



**ANA CAROLINA MARTINS PEREIRA**

**COMPORTAMENTO DO MEXILHÃO-DOURADO  
(*LIMNOPERNA FORTUNEI*) NA PRESENÇA DE PEIXES E  
COESPECÍFICOS FRAGMENTADOS: EFEITOS SOBRE A  
PRODUÇÃO DE BISSOS, AGREGAÇÃO E LOCOMOÇÃO**

**LAVRAS-MG  
2023**

**ANA CAROLINA MARTINS PEREIRA**

**COMPORTAMENTO DO MEXILHÃO-DOURADO (*LIMNOPERNA FORTUNEI*) NA  
PRESENÇA DE PEIXES E COESPECÍFICOS FRAGMENTADOS: EFEITO SOBRE A  
PRODUÇÃO DE BISSOS, AGREGAÇÃO E LOCOMOÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Daniel de Melo Rosa  
Orientador

Prof. Dr. Paulo dos Santos Pompeu  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pereira, Ana Carolina Martins.

Comportamento do mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) na presença de peixes e coespecíficos fragmentados: Efeitos sobre a produção de bissos, agregação e locomoção / Ana Carolina Martins Pereira. - 2023.

49 p. : il.

Orientador(a): Daniel de Melo Rosa.

Coorientador(a): Paulo dos Santos Pompeu.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Ecologia aplicada. 2. Experimentação. 3. Bivalves. I. Rosa, Daniel de Melo. II. Pompeu, Paulo dos Santos. III. Título.

**ANA CAROLINA MARTINS PEREIRA**

**COMPORTAMENTO DO MEXILHÃO-DOURADO (*LIMNOPERNA FORTUNEI*) NA PRESENÇA DE PEIXES E COESPECÍFICOS FRAGMENTADOS: EFEITOS SOBRE A PRODUÇÃO DE BISSOS, AGREGAÇÃO E LOCOMOÇÃO**

**BEHAVIOR OF GOLDEN MUSSEL (*LIMNOPERNA FORTUNEI*) IN THE PRESENCE OF FISH AND FRAGMENTED CO-SPECIFICS: EFFECTS ON BYSSUS PRODUCTION, AGGREGATION AND LOCOMOTION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de junho de 2023.

Dr. Daniel de Melo Rosa, UFLA

Dr. Paulo dos Santos Pompeu, UFLA

Dr. Francisco Ricardo de Andrade Neto, UFLA

Dr<sup>a</sup>. Silvia Maria Millan Gutierre, CEMAFUNA/UNIVASF

Prof. Dr. Daniel de Melo Rosa  
Orientador(a)

Prof. Dr. Paulo dos Santos Pompeu  
Coorientador(a)

**LAVRAS-MG  
2023**

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer à Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós Graduação em Ecologia Aplicada pelo suporte e formação. Também gostaria de expressar minha gratidão a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa parcial e à CEMIG pelo suporte financeiro fornecido por meio do projeto "P&D GT-604 Controle do Mexilhão-Dourado - Fase 2", tanto para as despesas do projeto quanto para a bolsa parcial.

## RESUMO

Organismos sésseis e semi-sésseis não são aptos a realizarem grandes deslocamentos a fim de evitarem uma zona de risco e, portanto, tais organismos desenvolveram outras estratégias de defesa. Os bivalves não são aptos a escapar, mas podem aumentar as suas chances de sobrevivência na presença de predadores alocando mais energia para fixação ao substrato e/ou selecionando locais mais seguros. Pode-se esperar que estes organismos sejam capazes de perceber a presença de predadores e conseqüentemente responderem por meio de tais mecanismos de defesa anti-predatórios. Este fenômeno é comumente mediado por sinais químicos, e estudos anteriores sugerem que estes são sinais de alarme oriundos da lesão de presas coespecíficas que passaram pelo trato digestivo do predador. O mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei*, é uma espécie de bivalve invasor originária do sudeste asiático que se tornou parte influente em ecossistemas invadidos na América do Sul, competindo com outros organismos por alimento e espaço, bem como ocupando uma parte importante em redes tróficas. Entretanto, alterações fisiológicas e comportamentais relacionadas à produção de bissos, agregação e deslocamento desta espécie mediante a presença de predadores, ainda não foram investigadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar experimentalmente o comportamento de *L. fortunei* na presença de peixes com diferentes hábitos alimentares e coespecíficos fragmentados. Os indivíduos de *L. fortunei* foram coletados no reservatório da Usina Hidrelétrica Volta Grande, e transferidos para laboratório onde foram mantidos em aquários e submetidos a três experimentos. No primeiro experimento, *L. fortunei* foi exposto aos seguintes tratamentos: C – Controle, T1 – *Prochilodus lineatus*, T2 – *Piaractus mesopotamicus* e T3 – coespecíficos fragmentados. Os peixes eram separados de *L. fortunei* através de uma malha de 1mm de espessura, de forma que os peixes podiam se mover por todo o aquário mas não tinham contato direto com os mexilhões. Ao fim dos ensaios, medimos a porcentagem dos indivíduos que formavam agregações, em seguida os mexilhões foram fixados para contagem posterior de bissos. No segundo e terceiro experimentos, indivíduos de *L. fortunei* foram expostos a efluentes dos mesmos peixes e de coespecíficos fragmentados diluídos na água, com o objetivo de avaliarmos mudanças nos padrões de movimentação horizontal e vertical desses organismos. Os arranjos experimentais assumiram que a presa consegue detectar a presença de um predador potencial via sinais químicos e/ou por meio das correntes de água geradas pela movimentação dos peixes. As diferenças na emissão de bissos, agregação e movimento foram testadas através de Modelos lineares generalizados mistos. Foi observado que indivíduos de *L. fortunei* de diferentes tamanhos produziram mais filamentos bissais quando expostos a *P. mesopotamicus*, *P. lineatus* e coespecíficos fragmentados, mas apenas os indivíduos pequenos e grandes apresentaram essa resposta. Alterações significativas no comportamento de agregação não foram observadas. Com relação ao movimento, foi observada uma diminuição significativa no movimento horizontal dos mexilhões expostos a esses peixes. Os achados deste trabalho representam um avanço no conhecimento sobre as relações ecológicas do invasor *L. fortunei* no novo ambiente, sugerindo a ocorrência de respostas adaptativas mediadas via interações químicas com diferentes espécies.

**Palavras chave:** Bivalve. *Prochilodus lineatus*. *Piaractus mesopotamicus*. Interação predador-presa

## ABSTRACT

Sessile and semi-sessile organisms are not capable of undertaking long-distance movements to avoid a risky zone. Therefore, such organisms have developed alternative defense strategies. Bivalves are unable to escape but can increase their chances of survival in the presence of predators by allocating more energy towards substrate fixation and/or selecting safer locations. It can be expected that these organisms are capable of perceiving the presence of predators and, consequently, responding through these anti-predatory defense mechanisms. This phenomenon is commonly mediated by chemical signals, and previous studies suggest that these signals are alarm cues originating from the injury of conspecific prey that have passed through the predator's digestive tract. The golden mussel, *Limnoperna fortunei*, is an invasive bivalve species native to Southeast Asia that has become a significant part of invaded ecosystems in South America, competing with other organisms for food and space, as well as occupying an important role in trophic networks. However, physiological and behavioral alterations related to byssus production, aggregation, and displacement of this species in the presence of predators have not yet been investigated. The objective of this study was to experimentally evaluate the behavior of *L. fortunei* in the presence of fishes with different feeding habits and fragmented conspecifics. Individuals of *L. fortunei* were collected from the reservoir of the UHE Volta Grande and transferred to the laboratory, where they were kept in aquariums and subjected to three experiments. In the first experiment, *L. fortunei* was exposed to the following treatments: C - Control, T1 - *Prochilodus lineatus*, T2 - *Piaractus mesopotamicus*, and T3 - fragmented conspecifics. The fishes were separated from *L. fortunei* by a 1mm-thick mesh, allowing the fishes to move throughout the aquarium but preventing direct contact with the mussels. At the end of the assays, we measured the percentage of individuals forming aggregations, and then the mussels were fixed for subsequent byssus counting. In the second and third experiments, individuals of *L. fortunei* were exposed to effluents from the same fishes and diluted fragmented conspecifics in the water, with the aim of evaluating changes in the horizontal and vertical movement patterns of these organisms. The experimental arrangements assumed that the prey can detect the presence of a potential predator through chemical signals and/or through water currents generated by the fish movements. Differences in byssus emission, aggregation, and movement were tested using mixed-effects generalized linear models. It was observed that *L. fortunei* individuals of different sizes produced more byssal filaments when exposed to *P. mesopotamicus*, *P. lineatus*, and fragmented conspecifics, but only small and large individuals showed this response. No significant changes in aggregation behavior were observed. Regarding movement, a significant decrease in horizontal movement was observed in mussels exposed to these fishes. The findings of this study represent an advancement in understanding the ecological relationships of the invader *L. fortunei* in the new environment, suggesting the occurrence of adaptive responses mediated through chemical interactions with different species.

**Keywords:** Bivalve. *Prochilodus lineatus*. *Piaractus mesopotamicus*. Predator-prey interaction

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
2.1	PEIXES PREDADORES E NÃO PREDADORES .....	13
2.2	EXPERIMENTO 1: PRODUÇÃO DE BISSOS E AGREGAÇÃO .....	14
2.3	EXPERIMENTO 2: COMPORTAMENTO DE RASTEJO.....	17
2.4	EXPERIMENTO 3: COMPORTAMENTO DE ESCALADA.....	19
<b>3</b>	<b>ANÁLISE DE DADOS.....</b>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>21</b>
4.1	EFEITO DO TAMANHO SOBRE A PRODUÇÃO DE BISSOS .....	21
4.1.1	CONTROLE.....	21
4.1.2	GRUPO NÃO-PREDADOR.....	22
4.1.3	GRUPO PREDADOR.....	24
4.1.4	GRUPO COESPECÍFICOS FRAGMENTADOS .....	25
4.2	PRODUÇÃO DE BISSOS .....	26
4.3	COMPORTAMENTO DE AGREGAÇÃO.....	30
4.4	COMPORTAMENTO DE RASTEJO .....	34
4.5	COMPORTAMENTO DE ESCALADA .....	36
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
5.1	PRODUÇÃO DE BISSOS .....	38
5.2	COMPORTAMENTO DE AGREGAÇÃO .....	40
5.3	COMPORTAMENTO DE RASTEJO .....	41
5.4	COMPORTAMENTO DE ESCALADA .....	42
5.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	42
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Espécies invasoras representam uma ameaça à biodiversidade nativa e causam mudanças ecológicas que podem alterar a estrutura e funcionamento de ecossistemas afetados (Bobeldyk, et al, 2015). Além disso, prejuízos econômicos consideráveis devido às invasões biológicas têm sido estimados para diversas regiões do planeta (Zenni et al., 2021), incluindo o Brasil (Adelino et al., 2021). Dentre os invasores, algumas espécies aquáticas, tais como os bivalves, são reconhecidos pela sua alta capacidade de incrustação e são capazes de infestar indústrias dependentes de água, como plantas hidrelétricas e de tratamento de água, e sistemas de irrigação, causando perdas econômicas significativas (Rosa et al., 2011).

Os bivalves invasores possuem características-chave associadas ao sucesso na colonização de ambientes aquáticos, tais como ciclos de geração curtos, crescimento rápido, maturidade sexual precoce, alta fecundidade, grande capacidade de dispersão e associação com atividades humanas (McMahon, 2002). Além disso, são amplamente reconhecidos por alterarem o ambiente abiótico, atuando como engenheiros de ecossistemas (Sousa et al., 2009). Estudos também demonstram que os bivalves invasores podem modificar a comunidade de fitoplâncton devido a efeitos de controle populacional (Karatayev et al., 2007) e afetar as interações predador/presa ao serem consumidos por peixes nativos (Rosa et al., 2021). Esses invasores, como o mexilhão-zebra (*Dreissena polymorpha*) e o mexilhão-quagga (*Dreissena rostriformis bugensis*), originários do leste europeu se tornaram o foco de diversos estudos na Europa e América do Norte (Strayer, 2010). Estes bivalves são alguns dos invasores mais agressivos em água doce e possuem características ecológicas muito similares aquelas encontradas no mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*), que é considerado um invasor ainda mais agressivo (Karatayev et al., 2007).

*Limnoperna fortunei*, conhecido popularmente como mexilhão-dourado, é uma espécie de bivalve invasor originária do sudeste asiático, possui cor marrom-dourada e os indivíduos adultos tem tamanho comum variando entre 20 a 30 milímetros, mas podem atingir cerca de 50 milímetros (Nakano, 2015). São animais filtradores excelentes (Sylvester et al, 2006) os quais possuem ciclo de vida curto, crescimento rápido, estágio larval planctônico e a presença de bisso (Ricciardi, 1998; Montalto, 2014). Este bivalve foi reportado pela primeira vez no Brasil no Lago Guaíba em 1998 (Mansur et al, 2003), e se tornou parte influente em ecossistemas invadidos na América do Sul, fornecendo substrato para comunidades complexas (Linares et al., 2017), competindo com outros organismos por alimento e espaço (Darrigran & Damborenea, 2006), bem como ocupando uma parte importante em redes tróficas (Rosa et al., 2021). Alguns estudos indicam que o *L. fortunei* é consumido por peixes, aves, mamíferos

aquáticos e caranguejos (Penchaszadeh et al., 2000; Torres et al., 2012; Rosa et al., 2015; Rosa et al., 2021). Além disso, os indivíduos em estágios larvais são consumidos por larvas de peixes e invertebrados tais como crustáceos, gastrópodes e hirudíneos (Sylvester et al., 2007; Paolucci et al., 2007). Na comunidade planctônica, a presença deste molusco promove o aumento da ocorrência de *Microcystis spp*, uma alga com florações (Cataldo et al, 2012). Além disso, esse bivalve também possui potencial para transferir cianotoxinas para os níveis tróficos superiores (Gazulha et al, 2012). Nas comunidades bentônicas, *L. fortunei* favorece o aumento na riqueza e abundância de invertebrados (Sylvester et al, 2007). Na comunidade de peixes, *L. fortunei* é uma abundante fonte de alimento suportando parte importante da biomassa de espécies de peixes com importância comercial (Rosa et al., 2021). Esse molusco também consegue filtrar substâncias tóxicas e bioacumular em seus tecidos, difundindo metais contaminantes pela cadeia trófica (Cataldo, 2012). *L. fortunei* também causa impactos em outros organismos filtradores, aumentando a competição entre as espécies e acelerando a extinção de bivalves nativos (Mansur et al, 2003)

O entendimento do comportamento das espécies possui importância significativa para a biologia da conservação, podendo ser efetivamente aplicado para auxiliar os esforços de preservação (Moore et al. 2008). O comportamento adaptativo dos organismos pode nos fornecer informações importantes sobre interações ecológicas, respostas a estímulos ambientais, estratégias de sobrevivência e podem funcionar como indicadores do estado do ambiente (Berger-tal, 2011). Compreender as interações de espécies invasoras com a comunidade nativa é fundamental para determinar seus impactos nos ecossistemas, fornecer informações importantes sobre os motivos do sucesso da sua colonização (Carere, 2012) e trazer informações importantes no caminho do desenvolvimento de estratégias de manejo adequadas para o controle da dispersão (Weis, 2010). A alta adaptabilidade de *L. fortunei* é a principal razão para sua invasão bem sucedida, permitindo-lhe sobreviver em uma ampla variedade de habitats aquáticos (Zhao, 2019). A espécie causa grandes impactos econômicos e ecológicos no Brasil, o estudo de seu comportamento permite compreender os efeitos sobre a estrutura dos ecossistemas invadidos e prever seus impactos futuros (Zhao, 2019).

Os mexilhões (Mytilidae) enfrentam uma série de predadores no ambiente, o que levou ao desenvolvimento de mecanismos de defesa de resposta rápida (Côté, 1995). Um exemplo disso é o aumento na produção de filamentos de biscoitos, que reforça a capacidade de fixação e reduz as chances de desprendimento do substrato, diminuindo, assim, a probabilidade de predação (Christensen, 2015). Os estudos comportamentais de bivalves invasores

desempenham um papel crucial na ecologia, permitindo investigar as estratégias de e as complexas interações com espécies nativas. Esses organismos sésseis e semi-sésseis não são aptos a realizarem grandes deslocamentos a fim de evitarem uma zona de risco e, portanto, desenvolveram outras estratégias de defesa. Por exemplo, quando expostos a situações de risco, tais como à presença de predadores, mexilhões marinhos e de água doce respondem por meio de estratégias comportamentais necessárias para a sobrevivência em diversos sistemas aquáticos (Reimer & Harms-Ringdahl, 2001; Kobak & Kakareko, 2009; Kobak et al., 2010). Outros bivalves podem aumentar as suas chances de sobrevivência na presença de predadores alocando mais energia para fixação ao substrato e/ou selecionando locais mais seguros (Cheung et al., 2004; Griffiths & Richardson, 2006; Pereira et al., 2016).

Estudos comportamentais de bivalves na presença de predadores são relativamente comuns nos ambientes aquáticos e foram observadas em algumas espécies marinhas e de água doce. Por exemplo, na presença de estrelas do mar e caranguejos moluscívoros, *Mytilus edulis* aumentaram sua força de fixação ao substrato e se tornaram mais agregados (Reimer & Tedengren, 1997; Reimer & Harms-Ringdahl, 2001). Respostas semelhantes foram observadas em *Dreissena polymorpha* os quais também aumentaram a sua força de fixação e apresentaram uma tendência a formar agregações quando expostos ao peixe moluscívoro *Rutilus rutilus* (Kobak & Kakareko, 2009). Cheung et al. (2004) verificaram que *Perna viridis* produzem filamentos bissais mais fortes e se separam espontaneamente do substrato com menos frequência, quando expostos à caranguejos e gastrópodes predadores. Por outro lado, observou-se uma redução na movimentação de *Hormomya mutabilis* na presença de predadores (Ishida & Iwasaki, 2003). Essas defesas são comumente mediadas por sinais químicos chamados de caimônios e estudos anteriores sugerem que estes são sinais de alarme liberados por predadores ou co-específicos lesionados (Chivers & Smith, 1998; Wisenden, 2003). Entretanto, mesmo décadas após a introdução do *L. fortunei* no Brasil, ainda há escassez de estudos sobre sua biologia básica, comportamento e interações ecológicas.

Alterações comportamentais relacionadas a *L. fortunei* na presença de predadores e coespecíficos lesionados ainda não foram documentadas. Contudo, compreender essas interações é essencial para avaliar o papel de *L. fortunei* como agente modificador do ecossistema. O presente estudo teve como objetivo a avaliação experimental do comportamento de *L. fortunei* na presença de peixes com diferentes hábitos alimentares. Assim como mexilhões de outras espécies, pode-se esperar que *L. fortunei* também seja capaz de perceber a presença predadores e coespecíficos lesionados através de sinais químicos e responderem

defensivamente de três maneiras: (i) aumentando a produção de bissos, (ii) se tornando mais agregado, (iii) diminuindo o movimento.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Exemplares de *L. fortunei* de tamanhos reduzidos (i.e. entre 5 mm e 30 mm) foram coletados de substratos rochosos submersos (Figura 1) nas margens do reservatório da Usina Hidrelétrica (UHE) de Volta Grande (20° 02' 57" S e 48° 13' 12" O), localizado no rio Grande, bacia do alto rio Paraná, Brasil. Os espécimes coletados foram transferidos em sacos plásticos contendo água do reservatório para o Laboratório de Evolução e Ecologia na Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM (distância entre o local de coleta e o laboratório: 45 Km; tempo de transporte: cerca de 40 min.). Anteriormente aos ensaios, os mexilhões foram aclimatados às condições laboratoriais em contêineres de plástico com cerca de 30 litros de água dechlorada, adaptados com sistema de aeração e filtro. A temperatura do laboratório foi mantida entre 22-25 °C, sob regime artificial de iluminação (fotoperíodo de 12 horas). Durante o período de aclimação os exemplares de *L. fortunei* foram alimentados com microalgas em pó comercializadas, pertencentes ao gênero *Chlorella* spp.

A fim de evitar o uso de indivíduos em más condições nos experimentos, utilizamos somente os que estavam com as conchas fechadas e fixados ao fundo ou paredes do contêiner de aclimação. Para a retirada, cada indivíduo foi removido suavemente com força mínima suficiente para afastá-lo do substrato e raspar os bissos com auxílio de bisturi. Os indivíduos que foram feridos nesse processo foram utilizados posteriormente nos experimentos, compondo os tratamentos que utilizamos coespecíficos fragmentados misturados à água.

Figura 1 – Indivíduos de *L. fortunei* fixados ao substrato no local de coleta.



Fonte: Da autora (2023)

## 2.1 PEIXES PREDADORES E NÃO PREDADORES

As espécies de peixes selecionadas para o experimento foram *Piaractus mesopotamicus* e *Prochilodus lineatus*. O uso de *P. mesopotamicus* foi recomendado para o presente estudo com base em resultados de pesquisas publicados que indicaram um consumo substancial de *L. fortunei* por esta espécie (Rosa et al., 2015). Enquanto *P. lineatus* foi selecionada como controle negativo, para determinar a ocorrência de sensibilidade química de *L. fortunei* à presença de predadores, com intuito de apurar que não é simplesmente a presença de qualquer peixe que irá medir a resposta defensiva do bivalve.

*Piaractus mesopotamicus*, popularmente conhecido como pacu-caranha, é uma espécie de peixe nativa da bacia do baixo Rio Paraná. Após o enchimento do reservatório de Itaipu, que inundou o Salto das Sete Quedas, uma barreira ecológica natural, *P. mesopotamicus*, assim como outras espécies, ganharam a região do alto Rio Paraná Atualmente, é um peixe bastante utilizado na aquicultura, pesca comercial e esportiva (Calcagnotto, 2009). O *P. mesopotamicus* é considerado onívoro, sua alimentação é baseada no consumo de frutas, sementes, crustáceos, pequenos peixes e alguns invertebrados (Lösch et al. 2009).

*Prochilodus lineatus* é um peixe neotropical popularmente conhecido como curimba ou curimbatá. Tem hábitos reprodutivos migratórios, se alimenta de algas, perifíton e detritos orgânicos, sendo considerada uma espécie iliófaga. Estudos que avaliaram a dieta desta espécie até o momento não registram o consumo de *L. fortunei* por indivíduos jovens e adultos desta espécie (Cataldo, 2015; Rosa et al. 2021), sendo tal interação trófica registrada somente entre larvas desta espécie e larvas de *L. fortunei* (Paolucci et al., 2007).

Os ensaios experimentais foram conduzidos em agosto e novembro de 2022. Devido às limitações estruturais, como o tamanho do laboratório e dos aquários, que inviabilizaram experimentos com peixes adultos, utilizamos apenas exemplares juvenis dessas espécies, com um tamanho médio de sete centímetros. Indivíduos das duas espécies foram adquiridos em estabelecimentos de aquicultura e foram transportados para o laboratório em sacos plásticos com água aerada e separados por espécie. No laboratório, utilizamos contêineres de plástico com capacidade de 250 litros para aclimação e manutenção dos peixes. Esses contêineres foram adaptados com um sistema de aeração e filtro, e a temperatura média da água foi mantida a 25°C, com um regime de iluminação natural (fotoperíodo de 12 horas). Os peixes foram alimentados com ração e aclimatados às condições do laboratório por um período de sete dias.

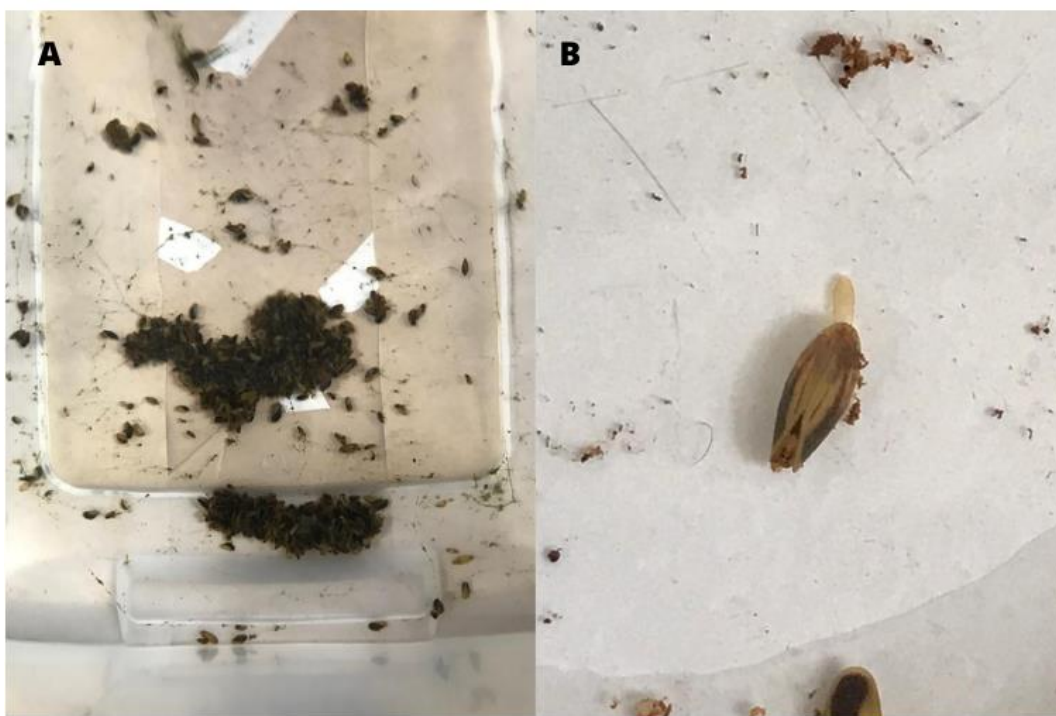
## **2.2 EXPERIMENTO 1: PRODUÇÃO DE BISSOS E AGREGAÇÃO**

Exemplares de *L. fortunei* foram submetidos a três tratamentos diferentes. As primeiras unidades experimentais foram desprovidas de peixes e utilizadas como controle (C - controle). O primeiro tratamento (T1 - não-predador) incluiu dois indivíduos de *Prochilodus lineatus*, empregados como controle negativo. O segundo tratamento (T2 – predador) foi constituído por unidades experimentais contendo dois indivíduos de *Piaractus mesopotamicus*. E, por fim, o terceiro tratamento (T3 – coespecíficos fragmentados) incluiu em suas unidades experimentais indivíduos de *Limnoperna fortunei* mortos e fragmentados misturados à água. Os peixes foram submetidos a um período de 24 horas de jejum antes do início dos experimentos, para que os resquícios de ração contidos nas fezes não provocassem interferência nos resultados. Para simular o tratamento com coespecíficos fragmentados, maceramos em um almofariz 150 ml de *L. fortunei* mortos, adicionamos 350 ml de água declorada e em seguida acrescentamos 50 ml dessa solução em cada aquário (Tomey, 2002). Cada tratamento foi replicado cinco vezes.

A fim de avaliar a resposta de indivíduos de diferentes tamanhos, eles foram classificados em três classes diferentes de acordo com o comprimento das conchas: indivíduos menores, com o comprimento da concha inferior a 12 milímetros; indivíduos médios,

corresponderam ao tamanho entre 13 e 17 milímetros; e indivíduos grandes, com o tamanho superior a 18 milímetros. Para selecionarmos apenas indivíduos viáveis para o experimento, antes de cada ensaio, os mexilhões foram dispostos em uma placa de Petri contendo água declorada e, somente aqueles que colocaram o pé para fora da concha foram utilizados nos ensaios (Figura 2).

Figura 2 – Indivíduos de *L. fortunei* menores



Legenda: A) Grupo de indivíduos de *L. fortunei* pequenos após 24 horas de aclimação às condições laboratoriais. B) Um indivíduo de *L. fortunei* viável que foi utilizado nos ensaios.

Fonte: Da autora (2023)

Para possibilitar a avaliação do comportamento de agregação e produção de bisco de *L. fortunei* nos diferentes tratamentos, os mesmos foram dispostos dentro de caixas de PVC, separados por classes de tamanho, que por sua vez foram introduzidas nos aquários, totalizando três caixas por aquário. Utilizamos placas de PVC (100 x 100 x 5 mm) para montagem das caixas compostas por fundo e paredes, unidas com cola de silicone para aquários e cobertas com uma malha de náilon de 1 mm (Figura 3), de forma que os indivíduos de *L. fortunei* eram impedidos de sair da caixa e ao mesmo tempo eram protegidos dos peixes. Os peixes puderam se mover por toda a unidade experimental, inclusive ao redor e acima das caixas contendo os mexilhões, assim, quaisquer substâncias liberadas pelos peixes na água poderiam chegar facilmente aos mexilhões.

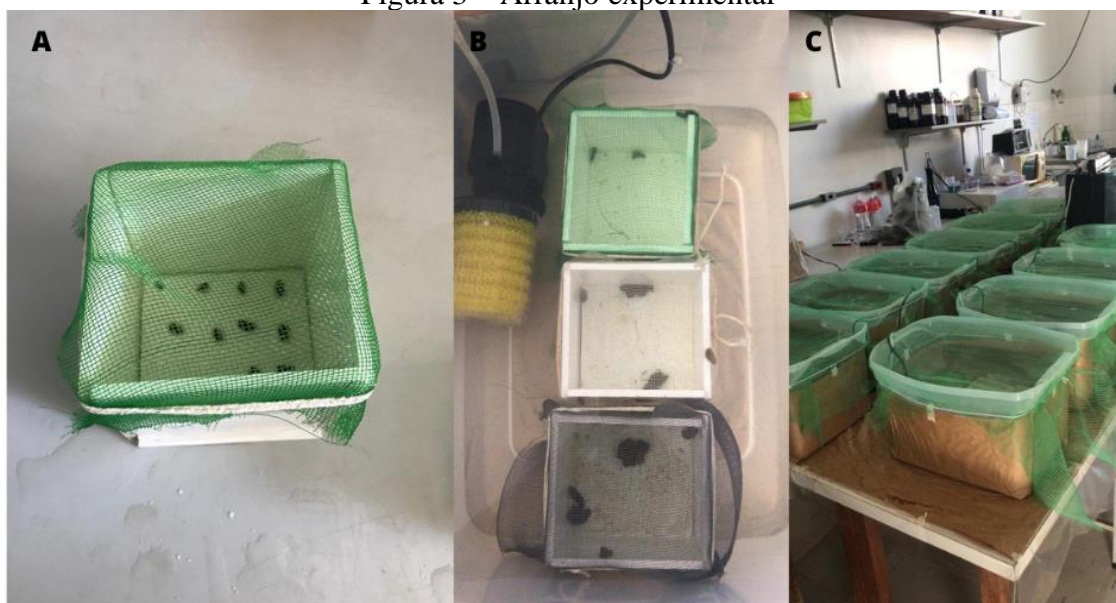
Antes de cada ensaio as placas utilizadas para a montagem das caixas eram mantidas na água dos aquários (sem peixes) durante uma semana. De acordo com Kavouras & Maki (2003),



este período é suficiente para o desenvolvimento do biofilme, que torna o substrato mais adequado para a fixação dos mexilhões.

No início de cada ensaio, colocamos 12 indivíduos de *L. fortunei* no fundo de três caixas (i.e. 12 mexilhões de cada classe de tamanho = 36 mexilhões por unidade experimental), as quais foram dispostas no fundo das unidades experimentais. Este experimento teve duração de 5 dias e cada tratamento, incluindo o controle, foram replicados 5 vezes. Após este período o experimento foi interrompido e as caixas contendo *L. fortunei* foram retiradas das unidades experimentais para mensuração dos parâmetros (Figura 3).

Figura 3 – Arranjo experimental



Legenda: A) Caixa formada por placas de PVC utilizadas no experimento. B) Aquário com aeração e filtração utilizado como unidade experimental. C) Experimento em andamento.

Fonte: Da autora (2023)

Assumindo que a produção de bissos de *L. fortunei* é maior nos primeiros dias e depois se estabiliza, conforme observado em outras espécies de mexilhões (Kobak, 2006), medimos esse parâmetro durante sua fase estável (após 4 dias). Os aquários foram cobertos com uma malha de náilon de 1mm para evitar que os peixes pulassem para fora (Figura 3). Durante o experimento, características físicas e químicas da água como temperatura, potencial hidrogênio iônico (pH), e oxigênio dissolvido foram monitoradas diariamente.

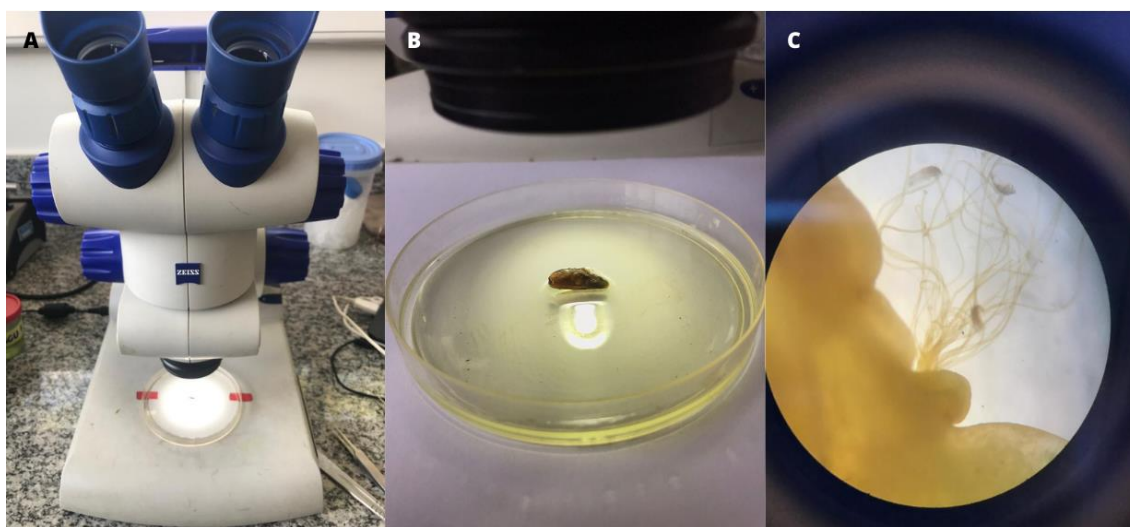
Ao final do ensaio, desmontamos as caixas e calculamos a porcentagem de indivíduos que formavam agregações, isto é, o número de indivíduos tocando a concha de outros. Em seguida, os *L. fortunei* foram removidos do substrato com auxílio de um bisturi, identificados quanto ao tratamento e réplica, e fixados em solução de Bouin para posterior contagem de bissos. Depois de um período de 24 horas em solução de Bouin os mexilhões foram transferidos



parasolução de álcool 70% na qual foram armazenados. O arranjo experimental seguido pelo presente estudo foi uma adaptação do modelo proposto por Kobak & Kakareko (2009).

O número de bissos de cada indivíduo submetido aos tratamentos tratamento, bem como os do controle, foi contado com o auxílio de estereomicroscópio (Figura 4). Os exemplares de *L. fortunei* foram seccionados pela região anterior para o rompimento do músculo eretor e abertura das valvas. Em seguida, cada mexilhão foi colocado em uma placa de Petri preenchida com álcool 70%, sobre a qual o pé do animal, responsável pela emissão dos filamentos bissais, foi removido para facilitar a contagem dos mesmos (Figura 4).

Figura 4 – Processo de contagem de bissos



Legenda: A) Estereomicroscópio utilizado no processo de contagem de bissos. B) *L. fortunei* já fixado e com as valvas seccionadas. C) Filamentos de bisso presos na parte dorsal do pé.

Fonte: Da autora (2023)

### 2.3 EXPERIMENTO 2: COMPORTAMENTO DE RASTEJO

Com o intuito de avaliar os efeitos da presença de sinais químicos (vestígios de alarme) sobre o padrão de movimento horizontal de *L. fortunei*, ou seja, deslocamentos no fundo do aquário, *L. fortunei* também foi submetido à três diferentes tratamentos.

Utilizamos aquários nas medidas de 40 x 25 x 10cm preenchidos com 2 litros de água declorada. O fundo dos aquários foi coberto com 2 mm de areia fina adquirida em lojas de aquários. Três indivíduos menores (< 12 mm) foram colocados no fundo de cada aquário, em distâncias iguais e a dois centímetros de distância das paredes. O arranjo experimental foi uma adaptação de Czarnoleski e Muller (2010).

Nesse experimento os exemplares de *L. fortunei* também foram submetidos a três tratamentos diferentes: as primeiras unidades experimentais foram preenchidas apenas com

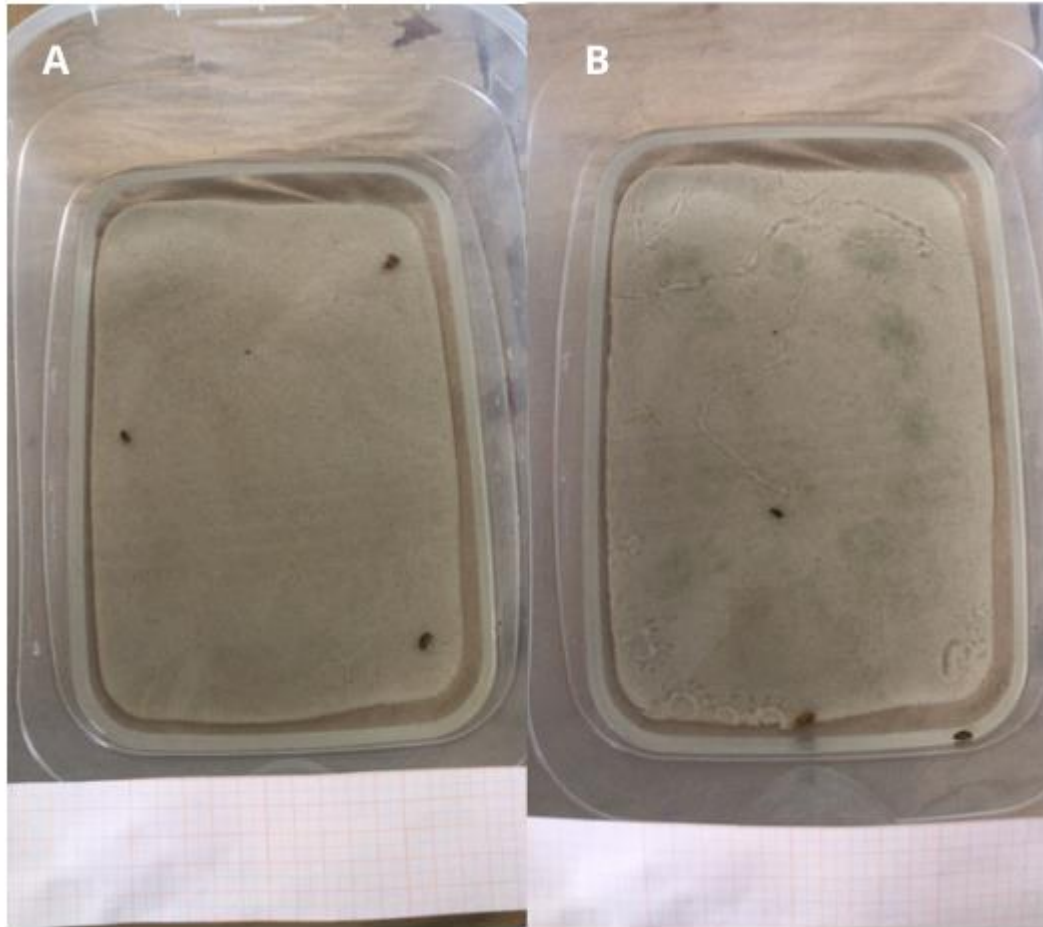
água de clorada, utilizadas como unidades de controle (C - controle). Outro grupo de unidades experimentais foram preenchidas com água proveniente dos aquários contendo indivíduos de *P. lineatus* (T1 - não-predador). Em seguida, outro grupo de aquários foi preenchido com água dos tanques contendo *P. mesopotamicus* (T2 - predador). E, por fim, utilizamos aquários contendo uma diluição de água de clorada e indivíduos de *L. fortunei* mortos e fragmentados (T3 - coespecíficos fragmentados).

Nos experimentos, os tratamentos que envolviam os efluentes dos peixes foram conduzidos utilizando água proveniente de tanques que abrigavam os peixes. Antes de iniciar o experimento, selecionamos 10 indivíduos de *P. mesopotamicus* e os transferimos para tanques de 250 litros, onde foram mantidos em jejum por 48 horas. Em seguida, utilizamos a água desses tanques para os tratamentos com efluentes. O mesmo procedimento foi realizado com *P. lineatus*.

Para o tratamento com coespecíficos mortos e fragmentados maceramos indivíduos de *L. fortunei* em um almofariz e misturamos os seus detritos na água dos aquários para obter a concentração necessária (Tomey, 2002). Cada aquário com três indivíduos foi considerado como uma réplica, o experimento foi replicado cinco vezes.

A posição dos mexilhões no fundo do aquário foi fotografada a cada 15 minutos, durante 180 minutos, com uma câmera de celular posicionada acima dos aquários. Fixamos fitas de folhas milimetradas ao lado dos aquários para posteriores ajustes de escala. As fotos foram utilizadas para determinar a direção do movimento dos mexilhões e para medir o comprimento dos rastros deixados no substrato (i.e. distância percorrida por cada mexilhão) (Figura 5). As medidas dos rastros foram calculadas utilizando o software AutoCad. Para cada aquário calculamos a distância média percorrida por cada mexilhão, excluindo os indivíduos que não se movimentaram durante o experimento. Esse critério de exclusão foi adotado seguindo o trabalho de Czarnoleski e Muller (2010) para evitar o uso de indivíduos em más condições.

Figura 5 – Comportamento de rastejo



Legenda: Posição inicial (A) e final (B) dos indivíduos pequenos de *L. fortunei* no experimento.  
Fonte: Da autora (2023)

#### 2.4 EXPERIMENTO 3: COMPORTAMENTO DE ESCALADA

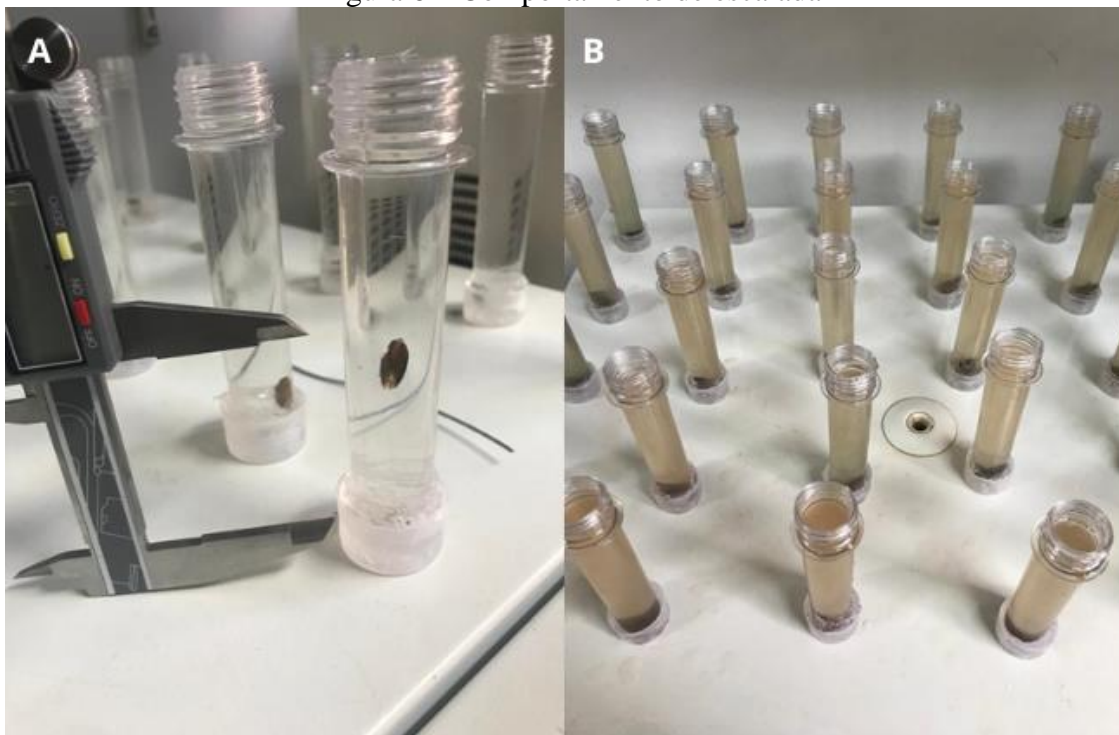
Com o objetivo de avaliar os efeitos da presença de sinais químicos (vestígios de alarme) sobre o comportamento de escalada de *L. fortunei*, ou seja, deslocamentos verticais, os mexilhões foram submetidos aos mesmos tratamentos do experimento 2, porém utilizando diferentes unidades experimentais (i.e. tubos de acrílico).

Utilizamos tubos de acrílico transparentes com 13 cm de altura e 60 ml, os tubos eram preenchidos com água até o topo e os mexilhões foram colocados individualmente nos fundos dos tubos, sem substrato. Para o tratamento com coespecíficos fragmentados também maceramos indivíduos de *L. fortunei* em um almofariz e acrescentamos a quantidade de água necessária para atingir a concentração sugerida por Tomey (2002) (Figura 6).

Os testes foram realizados em mexilhões de classes de tamanhos diferentes: pequenos (abaixo de 12 mm), médios (de 13 à 17 mm) e grandes (acima de 18 mm). Cada tubo de acrílico com apenas um indivíduo foi considerado uma réplica, o experimento foi replicado trinta vezes,

totalizando noventa exemplares por tratamento. A cada 15 minutos medimos a altura em que os mexilhões se encontravam nas paredes dos tubos utilizando um paquímetro digital, as medidas foram feitas durante 180 minutos (Figura 6).

Figura 6 – Comportamento de escalada



Legenda: A) Posição de um *L. fortunei* do tratamento controle sendo medida. B) Tratamento com coespecíficos fragmentados.

Fonte: Da autora (2023)

### 3 ANÁLISE DE DADOS

Para responder os nossos objetivos de pesquisa utilizamos o software RStudio (versão 4.2.1) para a realização das análises estatísticas. Inicialmente, comparamos a variância no número de biscoitos emitidos pelos indivíduos de *L. fortunei* entre as três classes de tamanhos. Previamente, utilizamos os pacotes *rstatix* e *car* para verificar a normalidade, homoscedasticidade e presença de outliers nos dados. A normalidade foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk, a homoscedasticidade foi verificada através do teste de Levene, e a presença de outliers foi checada através da análise do boxplot. Após a checagem dos pressupostos aplicamos um teste de Kruskal-Wallis para comparar a variância entre os grupos, em seguida, analisamos as diferenças aplicando um teste de Dunn como *post-hoc*.

Os dados de agregação foram medidos e tabelados em porcentagem. Separamos as análises de acordo com a classe de tamanho (menores, médios e grandes), visto que o comportamento de agregação de mexilhões pode variar de acordo com estágio de vida. Utilizamos um modelo linear generalizado misto (GLMM), com distribuição binomial negativa

para as análises, no qual a variável “tratamento” foi inserida como fatores fixos e as réplicas como fatores aleatórios com a finalidade de evitar pseudoréplicas.

Investigamos os efeitos da produção de bissos em diferentes tratamentos através da contagem do número de bissos emitidos. Também dividimos as análises com base nas categorias de tamanho, uma vez que a emissão de filamentos bissais varia de acordo com o estágio de vida. Alcançamos, assim, um n amostral igual a 720 indivíduos analisados. Também utilizamos um modelo linear generalizado misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, para obtenção das respostas.

No Experimento 2, utilizamos o software AutoCad para medir as distâncias percorridas pelos mexilhões. Assim como no Experimento 3, antes da análise, eliminamos os indivíduos que não se movimentaram durante os 180 minutos de experimento. Aplicamos a média do movimento de cada mexilhão nas análises, que foram feitas também através de um GLMM com distribuição binomial negativa.

Para a realização dos testes de GLMM usamos o pacote *lme4*. Os modelos foram selecionados através do critério de informação de Akaike, e a sobredispersão foi checada com o pacote *performance*.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 EFEITO DO TAMANHO SOBRE A PRODUÇÃO DE BISSOS

#### 4.1.1 CONTROLE

No grupo controle, os resultados revelaram uma tendência no aumento do número de filamentos bissais com o aumento do tamanho de *L. fortunei*. A produção de bissos diferiu significativamente entre as classes de tamanho de *L. fortunei*. ( $X^2_{(2)} = 17,487$ ;  $p = 0.0001595$ ) (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados do Teste de Kruskal Wallis do grupo controle

Variável	CT	N	Qi	Md	Qs	<i>p</i>
	< 12	61	6	10	14	
Produção de bissos	13 – 17	64	8	14,5	26,25	0,0001595
	> 18	60	10	18	40,25	

Legenda: Resultados do Teste de Kruskal Wallis para os filamentos de bissos produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo controle, pertencentes a diferentes classes de tamanho (CT). N (tamanho da amostra), Qi (quartil inferior), Md (mediana), Qs (quartil superior) e valor de *p*.

Fonte: Da autora (2023)

Comparações entre as classes de tamanho mostraram que a produção de bissos em mexilhões menores é significativamente diferente daquelas observadas nos mexilhões médios ( $p = 0,0141$ ) e grandes ( $p = 0,000134$ ). No entanto, o teste não detectou diferenças significativas na produção de bissos entre os mexilhões médios e grandes ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2, Figura 7).

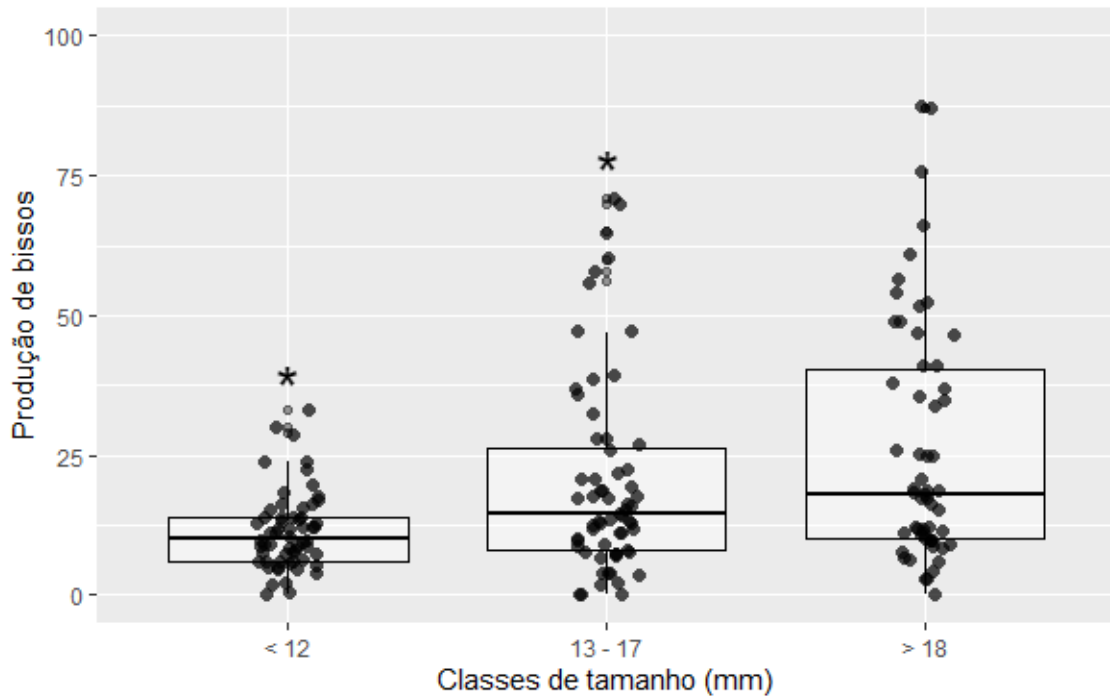
Tabela 2 – Post-hoc de comparação entre classes

Variável	Grupo 1	Grupo 2	$p$
	< 12	> 18	0,000134
Produção de bissos	< 12	13 - 17	0,0141
	> 18	13 - 17	0,543

Legenda: Resultados do Teste de Post-hoc de Dunn com a comparação entre as classes de tamanho do grupo controle.

Fonte: Da autora (2023)

Figura 7 – Filamentos de bissos produzidos pelo grupo controle.



Legenda: Número de filamentos bissais produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo controle, pertencentes a diferentes classes de tamanho.: < 12 mm (mexilhões menores); 13 – 17 mm (mexilhões médios); > 18 mm (mexilhões grandes). O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

#### 4.1.2 GRUPO NÃO-PREDADOR

Quanto às unidades experimentais expostas à *P. lineatus*, comparações entre classes de tamanho foram feitas e o teste de Kruskal Wallis mostrou diferença significativa nas medianas dos grupos ( $X^2_{(2)} = 9,0387$ ;  $p = 0,0109$ ) (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados do Teste de Kruskal Wallis para os filamentos de bissos produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo exposto a *P. lineatus*.

Variável	CT	N	Qi	Md	Qs	p
	< 12	54	15	25,5	31	
Produção de bissos	13 – 17	59	15	25	44	0,0109
	> 18	61	14,25	41,5	65,5	

Legenda: Diferentes classes de tamanho (CT). N (tamanho da amostra), Qi (quartil inferior), Md (mediana), Qs (quartil superior) e valor de *p*.

Fonte: Da autora (2023)

As comparações entre as diferentes classes de tamanho revelaram que a produção de bissos em mexilhões menores difere de maneira significativa em relação aos mexilhões grandes ( $p = 0,00794$ ). No entanto, o teste não indicou diferenças significativas na produção de bissos entre os mexilhões menores e médios ( $p > 0,05$ ), nem entre os indivíduos médios e grandes ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4, Figura 8).

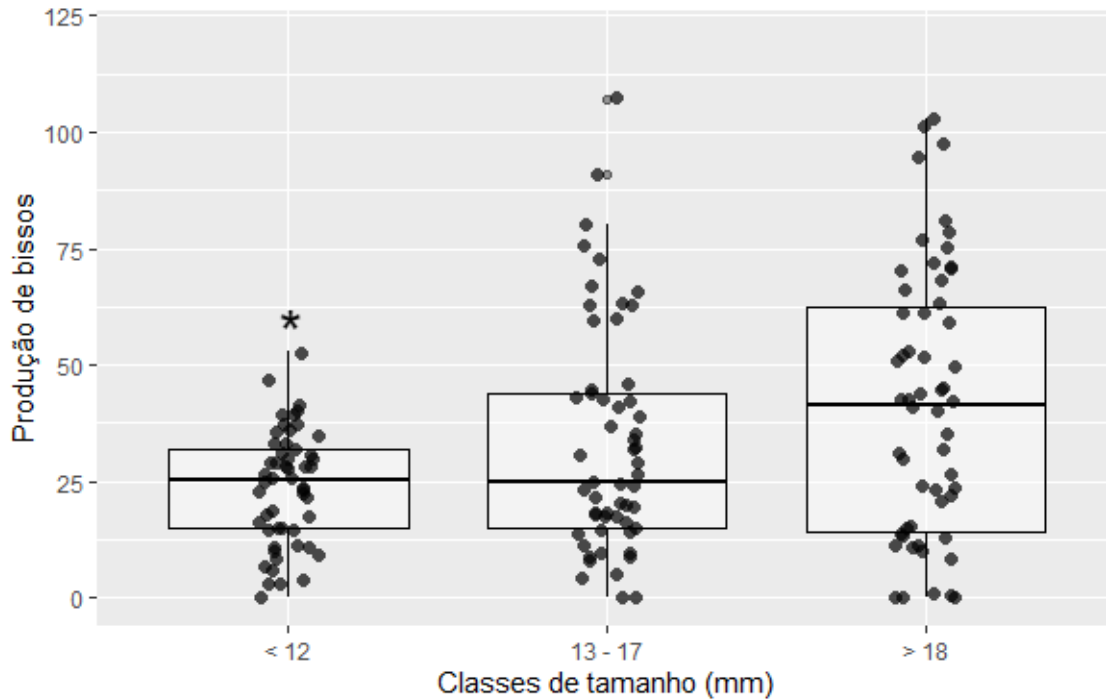
Tabela 4: Post-hoc da comparação entre classes.

Variável	Grupo 1	Grupo 2	<i>p</i>
	< 12	> 18	0,00794
Produção de bissos	< 12	13 - 17	0,331
	> 18	13 - 17	0,465

Legenda: Resultados do Teste de Post-hoc de Dunn com a comparação entre as classes de tamanho de indivíduos expostos à *P. lineatus*.

Fonte: Da autora (2023)

Figura 8 – Filamentos de bissos produzidos pelo grupo “não-predador”.



Legenda: Número de filamentos bissais produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo exposto à *P. lineatus*, pertencentes a diferentes classes de tamanho.: < 12 mm (mexilhões menores); 13 – 17 mm (mexilhões médios); > 18 mm (mexilhões grandes). O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

#### 4.1.3 GRUPO PREDADOR

Ao analisarmos o grupo exposto à *P. mesopotamicus*, realizamos comparações da produção de bissos entre diferentes classes de tamanho. No entanto, o teste de Kruskal-Wallis não revelou diferença significativa entre as medianas dos grupos ( $X^2(2) = 6.0618$ ;  $p > 0,05$ ) (Tabela 5, Figura 9).

Tabela 5: Resultados do Teste de Kruskal Wallis para os filamentos de bissos produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo exposto a *P. mesopotamicus*.

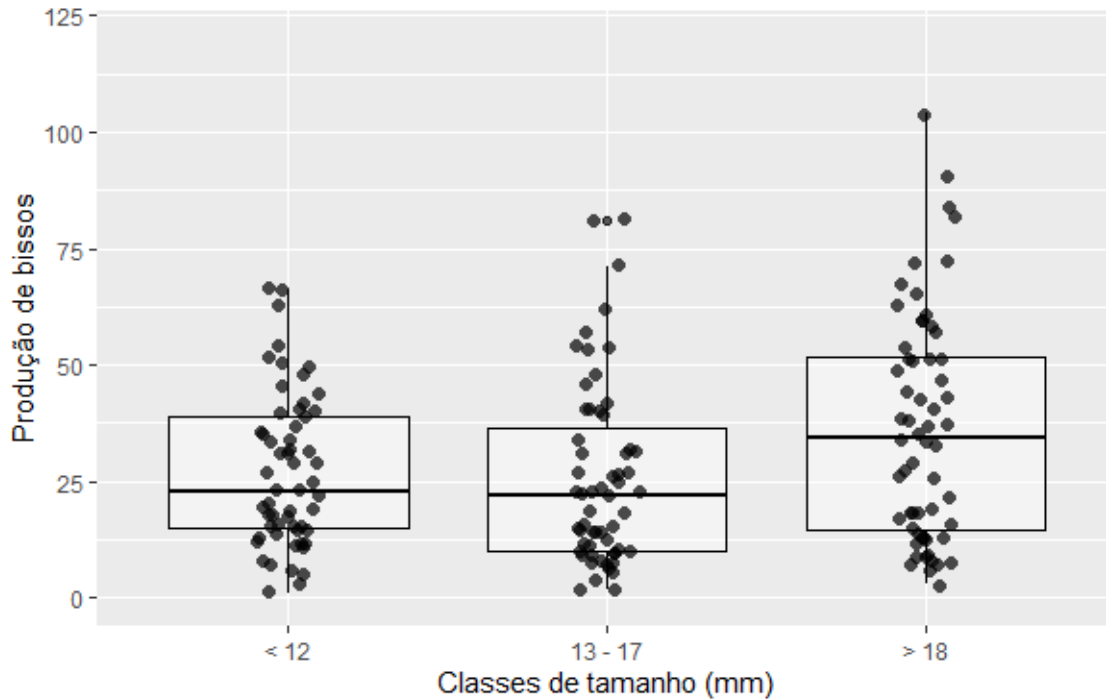
Variável	Tamanho (mm)	N	Qi	Md	Qs	<i>p</i>
	< 12	58	15	23	39	
Produção de bissos	13 – 17	60	10	22,5	29,25	> 0,05
	> 18	60	14,75	34,5	51,75	

Legenda: Diferentes classes de tamanho (CT). N (tamanho da amostra), Qi (quartil inferior), Md (mediana), Qs (quartil superior) e valor de *p*.

Fonte: Da autora (2023)



Figura 9 – Filamento de bissos produzido pelo grupo “predador”.



Legenda: Número de filamentos bissais produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo exposto à *P. mesopotamicus*, pertencentes a diferentes classes de tamanho.: < 12 mm (mexilhões menores); 13 – 17 mm (mexilhões médios); > 18 mm (mexilhões grandes). O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos e os pontos expressam a variação dos dados.

Fonte: Da autora (2023)

#### 4.1.4 GRUPO COESPECÍFICOS FRAGMENTADOS

Foram realizadas comparações na produção de bissos entre indivíduos de diferentes classes de tamanho expostos a coespecíficos fragmentados, e o teste de Kruskal-Wallis revelou diferenças significativas nas medianas dos grupos. ( $X^2(2) = 23.196$ ;  $p = 0,000009184$ ) (Tabela 6).

Tabela 6 - Resultados do Teste de Kruskal Wallis para os filamentos de bissos produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo exposto a coespecíficos fragmentados.

Variável	CT	N	Qi	Md	Qs	<i>p</i>
	< 12	60	10	26	35,25	
Produção de bissos	13 – 17	60	12	19,50	33,25	0,000009184
	> 18	60	20,25	61	87,75	

Legenda: Diferentes classes de tamanho (CT). N (tamanho da amostra), Qi (quartil inferior), Md (mediana), Qs (quartil superior) e valor de *p*.

Fonte: Da autora (2023)

Análises a posteriori (post-hoc) indicaram diferença significativa entre os grupos de indivíduos menores e grandes ( $p < 0,001$ ) e entre indivíduos médios e grandes ( $p < 0,001$ ). No entanto, não encontramos diferença significativa entre os grupos de indivíduos menores e médios ( $p = 1$ ) (Tabela 7, Figura 10).

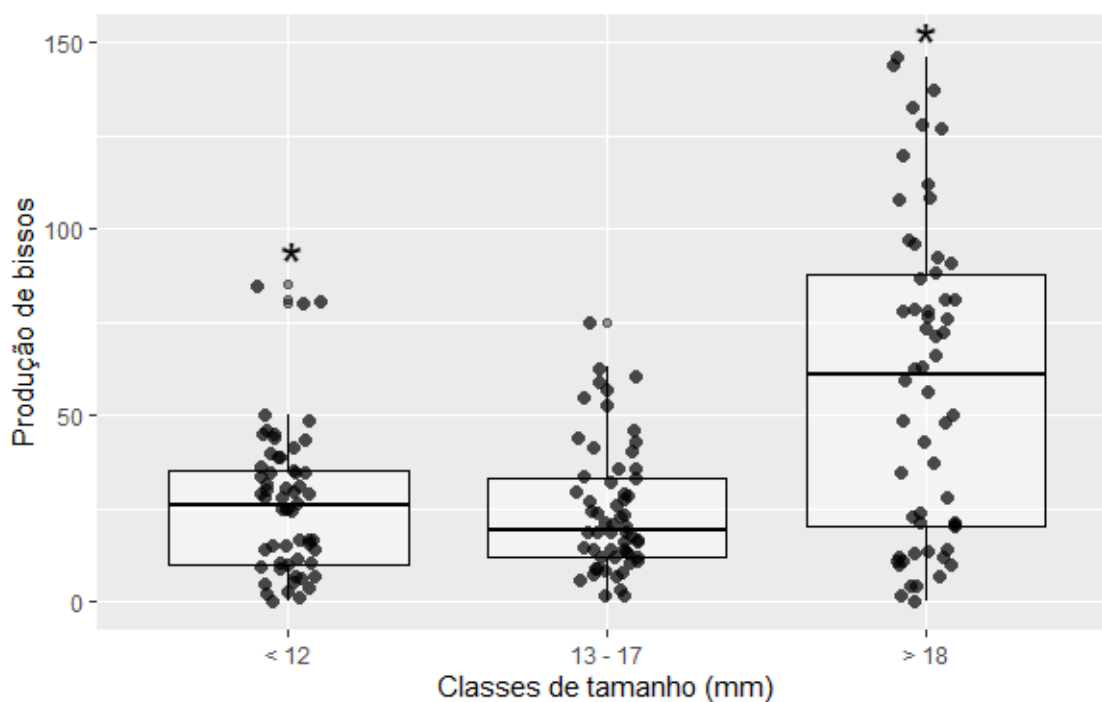
Tabela 7 – Post-hoc com a comparação entre classes

Variável	Grupo 1	Grupo 2	$p$
	< 12	> 18	0,000161
Produção de bissos	< 12	13 - 17	1
	> 18	13 - 17	0,0000485

Legenda: Resultados do Teste de Post-hoc de Dunn com a comparação entre as classes de tamanho de indivíduos expostos à coespecíficos fragmentados.

Fonte: Da autora (2023)

Figura 10 – Filamentos de bissos produzidos pelo grupo “coespecíficos fragmentados”.



Legenda: Número de filamentos bissais produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* do grupo exposto à coespecíficos fragmentados, pertencentes a diferentes classes de tamanho.: < 12 mm (mexilhões menores); 13 – 17 mm (mexilhões médios); > 18 mm (mexilhões grandes). O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

## 4.2 PRODUÇÃO DE BISSOS

A exposição aos diferentes tratamentos afetou positivamente a produção de bissos (i.e. aumentando o número de filamentos) de *L. fortunei* em relação ao controle, porém de maneira diferenciada entre as classes de tamanho (Tabela 8). Em relação aos indivíduos menores,

observamos um aumento significativo na produção de biscoitos em todos os tratamentos. Os indivíduos submetidos ao peixe predador responderam com um aumento expressivo na produção de filamentos de biscoitos, apresentando um crescimento de 126% em relação ao grupo controle. A produção de biscoitos por indivíduos menores foi fortemente afetada pela presença das espécies de peixes bem como de coespecíficos fragmentados, os quais produziram quantidades de biscoitos significativamente maiores ( $p_{T1} < 0,0001$ ;  $p_{T2} < 0,0001$ ;  $p_{T3} < 0,0001$ ) com relação ao controle (Tabela 9, Figura 11).

Tabela 8 - Média e desvio padrão da produção de biscoitos

Tratamentos	Classes de tamanho (mm)					
	< 12		13 – 17		> 18	
	$\mu$	$\sigma$	$\mu$	$\sigma$	$\mu$	$\sigma$
C	11,278	7	20,171	17,722	26,224	21,749
T1	23,370	12,417	32,912	24,315	40,758	28,912
T2	27,350	16,219	27,683	23,210	36,7	24,219
T3	25,983	19,254	24,667	17,103	59,137	42,211

Legenda: Valores de média e desvio padrão do número de biscoitos produzidos por exemplares de *Limnoperna fortunei* de diferentes classes de tamanho, submetidos a diferentes tratamentos. C – Controle, T1 - *Prochilodus lineatus*, T2 - *Piaractus mesopotamicus* e T3 - Coespecíficos fragmentados.

Fonte: Da autora (2023)

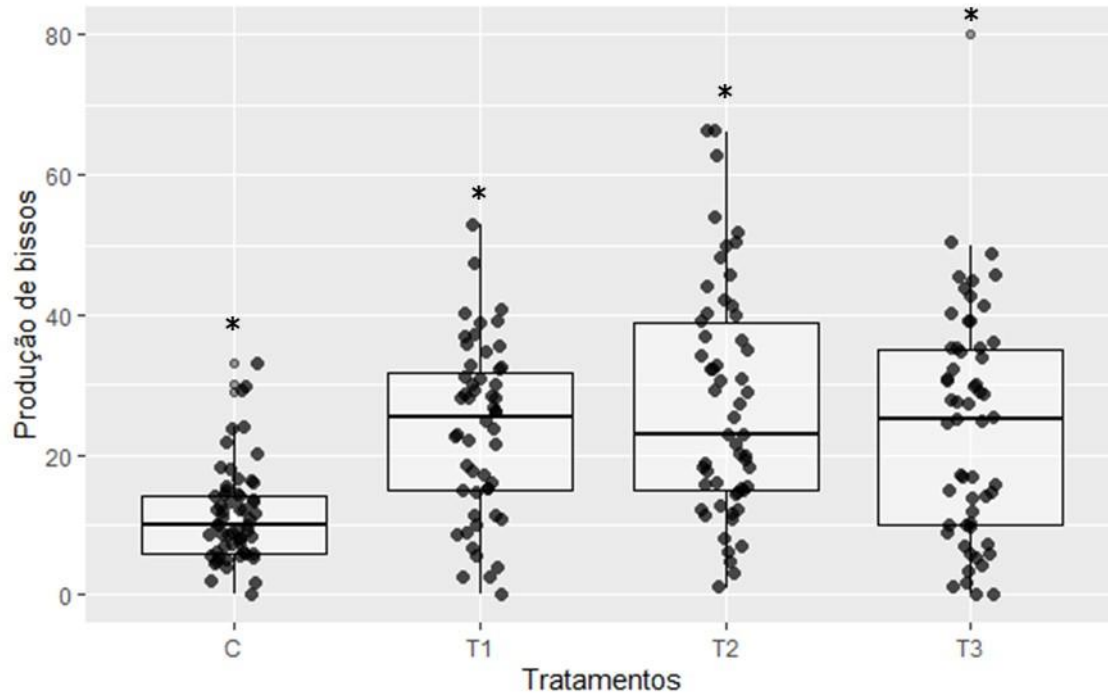
Tabela 9 - Resultados Modelo Linear Generalizado Misto

	< 12		
	$\beta$	$z$	$p$
C	2,42291	25,668	< 0,001
T1	0,72855	5,411	< 0,0001
T2	0,88584	6,690	< 0,0001
T3	0,83454	6,376	< 0,0001

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, explicando a relação entre a produção de biscoitos de *L. fortunei* de tamanhos menores em diferentes tratamentos.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)

Figura 11 – Filamentos de bissos produzidos por mexilhões menores



Legenda: Produção de bissos por indivíduos menores submetidos a tratamentos diferentes: C – Controle, T1 – *P. lineatus*, T2 – *P. mesopotamicus*, T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

Em relação aos indivíduos de *L. fortunei* de tamanhos médios, os exemplares com maior produção de bissos foram os indivíduos expostos ao peixe não-predador, apresentando um aumento de 45% em relação ao grupo controle. Apesar disso, nesse grupo de indivíduos testados, a emissão de bissos não foi dependente da presença do peixe predador e coespecíficos fragmentados. As análises estatísticas mostraram um resultado significativo apenas no tratamento com a presença do peixe não-predador, apontando uma forte evidência que *P. lineatus* afeta positivamente a emissão de bissos em mexilhões médios ( $p = 0,003$ ). Entretanto, os dados não mostraram influência entre a presença de *P. mesopotamicus* ( $p = 0,051$ ) e coespecíficos fragmentados ( $p = 0,2$ ) e a emissão de bissos por *L. fortunei* dessa classe de tamanho (Tabela 10, Figura 12)

Tabela 10 – Resultados Modelo Linear Generalizado Misto.

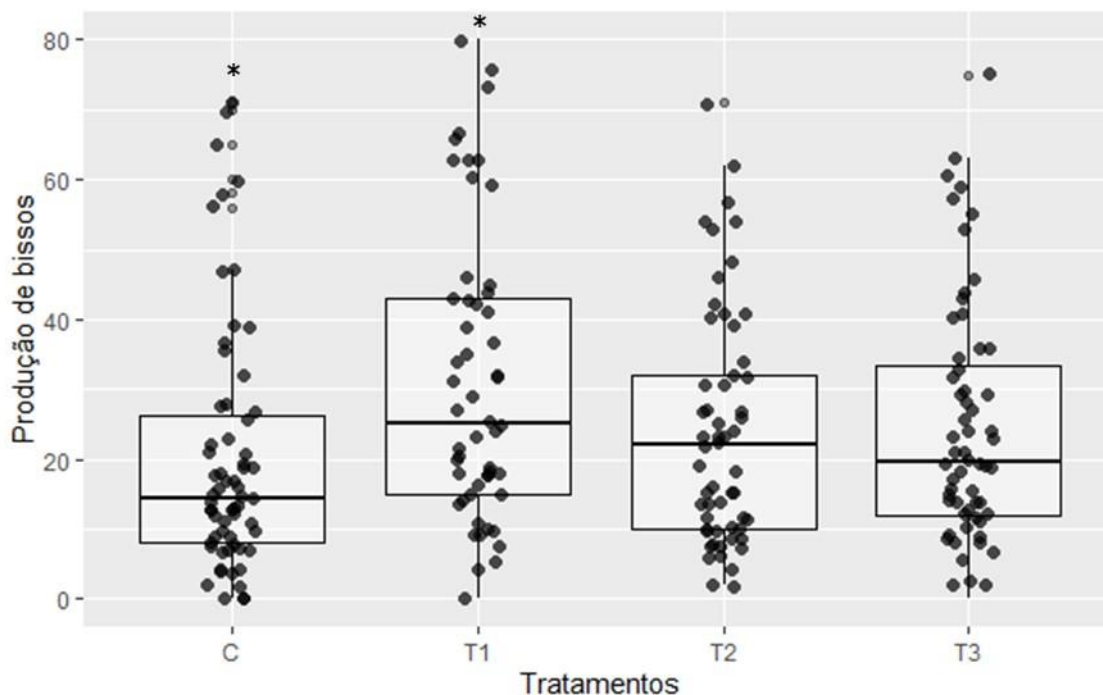
	13 - 17		
	$\beta$	$z$	$p$
C	2,9889	25,712	< 0,001
T1	0,4893	2,949	0,003

T2	0,3203	1,949	0,051
T3	0,2070	1,258	0,2

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, explicando a relação entre a produção de bisco de *L. fortunei* de tamanhos médios em diferentes tratamentos.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)

Figura 12 – Filamentos de bisco produzidos por mexilhões médios.



Legenda: Produção de bisco por indivíduos médios submetidos a tratamentos diferentes: C – Controle, T1 – *P. lineatus*, T2 – *P. mesopotamicus*, T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

Encontramos resultados semelhantes no grupo de indivíduos grandes, que quando expostos à coespecíficos fragmentados mostraram uma produção de bisco 125% maior em relação ao grupo controle. Enquanto isso, os indivíduos de *L. fortunei* expostos ao tratamento com um peixe não-predador mostraram uma produção de filamentos de bisco 55% maior em relação ao grupo controle e os exemplares submetidos ao tratamento com o peixe predador mostraram uma produção de bisco de 44,77% maior em relação ao grupo controle. As análises mostraram forte evidência que a produção de bisco foi positivamente afetada pela presença de *P. lineatus* e coespecíficos fragmentados ( $p_{T1} = 0,005$ ;  $p_{T3} < 0,001$ ). E evidência moderada

sobre o efeito positivo da produção de bissos na presença de *P. mesopotamicus* ( $p_{T2} < 0,04$ ) (Tabela 11, Figura 13)

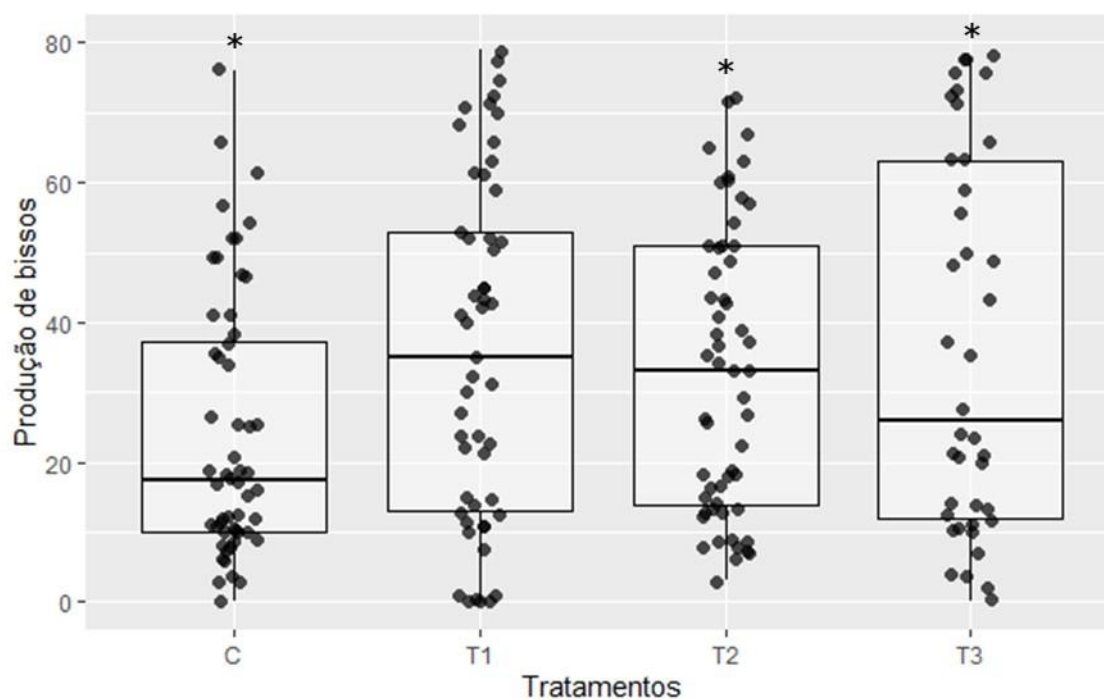
Tabela 11: Resultados do Modelo Linear Generalizado Misto.

	> 18 mm		
	$\beta$	$z$	$p$
C	3,2667	28,778	< 0,001
T1	0,4410	2,760	0,005
T2	0,3361	2,119	< 0,04
T3	0,8132	5,102	< 0,001

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, explicando a relação entre a produção de bissos de indivíduos grandes e a exposição aos diferentes tratamentos.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)

Figura 13 – Filamentos de bissos produzidos por mexilhões grandes



Legenda: Produção de bissos por indivíduos grandes submetidos a tratamentos diferentes: C – Controle, T1 – *P. lineatus*, T2 – *P. mesopotamicus*, T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

### 4.3 COMPORTAMENTO DE AGREGAÇÃO

Em relação ao comportamento de agregação de *L. fortunei* menores, as unidades experimentais expostas à coespecíficos fragmentados mostraram maior média de agregação,

86%, seguidas pelas unidades expostas a *P. lineatus*, que apresentaram uma média de 83%. O grupo controle mostrou média de agregação de 79%. Por fim, os indivíduos expostos à *P. mesopotamicus* mostraram a menor média de agregação, 69%. A porcentagem de agregação dos indivíduos não mostrou dependência da presença tanto de peixes predadores como de peixes não predadores, assim como de coespecíficos fragmentados. Desse modo, não foram observadas diferenças significativas na agregação dos indivíduos entre o grupo controle e os diferentes tratamentos (Tabela 12, Figura 14).

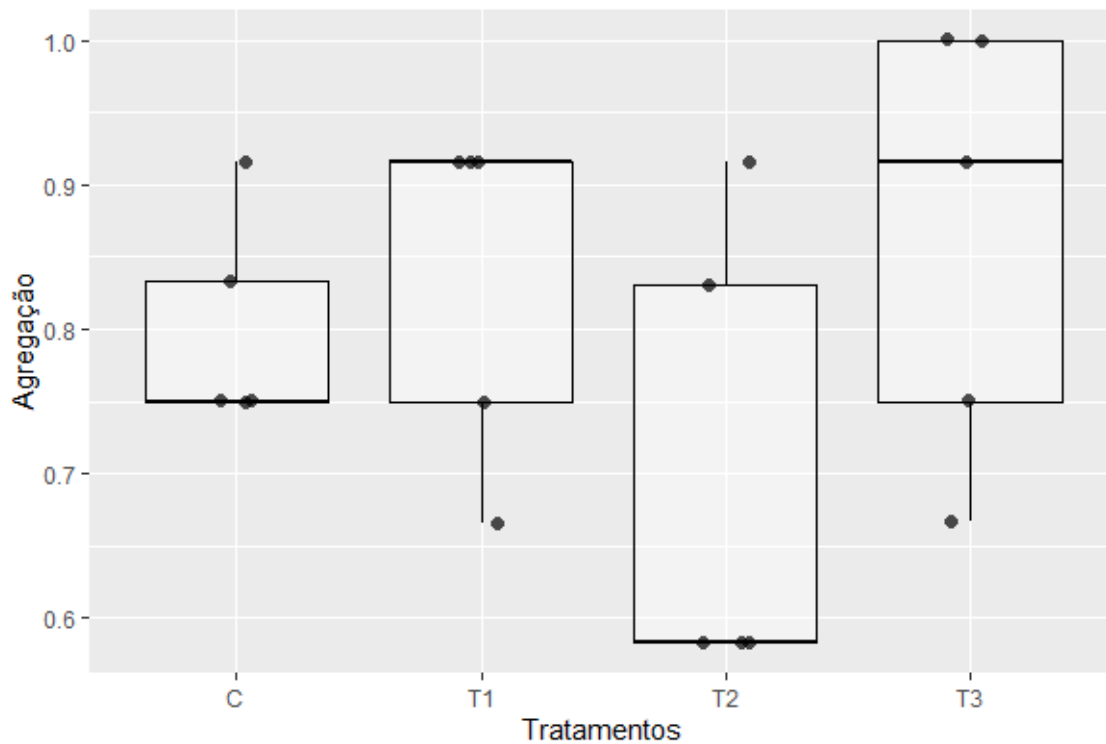
Tabela 12: Resultados do Modelo linear generalizado misto.

	$\beta$	$z$	$p$
C	-0,22334	-0,447	0,655
T1	0,04038	0,058	0,954
T2	-0,13476	-0,184	0,854
T3	0,08016	0,116	0,908

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, mostrando a relação entre a agregação (%) de *L. fortunei* menores em diferentes tratamentos.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$

Fonte: Da autora (2023)

Figura 14 – Porcentagem de agregação de mexilhões menores.



Legenda: Agregação de indivíduos menores submetidos a tratamentos diferentes: C – Controle, T1 – *P. lineatus*, T2 – *P. mesopotamicus*, T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores

mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

No grupo dos indivíduos de tamanho médio, as unidades experimentais expostas a *P. mesopotamicus* exibiram uma maior taxa média de agregação, alcançando 86%. Logo em seguida, as unidades referentes ao grupo controle apresentaram uma média de agregação de 84%. Já o grupo de indivíduos expostos a *P. lineatus* registrou uma média de agregação de 78%. Por fim, os indivíduos expostos a coespecíficos fragmentados apresentaram a menor média de agregação, com 74%. A presença de peixes predadores, peixes não predadores ou coespecíficos fragmentados não influenciou significativamente a porcentagem de agregação nos indivíduos de tamanho médio. Portanto, não foram observadas diferenças significativas na agregação entre o grupo controle e os diferentes tratamentos (Tabela 13, Figura 15).

Tabela 13 - Resultados do Modelo Linear Generalizado Misto.

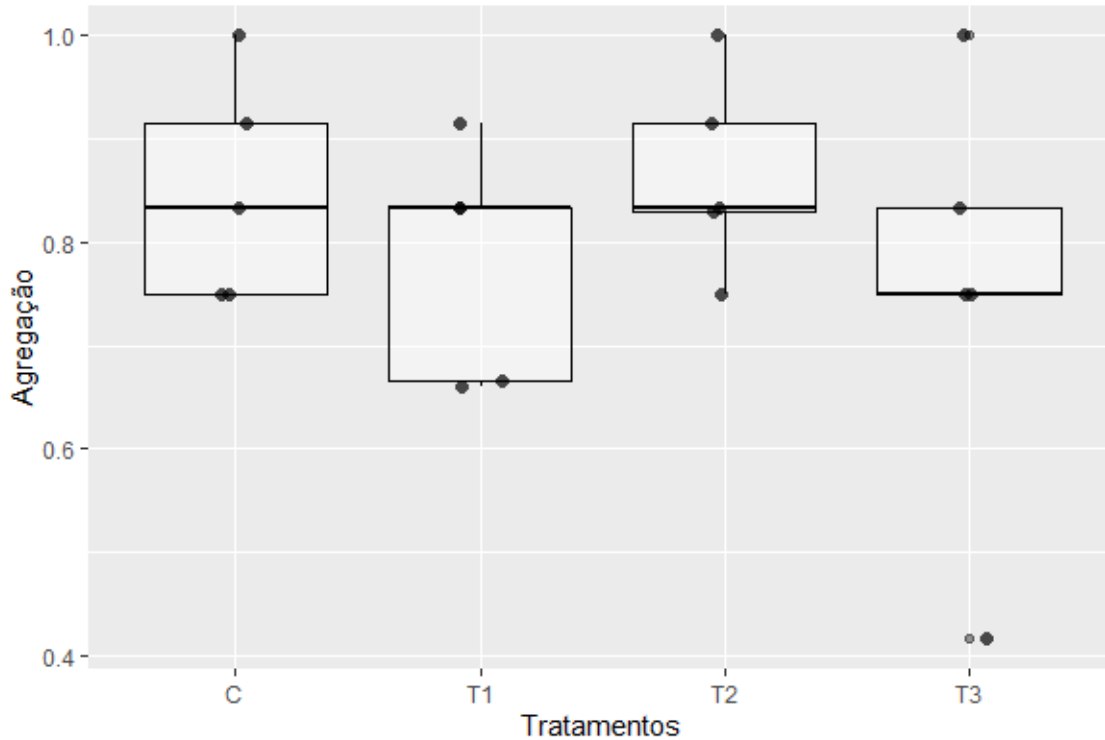
	$\beta$	$z$	$p$
C	-0,16271	-0,820	0,412
T1	-0,08373	-0,295	0,768
T2	0,01863	0,028	0,978
T3	-0,12514	-0,319	0,749

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, mostrando a relação entre a agregação (%) de *L. fortunei* médios em diferentes tratamentos.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)



Figura 15 – Porcentagem de agregação de mexilhões médios.



Legenda: Agregação de indivíduos médios submetidos a tratamentos diferentes: C – Controle, T1 – *P. lineatus*, T2 – *P. mesopotamicus*, T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

Com relação aos indivíduos grandes, as unidades experimentais expostas a *P. mesopotamicus* registraram uma média de agregação de 93%. Em seguida, o grupo controle apresentou uma média de 89%. Por fim, tanto as unidades experimentais expostas a *P. lineatus* quanto aquelas expostas a coespecíficos fragmentados apresentaram uma média de agregação de 83%. A porcentagem de agregação nos indivíduos grandes não demonstrou dependência da presença de peixes predadores, peixes não predadores ou coespecíficos fragmentados. Logo, não foram observadas diferenças significativas na agregação dos indivíduos entre o grupo controle e os diferentes tratamentos (Tabela 14, Figura 16).

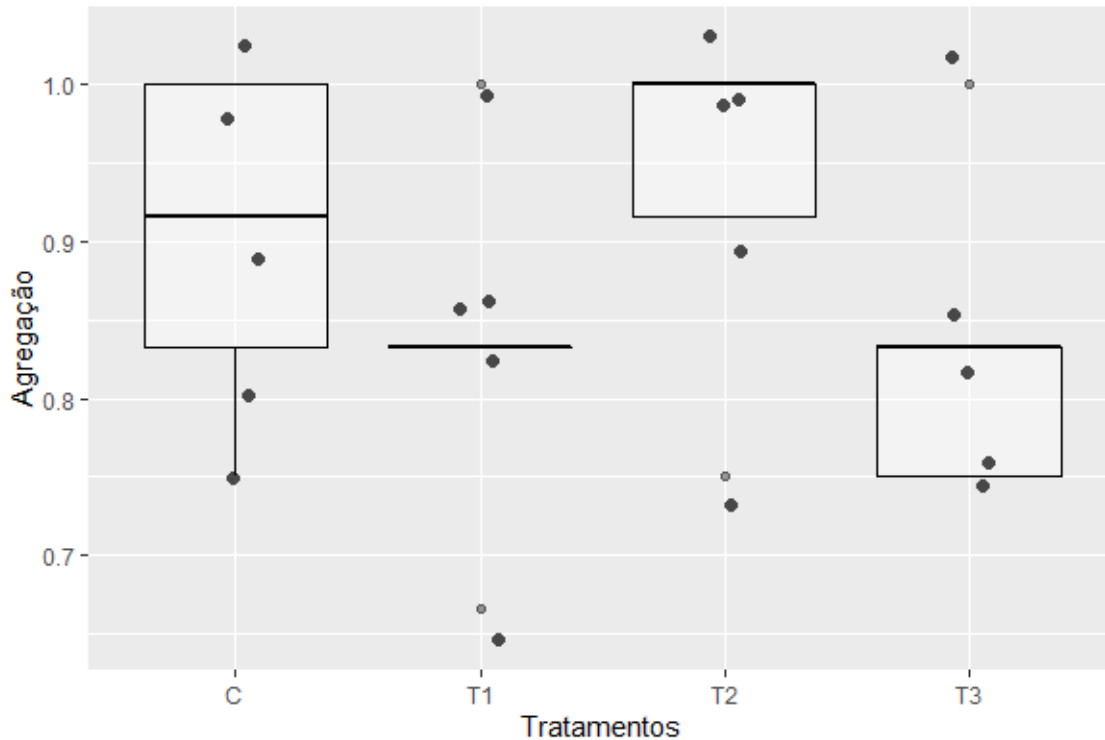
Tabela 14: Resultados do Modelo linear generalizado misto.

	$\beta$	$z$	$p$
C	1,17158	18,373	< 0,0001
T1	0,09652	1,070	0,284
T2	-0,03047	-0,338	0,735
T3	0,05202	0,577	0,564

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, mostrando a relação entre a agregação (%) de *L. fortunei* grandes em diferentes tratamentos.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)

Figura 16 – Porcentagem de agregação de mexilhões grandes.



Legenda: Agregação de indivíduos grandes submetidos a tratamentos diferentes: C – Controle, T1 – *P. lineatus*, T2 – *P. mesopotamicus*, T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

#### 4.4 COMPORTAMENTO DE RASTEJO

Ao avaliarmos as distâncias percorridas horizontalmente por indivíduos de *L. fortunei*, observamos que 70% dos exemplares se moveram pela areia (42 indivíduos), enquanto os demais 30% (18 indivíduos) permaneceram nas posições iniciais. As unidades experimentais referentes ao grupo de controle se moveram um total de 768,305 milímetros. Em seguida, os indivíduos de *L. fortunei* expostos à vestígios de alarme de *P. lineatus*, percorreram um total de 623,859 milímetros na areia, um valor 18,80% menor que o grupo controle. O grupo exposto à coespecíficos fragmentados apresentou um declínio de 30,74% na distância percorrida, em comparação com o grupo controle, contando com 534,1698 milímetros. E, por fim, os indivíduos de *L. fortunei* exposto à vestígios de alarme de *P. mesopotamicus* responderam com

a menor movimentação, com 479,918 milímetros, 37,53% menor que o grupo controle. A exposição aos sinais de risco afetou o padrão de movimento de *L. fortunei*, o qual pode ser observado pelas menores distâncias percorridas pelos indivíduos nos tratamentos em relação ao controle. Após 180 minutos, foi possível observar que os exemplares de *L. fortunei* percorreram distâncias significativamente menores na presença de efluentes de coespecíficos fragmentados ( $p = 0,0389$ ) e de *P. mesopotamicus* ( $p = 0,0360$ ) do que aquelas observadas no controle. Todavia, as distâncias percorridas por *L. fortunei* expostos à efluentes de *P. lineatus* não diferiram significativamente daquelas observadas no controle ( $p > 0,05$ ) (Tabela 15, Figura 17).

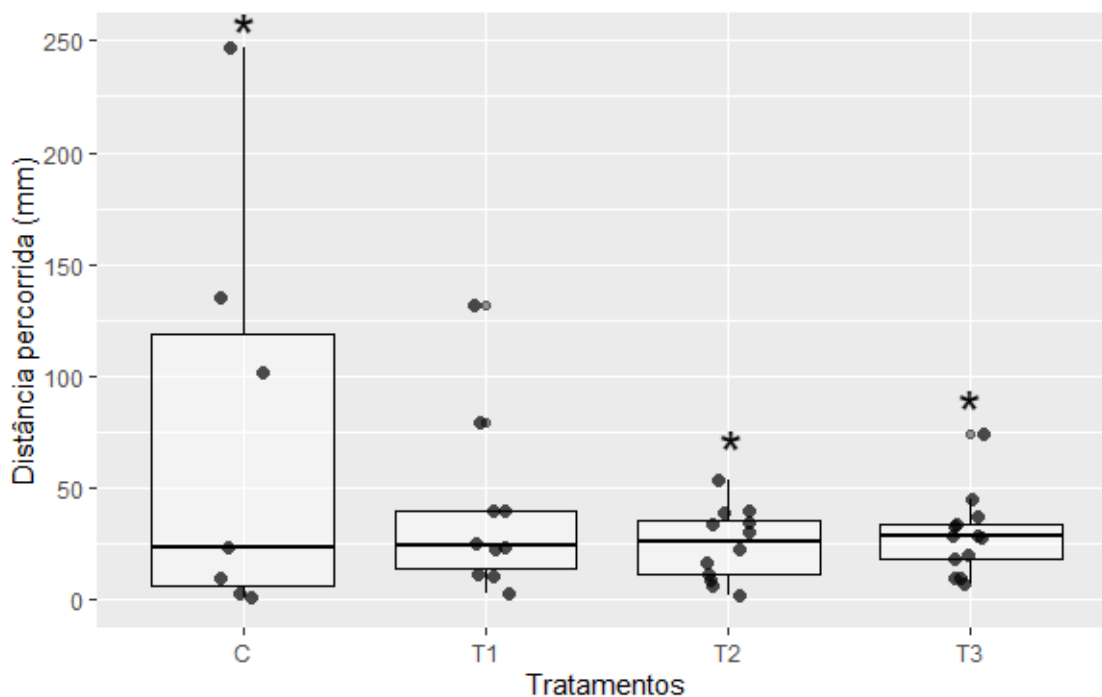
Tabela 15 – Resultados do Modelo linear generalizado misto.

	$\beta$	$z$	$p$
C	2,1345	6,275	< 0,00001
T1	-0,5654	-1,247	0,2125
T2	-0,9343	-2,097	0,0360
T3	-0,9036	-2,066	0,0389

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, mostrando a relação entre o movimento de *L. fortunei*, em milímetros, em tratamentos diferentes.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)

Figura 17 – Comportamento de rastejo



Legenda: Distância percorrida por *L. fortunei* (depois de 180 minutos) em tratamentos diferentes: C – Controle; T1 – *P. lineatus*; T2 – *P. mesopotamicus*; T3 – Coespecíficos fragmentados. O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

#### 4.5 COMPORTAMENTO DE ESCALADA

Quanto à distância percorrida verticalmente, observamos que apenas 30,27% dos indivíduos se movimentaram através das paredes dos tubos (109 indivíduos), os outros 69,73% permaneceram imóveis nas suas posições iniciais (251 indivíduos). O grupo de indivíduos que mais se movimentou foi o grupo de *L. fortunei* expostos à vestígios de alarme liberados por *P. lineatus*, com uma movimentação total de 236,0934 milímetros, um valor 42,11% maior que o grupo controle (com 166,1328 milímetros percorridos). Em seguida, o grupo de indivíduos expostos à vestígios de *P. mesopotamicus* se movimentaram um total de 189,9194 milímetros, valor 14,31% maior que o grupo controle. E, por fim, as unidades experimentais expostas à coespecíficos fragmentados tiveram a menor movimentação entre todos os tratamentos, com 26,53 milímetros, 15% da movimentação correspondente ao grupo controle. As distâncias percorridas verticalmente por *L. fortunei* não foram dependentes da presença de efluentes tanto das espécies de peixes como de coespecíficos fragmentados. Dessa forma, não foram observadas diferenças significativas entre as distâncias verticais percorridas pelos indivíduos no controle (ausência de efluentes; C) e nos tratamentos T1, T2 e T3 (presença de efluentes de *P. lineatus*, *P. mesopotamicus* e coespecíficos fragmentados, respectivamente) (Tabela 16, Figura 18).

Tabela 16: Resultados do Modelo linear generalizado misto.

	$\beta$	$z$	$p$
C	1,5574	10,922	< 0,0001
T1	0,1932	1,007	0,314
T2	0,2552	1,249	0,212
T3	-0,1284	-0,362	0,718

Legenda: Parâmetros e valores de  $p$  estimados usando um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), com distribuição binomial negativa, mostrando a relação entre o movimento vertical de *L. fortunei*, em milímetros, em tratamentos diferentes.  $\beta$  = Coeficiente angular estimado ou probabilidade predita, estimate/odds ratio;  $p$  = valor de  $p$ .

Fonte: Da autora (2023)

Figura 18 – Comportamento de escalada

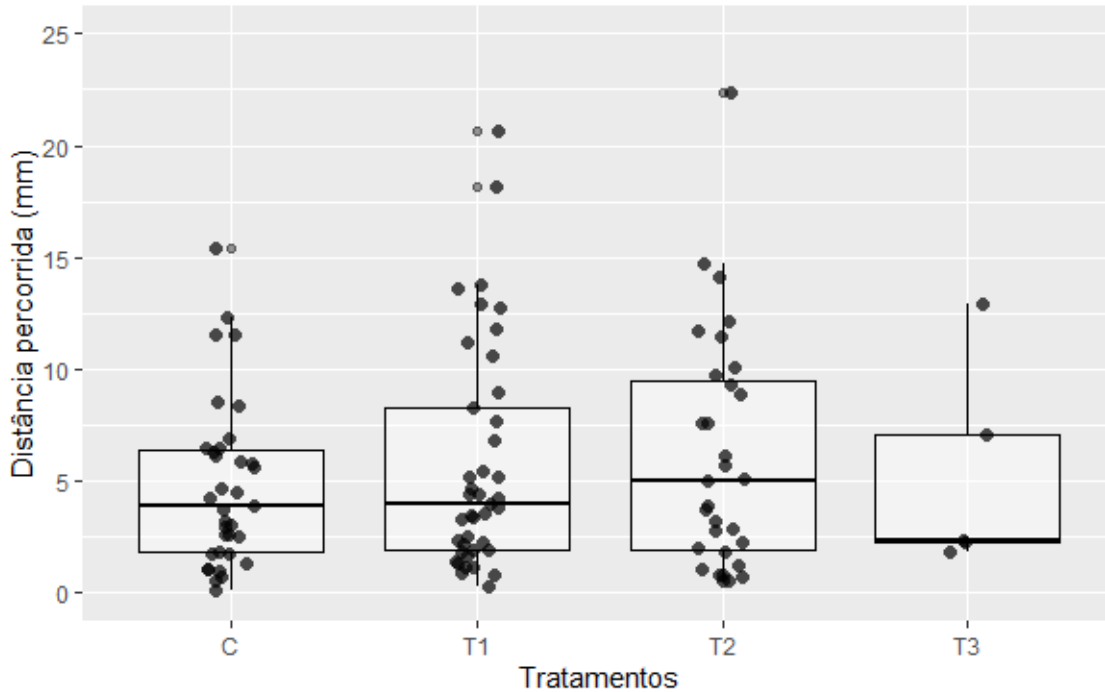


Figura 18: Distância percorrida (mm) por *L. fortunei* após 180 minutos na ausência de efluentes (Controle; C) e na presença de efluentes de *P. lineatus* (T1), *P. mesopotamicus* (T2) e Coespecíficos fragmentados (T3). O boxplot mostra as linhas horizontais como as medianas, as caixas indicam os quartis, os traços verticais mostram os valores mínimos e máximos, os pontos expressam a variação dos dados e os grupos marcados com asterisco (\*) mostram os resultados estatisticamente significativos.

Fonte: Da autora (2023)

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo trouxe as primeiras evidências acerca das respostas adaptativas de *L. fortunei* ao novo ambiente, especificamente aos novos predadores, as quais foram mediadas via sinais químicos liberados na água pelos últimos. Observou-se que *L. fortunei* reagiram à presença de sinais químicos liberados por peixes e coespecíficos fragmentados, entretanto, como as espécies de peixes utilizadas neste estudo não se alimentaram de mexilhões, assumimos que *L. fortunei* foram afetados somente pela presença dos peixes. A habilidade de uma adaptação rápida a um novo território, incluindo novos predadores, pode ser crucial para o sucesso de espécies não nativas em novos ambientes (Yoshida et al., 2003; Jermacz et al., 2017). As respostas defensivas exibidas por *L. fortunei* (i.e. aumento na produção de biscoes e redução dos movimentos), quando expostos à presença e/ou efluentes de diferentes peixes e coespecíficos fragmentados, apontam para a sua capacidade de detecção de sinais de alarme e reação defensiva, confirmando a primeira hipótese. Dessa forma, os achados deste trabalho representam um avanço no conhecimento sobre as relações ecológicas do invasor *L. fortunei*

no novo ambiente, sugerindo a ocorrência de interações químicas com diferentes espécies, como observado em outros bivalves (Reimer & Harms-Ringdahl, 2001; Kobak & Kakareko, 2009).

## 5.1 PRODUÇÃO DE BISSOS

Os resultados indicam que *L. fortunei* demonstra uma capacidade significativa de aumentar a produção de bissos na presença de predadores em potencial, o que pode ter um impacto direto na taxa de sobrevivência dos indivíduos. Essa resposta adaptativa é consistente com estudos anteriores realizados por Reimer e Tedengren (1997) em mexilhões da espécie *Mytilus edulis*, no qual foi observado um aumento na emissão de bissos por parte do mexilhão em resposta à presença de predadores. Esse comportamento pode ser interpretado como uma adaptação para reduzir o risco de predação, uma vez que mexilhões com uma fixação mais forte têm menor probabilidade de serem desalojados e, segundo Nagelkerke & Sibbing (1996), certos predadores podem optar por presas menos aderidas, abandonando aquelas com fixação mais forte ao substrato. Nossos resultados mostraram essa resposta mais claramente em *L. fortunei* de tamanhos menores, pois estão sujeitos a um maior risco de predação, devido a uma variedade de predadores com hábitos oportunistas que têm preferência por presas menores (Lopes & Vieira, 2012; Catanhêde, 2008). Além disso, os mexilhões menores são mais facilmente desalojados do substrato por diversos fatores o que os torna mais expostos à predação (Hunt & Scheibling, 2001).

Neste estudo, foi observado um aumento significativo na produção de bissos por *L. fortunei* em resposta à coespecíficos fragmentados. Essa resposta é consistente com estudos anteriores que também mostraram comportamentos semelhantes em mexilhões de outras espécies expostos a esse mesmo tipo de efluente (Cheung, 2004; Cheung 2007; Cotê, 1996). Nossos resultados mostraram que o efeito de coespecíficos fragmentados é mais forte em comparação com sinais químicos de predadores potenciais, concordando com as suposições de Palmer (1990), de que sinais químicos liberados por peixes predadores sozinhos nos arredores, mas não se alimentando de mexilhões, aparentemente representam um risco de predação menos imediato. Assim, o aumento na produção de bissos por *L. fortunei* em resposta a efluentes de coespecíficos fragmentados pode representar um sinal indicando a presença de um predador (i.e. evidência indireta de forrageamento de predadores), ou seja, uma resposta anti-predatória relacionada à sinais de alarme de coespecíficos contidos nos efluentes de predadores (Chivers e Smith, 1998). Ao conduzirmos testes sobre as respostas de *L. fortunei* à presença de um peixe não-predador, constatamos um aumento significativo na produção de bissos, principalmente em

indivíduos de tamanho médio, quando expostos à *P. lineatus*, um peixe que não oferece ameaça e não possui histórico evolutivo com *L. fortunei*. Resultados diferentes são reportados ao testar comportamento de mexilhões em relação a animais que não representam ameaça (Kobak & Kakareko, 2009). Alguns fatores podem estar por trás dessa resposta: (a) defesas antipredatórias generalizadas para peixes taxonomicamente próximos; (b) compostos ativos de cairomônios emitidos por diversas espécies de peixes são similares; (c) resposta universal à peixes em jejum. No primeiro caso, segundo Sih (2010), a similaridade taxonômica desempenha um papel crucial na interação entre predadores e presas, e quando as presas não têm uma história evolutiva compartilhada com predadores não nativos, é esperado que mostrem respostas antipredatórias fracas e sejam mais suscetíveis a sofrerem predação intensa quando dependem de defesas antipredatórias especializadas. No entanto, presas que possuem defesas antipredatórias generalizadas, ou seja, mecanismos de defesa que funcionam contra uma variedade de predadores independentemente de sua identidade específica, têm uma maior capacidade de proteção contra predadores novos, mesmo sem uma história evolutiva prévia com eles (Sih, 2010). Ferrari (2014) investigou a generalização do reconhecimento de predadores aprendido por presas e em seu trabalho utilizou a espécie de peixe *Pimephales promelas* como modelo de presa e os resultados indicaram que essa espécie de peixe tem a capacidade de generalizar o reconhecimento de predadores para espécies relacionadas taxonomicamente. Essa capacidade de generalização pode depender da história evolutiva de predação experimentada por cada presa, além da previsibilidade da predação (Sih, 2010; Ferrari, 2014). Embora a generalização do reconhecimento de predadores ofereça uma resposta eficiente, permitindo que as presas reajam prontamente a estímulos similares e evitem a avaliação individual de cada novo predador, é importante ressaltar que respostas excessivas podem levar a reações defensivas desnecessárias, resultando em desperdício de energia e recursos (Ferrari, 2014). Portanto, pode ser que *L. fortunei* também possua um comportamento generalizado de evitação de predação e responda de maneira semelhante à presença de diferentes espécies de peixes, mesmo que não compartilhem uma história evolutiva, sugerindo uma estratégia defensiva amplamente aplicável.

Outro fator que pode ser considerado para explicar a resposta de *L. fortunei* à presença de *P. lineatus* é quanto a natureza dos compostos ativos presentes nos cairomônios. Um estudo químico realizado por von Elert e Pohnert (2000) analisou a especificidade dos cairomônios no comportamento defensivo de migração vertical em espécies de *Daphnia*. Os resultados desse trabalho sugerem que os cairomônios dos predadores investigados no estudo não são altamente

especializados, mas compartilham algumas características químicas em comum, como: moléculas com baixo peso molecular, natureza lipofílica moderada e provavelmente são derivados de metabólitos comuns entre as diferentes espécies estudadas (Elert & Pohnert, 2000). Ainda, outro fator que pode explicar a resposta de *L. fortunei* a presença de *P. lineatus* pode ser uma resposta universal a peixes famintos. Nesse estudo, os peixes não foram alimentados durante o período experimental para evitar interferências no resultado causadas por resíduos de ração e fezes, permitindo-nos isolar apenas as respostas mediadas por sinais químicos liberados pelos peixes. No entanto, isso pode ter provocado uma resposta de *L. fortunei* aos peixes famintos. Um estudo realizado por Jermacz et al. (2017) discutiu que predadores famintos podem desencadear respostas defensivas em presas. Como foi observado pelo autor, *Dikerogammarus villosus*, uma espécie de Amphipoda, usa a quimiorrecepção para detectar sinais químicos liberados por predadores famintos e adotam um comportamento de congelamento para evitarem a predação. Assim, existem várias suposições que podem explicar a resposta de *L. fortunei* na presença de *P. lineatus*. No entanto, é importante ressaltar que este estudo não exauriu essas questões, deixando espaço para investigações adicionais. Para uma compreensão mais abrangente, é necessário a realização de novas pesquisas que explorem o comportamento de *L. fortunei* na presença de peixes com outros hábitos alimentares, como herbívoros. Dessa forma, será possível obter informações mais sólidas para confirmar ou refinar as hipóteses mencionadas. A inclusão de uma variedade maior de espécies de peixes pode preencher lacunas para uma compreensão mais aprofundada do comportamento dessa espécie.

## 5.2 COMPORTAMENTO DE AGREGAÇÃO

Vários bivalves utilizam a formação de agregações como uma defesa antipredatória comum, uma vez que a acessibilidade reduzida e menor superfície exposta dificulta a captura de um indivíduo que está no centro da agregação (Reimer et al, 1997). Os indivíduos de *L. fortunei* que foram testados na presença de *P. lineatus*, *P. mesopotamicus* e coespecíficos fragmentados não diferiram significativamente quanto ao nível de agregação, mesmo após uma longa exposição a esses estressores. Não encontramos diferença substancial na porcentagem de agregação dos tratamentos em comparação ao grupo de controle. Resultados diferentes foram encontrados em experimentos com mexilhões de outras espécies. Em 2009, um estudo de Kobak e Kakareko avaliou o comportamento de agregação do mexilhão-zebra, *Dreissena polymorpha*, e os resultados sugerem que a agregação desse bivalve é potencializada pela presença de peixes predadores. Além disso, *M. edulis* e *Perna perna* também são mais propensos a formação de agregações quando expostos a seus predadores (Reimer & Tedengren



1997, Côte & Jelnikar 1999). No presente estudo, a distância que separava os indivíduos de *L. fortunei* no início dos experimentos não foi padronizada, assim a diferença encontrada entre esse estudo e estudos anteriores pode ser explicada em parte por questões metodológicas. Algumas espécies de bivalves, como *M. edulis*, tem mais tendência a se aglomerarem quando a distância entre os indivíduos pode ser coberta pelo pé estendido, de modo que é necessário pouco movimento e baixo gasto de energia envolvidos nesse comportamento de agregação e a atração também pode ser mediada por sinais químicos de coespecíficos (Nicastro, 2007). Um trabalho também sugere que o comportamento de agregação de *L. fortunei* acontece de forma aleatória (Uryu, 1996). No nosso trabalho observamos que *L. fortunei* utilizou o comportamento de agregação independentemente da presença ou não de sinais de risco. De acordo com Lewandowski (2001), o desalojamento é uma situação extremamente crítica para organismos sésseis, sendo esperado que os animais nestas condições procurem imediatamente por novos substratos. Neste sentido, o comportamento de agregação adotado pelos indivíduos de *L. fortunei* pode ter sido desencadeado em resposta ao desalojamento (i.e. destacamento dos indivíduos de seus substratos) e/ou à transferência entre ambientes (i.e. do aquário de aclimação para as unidades experimentais). Mas, para obter uma compreensão mais precisa desse comportamento, são necessários novos estudos que considerem a distância inicial na qual os mexilhões foram posicionados. Isso permitirá investigar como a proximidade física entre os indivíduos afeta sua propensão a se aglomerarem.

### 5.3 COMPORTAMENTO DE RASTEJO

A distância que os indivíduos de *L. fortunei* são capazes de se mover diminui com o aumento do comprimento da concha (Uryu, 1996). A alteração no comportamento de rastejo sobre a areia observada para a maioria dos indivíduos de *L. fortunei* testados pelo presente estudo, isto é, a redução do movimento na presença de efluentes de diferentes espécies de peixes, bem como de coespecíficos, sugere que este bivalve utiliza tal estratégia anti-predatória, confirmando a segunda hipótese. Resultados semelhantes foram reportados por Czarnoleski e Muller (2010) quando avaliaram a mobilidade do mexilhão-zebra (*Dreissena polymorpha*) e sugeriram que esses mexilhões detectam uma ampla gama de concentrações de coespecíficos fragmentados e reduzem o movimento na areia. Observou-se uma redução no movimento em experimentos envolvendo mexilhões de outras espécies. Por exemplo, *Hormomia mutabilis* demonstra uma diminuição no movimento quando exposto a sinais químicos de predadores (Ishida e Iwasaki, 2003), e *Mytilus edulis* exibe um comportamento semelhante quando exposto a predadores (Reimer e Tedengren, 1997). Isso pode ser atribuído ao “clamming up”, um

comportamento observado em mexilhões quando expostos à uma ameaça predatória. Ishida e Iwasaki (2003) sugerem que mexilhões reduzem a mobilidade e atividades metabólicas para se tornarem menos detectáveis a possíveis ameaças. Esse comportamento pode ser traduzido em outros tipos de defesas anti-predatórias, como a diminuição na produção de biscoitos observada em mexilhões da espécie *Mytilus edulis*, o mexilhão-azul (Garner e Litvaitis, 2013).

Ao se movimentarem no sedimento em busca de novos substratos os indivíduos de *L. fortunei* podem ser facilmente detectados por peixes bentônicos como espécies de siluriformes e perciformes por exemplo (Vieira e Lopes, 2013; Rosa et al., 2015). *Limnoperna fortunei* é predado em diferentes estágios de desenvolvimento, entretanto, indivíduos de tamanhos menores são mais frequentemente encontrados no trato digestivo de peixes da região neotropical (Montaldo et al., 1999; Cantanhêde et al., 2008; Lopes & Vieira, 2012;). Indivíduos menores de *L. fortunei* (< 1,4 cm) são mais frequentemente encontrados no trato digestivo de *Pimelodus pintado* (Vieira & Lopes, 2013) e *Pterodoras granulosus* demonstra preferência pelo consumo de *L. fortunei* em relação a outras espécies de bivalves, principalmente devido à alta disponibilidade desse mexilhão no reservatório de Itaipu (Cantanhêde et al., 2008). Neste sentido, particularmente para *L. fortunei*, a redução da mobilidade para diminuir a exposição à predadores pode influenciar as taxas de sobrevivência, especialmente dos indivíduos menores que possuem uma gama maior de predadores e são mais frequentemente desalojados do substrato (Lewandowski, 2001).

#### **5.4 COMPORTAMENTO DE ESCALADA**

Não observamos relações significativas entre o movimento vertical e a presença de efluentes de *P. lineatus*, *P. mesopotamicus* e coespecíficos fragmentados. Acreditamos que os resultados inconclusivos se devem ao material utilizado no experimento. O estudo de Ito et al. (2018) demonstrou que os substratos mais adequados para o movimento e fixação de *L. fortunei* são aqueles com uma superfície irregular. No entanto, no nosso experimento, utilizamos tubos de acrílico, que possuem uma superfície lisa, o que pode ter influenciado a resposta observada.

#### **5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As respostas defensivas contra predadores são características fenotipicamente flexíveis que podem evoluir em resposta à variabilidade e imprevisibilidade do ambiente (Harvell, 1990). Os mexilhões possuem estratégias de defesa diversas para lidar com a predação. Suas respostas comportamentais à presença de predadores podem ser variadas e moldadas por uma combinação de fatores, incluindo adaptações evolutivas, estratégias de sobrevivência e interações

ambientais. Portanto, nossos resultados indicam que *L. fortunei* tem a capacidade de reconhecer diferentes sinais químicos liberados na água e responder de maneira apropriada, aumentando a produção de biscoitos e reduzindo sua mobilidade. Os resultados deste estudo destacam a importância das interações bióticas na dinâmica da comunidade e como a presença ou ausência de predadores pode modificar o comportamento das presas. É provável que espécies capazes de reconhecer e interpretar corretamente os riscos e benefícios associados à presença de outros organismos sejam mais eficientes na expansão e tenham um impacto mais significativo na comunidade. Realizar estudos experimentais para uma compreensão mais aprofundada dessas defesas contra predadores e suas interações pode contribuir significativamente para o entendimento do comportamento e dos impactos ambientais dessa espécie invasora, bem como de outras espécies.

## REFERÊNCIAS

- ADELINO JRP, HERINGER G, Diagne C, COURCHAMP F, FARIA LDB, ZENNI RD (2021). The economic costs of biological invasions in Brazil: a first assessment. In: Zenni RD, McDermott S, García-Berthou E, Essl F (Eds) The Economic costs of biological invasions in the world. **NeoBiota** 67: 349–374
- BOBELDYK, A. M., J. RÜEGG & G. A. LAMBERTI, 2015. Freshwater hotspots of biological invasion are a function of species-pathway interactions. **Hydrobiologia** 746: 363–373.
- BERGER-TAL, Oded et al. Integrating animal behavior and conservation biology: a conceptual framework. **Behavioral Ecology**, v. 22, n. 2, p. 236-239, 2011.
- CALCAGNOTTO, Daniela; DESALLE, Rob. Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, p. 607-616, 2009.
- CATALDO, Daniel et al. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. **Hydrobiologia**, v. 680, p. 25-38, 2012.
- CANTANHÊDE, G. et al. Invasive molluscs in the diet of *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821)(Pisces, Doradidae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 17, n. 1, p. 47-53, 2008.
- CARERE, Claudio; GHERARDI, Francesca. Animal personalities matter for biological invasions. **Trends in ecology & evolution**, v. 28, n. 1, p. 5-6, 2013.
- CHEUNG, Ma-Shan; ZHANG, Li; WANG, Wen-Xiong. Transfer and efflux of cadmium and silver in marine snails and fish fed pre-exposed mussel prey. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 26, n. 6, p. 1172-1178, 2007.
- CHEUNG, S.G.; TONG, P.Y.; YIP, K.M.; SHIN, P.K.S. 2004. Chemical cues from predators and damaged conspecifics affect byssus production in the green-lipped mussel *Perna viridis*. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, 37: 127-135.
- CHIVERS, D.P.; SMITH, R.J.F. 1998. Chemical alarm signaling in aquatic predator-prey systems: a review and prospectus. **EcoScience**, 5: 338-352.
- CHRISTENSEN, Helle Torp et al. Aggregation and attachment responses of blue mussels, *Mytilus edulis*—impact of substrate composition, time scale and source of mussel seed. **Aquaculture**, v. 435, p. 245-251, 2015.
- CÔTÉ, Isabelle M. Effects of predatory crab effluent on byssus production in mussels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 188, n. 2, p. 233-241, 1995.
- CZARNOŁĘSKI, Marcin et al. Injured conspecifics alter mobility and byssus production in zebra mussels *Dreissena polymorpha*. **Fundam Appl Limnol**, v. 176, p. 269-278, 2010.

DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. 2006. Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano. **EDULP**, La Plata: 226 p.

ELERT, E. & G. POHNERT, 2000. Predator specificity of kairomones in diel vertical migration of *Daphnia*: a chemical approach. **Oikos** 88: 119–128

FERRARI, M. C., A. GONZALO, F. MESSIER & D. P. CHIVERS, 2007. Generalization of learned predator recognition: an experimental test and framework for future studies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274: 1853–1859

GARNER, Yvette L.; LITVAITIS, Marian K. Effects of injured conspecifics and predators on byssogenesis, attachment strength and movement in the blue mussel, *Mytilus edulis*. **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 448, p. 136-140, 2013.

GAZULHA, V. et al. Feeding behavior of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) under exposure to toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, p. 41-49, 2012.

GRIFFITHS, C.L.; RICHARDSON, C. 2006. Chemically induced predator avoidance behaviour in the burrowing bivalve *Macoma balthica*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 331: 91-98.

HARVELL, C. Drew. The ecology and evolution of inducible defenses. *The Quarterly review of biology*, v. 65, n. 3, p. 323-340, 1990.

HUNT, Heather L.; SCHEIBLING, Robert E. Predicting wave dislodgment of mussels: variation in attachment strength with body size, habitat, and season. **Marine Ecology Progress Series**, v. 213, p. 157-164, 2001.

ISHIDA, S.; IWASAKI, K. 2003. Reduced byssal thread production and movement by the intertidal mussel *Hormomya mutabilis* in response to effluent from predators. **Journal of Ethology**, 21: 117-122.

ITO, Kenji; INOUE, Akihiro; KIMURA, Taeko. The effect of tube trap structure on sampling efficacy and accuracy for golden mussel, *Limnoperna fortunei*. **Plankton and Benthos Research**, v. 13, n. 3, p. 104-115, 2018

JERMACZ, Łukasz; DZIERŻYŃSKA-BIAŁOŃCZYK, Anna; KOBAC, Jarosław. Predator diet, origin or both? Factors determining responses of omnivorous amphipods to predation cues. **Hydrobiologia**, v. 785, p. 173-184, 2017.

KARATAYEV, A.Y.; BOLTOVSKOY, D.; PADILLA, D.K.; BURLAKOVA, L. 2007. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. **Journal of Shellfish Research**, 26: 205-213.

KAVOURAS, Jerry; MAKI, James. The effects of natural biofilms on the reattachment of young adult zebra mussels to artificial substrata. **Biofouling**, v. 19, n. 4, p. 247-256, 2003.

KOBAC J.. Factors influencing the attachment strength of *Dreissena polymorpha* (Bivalvia), **Biofouling**, 2006, vol. b 22 (pg. 153-162)

- KOBAK, J.; KAKAREKO, T. 2011. The Effectiveness of the Induced Anti-Predator Behaviour of Zebra Mussel *Dreissena polymorpha* in the Presence of Molluscivorous Roach. **Aquatic Ecology**, 45(3): 357-366.
- KOBAK, J.; KAKAREKO, T. 2009. Attachment strength, aggregation and movement of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*, Bivalvia) in the presence of potential predators. **Fundamental and Applied Limnology**, 174: 193-204.
- KOBAK, J.; KAKAREKO, T.; POZNANSKA, M. 2010. Changes in attachment strength and aggregation of zebra mussel, *Dreissena polymorpha* in the presence of potential fish predators of various species and size. **Hydrobiologia**, 644: 195-206.
- LEWANDOWSKI, Krzysztof. Development of populations of *Dreissena polymorpha* (Pall.) in lakes. **Folia Malacologica**, v. 9, n. 4, 2001.
- LINARES, M.S.; CALLISTO, M.; MARQUES, J.C. 2017. Invasive bivalves increase benthic communities complexity in neotropical reservoirs. **Ecological Indicators**, 75: 279-285.
- LOPES, M. & J.P. VIEIRA. 2012. Predadores potenciais para o controle do mexilhão-dourado, p. 357-363. In: C.P. SANTOS; D. PEREIRA; I.C.P. PAZ; L.M. ZURITA; M.C.D.
- LÖSCH, Juliana Alice et al. Presença de mexilhão dourado no trato gastrointestinal de três espécies nativas de peixes cultivadas em tanques-rede no reservatório de Itaipu. **Anais do I Seminário Internacional de Ciência, Tecnologia e Ambiente**, Cascavel, 2009.
- MANSUR; M.T. RAYA RODRIGUEZ; M.V NERHKE & P.A. BERGONCI (Eds). Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle. Porto Alegre, Redes Editora, 412p.
- MANSUR, Maria Cristina Dreher et al. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, p. 75-84, 2003.
- MANSUR, Maria Cristina Dreher et al. Prováveis vias da introdução de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857)(Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) na bacia da laguna dos Patos, Rio Grande do Sul e novos registros de invasão no Brasil pelas bacias do Paraná e Paraguai. **Água de lastro e bioinvasão**, 2004.
- MCMAHON, Robert F. Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: r selection versus resistance. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 59, n. 7, p. 1235-1244, 2002.
- MONTALTO, Luciana; ROJAS MOLINA, Florencia. Byssal hairs in the invasive Asian freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in the Paraná River system with comments on this species in South America. **Molluscan Research**, v. 34, n. 2, p. 127-138, 2014.

MOORE JA, Bell BD, Linklater WL. The debate on behavior in conservation: New Zealand integrates theory with practice, **Bioscience**, 2008, vol. 58 (pg. 454-459)

NAKANO, Daisuke; KOBAYASHI, Takuya; SAKAGUCHI, Isamu. Population dynamics and growth of *Limnoperna fortunei*. *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, p. 105-118, 2015.

NAGELKERKE, L. A. J. & SIBBING, F. A., 1996: Efficiency of feeding on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) by common bream (*Abramis brama*), white bream (*Blicca bjoerkna*), and roach (*Rutilus rutilus*): the effects of morphology and behavior. – **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 53: 2847–2861

NICASTRO, K. R.; ZARDI, G. I.; MCQUAID, C. D. Behavioural response of invasive *Mytilus galloprovincialis* and indigenous *Perna perna* mussels exposed to risk of predation. **Marine Ecology Progress Series**, v. 336, p. 169-175, 2007.

PALMER, A.R., 1990. Effect of crab effluent and scent of damaged conspecifics on feeding, growth, and shell morphology of the Atlantic dogwhelk *Nucella lapillus* (L.). **Hydrobiologia** 193, 155–182.

PAOLUCCI, E.M.; CATALDO, D.H.; FUENTES, C.; BOLTOVSKOY, D. 2007. Larvae of the invasive species *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) in the diet of fish larvae in the Paraná River, Argentina. **Hydrobiologia**, 589: 219-233.

PENCHASZADEH, P.E.; DARRIGRAN, G.; ANGULO, C.; AVERBUJ, A.; BRÖGGER, M.; DOGLIOTTI, A.; PÍREZ, N. 2000. Predation of the invasive freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) by the fish *Leporinus obtusidens* Valenciennes, 1846 (Anostomidae) in the Río de La Plata, Argentina. **Journal of Shellfish Research**, 19: 229-231.

PEREIRA, J.L.; PINHO, S.; RÉ, A.; COSTA, P.A.; GONÇALVES, S.; CASTRO, B.B. 2016. Biological control of the invasive Asian clam, *Corbicula fluminea*: can predators tame the beast? **Hydrobiologia**, 779(1): 209-226.

REIMER, O.; HARMS-RINGDAHL, S. 2001. Predator-inducible changes in blue mussels from the predator-free Baltic Sea. **Marine Biology**, 139: 959-965.

REIMER, Olof; TEDENGREN, Michael. Predator-induced changes in byssal attachment, aggregation and migration in the blue mussel, *Mytilus edulis*. **Marine & Freshwater Behaviour & Phy**, v. 30, n. 4, p. 251-266, 1997.

RICCIARDI, Anthony. Global range expansion of the Asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): another fouling threat to freshwater systems. **Biofouling**, v. 13, n. 2, p. 97-106, 1998.

ROSA, D.M et al. Impacts of predation by piapara *Megaleporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837) on the population densities of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857). **Biological control**, v. 129, p. 158-163, 2019.

- ROSA, D.M et al. Non-native prey species supporting fish assemblage biomass in a Neotropical reservoir. **Biological Invasions**, v. 23, p. 2355-2370, 2021.
- ROSA, D.M.; SANTOS, G.B.; GOMES, P.L.A.; CAMPOS, M.C.S.; DIAS, J.H.P. 2015. Occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the fish diet from a south-eastern Brazilian reservoir. **Journal of Applied Ichthyology**, 31(1): 188-191
- ROSA, D.M. 2018. Relações tróficas entre peixes e presas não nativas em reservatórios do rio Grande, bacia do alto rio Paraná. 96p. **Tese** (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.
- SOUSA, Ronaldo; GUTIÉRREZ, Jorge L.; ALDRIDGE, David C. Non-indigenous invasive bivalves as ecosystem engineers. **Biological invasions**, v. 11, p. 2367-2385, 2009
- STRAYER, D.L. 2010. Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. **Freshwater Biology**, 55(1): 152-174.
- SIH, A., D. I. BOLNICK, B. LUTTBEG, J. L. ORROCK, S. D. PEACOR, L. M. PINTOR, E. PREISSER, J. S. REHAGE & J. R. VONESH, 2010. Predator-prey naïveté, antipredator behavior, and the ecology of predator invasions. **Oikos** 119: 610–621
- SYLVESTER, F.; BOLTOVSKOY, D.; CATALDO, D. 2007. Fast response of freshwater consumers to a new trophic resource: Predation on the recently introduced Asian bivalve *Limnoperna fortunei* in the lower Parana River, South America. **Austral Ecology**, 32: 403-415.
- TORRES, M.V.; GIRI, F.; WILLINER, V. 2012. Size selective predation on an invasive bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae), by a freshwater crab, *Zilchiopsis collastinensis* (Trichodactylidae). **Journal of Crustacean Biology**, 32: 698-710.
- TOOMEY, M. B., MCCABE, D. & MARSDEN, J. E., 2002: Factors affecting the movement of adult zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). – J. N. **Amer. Benthol. Soc.** 21: 468–475.
- URYU, YUMIKO; IWASAKI, Keiji; HINOUE, Masami. Laboratory experiments on behaviour and movement of a freshwater mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker). **Journal of Molluscan studies**, v. 62, n. 3, p. 327-341, 1996.
- VIEIRA, João P.; LOPES, Michelle N. Size-selective predation of the catfish *Pimelodus pintado* (Siluriformes: Pimelodidae) on the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). **Zoologia** (Curitiba), v. 30, p. 43-48, 2013.
- WISENDEN, B.D. 2003. Chemically-mediated strategies to counter predation. In COLLIN, S.P.; MARSHALL, N.J. (eds). **Sensory Processing in Aquatic Environments**. Springer, New York: 236-251.
- WEIS, Judith S. The role of behavior in the success of invasive crustaceans. **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, v. 43, n. 2, p. 83-98, 2010.



YOSHIDA, T.; JONES, L.E.; ELLNER, S.P.; FUSSMANN, G.F.; HAIRSTON JR., N.G. 2003. Rapid evolution drives ecological dynamics in a predator-prey system. **Nature**, 424: 303-306.

ZENNI RD, ESSL F, GARCÍA-BERTHOU E, MCDERMOTT SM (2021) The economic costs of biological invasions around the world. In: Zenni RD, McDermott S, García-Berthou E, Essl F (Eds) The economic costs of biological invasions around the world. **NeoBiota** 67: 1

ZHAO, Na et al. Study of factors influencing the invasion of Golden Mussels (*Limnoperna fortunei*) in water transfer projects. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 22, n. 4, p. 385-395, 2019..