalinas (pH entre 7 e 8). Dessa forma, antes do desenvolvimento de cada experimento o pH das águas dos aquários foram ajustados, adicionando carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ). Para execução dos ensaios foram selecionados aleatoriamente e transferidos 30 indivíduos do tanque de aclimação para os aquários instrumentalizados com 18 horas de antecedência, sendo mantidos em jejum. Previamente, os aquários receberam 20% (v/v) da água do tanque de aclimação, minimizando alterações significativas nos parâmetros físico-químicos da água, e por conseguinte, mudanças de comportamento e/ou enfermidades nos peixes. Na primeira etapa dos ensaios foi interrompida a oxigenação do sistema e o fluxo de água, sendo adquiridas as imagens do comportamento dos peixes por 20 minutos. Na sequência (segunda etapa), foi injetada a hipoxantina-3-N-óxido (2 min) e adquiridas as imagens do comportamento dos peixes por 20 minutos. Estudos prévios com corante nessas condições, mostraram a dispersão em 2/3 do aquário no tempo de 20 min.

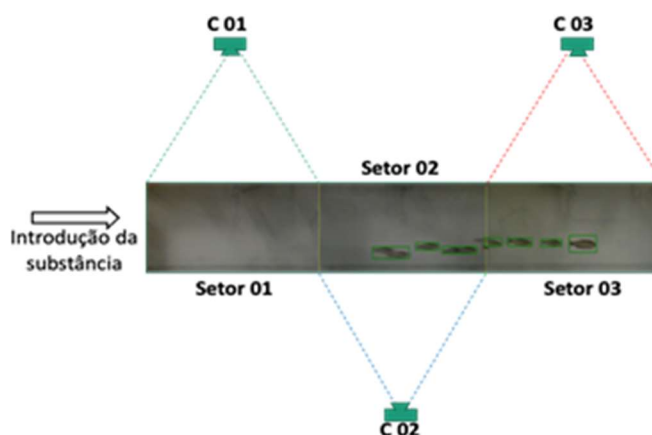
### Padrões comportamentais

Para avaliar a potencialidade da hipoxantina-3-N-óxido foi elaborado um etograma a partir dos estudos de Frisch (1938), Brown et al. (2001) e Lawrence et al. (1989), apresentado na **Tabela 1**. Os ensaios foram feitos em grupos, sendo os resultados expressos em número de ocorrências pelo método de observação, manualmente.

**Tabela 1:** Etograma e descrição dos comportamentos associados aos efeitos das substâncias alarme.

Comportamento	Sigla	Descrição
Agrupamento	A	Formação de grupo com 3 ou mais peixes.
Natação rápida	NR	Movimentação excitada do peixe, com movimentos acentuados das nadadeiras.
Imobilidade	I	Cessação completa do movimento por períodos superiores a 30 segundos.

Para avaliação do padrão de movimentação dos espécimes, os aquários foram classificados em 3 setores, coincidindo com as visadas das câmeras (**Figura 2**).



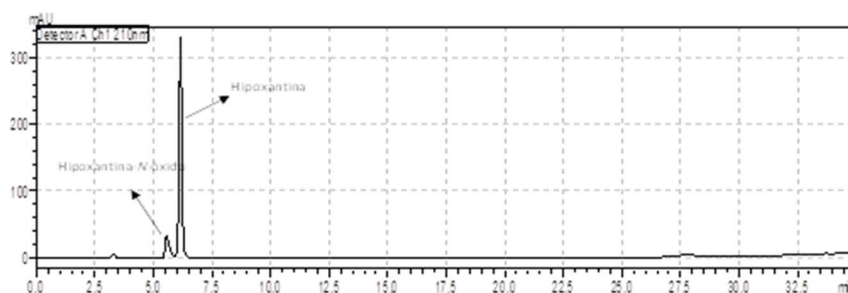
**Figura 2:** Distribuição dos setores e disposição das câmeras ao longo dos aquários instrumentalizados utilizados nos ensaios para avaliação do comportamento da ictiofauna sobre o efeito da hipoxantina-3-N-óxido.

## Análises estatísticas

Os resultados dos ensaios foram classificados com a presença ou ausência da hipoxantina-3-*N*-óxido considerando os comportamentos descritos no etograma (imobilidade, natação rápida e agrupamento) e distribuição dos espécimes nos 3 setores dos aquários. Inicialmente os dados foram submetidos ao teste *Shapiro-Wilk*, sendo o valor  $\alpha$  adotado para o nível de significância de 0,05 (5%). Quando os dados não apresentam significância na normalidade ( $p > 0,05$ ) foi aplicada a análise de variância (ANOVA/MANOVA) e para significância na normalidade ( $p < 0,05$ ) aplicada a análise de variância multivariada *Kruskal-Wallis*, que compara duas ou mais populações contínuas e independentes (LOPES et al., 2010).

## RESULTADOS

A hipoxantina adquirida comercialmente (CAYM-22254) possui uma estrutura molecular distinta da hipoxantina-3-*N*-óxido ( $H_3NO$ ), encontrada nas substâncias de alarme extraídas das peles de peixes. A hipoxantina-3-*N*-óxido é uma molécula pequena derivada de purina oxidado na posição 3, conforme descrito por Brown et al. (2000). A síntese da hipoxantina-3-*N*-óxido foi confirmada utilizando análise cromatográfica, seguindo a metodologia de Kawashima et al. (1969). O cromatograma com absorção ultravioleta de sensibilidade de 210 nm apresentou o padrão de hipoxantina com pico 6,0 e 6,5 minutos e a hipoxantina-3-*N*-óxido entre 5,5 e 6,0 minutos (**Figura 3**), com curva de calibração com acurácia de 99,6%.

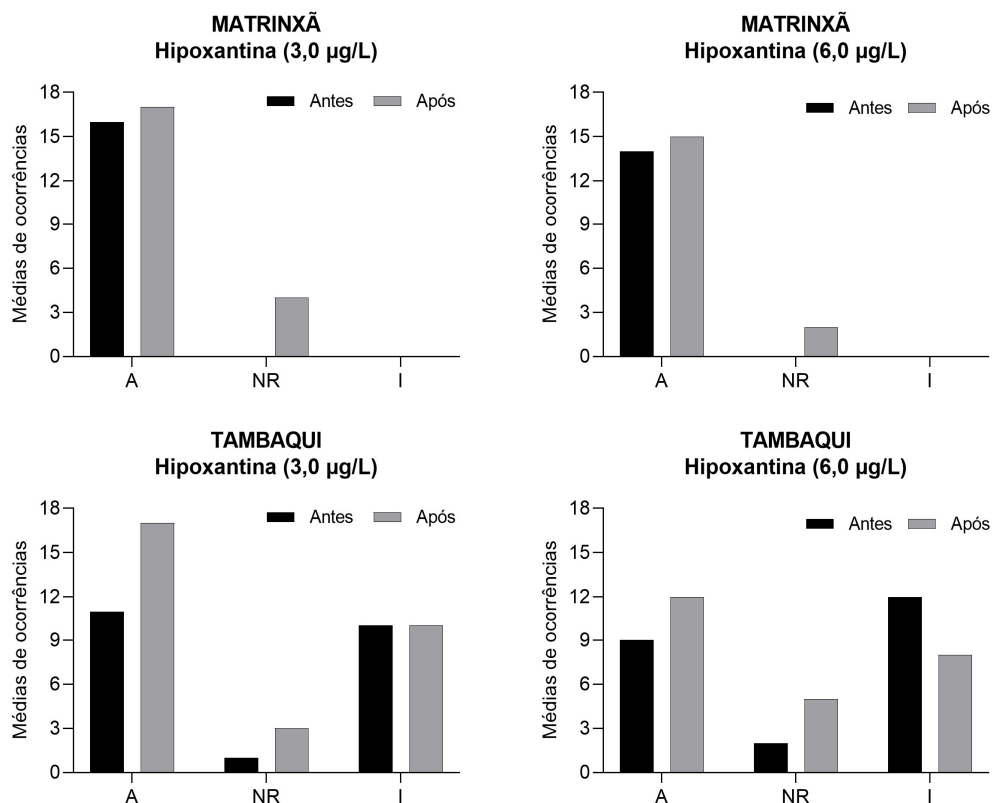


**Figura 3:** Cromatograma de hipoxantina e hipoxantina-*N*-óxido utilizando HPLC, com absorção ultravioleta com sensibilidade de 210 nm.

Foram feitos 18 ensaios com as espécies Matrinxã (*Brycon cephalus*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*), totalizando 12 horas de filmagens. As análises de variâncias não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para todos os comportamentos em ambas as espécies. Os ensaios com aplicação de  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de hipoxantina-3-*N*-óxido, além de apresentarem  $p > 0,05$  nas análises, não exibiram nenhum outro comportamento que comprove sua eficácia, tanto para o Matrinxã quanto para o Tambaqui. Todavia, para ambas as espécies, houve maior ocorrência de agrupamento e natação rápida após aplicação da hipoxantina-3-*N*-óxido nas concentrações 3,0 e  $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$  (**Figura 4**).

Alguns comportamentos incomuns foram observados como a natação lenta para as duas espécies. A busca por abrigo também ocorreu, quando os indivíduos tentavam forrageio para o fundo dos aquários. Para a espécie Matrinxã ocorreu em 3 situações na concentração  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $H_3NO$  e 1 vez no teor de  $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ; para a espécie Tambaqui foram 13 vezes na concentração  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e 36 vezes no teor de  $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . No experimento com  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $H_3NO$  também foi observado 1 episódio de ataque entre os peixes da espécie

Matrinxã e 2 episódios para a espécie Tambaqui.



**Figura 4:** Médias de ocorrências dos comportamentos antes (preto) e após (cinza) aplicação da hipoxantina-3-N-óxido, nas concentrações 3,0 e 6,0 µg L<sup>-1</sup>, para as espécies Matrinxã e Tambaqui. A – Agrupamento; NR – Natação rápida; I – Imobilidade.

Quanto à distribuição nos setores dos aquários, tanto para o Matrinxã quanto para o Tambaqui não foram encontrados padrões de distribuição antes e após a aplicação H<sub>3</sub>NO (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Entretanto, a aproximação seguida por evasão de espécimes na área mais próxima de aplicação do H<sub>3</sub>NO foi visualizada cerca de 10 vezes para o Matrinxã e 12 vezes para o Tambaqui.

## DISCUSSÃO

Os comportamentos animais são muito complexos, sendo que mínimas mudanças nos padrões de comportamento mesmo que não identificadas nos testes estatísticos, podem indicar algum grau de resposta à hipoxantina-3-N-óxido. O arranjo experimental foi executado com grupos de 10 peixes, o que apesar de avaliar um comportamento de alarme importante como a aglomeração, pode ter tendenciado os peixes a repetir comportamentos de um líder escolhido pelo grupo (LAWRENCE et al., 1989).

As respostas comportamentais identificadas neste estudo não diferiram daquelas eliciadas pelo extrato de pele intraespecífico. Foi identificada natação rápida seguida de imobilidade na espécie Matrinxã (*Brycon cephalus*) na concentração de 0,9 µg L<sup>-1</sup> (IDE et al., 2003). Com uso de metodologia similar aos autores anteriores, comprovou-se a percepção ao extrato de pele e o aumento da atividade natatória foi o comportamento mais acentuado no Lambari (*Astyanax bimaculatus*), espécie muito comum no Brasil (GOULART, 2010). Sabe-se que o extrato de pele de *Notropis cornutus*, espécie da América do Norte,

aumentou o agrupamento e a busca por abrigo em intraespecíficos (HECZKO et al., 1981).

O Matrinxã e o Tambaqui, semelhantes a outras espécies pertencentes ao grupo Ostariophysi, tendem a formar cardumes em situações de risco (PARRA et al., 2009). O agrupamento permite o forrageio, aumentando a percepção de predadores e, conseqüentemente, diminui as oportunidades dos indivíduos serem predados por estarem muito coesos (GOULART, 2010). A natação rápida, comportamento recorrente em ambas as espécies, pode ser interpretada como uma conduta comum no ambiente natural quando peixes se sentem ameaçados por alguma situação (PARRA et al., 2009).

A imobilidade foi observada apenas para a espécie Tambaqui, por ser um comportamento característico dessa espécie no ambiente natural. Ela é uma estratégia antipredação muito comum, pois dificulta a visualização do peixe pelo predador. Indivíduos mais ativos são facilmente detectados por predadores não somente pelo sentido da visão, mas também por estímulos na linha lateral, a qual abriga órgãos sensoriais muito sensíveis às mudanças de temperatura, pressão e correntes de água (KRAUSE et al., 1995). Ambas as espécies estudadas apresentaram comportamentos incomuns, como a natação lenta, que consiste num movimento de cerca de  $0,5 \text{ cm s}^{-1}$ , para tanto, a barbatana caudal do peixe fica imóvel. Este é um comportamento que muitas espécies exibem em situações de elevado estresse (PARRA et al., 2009).

O comportamento de forrageio para o fundo, também ocorreu nos ensaios, e se deu quando os peixes se posicionavam em ângulo, estando com a cabeça voltada para o fundo e a cauda para cima, enquanto mordiscavam a base do aquário (GOULART, 2010). É importante ressaltar, que os aquários foram montados sob uma estrutura de granito escuro podendo ter dado a falsa impressão para os peixes de que os aquários eram mais profundos e que o ambiente escuro representasse uma possibilidade de abrigo. Com o peixe zebra e o lambari também foram observados o forrageio em direção ao fundo dos aquários (LEVIN et al., 2007; GOULART, 2010). Assim como o Tambaqui, espécie com mais episódios neste estudo, esses peixes habitam riachos e lagos com águas mais lânticas. O fundo destes ambientes geralmente possui muitos sedimentos e vegetação. O aumento da natação e o forrageio para o fundo pode mobilizar esses materiais e, por conseguinte, camuflar os peixes, consistindo como um comportamento antipredatório (GOULART, 2010).

O comportamento “ataque” se deu quando um ou mais peixes realizavam agressão ou eram vitimados, seguido ou não de uma curta perseguição. Goulart (2010) também observou que os peixes exibiram esse comportamento, característico de medo e ansiedade, após estarem na presença de predadores. Todas essas evidências de comportamentos incomuns amparam a premissa de que a hipoxantina-3-N-óxido, nas concentrações 3,0 e 6,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , evidenciaram algumas respostas de alarme nas espécies Matrinxã e Tambaqui.

Em contrapartida, o peixe zebra, no estudo de Parra et al. (2009), teve outras reações pouco frequentes, como natação desordenada, no formato “zigue-zague”. Nos trabalhos de Frisch (1938) e Pfeiffer (1977) ocorreram contrações em seus peixes, os quais consistem em movimentos estereotipados e curtos do peixe na posição horizontal. O fato do presente estudo não ter identificado esses comportamentos de alarme nas espécies Matrinxã e Tambaqui, os quais pertencem a mesma superordem (Ostariophysi) das espécies dos estudos citados, não invalida a eficácia da hipoxantina-3-N-óxido como método de alarme, mas

reforçam a afirmação de que comportamentos incomuns também podem ser reflexo da eficácia do H<sub>3</sub>NO e que não existe um padrão geral de comportamentos para todas as espécies de peixes (VOLPATO et al., 2006).

A comunicação química deve ser vantajosa para o emissor, receptor ou para ambos. Caso contrário, o estímulo emitido tende a se extinguir com o processo evolutivo das espécies. As respostas à hipoxantina-3-N-óxido para as espécies Matrinxã e Tambaqui no presente estudo reforçam as afirmações de que respostas de alarme interespecíficas são eficientes e frequentes tais como as respostas intraespecíficas (SMITH, 1992).

Apesar dos peixes não exibirem um padrão característico e esperado de repulsão, por estarem distribuídos ao longo de todas as áreas dos aquários tanto antes quanto depois da aplicação do H<sub>3</sub>NO, corrobora com as observações feitas por Brown et al. (2000). Embora os aquários sejam extensos, o confinamento dos peixes pode ter contribuído para esse resultado. A falta de um canal de fuga pode ter obrigado os peixes a retornarem à fonte de aplicação da hipoxantina-3-N-óxido repetidas vezes.

As perspectivas de aplicabilidade no ambiente natural das substâncias de alarme, bem como da hipoxantina, são promissoras. Chivers et al. (1994) pesquisaram reações de alarme com extrato de pele de *Culaea inconstans* em ensaios em ambiente natural na província de Saskatchewan, Canadá. Também foi observado resultados muito similares em laboratório e no ambiente natural com a espécie *Poecilia reticulata* (BROWN et al., 1999).

O H<sub>3</sub>NO é uma substância sintética, que não depende do sacrifício de um indivíduo para sua concepção, contrariamente ao que ocorre, de modo frequente, com a extração das substâncias de alarme, as quais estão concentradas na epiderme de peixes. Além disso, a hipoxantina pode ser facilmente adquirida comercialmente e não há dados que comprovem malefícios à sanidade dos peixes e/ou do ambiente (PARRA et al., 2009).

As questões ambientais são de grande importância no setor hidrelétrico, visto que a sustentabilidade tem caracterizado este setor frente a outras formas de geração de energia elétrica. A utilização de novos métodos de repulsão ou de condicionamento dos peixes é essencial e muito almejado nesse setor. Tendo em vista a aplicabilidade da hipoxantina-3-N-óxido como método de proteção de peixes em usinas hidrelétricas é necessário analisar os resultados frente à capacidade de desencadear comportamentos de repulsão, mesmo que o arranjo experimental não propicie alternativas de fuga. A natação errática ou rápida é o comportamento mais adequado por induzir a saída do indivíduo da região, já a imobilidade, que pode permanecer por longos períodos, mantém os indivíduos estáticos num mesmo local (ENERPEIXE, 2012). A natação rápida ocorreu com certa frequência para ambas as espécies deste estudo, contrariamente ao comportamento de imobilidade.

A exemplo da Usina Hidrelétrica Jirau, em operação na região amazônica no rio Madeira (Rondônia, Brasil), a qual possui capacidade total instalada de 3.750 MW distribuída em 50 unidades geradoras, o tubo de sucção das unidades geradoras do tipo bulbo possui cerca de 4.500 m<sup>3</sup>. Partindo dos resultados desse estudo, onde 6,0 µg L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>NO foi suficiente para alterar o comportamento de duas espécies muito recorrentes na região amazônica, sobretudo no Rio Madeira, pode ser inferido que 27 g seriam suficientes



para alterar o comportamento de dissuasão da ictiofauna do tubo de sucção. As unidades geradoras possuem um sistema de aeração embutidos na parte inferior, pelo qual é passível a introdução e dispersão da H<sub>3</sub>NO ao longo de todo o tubo de sucção.

Todas essas evidências amparam a premissa que o H<sub>3</sub>NO é uma alternativa promissora, integrante de soluções e melhorias práticas de proteção da ictiofauna durante a operação e manutenção de usinas hidrelétricas.

## CONCLUSÕES

Os resultados preliminares demonstraram que as espécies Matrinxã e Tambaqui apresentaram evidências incomuns, como natação lenta, forrageio para o fundo dos aquários e ataques entre os peixes, confirmam a percepção da hipoxantina-3-N-óxido e provavelmente um algum grau de incômodo para ambas as espécies. A movimentação dos peixes nas várias áreas dos aquários não resultou num padrão de repulsão, contudo houve vários episódios de aproximação e afugentamento da fonte de aplicação do H<sub>3</sub>NO. Além do comportamento natação rápida, recorrente neste estudo, ocorreram várias tentativas de natação para o fundo dos aquários, o que representa possível estratégia de fuga em ambiente natural. O uso da hipoxantina-3-N-óxido pode ser futuramente um bom método de manejo para proteção da ictiofauna, sobretudo no setor hidrelétrico, por ser uma substância sintética, comercial, necessitar de concentrações baixas de aplicação e não ser tóxica à biota e ao ambiente aquático. Contudo, estudos mais aprofundados em aquários e no ambiente com espécies nativas e com diferentes condições ambientais são imprescindíveis, pois o ambiente natural é complexo e muito dinâmico.

**AGRADECIMENTOS:** Ao Programa de P&D da Energia Sustentável do Brasil (ANEEL/PD-06631-0009/2019) e à equipe da Jirau Energia.

## REFERÊNCIAS

BROWN, G. E.; ADRIAN, J. C.; SHIH JUNIOR, E. M. L.. Behavioural responses of fathead minnows to hypoxanthine-3-N-oxide at varying concentrations. **Journal of Fish Biology**, London, v.58, p.1465-1470, 2001. DOI: <http://doi.org.ez54.periodicos.capes.gov.br/10.1111/j.1095-8649.2001.tb02301.x>

BROWN, G. E.; ADRIAN JUNIOR, J. C.; SMYTH, E.; LEET, H.; BRENNAN, S.. Ostariophysan alarm pheromones: Laboratory and field tests of the functional significance of nitrogen oxides. **Journal of Chemical Ecology**, Washington, v.26, n.1, p.139-154, 2000. DOI: <http://doi.org/10.1023/A:1005445629144>

BROWN, G. E.; GODIN, J. G. J.. Who dares, learns: chemical inspection behaviour and acquired predator recognition in a characin fish. **Animal Behaviour**, Washington, v.57, n.2, p.475-481, 1999. DOI: <http://doi.org/10.1006/anbe.1998.1017>

CHIVERS, D. P.; SMITH, R. J. F.. Intra and interspecific avoidance of areas marked with skin extract from brook

sticklebacks (*Culaea inconstans*) in a natural habitat. **Journal of Chemical Ecology**, Washington, v.20, n.7, p.1517-1524, 1994. DOI: <http://doi.org/10.1007/BF02059877>

CHIVERS, D. P.; WISENDEN, B. D.; HINDMAN, C. J.; MICHALAK, T. A.; KUSCH, R. C.; KAMINSKYJ, S. G. W.; JACK, K. L.; FERRARI, M. C. O.; POLLOCK, R. J.; HALBGEWACHS, C. F.; POLLOCK, M. S.; ALEMADI, S.; JAMES, C. T.; SAVALOJA, R. K.; GOATER, C. P.; CORWIN, A.; MIRZA, R. S.; KIESECKER, J. M.; BROWN, G. E.; ADRIAN JUNIOR, J. C.; KRONE, P. H.; BLAUSTEIN, A. R.; MATHIS, A.. Epidermal 'alarm substance' cells of fishes maintained by non-alarm functions: possible defence against pathogens, parasites and UVB radiation. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v.274, p.2611-2619, 2007. DOI: <http://doi.org/10.1098/rspb.2007.0709>

CEMIG. Companhia Energética de Minas Gerais. **Avaliação de Risco de Morte de Peixes em Usinas Hidrelétrica**. Volume 5. Belo Horizonte: Cemig, 2016.

ENERPEIXE. **Avaliação de estímulos aversivos para espécies**

**de peixes do rio Tocantins, visando o impedimento de entrada dos mesmos nas turbinas quando das para manutenção:** Relatório Técnico PD-2952-0215/2010. São Paulo: Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho", 2012.

FRISCH, K. V.. Zur Psychologie des Fisch-Schwarmes. **Naturwissenschaften**, Berlin, v.26, p.601-606, 1938. DOI: <http://doi.org/10.1007/978-3-642-51845-4>

GOULART, V. D. L. R.. **Importância da química de alarme no comportamento antipredatório do lambari, *Astyanax bimaculatus*. Linnaeus, 1758 - (Pisces: Characidae).** Dissertação (Mestrado em Zoologia de Vertebrados) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

HECZKO, E. J.; SEGHERS, B. H.. Effects of alarm substance on schooling in the common shiner (*Notropis cornutus*, Cyprinidae). **Environmental Biology of Fishes**, Amsterdam, v.6, n.1, p.25-29, 1981. DOI: <http://doi.org/10.1007/BF00001796>

IDE, L. M.; URBINATI, E. C.; HOFFMANN.. The role of olfaction in the behavioural and physiological responses to conspecific skin extract in *Brycon cephalus*. **Journal of Fish Biology**, London, v.63, p.332-343, 2003. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00152.x>

KAWASHIMA, H.; KUMASHIRO, I.. Studies of Purine N-Oxides. III. The Synthesis of Purine 3-N-Oxides. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, Tokyo, v.42, n.3, p.750-755, 1969. DOI: <http://doi.org/10.1246/bcsj.42.750>

KRAUSE, J.; GODIN, J. G. J.. Predator preferences for attacking particular prey group sizes: consequences for predator hunting success and prey predation risk. **Animal Behaviour**, Washington, v.50, n.2, p.465-473, 1995. DOI: <http://doi.org/10.1006/anbe.1995.0260>

LAWRENCE, B. J.; SMITH, R. J. F.. Behavioral response of solitary fathead minnows *Pimephales promelas*, to alarm substance. **Journal of Chemical Ecology**, Washington, v.15,

n.1, p.209-219, 1989. DOI: <http://doi.org/10.1007/BF02027783>

LEVIN, E.D.; BENCAN, Z.; CERUTTI, D. T.. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. **Physiology & Behavior**, Washington, v.90, n.1, p.54-58, 2007. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.08.026>

LOPES, M. M.; BRANCO, V. T. F. C.; SOARES, J. B.. Utilização dos testes estatísticos de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para verificação da normalidade para materiais de pavimentação. **Transportes**, Brasília, v.21, n.1, p.59-66, 2013. DOI: <http://doi.org/10.4237/transportes.v21i1.566>

PARRA, K. V.; ADRIAN JUNIOR, J. C.; GERLAI, R.. The synthetic substance hypoxanthine 3-N-oxide elicits alarm reactions in zebrafish (*Danio rerio*). **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v.205, n.2, p.336-341, 2009. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.06.037>

PFEIFFER, W.. The distribution of fright reaction and alarm substance cells in fishes. **Copeia**, Washington, v.1977, n.4, p.653-665, 1977. DOI: <http://doi.org/10.2307/1443164>

PFEIFFER, W.; RIEGELBAUER, G.; MEIER, G.; SCHEIBLER, B.. Effect of hypoxanthine-3(N)-oxide and hypoxanthine-1(N)-oxide on central nervous excitation of the black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* (characidae, ostariophysi, pisces) indicated by dorsal light response. **Journal of Chemical Ecology**, Washington, v.11, p.507-523, 1985. DOI: <http://doi.org/10.1007/BF00989562>

SMITH, R. J. F.. Alarm signals in fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, Amsterdam, v.2, p.33-63, 1992. DOI: <http://doi.org/10.1007/BF00042916>

VOLPATO, G. L.; CASTRO, A. L. S.; FREITAS, E. G.; GIAQUINTO, P. C.; CASTILHO, M. F.; SILVA, E. M. P.; JORDÃO, L. C.. Comunicação Química em Peixes. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.. **Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aquicultura**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2006. p.15-52.

Os autores detêm os direitos autorais de sua obra publicada. A CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica (CNPJ: 11.221.422/0001-03) detêm os direitos materiais dos trabalhos publicados (obras, artigos etc.). Os direitos referem-se à publicação do trabalho em qualquer parte do mundo, incluindo os direitos às renovações, expansões e disseminações da contribuição, bem como outros direitos subsidiários. Todos os trabalhos publicados eletronicamente poderão posteriormente ser publicados em coletâneas impressas ou digitais sob coordenação da Companhia Brasileira de Produção Científica e seus parceiros autorizados. Os (as) autores (as) preservam os direitos autorais, mas não têm permissão para a publicação da contribuição em outro meio, impresso ou digital, em português ou em tradução.