

Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências
Departamento de Biologia Animal



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Interacções mutualísticas envolvendo os peixes limpadores facultativos
Coris julis e *Thalassoma pavo***

Pauline Narvaez

Dissertação
Mestrado em Ecologia Marinha

2013

Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências
Departamento de Biologia Animal



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Interacções mutualísticas envolvendo os peixes limpadores facultativos
Coris julis e *Thalassoma pavo***

Pauline Narvaez

Dissertação
Mestrado em Ecologia Marinha

Orientadores: Doutora Marta Soares

Professor Doutor Henrique Cabral

2013

*“What is a scientist after all? It is a curious man
looking through a keyhole, the keyhole of nature,
trying to know what’s going on.”*

Jacques Yves Cousteau

Agradecimentos

Um grande obrigada à minha orientadora Marta Soares que acreditou em mim desde o início e que deu me esta grande oportunidade de poder fazer este projecto fantástico nos Açores. O teu grande apoio e optimismo foi muito importante ajudando-me a ultrapassar cada etapa deste trabalho.

Obrigada ao Professor Henrique Cabral por aceitar coorientar este projecto e pela sua disponibilidade. A sua opinião foi sempre uma ajuda.

Muito obrigada à Professora Ana Isabel Neto da Universidade dos Açores que eu admiro pela sua enorme dedicação a todos os seus estudantes e que me aceitou também na sua grande equipa, mostrando-se sempre disponível e dando inumeros conselhos.

Um grande obrigada ao Professor José Azevedo por ter me apoiado e ajudado até ao fim deste trabalho em todos os momentos de maior angústia. A sua ajuda e conselhos foram muito preciosos.

Obrigada a equipa de biologia da Universidade dos Açores e em particular ao Afonso, Nuno, e Ruben por me terem ajudado nos primeiros mergulhos deste projecto e ao Gustavo por ter me ajudado na parte estatística.

À minha amiga Isadora, a verdadeira Micaelense, pela tua grande ajuda na identificação de todos os anfípodas e conteúdos estomacais e também por te apresentarem sempre presente quando necessitei.

Obrigada ao Doutor José Luis Luque da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no Brasil e a Professora Maria João Santos da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto pela vossas grandes oportunidades de colaboração nas identificações dos ectoparasitas.

Obrigada a Sónia Cardoso do ISPA por toda a ajuda disponibilizada.

Milhões de obrigada aos meus bro' de Lisboa, meus grandes amigos Erna e Isaias. Se hoje estou nesta fase, é graças a vocês que me ensinaram o português, apoiaram-me sempre quando precisava e ajudaram-nos nesta última fase do trabalho. Danke schöns e desejo-vos muitas felicidades para esta nova vida que está a chegar!

Aos meus queridos amigos Filipa, Eduardo e Ana para vossa grande amizade e por partilharem comigo estes dois anos de mestrado na FCUL.

Muito obrigada a Renata Mazzei pela tua grande disponibilidade tua ajuda mesmo a distância.

Claramente um grande obrigada aos meus amigos de França que me apoiaram o mais que conseguiram. Milles merci à vous mes soleils Charlotte, Marie, Sarah, Jade, Marlène, Chloé, Charlotte, Margaux et j'en oublie... ! Merci à vous toutes de faire parties de mon quotidien même à distance.

Merci a ma famille en or qui m'a tellement soutenu, même loin vous avez su me donner beaucoup de courage et la force d'avancer, de continuer sans baisser les bras. Milles merci à mes parents, mon frère chéri qui sait me faire rire quand j'en ai besoin et qui mérite de réussir en tant que dentiste, mes grands parents et tout le reste de ma famille. Une grande famille qui se soutient aide à vaincre chaque obstacle.

Mil obrigada à família Furtado para ter me acolhido de braços abertos em São Miguel, obrigada por tudo!

E claramente não poderia acabar este agradecimento sem agradecer ao Miguel, meu colega, meu parceiro de mergulho, meu melhor amigo, meu amor... Se este projecto é assim hoje, foi porque sempre me apoiaste, ajudaste e tiveste sempre ao meu lado em todos os momentos difíceis e também nos momentos incríveis, quando achamos pela primeira vez as “estações de limpeza”, gritando e quase chorando na água de felicidade depois de tanto meses de procura! De rir o método de captura das castanhetas com nossa gaiola incrível e de ficar de boca aberta na primeira vez que vimos parasitas nos peixes “clientes” ou nos estômagos dos limpadores. Tantas emoções e foi tudo partilhado contigo. Foi uma grande aventura e é so o início duma grande viagem... Obrigada querido!

Resumo

O comportamento das espécies de peixes limpadores facultativos de águas temperadas, só recentemente começou a ser estudado ao contrário do que sucede em águas tropicais. Duas espécies de labrídeos, *Coris julis* e *Thalassoma pavo*, são caracterizadas como limpadoras nas águas costeiras dos Açores, mas pouco se sabe sobre as suas interações mutualísticas. Com vista a colmatar esta lacuna, este trabalho analisa o comportamento destas duas espécies de peixes limpadores e dos seus peixes visitantes (referidos como “clientes”) aos seus territórios fixos (referidos como “estações de limpeza”), comparando a frequência das suas interações com aquelas observadas em locais não fixos e no sentido de determinar: a) qual a dependência dos limpadores relativamente às suas actividades mutualísticas, e b) o impacto do seu comportamento nos níveis de infestação da sua “clientela”.

Depois de se ter confirmado a existência de “estações de limpeza” nas costas da Ilha de São Miguel, dez estações de limpeza envolvendo *C. julis* e dez envolvendo *T. pavo* foram definidas, contabilizando-se um total de 600 min de observações. Para além disso, fora das “estações de limpeza”, 13 observações foram feitas para *C. julis* e cinco para *T. pavo* num total de 540 min de observações. Todas as observações foram feitas durante 30 min. Foram capturados aleatoriamente (fora do contexto de limpeza) trinta *C. julis* e trinta *T. pavo*, assim como três *C. julis* e dois *T. pavo* considerados como limpadores (no contexto de limpeza) presentes nas suas “estações de limpeza”, para posterior análise dos seus conteúdos estomacais. No sentido de determinar o nível de infestação parasitária foram capturados um total de 77 indivíduos pertencentes a oito espécies diferentes de “clientes” e “controles” (*Symphodus caeruleus*, *Sparisoma cretense*, *Abudefduf luridus*, *Sarpa salpa*, *Labrus bergylta*, *Mullus surmuletus*, *Serranus atricauda* e *Diplodus sargus*) que se encontravam nas imediações das “estações de limpeza”.

Dentro das estações de limpeza, foram observadas mais interações entre *T. pavo* e os seus “clientes” (12, $4 \pm 2,3$) do que *C. julis* (10, $7 \pm 1,3$), enquanto fora das “estações de limpeza” ocorreu o inverso (*C. julis*: $3 \pm 1,8$; *T. pavo*: $1,75 \pm 0,8$). No conjunto de todas as observações comportamentais das duas espécies de limpadores, não foram encontradas diferenças significativas na diversidade específica dos seus “clientes”, contabilizando um total de sete espécies, seis destas observadas como “clientes” de *C. julis* (*S. caeruleus*, *S. cretense*, *A. luridus*, *L. bergylta*, *M. surmuletus* e *C. julis*) e quatro de *T. pavo* (*S. caeruleus*, *S. cretense*, *S. salpa*, *L. bergylta*), sendo a espécie *S. caeruleus* o “cliente” dominante no total das interações de limpeza. Maior parte dos “clientes” foram observados a iniciar as interações de limpeza adoptando uma postura específica (78,9 %), sendo estas interações normalmente terminadas

pelos limpadores (81,9 %). Uma correlação significativamente positiva foi encontrada entre o número de toques e a área dos peixes “clientes” para ambas as espécies de limpadores, mas a espécie *T. pavo* passou significativamente mais tempo com os “clientes” maiores, enquanto para *C. julis* nenhuma relação foi encontrada. Para além disso, *T. pavo* fez esperar os seus “clientes” significativamente mais tempo do que *C. julis* e no que toca aos seus níveis de cooperação com a espécie “cliente” *S. caeruleus*, o limpador *C. julis* provocou significativamente mais “jolts” (medida comportamental de desonestidade por parte do limpador) em comparação a *T. pavo*. Foram encontradas diferenças significativas na dieta geral entre *C. julis* e *T. pavo* capturados aleatoriamente. O item crustáceos dominou a dieta de ambas as espécies mas demonstrou-se mais importante para a espécie *T. pavo*, enquanto ectoparasitas (larvas de gnatídeos) foram exclusivamente encontrados na dieta de *C. julis*. Comparando a dieta de *C. julis* e *T. pavo* capturados aleatoriamente com os limpadores, observou-se diferenças onde os limpadores alimentam-se quase exclusivamente de ectoparasitas e apresentaram muco (dois *C. julis*), enquanto as semelhanças se centralizaram na presença de escamas nos seus conteúdos estomacais. Foram também encontradas diferenças significativas na carga parasitária de todas as espécies caracterizadas como “clientes” (*S. caeruleus*, *S. cretense*, *A. luridus*, *S. salpa*, *L. bergylta*, *M. surmuletus*) e “controles” (*S. atricauda*, *D. sargus*), revelando uma dominância de ectoparasitas da família Caligidae em comparação a Gnathiidae. Ainda esta carga parasitária não se mostrou positivamente relacionada com as respectivas áreas corporais dos “clientes” e “controles”.

Num conjunto de todas as interações de limpeza (dentro e fora de “estações de limpeza”), o limpador *C. julis* parece ser a espécie mais especializada nesta actividade apresentando um maior número de interações e um maior leque de espécies “clientes”. Para além disso, esta espécie parece dirigir a sua procura alimentar em torno dos ectoparasitas de forma mais específica e eficaz no corpo dos seus “clientes”, reduzindo o tempo de interacção e a espera dos mesmos, em comparação com *T. pavo*. A existência de muco (item mais nutritivo e calórico) nos conteúdos estomacais dos *C. julis* é indicadora de maior batota nesta espécie. A espécie de “cliente” *S. caeruleus* domina as interações de limpeza para ambos os limpadores provavelmente devido à sua grande abundância na comunidade costeira dos Açores e à sua maior carga parasitária em gnatídeos (o que aumenta a sua necessidade em ser limpo). No global, em “estações de limpeza” foram os “clientes” que iniciaram com mais frequência as interações, o que acentua as suas necessidades em serem limpos, enquanto os limpadores terminaram com mais frequência as interações, o que provavelmente estará relacionado com o esgotamento da fonte principal de alimento (ectoparasitas) na superfície do corpo dos “clientes”. Apesar do número de toques de ambas as espécies de limpadores estar

positivamente relacionado com áreas do corpo dos seus “clientes”, o facto de não se ter encontrado uma relação positiva entre o número de ectoparasitas por “cliente” e as suas áreas poderá estar associado ao facto de “clientes” de maiores dimensões poderem apresentar uma distribuição mais difusa de ectoparasitas na superfície dos seus corpos. Os peixes limpadores que limpam em “estações de limpeza” parecem ser mais dependentes de interacções comparado com os peixes aleatórios, embora destes alguns *C. julis* tenham sido encontrados com ectoparasitas o que reflecte uma maior dependência desta espécie por esta actividade. A dominância de caligídeos como parasitas dos “clientes” pode estar relacionada com a grande selectividade e preferência por parte dos limpadores por gnatídeos.

Este exemplo de interacções mutualísticas permitem elevar o papel ecológico das espécies *C. julis* e *T. pavo* que, para além de lhes proporcionar uma fonte de alimentação adicional ou mesmo essencial, provavelmente terão um impacto positivo nas comunidades de peixes costeiros dos Açores.

Palavras-Chave: Mutualismos de limpeza, peixes limpadores, *Coris julis*, *Thalassoma pavo*, observações comportamentais, conteúdos estomacais, ectoparasitas

Abstract

The behavior of the cleaning facultative fish species in temperate waters was studied only recently unlike the species in tropical waters. Two species of Labridae, *Coris julis* and *Thalassoma pavo* are characterized as cleaner fishes in the waters of the Azorian coastline but there is still little knowledge about their mutualistic interactions. To fill this gap, this paper analyses the behavior of these two species of cleaner fishes and their visitors (called “clients”) in their fixed territory (called “cleaning stations”), comparing the frequency of their interactions with the one observed in non-permanent territories to determine: a) the dependency of the cleaners fishes related to their mutualistic interactions and b) the impact of their behavior concerning the level of infestation of their “clients”.

After being confirmed the existence of the “cleaning stations” at the coastline of the island of São Miguel, ten “cleaning stations” of *C. julis* and ten of *T. pavo* were defined, counting a total of 600 min of observation. In addition to these “cleaning stations”, 13 other observations were made for *C. julis* and five for *T. pavo* in a total of 540 min of observation. All observations were made in a time scale of 30 minutes. There were captured randomly (outside the context of the cleaning) thirty *C. julis* and thirty *T. pavo*, as well as three *C. julis* and two *T. pavo* considered as cleaners (in the context of cleaning) present in their “cleaning stations” for posterior analysis of the content of their stomachs. To determine the level of parasitic infestation there were captured a total of 77 individuals belonging to eight different species of “clients” and “controls” (*Symphodus caeruleus*, *Sparisoma cretense*, *Abudefduf luridus*, *Sarpa salpa*, *Labrus bergylta*, *Mullus surmuletus*, *Serranus atricauda* e *Diplodus sargus*), which were found near the “cleaning stations”.

More interactions between *T. pavo* and their clients ($12,4 \pm 2,3$) have been observed than with *C. julis* ($10, 7 \pm 1,3$), while outside the “cleaning stations” the opposite was being observed (*C. julis*: $3 \pm 1,8$; *T. pavo*: $1,75 \pm 0,8$). No significant differences were found in the total of the observation in the behavior of the two cleaners species concerning the specific diversity of their “clients”, counting a total of seven species, six of them were observed as “clients” of *C. julis* (*S. caeruleus*, *S. cretense*, *A. luridus*, *L. bergylta*, *M. surmuletus* e *C. julis*) and four of *T. pavo* (*S. caeruleus*, *S. cretense*, *S. salpa*, *L. bergylta*), being the specie *S. caeruleus* the dominant “client” in the total of the cleaning interactions. The most part of the “clients” were observed initiating the cleaning interactions adopting a special position (78,9 %), when normally these interactions are finished by the cleaners (81,9 %). It was found a significantly positive correlation between the number of touches and the area of the “client” fishes for both cleaner species, but the specie *T. pavo* spent significantly more time with bigger

“clients” while there was no such relationship found for the *C. julis*. Beside, *T. pavo* made their “clients” wait more time than *C. julis* and concerning the level of cooperation with the “client” species *S. caeruleus*, the cleaner *C. julis* provoked significantly more jolts comparing to *T. pavo*. Significant differences were found in the general diet between *C. julis* and *T. pavo*, which were captured randomly. The crustacean item dominated the diet of both species but was more important to the *T. pavo*, while ectoparasites (gnathiid larvae) were exclusively found in the diet of *C. julis*. Comparing the diets of *C. julis* and *T. pavo* captured randomly with the cleaners, differences were observed where the cleaners fed themselves almost exclusively of ectoparasites and presented mucos (two *C. julis*), while a similarity was found in the presence of scales in the content of their stomachs. There were found major differences in the parasitic load of all species characterized as “clients” (*S. caeruleus*, *S. cretense*, *A. luridus*, *S. salpa*, *L. bergylta*, *M. surmuletus*) and “controllers” (*S. atricauda*, *D. sargus*), revealing a dominance of the ectoparasites of the Caligidae family in comparison to the Gnathiidae. Even this parasitic load didn’t show itself related to the respective area of the body of the “clients” and “controls”.

In all cleaning interactions (inside and outside the “cleaning stations”), the cleaner *C. julis* seems to be the species more specialized in this activity, presenting a major number of interactions and a major variety of “clients” species. Beside this, this specie seems to search their food of ectoparasites in a more specific and effective way on the bodies of their “clients”, reducing the time of interaction and waiting comparing to *T. pavo*. The existence of mucos (a more nutritious and caloric item) in the content of the stomachs of *C. julis* is an indicator of cheating. The specie of the “client” *S. caeruleus* dominates the cleaning interactions for both cleaners, probably due to their abundance in the community of the Azorean coastline and their bigger parasitic load of gnathiid (which increases their need for being cleaned). In a global perspective, the “clients” of the “cleaning stations” initiated with more frequency the interactions, which show their need for being cleaned, while the cleaners stopped the interactions with more frequency, probably due to the lack of the main source of food (ectoparasites) on the surface of the bodies of the “clients”. Even though the number of touches of both cleaning species was positively related to the body areas of their “clients”, the fact that there wasn’t found any positive relation between the number of ectoparasites per “client” and their areas, could be due to the fact that the “clients” which presents bigger dimension could present a more diffused distribution of ectoparasites on the surface of their bodies. The cleaner fishes which were cleaning in the “cleaning stations” seem to be more dependent on the interactions than the random fishes, even though some of the *C. julis* have been found with ectoparasites, which reflect a bigger dependency of this species in this

activity. A dominance of the caligid as a parasite of the “clients” could be related to a bigger selectivity and preference by the cleaners of the gnathiid. This example of mutual interactions allows to give the species *C. julis* and *T. pavo* a bigger ecological function which has a positive impact on the communities of fishes on the Azorean coastline, besides giving them an additional source of food.

Key-words: Cleaning mutualism, cleaner fishes, *Coris julis*, *Thalassoma pavo*, behavioral observations, stomach contents, ectoparasites.

Índice

Agradecimentos	vii
Resumo.....	ix
Abstract	xiii
Índice.....	xvii
Índice de figuras	xix
Índice de tabelas	xxi
1. Introdução.....	1
1.1. O conceito de mutualismo	1
1.2. Mutualismo de limpeza no meio marinho	2
1.3. Os limpadores obrigatórios vs facultativos	3
1.4. Impacto sobre a parasitação e comunidade de peixes	4
1.5. A dieta dos peixes limpadores.....	5
1.6. Comportamento genérico das interacções de limpezas	6
1.7. Caracterização do local de estudo.....	7
1.8. Caracterização das duas espécies de peixes em estudos.....	7
1.9. Objectivo do estudo.....	9
2. Metodologia	11
2.1. Locais e períodos de estudos	11
2.2. Material e Métodos	12
2.2.1. Observações comportamentais.....	12
2.2.2. Análise dos conteúdos estomacais dos peixes <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i>	12
2.2.3. Remoção de ectoparasitas de algumas espécies de peixes da comunidade	13
2.2.4. Análise de dados.....	15
3. Resultados	19
3.1. Os limpadores e suas “clientelas”	19
3.1.1. Os limpadores açorianos – Descrição comportamental	19
3.1.2. A “clientela”	19
3.1.3. O comportamento genérico de limpeza.....	20
3.2. Qualidade de limpeza	21

3.2.1. Preferência dos limpadores em função da área corporal dos “clientes”	21
3.2.2. Níveis de cooperação dos limpadores com os seus “clientes”	22
3.3. Alimentação das espécies de peixes <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i>	23
3.3.1. Composição da dieta nas espécies <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i> aleatórios.....	23
3.3.2. Composição principal na dieta das espécies <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i> limpadores e variações intraespecíficas entre os peixes limpadores e aleatórios	25
3.4. Infestação de peixes por ectoparasitas	28
3.4.1. Variação do grau de infestação dos “clientes” e “controles”	28
3.4.2. Efeito da área dos “clientes” e “controles” nas suas cargas parasitárias	29
4. Discussão	31
4.1. Os limpadores e sua “clientela”	31
4.1.1. Os limpadores açorianos – Descrição comportamental	31
4.1.2. A “clientela”	32
4.1.3. O comportamento genérico de limpeza.....	34
4.2. Qualidade de limpeza	34
4.2.1. Preferência dos limpadores em função da área corporal dos “clientes”.....	34
4.2.2. Níveis de cooperação dos limpadores com os seus “clientes”	35
4.3. Alimentação das espécies de peixes <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i>	36
4.3.1. Composição da dieta nas espécies <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i> aleatórios.....	36
4.3.2. Composição principal na dieta das espécies <i>C. julis</i> e <i>T. pavo</i> limpadores e variações intraespecíficas entre os peixes limpadores e aleatórios	37
4.4. Infestação de peixes por ectoparasitas	38
4.4.1. Variação do grau de infestação dos “clientes” e “controles”	38
4.4.2. Efeito da área dos “clientes” e “controles” nas suas cargas parasitárias	39
5. Considerações finais.....	41
Referências bibliograficas	43
Apêndices	51
Anexos	59

Índice de figuras

- Figura 1** – Diferentes áreas de estudos na ilha de São Miguel (Arquipélago dos Açores). Os diferentes símbolos apresentam as diferentes partes do trabalho efectuadas em vários locais da ilha. Cruzes: amostragens dos “clientes”, círculo: amostragem dos conteúdos estomacais aleatórios, triângulo: observações aleatórias, losangos: amostragens dos “clientes” e observações aleatórias, estrela: observações em “estações de limpeza”, aleatórias e amostragens de conteúdos estomacais dos limpadores e triângulo invertido: amostragens dos “clientes” e de conteúdos estomacais aleatórios 11
- Figura 2** – Percentagem de “clientes” ou limpadores iniciandos (a) e acabando (b) as interacções de limpeza em função das duas espécies de limpadores *C. julis* ou *T. pavo* 21
- Figura 3** – Número médio de toques e tempo interacção de limpezas (s) dos limpadores *C. julis* (a) *T. pavo* (b) em função da área de cada peixe “cliente” observado em “estações de limpeza” com as suas respectivas representações das linhas de tendências de tipo linear. Cinzento claro: tempo de interacção (s); cinzento escuro: número de toques 21-22
- Figura 4** – Comparação das dietas dos peixes *C. julis* e *T. pavo* aleatórios com a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) 24
- Figura 5** – Representação gráfica do IRI médio (\pm DP) de cada grupos de itens alimentares para a espécie *C. julis* (a) e *T. pavo* (b). 24-25
- Figura 6** – Comparação das dietas dos peixes da espécie *C. julis* limpadores e aleatórios com a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) 26
- Figura 7** – Comparação das dietas dos peixes da espécie *T. pavo* limpadores e aleatórios com a Análise de Coordenadas Principais (PCoA). 26
- Figura 8** – Representação média (\pm DP) do índice numérico (IN %), índice de ocorrência (IO %) e índice gravimétrico (IG %) na dieta das espécies *T. pavo* e *C. julis*. Os gráficos da esquerda (a, c, e) representam os índices de *C. julis* limpadores e aleatórios e os gráficos da direita (b, d, f) representam os índices de *T. pavo* limpadores e aleatórios. 27

Figura 9 – Número médio (\pm EP) de Caligidae e Gnathiidae encontrados na superfície do corpo das espécies “clientes” e “controles”. B: *S. caeruleus*; C: *A. luridus*; SL: *S. salpa*; V: *S. cretense*; ST: *M. surmuletus*; BV: *L. bergylta*; G: *S. atricauda*; SG: *D. sargus*. 21

Figura 10 – Representação gráfica da relação entre o número de ectoparasitas encontrados na superfície do corpo dos “clientes” com as suas áreas do corpo respectivas (cm²) e a representação da linha de tendência de tipo linear. 21-22

Índice das Tabelas

Tabela 1 – Número total (N) e percentagem (%) correspondente as interacções de limpeza para as espécies “clientes” com as duas espécies de limpadores *C. julis* e *T. pavo* 20

Tabela 2 – Análise PERMANOVA da média de consumo dos itens alimentares na dieta geral entre as duas espécies *C. julis* e *T. pavo* exprimidos com o índice de importancia relativa (IRI).
GL: grau de liberdade, QM: quadrado médio 23

1. Introdução

1.1. O conceito de mutualismo

A teoria da evolução sugerida por Charles Darwin é baseada na competição e na sobrevivência dos indivíduos mais adaptados ao contexto sócio-ambiental que habitam (Axelrod e Hamilton 1981). Porque vivem em comunidades, as espécies adaptam o seu comportamento e interagem de modo diferente entre si (Pascual e Dunne 2006). A abordagem destas “redes de interacções” tem sido útil para investigar a estrutura e fragilidade das interacções ecológicas entre organismos (Jordano *et al.* 2003; Vázquez e Aizen 2004; Vázquez *et al.* 2005; Pascual e Dunne 2006).

As interacções sociais implicam comunicação entre indivíduos, que podem ter consequências no “fitness” de cada parte envolvida (West *et al.* 2007). O fenómeno cooperativo é considerado como um puzzle de um ponto de vista evolutivo, especialmente a que ocorre entre indivíduos não aparentados (Sachs *et al.* 2004). Só nos últimos trinta anos é que o foco nestes sistemas tem aumentado tendo sido propostos uma série de modelos evolutivos que tentam explicar os processos de cooperação (Sach *et al.* 2004). Na maior parte das interacções como a predação, o parasitismo e o comensalismo, apenas uma parte envolvida beneficia destas interacções (Brown *et al.* 2012). Em cooperação em que dois ou mais indivíduos estão envolvidos tem que existir coordenação e investimento que permita que no final o benefício de interagir prevaleça sobre os custos de investimento (Bshary e Bergmüller 2008). As interacções de cooperação são comuns entre os membros das mesmas espécies mas também ocorrem entre indivíduos de diferentes espécies e definindo-se como interacções mutualísticas (Axelrod e Hamilton 1981).

Os custos e benefícios das interacções de mutualismo podem mudar com condições ambientais (Burdon *et al.* 1989), e com a presença de outras espécies (*e.g.* competição, co-mutualismo, predação) (Cheney e Côté 2005). Existem muitas classificações descritivas de mutualismos, nomeadamente mutualismo facultativo ou obrigatório, difuso ou individual, transitório ou permanente (Connor 1995). As interacções mutualísticas podem ser definidas como relações recíprocas benéfica entre organismos, que podem variar entre interacções difusas e indirectas até associações altamente integradas e co-evoluídas entre pares de espécies (Herre *et al.* 1999).

1.2. Mutualismo de limpeza no meio marinho

Os mutualismos são ubíquos. Ocorrem por exemplo entre organismos unicelulares fotossintéticos (Zooxantelas) que colaboram na construção dos corais, até à polinização por insectos ou pássaros que permite a reprodução sexual em muitas espécies de plantas (Sach *et al.* 2004), sendo que todos os níveis de organização biológicas podem estar envolvidos tal como as bactérias, os fungos, as algas, as plantas e os animais (Herre *et al.* 1999).

As simbioses ou mutualismos de limpeza podem existir em meio terrestre e marinho, e são relações interespecíficas em que vertebrados terrestres ou marinhos ou mesmo invertebrados interagem para limpar outros organismos. Os participantes na interacção de limpeza no meio marinho podem englobar diversas espécies de peixes ou de crustáceos de pequeno tamanho, conhecidos como limpadores que se alimentam de ectoparasitas e tecidos doentes que retiram da superfície do corpo, boca e brânquias dos “clientes” (Losey 1987). Estes “clientes” podem ser outros peixes, mas também tartarugas, iguanas, tubarões, raias, lagostas, polvos ou mesmo baleias (Côté 2000; Grutter 2005). É esta alimentação de ectoparasitas que controla eficientemente as infecções parasitárias, fungos e doenças (Gorlick 1980).

Em meio marinho, estas interacções foram inicialmente descritas por Triver (1971) como um dos primeiros exemplos de altruísmo recíproco interespecífico. Este autor definiu o altruísmo recíproco como um comportamento específico dum organismo, que age de maneira a reduzir seu “fitness” temporariamente, para aumentar o de outro indivíduo com a expectativa que o outro organismo actue de modo semelhante na próxima interacção. Em outras palavras, pode ser definido como um comportamento onde os participantes numa relação podem obter vantagens mútuas se cooperarem. Os benefícios mútuos para os participantes são necessários para a evolução do altruísmo recíproco (Gorlick 1980).

No ambiente recifal tropical, várias espécies de limpadores mantêm “estações de limpeza”, que podem ser definidas com pequenos territórios confinados onde vivem os limpadores, localizadas nas rochas, esponjas ou em colónias de coral, e que são conhecidas e visitadas pela maior parte dos peixes residentes, conhecido como “clientes” (Feder, 1966). O comportamento genérico dos “clientes” foi descrito por Losey (1978), no qual se referiu às posturas características adoptadas aquando à chegada às “estações de limpeza”, sendo a mais notável a postura de inclinação do corpo para cima ou para baixo (Losey 1971). Estas posturas estereotipadas e normalmente imóveis são adoptadas pelos “clientes” ao chegarem às “estações de limpeza” ou depois da aproximação do limpador ao “cliente” (Grutter 2005) no sentido de sinalizar a vontade de iniciarem as interacções. Por sua vez, os limpadores podem

ou não reagir às posturas dos “clientes” (Soares, comunicação pessoal). Os limpadores não estão protegidos dos ataques que os seus “clientes” predadores podem infligir-lhes. Para diminuir o risco envolvido, o limpador pode proporcionar estímulo táctil a esses “clientes” perigosos, que ocorre mais frequentemente (Grutter 2004). O estímulo táctil é também proporcionado a outros “clientes” (não perigosos) e resulta numa diminuição dos níveis de stress da “clientela” (Soares *et al.* 2011). Porém nem todos os limpadores proporcionam estímulo táctil. Até agora apenas alguns limpadores pertencentes à família Labridae foram referidos nesse sentido (Soares *et al.* 2008d).

Se em teoria estas interacções parecem intuitivas, já que todos os envolvidos parecem beneficiar: os “clientes” são limpos e os limpadores ganham uma refeição simples. Bshary e Grutter (2002a) demonstraram que nestas interacções pode existir exploração, já que os limpadores não removem apenas ectoparasitas na superfície do corpo dos seus “clientes” mas também muco, escamas e tecidos saudáveis (Côté e Soares 2011). Este comportamento foi nomeado de batota. Os “clientes” podem também reagir à batota por parte dos limpadores, castigando-os (terminando de imediato a interacção ou punindo-os) e assim, controlando esta desonestidade. Esta remoção de material não parasita tem impactos negativos nos “clientes”, o que empurra estas interacções mais perto do comensalismo ou mesmo do parasitismo (Poulin e Grutter 1996; Johnstone e Bhary 2002). Cheney e Côté (2005) demonstraram que a taxa de ectoparasitas presente nos peixes pode também determinar o tipo de interacção envolvida. Se a taxa de ectoparasitas na superfície do corpo dos “clientes” for maior e se os limpadores preferirem comer parasitas, estaremos mais perto de um exemplo de mutualismo. Ao contrário, se a taxa de ectoparasitas é fraca, tende aproximar-se do parasitismo, já que o limpador tenderá procurar outras fontes de alimento no corpo dos “clientes”.

1.3. Os Limpadores - obrigatórios vs facultativos

Os peixes limpadores podem ser caracterizados como limpadores obrigatórios, que limpam ao longo o seu ciclo de vida, desde juvenil até à fase adulta e como limpadores facultativos, que actuam como limpadores na fase juvenil e às vezes na sua fase fêmea também (Limbaugh, 1961).

De acordo com Van Tassel *et al.* (1994) e Côté (2000), cerca de 112 espécies de peixes limpadores no mundo foram registadas sendo a maior parte das espécies pertencem à família Labridae e Gobiidae e onde uma grande parte do conhecimento sobre estas interacções mutualísticas é focado nas águas tropicais. Nestas latitudes, as principais espécies de limpadores são: *Labroides dimidiatus* no Indo-Pacífico (Randall *et al.* 1990); *Elacatinus* spp.

(Gobiidae) nas Caraíbas assim como que os labrídeos, *Thalassoma bifasciatum* e *Bodianus rufus* (no Atlântico Norte Ocidental Tropical), sendo estes últimos facultativos (Johnson e Ruben 1988; Wicksten 1995)

Nas águas temperadas da costa Californiana ocorrem três peixes limpadores principais facultativos: *Oxyjulis californica*, *Phanerodon atripes* e *Brachyistius frenatus* (Hobson 1971). Em outras regiões temperadas, tal como na Nova Zelândia, cinco espécies de peixes limpadores facultativos foram descritas por Ayling e Grace (1971), nomeadamente: *Halichoeres* sp., *Coris picta*, *Coris sandageri*, *Pseudolabrus luculentus* and *Pseudolabrus miles*, todos fazendo parte da família dos labrídeos. No hemisfério Norte, outras espécies foram definidas como limpadoras tal como *Centrolabrus exoletus* nas costas Ibéricas (Galeote e Otero, 1998, Henriques e Almada 1997) e os labrídeos do género *Thalassoma* spp. em São Tomé e Santa Luzia (Quimbayo *et al.* 2012).

Na maior parte dos casos, em água temperada, os peixes considerados como limpadores são limpadores facultativos e isso pode ser explicado pelo facto das condições ambientais serem menos favoráveis ao desenvolvimento dum maior número de parasitas como em água tropicais, o que diminui o benefício destas interações (Ayling e Grace 1971).

1.4. Impacto sobre a parasitação e comunidade de peixes

As infestações por ectoparasitas podem afectar a fisiologia, o comportamento e a morfologia dos hospedeiros. Nos peixes, os custos podem ser muito significativos, alterando a locomoção, reduzindo as capacidades natatórias e também alterando o seu comportamento sexual (Barber *et al.* 2000). Como demonstrou Grutter (1995), alguns parasitas conseguem mudar o fenótipo do seu hospedeiro no sentido de aumentar as suas probabilidades de ser capturado por um predador (hospedeiro definitivo). Algumas espécies de parasitas são capazes de atrasar a eclosão dos seus ovos até estarem em contacto com o muco do seu hospedeiro (Kearn 1975). Embora os peixes limpadores sejam conhecidos como beneficiando das limpezas, Grutter (1999b) demonstrou que os limpadores têm um impacto importante sobre a parasitação dos seus “clientes”, podendo reduzir a abundância dos gnatídeos presente na superfície do corpo dos seus “clientes”, e diminuindo os impactos negativos dos parasitas na saúde dos “clientes”.

Além de seu impacto potencial sobre os parasitas e saúde dos hospedeiros, os limpadores podem ter um papel ecológico mais geral agindo na estruturação das comunidades de peixes em que vivem (Grutter 1999a). As “estações de limpeza” parecem estar correlacionadas com a distribuição de peixes de recife de coral (Grutter 1995). Potts (1973) e Slobodkin e Fishelson (1974) observaram maior diversidade e abundância de indivíduos em

áreas onde os limpadores estavam presentes e acreditam que esses “hotspots” de peixes resultam de atração de “clientes” por parte dos limpadores. Limbaugh (1961) tentou fazer uma manipulação experimental para distinguir a causa e consequência da agregação das espécies de peixes nas “estações de limpeza” retirando todos os limpadores em dois recifes isolados. Ele observou que, no espaço de dias, o número de peixes nestes mesmos recifes foi reduzido drasticamente, sendo que passadas duas semanas, quase todas as espécies de peixes tinham abandonado os recifes. Os peixes territoriais que permaneceram, desenvolveram sinais visíveis de doenças. Outros estudos de Grutter *et al.* (2003) e de Waldie *et al.* (2011) apoiaram estes resultados.

Desta feita, graças à compilação de todos estes estudos todos foi demonstrado que pode-se considerar que os limpadores, apesar do seu pequeno tamanho, são biologicamente e ecologicamente importantes nos ecossistemas, influenciando a estrutura das comunidades e a biodiversidade dos ecossistemas (Grutter 1995; Grutter *et al.* 2003; Waldie *et al.* 2011).

1.5. A dieta dos peixes limpadores

Os limpadores obrigatórios apresentam, de maneira geral, uma dependência maior dos itens parasitários do que os limpadores facultativos que podem ter uma alimentação mais diversificada e não parasita (Francini-Filho e Sazima 2008). Os estudos sobre a dieta dos limpadores são importantes e podem-nos fornecer complementos e elementos chave para perceber as relações entre os limpadores e os seus “clientes” (Losey 1974) em função dos itens consumidos, que seja parasitas ou não.

Em função das espécies de limpadores, podem encontrar-se variações evidentes na abundância de ectoparasitas na dieta (Youngbluth 1968). O estudo de Soares *et al.* (2010) destacou diferenças de preferência alimentar entre os cabozes limpadores das Caraíbas *Elacatinus* spp. e os bodiões limpadores do Indo-Pacífico *L. dimidiatus* e concluíram que ao contrário do *L. dimidiatus* que prefere alimentar-se do muco dos seus “clientes”, os cabozes limpadores preferem os ectoparasitas encontrados na superfície do corpo dos seus “clientes” tornando as suas relações mutualísticas. Este exemplo pode ser também comparado com o estudo de Losey (1972) onde o autor notou uma baixa taxa de parasitas em Havai, sendo o muco o componente mais presente na dieta dos limpadores (Gorlick 1980). Em águas temperadas, Arnal e Morand (2001) concluíram que no mar mediterrâneo, o peixe limpador *Symphodus melanocercus*, apesar de remover ectoparasitas o que resulta em um grande benefício para os peixes da comunidade, o comportamento do limpador não parece totalmente altruístico, visto que pode preferir o muco dos seus “clientes” aos ectoparasitas.

Em água temperadas, muito pouco estudo são disponíveis sobre a alimentação dos peixes facultativos (Arnal e Morand 2001) o que torna difícil comparar os estudos de limpadores tropicais e obrigatórios que estão muito especializados em limpezas com limpadores temperados e facultativos.

1.6. Comportamento genérico das interações de limpeza

O comportamento dos limpadores e da sua “clientela” é muito variável. Por exemplo, na grande barreira de coral na Austrália os “clientes” podem visitar uma mesma “estação de limpeza” muitas vezes por dia, sendo que os limpadores podem ter até 2300 interações alimentando-se com mais de 1200 parasitas por dia (Grutter 1996) de 132 espécies diferentes (Grutter e Poulin 1998). Em 1980, Moosleitner, notou diferenças no padrão de comportamento de limpeza para muitas espécies de limpadores do Mediterrâneo tais como o caboz *Parablennius rouxi*, os bodiões *Coris julis* (Linnaeus, 1758), *Symphodus ocellatus*, *Symphodus tinca*, *S. melanocercus*, e *Thalassoma pavo* (Linnaeus, 1758); duas espécies da família Sparidae: *Diplodus puntazzo* e *Oblada melanura* e as remoras *Echeneis naucrates* e *Remora remora*. Esta observação foi apoiada pelo estudo de Zander e Sötje (2002) desenvolvido no Mediterrâneo, e que permitiu perceber diferenças nas actividades de limpeza em função dos locais geográficos, as quais foram associadas por Arnal e Morand (2001) ao tipo e quantidade de ectoparasitas e de muco presente nos “clientes”. Já na região da Macaronésia que inclui o Cabo Verde, as Canárias, Madeira e os Açores, poucos estudos foram feitos sobre as interações de limpeza entre peixes. O primeiro estudo de Van Tassel *et al.* (1994) nas ilhas Canárias, focou-se em duas espécies de peixes limpadores principais da macaronésia, *C. julis* e *T. pavo* mas poucas observações foram registadas e descritas. Outro estudo envolvendo estas duas mesmas espécies foi feito nos Açores na ilha Terceira e na ilha de São Miguel por Soares e Barreiros (2003). Neste trabalho os autores descrevem o comportamento de limpeza destas duas espécies com o “cliente” salmonete *Mullus surmuletus* (Linnaeus, 1758). O outro estudo conhecido dos Açores foi uma breve descrição de Bertoncini *et al.* (2009) que demonstrou a existência do comportamento de limpeza envolvendo o limpador *C. julis* e o “cliente” bodião verde *Symphodus caeruleus* (Azevedo, 1999) na ilha do Corvo. Ainda, pouco se sabe acerca do comportamento genérico destas espécies em meio temperado, como o seu comportamento varia e qual o nível de dependência deste tipo de interações.

1.7. Caracterização do local de estudo

O Arquipélago dos Açores é composto de nove ilhas vulcânicas disseminadas sobre uma área de aproximadamente 1 000 km² no Atlântico Norte numa latitude de 37°40'N e longitude 25°31'W (Mendes e Dias 2007). Este arquipélago é o mais ao Norte da Macaronésia, está exposto a níveis médio e alto de acção das ondas e têm uma zona costeira muito restrita com uma profundidade de 1000 m a 200 m da costa. As costas destas ilhas vulcânicas têm uma geomorfologia variável, com falésias alternando com praias de rochas com tamanhos irregulares (Morton *et al.* 1998), fornecendo habitat para uma grande variedade de fauna e flora (Tittley e Neto 2000).

A ictiofauna açoriana começou a ser estudada no âmbito de expedições científicas ao Arquipélago, especialmente no final do século 19, mas até os anos 1980, as pesquisas feitas consistiam basicamente em listagens de espécies e revisões taxonómicas (Afonso 2002), onde mais de 397 espécies de peixes foram registadas (Santos *et al.* 1995). No entanto, apenas recentemente tem sido feita pesquisa orientada para estudos das comunidades de peixes do litoral (Bertoncini *et al.* 2009). Estes mesmos autores, fizeram uma listagem dos últimos estudos feitos em biologia marinha durante as duas últimas décadas e notaram que o Arquipélago recebeu contribuições significantes para os estudos dos peixes costeiros em biologia, (*e.g.* Nash e Santos 1993; Santos *et al.* 1997; Morato *et al.* 2000; Sousa *et al.* 2003), em ecologia do comportamento (*e.g.* Barreiros e Santos 1998; Azevedo *et al.* 1999; Barreiros *et al.* 2002, 2008; Soares *et al.* 2002; Bertoncini *et al.* 2009), e em ecologia das comuninades (*e.g.* Patzner e Santos 1993; Azevedo 1997; Harmelin-Vivien *et al.* 2001; Afonso 2007). Todos estes estudos apresentam um bom conhecimento sobre as comunidades de peixes dos Açores e as suas variabilidades em função das condições ambientais e sazonais.

Nos Açores, a temperatura da água do mar pode variar entre 16 °C no inverno e 24 °C no verão, e portanto, as comunidades de peixes costeiros são considerados como temperados onde pode notar-se muitas influências mediterrânica com uma fauna muito parecida. Nota-se igualmente uma influência subtropical com a existência de espécies tal como a veja *Sparisoma cretens* (Linnaeus, 1758), que faz parte da família dos Scaridae e que tem uma localização normalmente tropical (Afonso *et al.* 2008).

1.8. Caracterização das duas espécies de peixes em estudo

As espécies *C. julis* e *T. pavo* são duas espécies de peixes da família Labridae. São costeiros, e considerados como duas das espécies mais abundantes da comunidade de peixes de recife dos

Açores (Patzner e Santos 1993; Afonso 2002). Estas duas espécies são hermafroditas protogínicas e reproduzem-se durante a primavera e o verão.

Os indivíduos da espécie *C. julis* (Peixe-rei nos Açores ou Judia em Portugal continental) são pequenos (entre 8 e 23 cm) e de vida curta (em média de 2 a 4 anos). Esta espécie de peixe está repartida numa grande e heterogénea área geográfica (no mar Mediterrâneo e no Sudeste do mar Negro. Também se encontra ao longo da costa do Oceano Atlântico Este da Suécia e as Ilhas Británicas até o Gabão em África, incluindo os arquipélago dos Açores e da Madeira e as ilhas Canárias) (Porteiro *et al.* 1996). Esta espécie alimenta-se de invertebrados, tal como os ouriços-do-mar, anfípodes, isópodes, pequenos crustáceos, e outros organismos que encontra escavando a areia (Rodrigues 1995). Os indivíduos desta espécie estão repartidos nas áreas costeiras, desde a superfície até uma profundidade de 120 m, no entanto, ele é encontrado normalmente até 60 m e é mais abundante entre 15 até 30 m. Os juvenis e as fêmeas formam grupos que podem ir até 50 indivíduos. Os machos são frequentemente solitários mas podem também formar pequenos grupos. O factor limitante principal é a temperatura. Embora possam viver num intervalo de temperatura entre 6,7 °C até 28,4 °C, as temperaturas ideais situam-se entre 17,6 °C e 27,8 °C (Porteiro *et al.* 1996). Esta espécie foi descrita como limpador facultativo no mar mediterrâneo em 1955 (Eibl-Eibesfeldt 1955 *in* Côté 2000).

Os indivíduos da espécie *T. pavo* (Rainha nos Açores ou Bodião Verde em Portugal continental) são pequenos tal como os *C. julis*, sendo que o seu tamanho pode variar entre 7 a 23 cm. Têm uma repartição geográfica muito parecida aos *C. julis* mas não se estende até ao Norte da Europa. Estende-se desde a Costa Sul de Portugal até o Gabão, passando pelas ilhas da Macaronésia, e ocorre no mar Mediterrâneo. Os indivíduos *T. pavo* alimentam-se de pequenos invertebrados tal como crustáceos, moluscos, equinodermos e poliquetas. Estão distribuídas nas áreas costeiras, nos locais rochosos e podem ser encontrados em grandes poças de maré e até 50 m de profundidade (Porteiro *et al.* 1996). As fêmeas e os juvenis podem ser encontrados em grupos de dois até cem indivíduos enquanto os machos podem ser solitários, associados em pequenos grupos ou ocorrer perto das fêmeas e dos juvenis (Porteiro *et al.* 1996). Esta espécie foi descrita como limpador facultativo no mar mediterrâneo em 1955 (Moosleitner 1980 *in* Côté 2000).

Pelo facto destas duas espécies terem tamanho, habitat e preferências alimentares semelhantes, pode potencialmente promover competição por recursos (*e.g.* o espaço, a comida) (Guidetti e d'Ambrosio 2004). Ainda assim, o conhecimento atribuído aos numerosos aspectos da atividade de limpeza destas espécies é quase inexistente e o volume de informações nesta região é muito inferior ao existente para limpadores de outras regiões do

mundo. Foi com o objectivo de contribuir para colmatar esta lacuna que surgiu este estudo. São também inexistentes informações referentes à parasitação das espécies visitantes que interagem com estes limpadores, juntamente com o impacto que este comportamento pode ter na dieta dos mesmos. A importância destas interacções para as comunidades de peixes nas zonas costeiras açorianas é ainda desconhecida.

1.9. Objectivos do presente estudo

No presente estudo pretende-se fazer uma comparação directa das actividades de limpeza de duas espécies de peixes limpadores, *C. julis* e *T. pavo*, presentes nas costas da ilha de São Miguel, reflectindo a existência destas interacções mutualísticas na zona costeira do arquipélago dos Açores em locais fixos, chamado “estação de limpeza” e em local não fixo, aleatoriamente no ambiente rochoso costeiro. Os objectivos principais deste estudo centralizaram-se em: (i) analisar o comportamento das duas espécies de limpadores em “estação de limpeza”; (ii) comparar as frequências das interacções de limpeza entre “estações de limpeza” e aleatoriamente no ambiente em locais não fixos; (iii) analisar o comportamento das espécies visitantes as “estações de limpeza” – “os clientes”; (iv) comparar a alimentação entre as espécies *C. julis* e *T. pavo*; e (v) analisar diferentes cargas parasitárias dos peixes caracterizados como “clientes” e de outras espécies não “clientes” encontradas ao redor das “estações de limpeza”.

Para tal, partiu-se do princípio que: (i) o comportamento e a frequência de interacções de limpeza iria variar consoante as duas espécies de limpadores e entre as diferentes espécies “clientes” dentro dos seus territórios - “estações de limpeza”; (ii) as interacções em “estações de limpeza” são mais frequentes que em locais não fixos; (iii) o comportamento e frequência dos “clientes” nas “estações de limpeza” iria variar de acordo com as suas diferentes espécies; (iv) a dieta geral das duas espécies *C. julis* e *T. pavo* apanhados aleatoriamente poderia ser semelhante mas potencialmente diferiria com as dos indivíduos observados previamente a interagir com “clientes”; (v) a carga parasitária iria variar entre as espécies “clientes” em função da sua frequência observada em interacções de limpeza, tal como, entre as espécies “clientes” e não “clientes”.

2. Metodologia

2.1. Locais e períodos de estudos

Os locais de estudo deste trabalho foram localizados a volta da Ilha de São Miguel no Arquipélago dos Açores (Portugal) ($37^{\circ} 44' 58''$ Norte, $25^{\circ} 39' 54''$ Oeste). Durante o primeiro mês de estudo, em Agosto de 2012, foram feitos, de snorkeling, os primeiros mergulhos para a definição dos locais das potenciais “estações de limpeza”. Durante o período de Outubro de 2012 até Maio de 2013, as amostras de ectoparasitas dos “clientes” foram feitas (Apêndice I) assim que as observações aleatórias. Durante o mês de Julho de 2013 foram feitas as observações comportamentais, assim que as análises dos conteúdos estomacais dos limpadores capturados nas “estações de limpeza”.

As observações e as recolhas para este estudo foram feitas de snorkeling entre 2 e 5 m de profundidade. Um total de 92 h de snorkeling foram precisas para cumprir os objectivos deste trabalho.

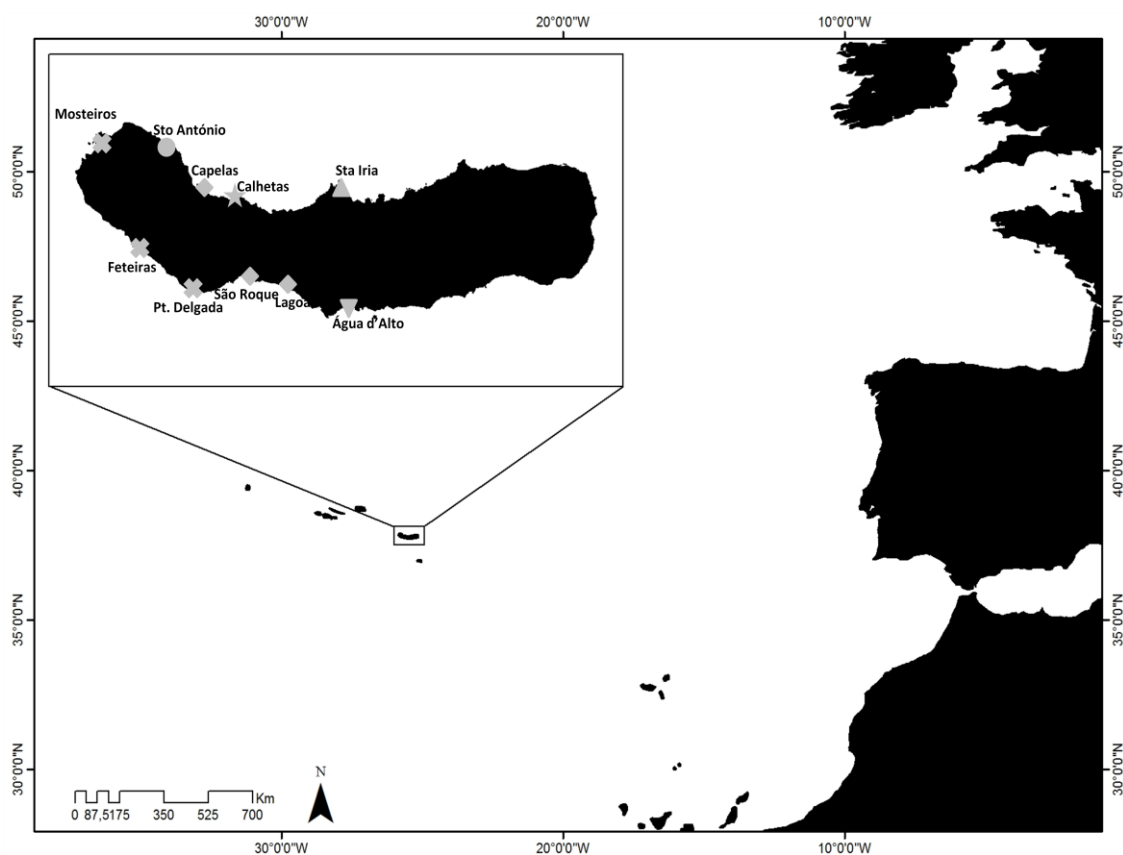


Figura 1 – Diferentes áreas de estudos na ilha de São Miguel (Arquipélago dos Açores). Os diferentes símbolos apresentam as diferentes partes do trabalho efectuadas em vários locais da ilha. Cruzes: amostragens dos “clientes”, círculo: amostragem de conteúdos estomacais aleatórios, triângulo: observações aleatórias, losangos: amostragens dos “clientes” e observações aleatórias, estrela: observações em “estações de limpeza”, aleatórias e amostragens de conteúdos estomacais dos limpadores e triângulo invertido: amostragens dos “clientes” e de conteúdos estomacais aleatórios.

2.2. Materiais e Métodos

2.2.1. Observações comportamentais

Metodologia de campo

As observações mutualísticas de comportamento de limpeza decorreram de duas formas: a) no interior das “estações de limpeza”, b) fora de “estações de limpeza”, aleatoriamente na comunidade rochosa costeira e até a interface rocha/areia, onde o limpador não está fixo a um território, mas anda a procura de “clientes”. Para este estudo, todas as “estações de limpeza” foram registadas num único local na costa Norte da ilha de São Miguel, nas Calhetas (Fig. 1) onde vinte “estações de limpeza” foram observadas, num total de 600 min, nas quais dez pertenciam a *C. julis* (300 min de observação) e dez a *T. pavo* (300 min de observação). Durante cada período de observação, a primeira tarefa nas “estações de limpeza” foi a identificação das espécies de limpadores em cada “estação de limpeza”, registar as espécies de “clientes” e os seus comprimentos (estimado visualmente ao centímetro mais próximo). As observações foram feitas a partir de uma distância de 2 - 5 m, e começou após 2 a 5 min da chegada do observador no local para permitir que o peixe adapta-se à sua presença (Soares *et al.* 2008a). Cada limpador nas “estações de limpeza” assim que os seus “clientes” foram observados durante 30 min após da primeira limpeza observada. Todos os dados necessários (posição e a profundidade de cada “estação de limpeza”, análise completa dos comportamentos dos peixes limpadores e os seus “clientes”) foram registados em folhas de dados com tabelas à prova de água. Duas máquinas de filmar (GoPro hero 3 Black Edition) foram essenciais para registar este comportamento. No caso das observações fora de “estações de limpeza”, 18 observações foram feitas, perfazendo um total de 540 min, nas quais 13 se focaram em *C. julis* (390 min de observação), enquanto as restantes cinco focadas nos limpadores *T. pavo* e seus “clientes” (150 min de observação).

2.2.2. Análise dos conteúdos estomacais dos peixes *C. julis* e *T. pavo*

Metodologia de campo

Nesta parte de análise de conteúdos estomacais, dois elementos foram comparados. Em primeiro lugar, foram capturados aleatoriamente 30 indivíduos de cada espécie *C. julis* e *T. pavo* em diferentes locais na ilha de São Miguel (Fig. 1). Estes peixes, designados como aleatórios permitiram analisar a dieta geral *C. julis* e *T. pavo*. Em segundo lugar, foram

capturados cinco peixes limpadores, três *C. julis* assim que dois *T. pavo* após observações comportamentais de 30 min. Todas estas capturas decorreram durante o mês de Julho de 2013 num intervalo de hora entre 14 h e 16 h. Sendo assim, foram capturados de snorkeling graças à rede barreiras de malhagem 12 mm todos os 65 peixes. Estes foram colocados em frasco com álcool a 70 % para que a morte fosse imediata e para parar o processo de digestão.

Metodologia laboratorial

No laboratório, os indivíduos capturados foram classificados (machos, fêmeas e juvenis), medidos (com aproximação de 0,1 cm), pesados (inteiro e eviscerado) e os estômagos foram removidos entre o esófago e a zona imediatamente posterior ao esfíncter pilórico (Vieira, 2007) antes de ser pesados numa balança analítica de precisão (Kern EW 1500-2M; Sensibilidade: .5g / 1500g). Após as pesagens, os estômagos foram colocados em álcool a 70 % para uma análise posterior.

Para a identificação dos conteúdos estomacais procedeu-se e uma primeira triagem por grandes grupos taxonómicos com o auxílio do livro taxonómico de Hayward and Ryland (1995), utilizando uma lupa binocular (Leika Zoom 2000) separando os itens identificáveis. Após esta primeira triagem estar concluída, uma contagem e uma identificação dos itens alimentares até ao nível taxonómico mais baixo possível foi avaliada, e cada item foi pesado graças a uma balança de precisão (peso húmido) (Precisa 40SM-200A; Sensibilidade: .01mg / .1mg).

2.2.3. Remoção de ectoparasitas de algumas espécies de peixes da comunidade

Metodologia de campo

Para esta parte de trabalho, foram apanhadas espécies “clientes” e espécies não “clientes” que serviram como espécies de “controlos”. As espécies definidas como “clientes” foram aquelas observadas em limpeza fora ou dentro de “estações de limpeza”. Sendo assim, uma média de 77 indivíduos de todos os “clientes” e os “controlos” foram capturados pertencentes a oito espécies diferentes: *Symphodus caeruleus*, *Sparisoma cretense*, *Abudefduf luridus* (Cuvier, 1830), *Sarpa salpa* (Linnaeus, 1758), *Labrus bergylta* (Ascanius, 1767), *Mullus surmuletus*, *Serranus atricauda* (Günther, 1874) e *Diplodus sargus* (Linnaeus, 1758), que se encontravam nas imediações das “estações de limpeza” (Fig. 1).

As capturas dos peixes foram feitas de acordo com o estudo de Soares *et al.* (2008a) onde o objectivo foi de implementar uma técnica que permitisse a mais rápida captura dos peixes no sentido de reduzir as perdas de ectoparasitas que encontram-se na superfície dos corpos dos “clientes”, sem matar os peixes e, sempre da mesma forma já que o modo de captura dos peixes pode influenciar o número de parasitas encontrado na superfície do corpo dos hospedeiros (Nagasawa 1985). Sendo assim, a técnica mais adequada foi de utilizar uma rede barreira (malhagem de 60 mm) para capturar todas as espécies, excepto para as castanhetas azuis *A. luridus* que foram apanhadas graças à uma gaiola feita com rede (malhagem de 60 mm). Foram escolhidos locais de captura diferentes aos locais de “estações de limpeza” para não aumentar o grau de erro sabendo que estes indivíduos poderiam mais facilmente ser limpos.

Seguidamente à captura, cada peixe foi colocado o mais rapidamente possível num saco individual hermético com água do mar antes de levar para a superfície. Um número de cinco a sete peixes máximo foram recolhidos para cada amostragem para limitar o tempo fora de local de recolha dos peixes (1 h máximo) e assim, limitar o stresse durante a captura e na parte de deparasitação. Já na superfície, o primeiro passo foi filtrar a água salgada onde o peixe estava (no interior do saco hermético) com uma rede de plâncton de malhagem de 50 µm. Durante esta primeira filtragem, o peixe foi colocado em água doce durante 5 a 10 min sendo a sua superfície do corpo escovada suavemente na sua totalidade. A água doce permite a libertação dos ectoparasitas nos hospedeiros. A água doce foi também filtrada na mesma rede de plâncton na qual se havia filtrado a água contida do saco hermético. Depois da deparasitação, cada peixe foi medido (com aproximação de 0,1 cm) e identificada a sua espécie. De seguida, cada peixe foi transferido para uma tina de recuperação durante 10 a 15 min antes de se libertado no local de captura. Este método de extracção foi repetido para cada peixe. Cada rede de plancton foi guardada num frasco para cada peixe antes de ser limpo com álcool a 70 %. O conteúdo da filtragem com o álcool a 70 % foi conservado num frasco antes duma análise dos ectoparasitas no laboratório da faculdade do local de estudo (Universidade dos Açores, São Miguel, Ponta Delgada).

Metodologia laboratorial

O primeiro passo foi de separar os ectoparasitas do resto do conteúdo presente (muco, algas, resto de comida de peixe, excremento) com a ajuda duma lupa binocular (Leika Zoom 2000). A seguir os ectoparasitas de cada peixe foram guardados em ependorff e mandado para duas universidades em colaboração com o projecto, na Universidade do Rio de Janeiro no Brasil

(amostragem de Inverno) e a outra parte na Faculdade do Porto em Portugal Continental, no departamento de parasitologia (amostragem da Primavera). Estas análises permitiram análises mais pormenorizadas destes ectoparasitas (ao nível da espécie).

2.2.4. Análise de dados

Diversidade de peixes “clientes” para cada espécie de limpador

Para testar a hipótese de haver diferenças entre os limpadores na selecção dos “clientes”, aplicou-se o índice de diversidade de Shannon (H' , Magurran 2004) à distribuição específica dos “clientes” registados em cada espécie de limpador, propondo-se a hipótese nula de não haver diferenças. A hipótese nula de não haver diferenças foi testada recorrendo a uma simulação de Monte Carlo (Manly 2006), implementada numa folha de cálculo. O conjunto dos “clientes” observados foi distribuído aleatoriamente por cada uma das espécies de limpadores, respeitando o número de episódios de limpeza registados para cada uma, sendo calculada a diferença entre os índices H' resultantes. Este processo foi repetido 1000 vezes, número considerado suficiente para compensar o risco de um erro de tipo I com a probabilidade de 0,05. A distribuição de frequência das diferenças obtida no modelo foi utilizada para estimar a probabilidade de obter uma diferença igual ou superior à observada.

Preferência dos limpadores em função do comprimento dos “clientes”

A relação entre a área dos peixes “clientes” e o número de toques que os limpadores dão a cada “cliente” e a relação entre a área dos peixes “clientes” e o tempo de interacção médio (s) foram examinada usando o coeficiente de correlação de Spearman seguindo a folha de cálculo disponibilizada na versão electrónica de McDonald (2009).

Níveis de cooperação dos limpadores com os seus “clientes”

Os “jolts” dos “clientes” (resposta comportamental ao toque bocal do limpador, com um movimento repentino) que acontecem regularmente durante as interacções com os limpadores, são normalmente considerados como correlacionados comportamentais de desonestidade ou batota por parte dos limpadores (Bshary e Grutter 2002a; Soares *et al.* 2008d). Nesta parte, o número de “jolts” observados pelos “clientes” em resposta às mordidas dos limpadores foram analisados. Tomou-se em conta somente a espécie *S. caeruleus* que

apresentou a quase totalidade das interações com as duas espécies de limpadores. O número de “jolts” foi padronizado por 60 s de interação.

Propôs-se hipótese nula de que não existir diferenças entre o número de “jolts” para cada uma das espécies de limpador. Esta hipótese foi testada recorrendo a uma simulação de Monte Carlo (Manly 2006), implementada numa folha de cálculo. Os eventos de “jolts” foram distribuídos aleatoriamente entre as duas espécies de limpadores, respeitando o número de episódios de limpeza registados para cada uma, e foi calculada a diferença entre o número de episódios de cada espécie. Este processo foi repetido 1000 vezes, número considerado suficiente para compensar o risco de um erro de tipo I com a probabilidade de 0,05. A distribuição de frequência das diferenças obtida no modelo foi utilizada para estimar a probabilidade de obter uma diferença igual ou superior à observada.

O tempo médio que cada limpador fazia esperar os seus “clientes” foi analisado para testar se existiam diferenças significativas entre as duas espécies de limpador. Os dados brutos apresentavam um enviesamento para esquerda pelo que foram transformados em dados logarítmicos para assegurar a normalidade. Foi também verificada a homogeneidade das variâncias através do teste de Bartlett. Em ambos os casos foram utilizadas folhas de cálculo disponibilizada na versão electrónica de McDonald (2009). Se as diferenças entre as duas variâncias eram significativas, aplicou-se um teste t de Student. Caso contrário, aplicou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Estes dois testes foram feito graças ao programa STATISTICA 11.

Composição e variação na dieta de C. julis e T. pavo

No presente estudo, os métodos utilizados na descrição qualitativa e quantitativa da dieta alimentar foram o numérico, o gravimétrico e a frequência de ocorrência pela sua utilização sistemática na literatura recente em estudo de dieta em peixe e pela sua facilidade de execução (Hureau 1970). No presente estudo, as presas foram quantificadas pela contabilização dum parte específica identificável que se encontrasse presente. Assim, por exemplo, as cabeças de anfípodos, outros crustáceos ou anelídeos, foram os fragmentos que serviram para a contabilização dum indivíduo. O bivalve inteiro (ou pelo menos um fragmento apresentando as duas valvas) foi necessário para ser contabilizado e, se no fim da contagem, valvas sozinhas não foram identificadas, juntou-se as valvas em dois para contabilizar como um bivalve. Paras os moluscos, foram contabilizados um indivíduo quando aparecia o cone do molusco.

- O índice de ocorrência (IO %) é obtido pela equação:

$$IO \% = \frac{f}{F} \times 100$$

Onde: f = número de estômago com o item i e F = número total de estômago.

- O índice numérico (%IN), obtém-se pela equação:

$$IN \% = \frac{n}{N} \times 100$$

Onde: n = número de exemplar do item i e N = número total de exemplares com o item i.

- O índice gravimétrico, também denominado por percentagem em peso (IG %), obtém-se graças à equação:

$$IG \% = \frac{p}{P} \times 100$$

Onde: p = peso húmido do exemplar do item i e P = peso húmido total de todas as presas do item i.

Estes três métodos de avaliação mais utilizados acima fornecem muitas informações diferentes e relevantes a cerca da dieta geral e os hábitos alimentares dos peixes. No entanto, os índices compostos, que conjugam matematicamente esses três métodos, permitem avaliar a importância de várias presas na dieta e assim, facilitar as comparações entre diferentes amostras ou estudos (Cortés 1997).

O Índice de Importância Relativa (IRI) de Pinkas *et al.* (1971) permite avaliar a relação entre os vários itens alimentares encontrados nos estômagos. Assim, o IRI obtém-se com os três índices acima referidos:

$$IRI = (IN \% + IG \%) \times IO \%$$

Para avaliar diferenças na composição na dieta entre *C. julis* e *T. pavo* capturados aleatoriamente, foi utilizada uma Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA, Anderson, 2001) baseada nas distâncias euclidianas e 999 permutações. Neste modelo bifatorial, os factores foram as duas espécies de peixes *C. julis* e *T. pavo* (fator espécies, fixo, dois níveis: *C. julis* e *T. pavo*) e a matriz multivariada foi composta pelos IRI de cada uns dos itens alimentares agrupado em grupos taxonómicos correspondentes. A seguir, uma representação gráfica foi feita através da Análise de Coordenadas Principais (PCoA, Gower 1966), que permite analisar um conjunto de dados multivariados em termo de frequência entre grupos de dados e que facilita a visualização das diferenças encontradas na PERMANOVA. Esta análise multivariada assim que as diferentes Análises de Coordenadas

Principais foram realizadas em dados não transformados, usando o programa PRIMER v6.0 (Clarke e Gorley 2006). A seguir, analisou-se as diferenças intraespecíficas, distinguindo *C. julis* capturados aleatoriamente e *C. julis* limpadores, e *T. pavo* capturados aleatoriamente e *T. pavo* limpadores. No entanto, o número de amostras sendo muito fraco para os peixes capturados após limpezas (três amostras para *C. julis* limpadores e duas para *T. pavo* limpadores), nenhuma análise estatística foram realizadas. Mas para destacar as variações na dieta, PCoA foi feita para cada espécie de peixe *C. julis* e *T. pavo*, comparando as dietas entre peixes gerais e limpadores de cada espécies graças ao IRI.

Grau de infestação dos “clientes”

Recorrendo ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, usando a folha de cálculo disponibilizada na versão electrónica de McDonald (2009) foi analisado as diferenças possíveis entre as espécies de peixes caracterizadas como “clientes” e “controlos” com o número de ectoparasitas presentes nos seus corpos. No caso em que a hipótese nula foi rejeitada ($p < 0,05$), procedeu-se à execução do teste *a posteriori* não paramétrico (teste de Dunn) para permitir saber se existiam diferenças significativa de parasitação entre as espécies “clientes” e “controlos”. Esta análise post-hoc foi realizada no programa STATISTICA 11 (StatSoft. Inc).

Relação entre a área dos peixes “clientes” e sua carga parasitária

A relação comprimento/área de cada espécie (na forma $\text{área} = a \times \text{comprimento}^b$) foi calculada a partir de 4-6 ampliações de desenhos científicos (disponíveis nas bases de dados da “Food and Agriculture Organization” - FAO e do Departamento de Oceanografia e Pesca - DOP) cobrindo toda a gama de tamanhos observada. A área foi calculada a partir de uma grelha de dimensões conhecidas, sobreposta ao desenho (Apêndice II).

Foi calculada a relação entre o número de ectoparasitas presentes na superfície do corpo dos “clientes” com as suas respectivas áreas. Esta correlação foi examinada pelo coeficiente de correlação de Spearman usando a folha de cálculo disponibilizada na versão electrónica de McDonald (2009).

A organização dos dados, índices de diversidade e os índices alimentares, assim como as representações gráficas (excepto PCoA) dos resultados foram realizadas usando o programa Microsoft EXCEL 2007. Para todas as análises, o nível de significância estatística adoptado foi de $p < 0,05$.

3. Resultados

3.1. Os limpadores e suas “clientelas”

3.1.1. Os limpadores açorianos – Descrição comportamental

As duas espécies de peixes limpadores *C. julis* e *T. pavo* foram encontradas nos recifes rochosos nas zonas costeiras da ilha de São Miguel. As suas actividades de limpeza ocorreram mais frequentemente em “estações de limpeza” (Apêndice III), que são normalmente encontradas em pequenas depressões rochosas, podendo atingir uma área de 3 m², e uma amplitude vertical entre 0,3 e 1 m. O substrato rochoso que rodeia estas “estações de limpeza” está maioritariamente cobertos de algas frondosas (das mais frequentes *Asparagopsis* sp, *Halopteris* sp e *Dictyota* sp), no qual ambas as espécies de limpadores se alimentam a procura de pequenos invertebrados quando não estão a limpar os seus “clientes”. Quando não estão a alimentar-se, ambas as espécies *C. julis* e *T. pavo* adoptam a mesma postura: colocam-se acima da estação de limpeza, sinalizando assim a sua presença e esperando a chegada de potenciais “clientes”. Todas as “estações de limpeza” observadas eram ocupadas por um único indivíduo juvenil.

Uma média (\pm EP) de $10,70 \pm 1,29$ eventos de limpeza foram observados entre *C. julis* e os seus “clientes” e de $12,40 \pm 2,32$ eventos no caso dos *T. pavo*. No caso das observações fora de “estações de limpeza”, o número de interacções observado nestas áreas de limpeza foi menor: *C. julis* com uma média de $3,00 \pm 1,84$ eventos de limpeza enquanto para o *T. pavo*, uma média de $1,75 \pm 0,75$ interacções de limpeza.

3.1.2. A “clientela”

Os limpadores observados interagiram com um total de sete espécies “clientes”. A espécie *C. julis* interagiu com seis espécies alvo enquanto *T. pavo* interagiram com quatro, sendo que três dessas espécies “clientes” foram observadas interagindo com ambas as espécies de limpador. Os indivíduos da espécie *S. caeruleus* são os que mais se observaram a interagir com ambas as espécies de limpador (89,04 % e 92,86 % do total das interacções de limpeza, respectivamente; Tabela 1). Não foram encontradas diferenças significativas entre as duas espécies de limpador em termos de diversidade específica de “clientes” recebidos (diferenças entres os índices de Shannon: $H' = 0,054$; Monte Carlo: $p = 0,7$).

Algumas espécies, que foram referidas como não “clientes”, foram encontradas com grande frequência nas imediações das “estações de limpeza” tal como: a garoupa *Serranus*

atricauda, as duas espécies de moreia *Muraena helena* (Linnaeus, 1758) e *Muraena augusti* (Kaup, 1856), o rocaz *Scorpaena maderensis* (Valenciennes, 1833) e a bicuda *Sphyræna viridensis* (Cuvier, 1829) que são peixes carnívoros assim que o sargo *D. sargus*, a boga *Boops boops* (Linnaeus, 1758) que são peixes omnívoros e o Xaréu *Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider, 1801) que alimenta-se de invertebrados. Mesmo se a maior parte das espécies observadas são carnívoras nenhum fenómeno de predação foi observado.

Tabela 1 – Número total (N) e percentagem (%) correspondente as interações de limpeza para as espécies “clientes” com as duas espécies de limpadores *C. julis* e *T. pavo*.

Espécies “clientes”	<i>Coris julis</i>		<i>Thalassoma pavo</i>	
	N	%	N	%
<i>Symphodus caeruleus</i>	130	89,04	104	92,86
<i>Sparisoma cretense</i>	7	4,79	6	5,36
<i>Mullus surmuletus</i>	1	0,68	0	-
<i>Abudefduf luridus</i>	4	2,77	0	-
<i>Sarpa salpa</i>	0	-	1	0,89
<i>Coris julis macho</i>	1	0,68	0	-
<i>Labrus bergylta</i>	3	2,05	1	0,89

3.1.3. O comportamento genérico de limpeza

Se por um lado, são os “clientes” que normalmente se aproximam dos limpadores e se colocam em postura de limpeza (em 70,93 % das ocorrências com os *C. julis* e em 86,96 % das ocorrências quando interagem com os *T. pavo*; Fig. 2a), ao contrário, a maioria das interações são finalizadas pelos limpadores (*C. julis* 77,91 % e *T. pavo* 85,87 %; Fig. 2b). A maioria dos “clientes” (de espécies diferentes) adoptam um comportamento particular, inclinando o seu corpo em posição vertical, com a cabeça para cima, com as barbatanas pectorais abertas e as barbatanas dorsal, anal e pélvica estendidas (Anexo I). Os outros 2,44 % dos casos, os “clientes” foram vistos somente em posição horizontal.

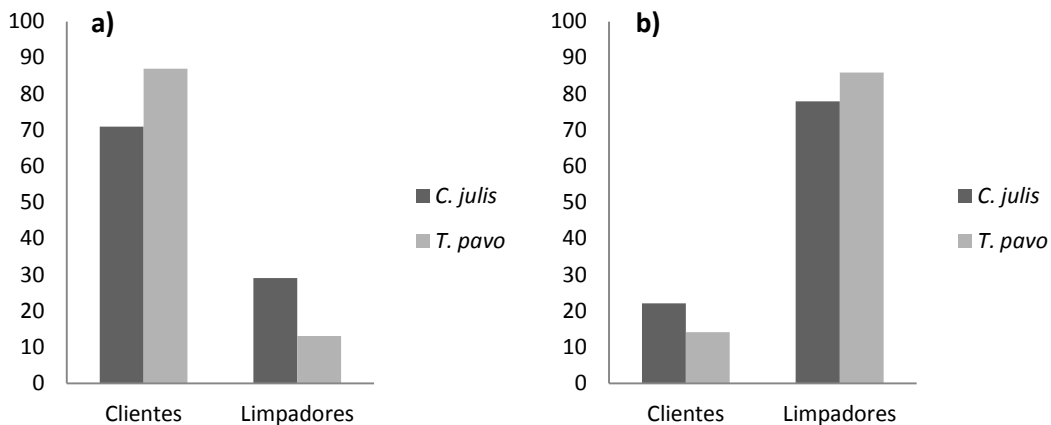
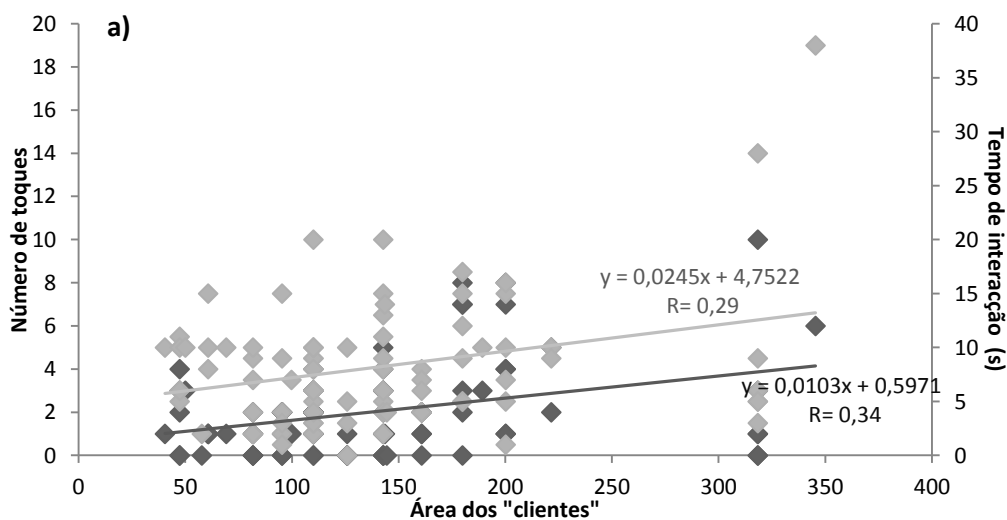


Figura 2 – Percentagem de “clientes” ou limpadores iniciando (a) e acabando (b) as interações de limpeza em função das duas espécies de limpadores *C. julis* ou *T. pavo*.

3.2. Qualidade de limpeza

3.2.1. Preferência dos limpadores em função da área corporal dos “clientes”

Considerando a espécie *C. julis*, foi encontrada uma associação significativa entre número de toques que o limpador dá ao “cliente” e a área total dos “clientes” (Correlação de Spearman: $r = 0,26$; $GL = 85$; $p = 0,01$) mas não existe correlação entre o tempo que o limpador passa a inspecionar o corpo dos seus “clientes” e a sua área ($r = 0,11$; $GL = 85$; $p = 0,29$). Para a espécie *T. pavo*, encontrou-se uma associação significativa entre o número de toques e a área total dos “clientes” ($r = 0,24$; $GL = 85$; $p = 0,02$) e entre o tempo de interação com a área total dos “clientes” ($r = 0,45$; $GL = 85$; $p < 0,001$). As representações gráficas das relações entre estes dois parâmetros com a área dos “clientes” parecem ser mais relacionadas para *T. pavo* (Fig. 3b) do que *C. julis* (Fig. 3a).



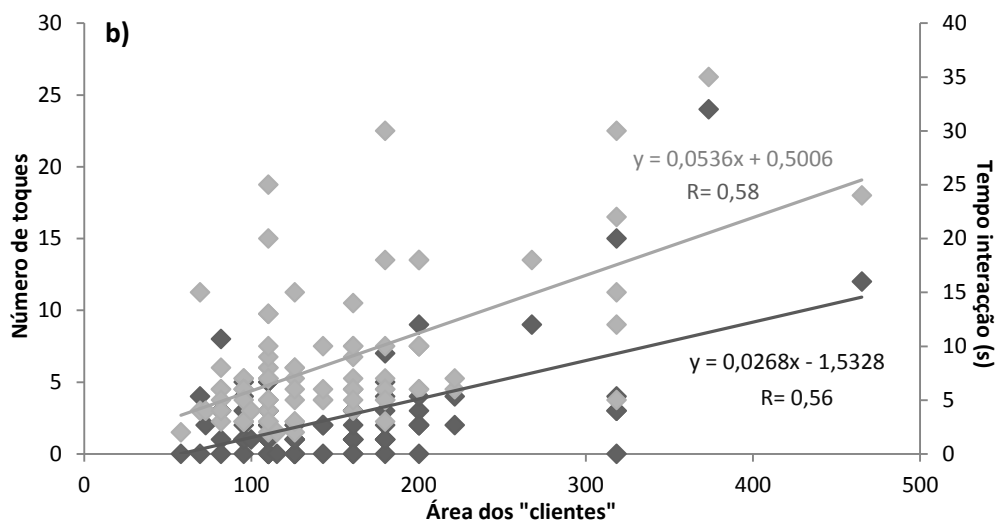


Figura 3 – Número médio de toques e tempo interação de limpezas (s) dos limpadores *C. julis* (a) *T. pavo* (b) em função da área de cada peixe “cliente” observado em “estações de limpeza” com as suas respectivas representações das linhas de tendências de tipo linear. Cinzento claro: tempo de interação (s); cinzento escuro: número de toques.

3.2.2. Níveis de cooperação dos limpadores com os seus “clientes”

Das 86 interações observadas, 13 acabaram em “jolt” por parte dos “clientes” dos limpadores *C. julis* (15,12 % das interações totais). Para a espécie *T. pavo*, das 92 interações, somente duas acabaram em “jolt” (2,17 % das interações totais). Ao nível das espécies “clientes”, isso significa que *S. caeruleus* respondeu 1,16 “jolts” / 60 s com a espécie *C. julis* e 0,18 “jolts” / 60 s com a espécie limpador *T. pavo*. Foram encontradas diferenças significativas entre o número de “jolts” para a espécie *S. caeruleus* em função da espécie de limpador (para considerar o número de “jolts” significativo, a probabilidade de valores recalculados serem menores que os valores reais ao acaso deveria ser menor do que -10; Monte Carlo: $p = 0,002$). A espécie *C. julis* provocou mais “jolts” aos seus “clientes” em comparação com a espécie *T. pavo*. Destes “clientes” que reagiram às batotas dos limpadores, somente três “clientes” foram observados a perseguir (castigar) os limpadores em causa, todos das espécie *C. julis*.

A espécie *S. caeruleus* foi observada a esperar para ser limpo $3,5 \pm 0,4$ s enquanto esperou $9,47 \pm 1,47$ s para a espécie *T. pavo*. Foram também encontradas diferenças entre os tempos de espera dos “clientes” (para ser limpo) entre as espécies de limpador (teste de Mann-Whitney: $U = -2,48$; $p = 0,01$).

3.3. Alimentação das espécies de peixes *C. julis* e *T. pavo*

3.3.1. Composição da dieta nas espécies *C. julis* e *T. pavo* aleatórios

De modo geral, os itens mais frequentes na dieta dos peixes *C. julis* e *T. pavo* foram crustáceos e gastrópodes (Fig. 8c, d) mas frequências maiores foram encontradas para o item crustáceos em ambas as dietas (93,33 % e 100 % respectivamente). Para completar os resultados de frequências, os resultados de abundância (Fig. 8a, b) e de pesos (Fig. 8e, f) (Apêndice IV) dos itens demonstraram que os crustáceos, no total, são também muito abundantes e significativo em termo de peso ($44,54 \pm 30,49$ % e $74,45 \pm 14,77$ % de abundância respectivas; $8,86 \pm 9,21$ % e $15,19 \pm 8,93$ % em termo de peso). O item ectoparasita foi encontrado somente na dieta de *C. julis* com uma frequência de 33,33 % onde todos os elementos parasitários foram larva de gnatídeos (Gnathiidae) com a exceção de um indivíduo que foi caligídeo (Caligidae).

A análise PERMANOVA permitiu mostrar que a dieta das duas espécies *C. julis* e *T. pavo* diferem muito significativamente em função dos itens ingeridos (Tabela. 2). Segundo a análise de PCoA, observa-se uma delimitação nítida entre os indivíduos das duas espécies de não limpadores. O eixo horizontal (PCO1), responsável por 86,5 % da variação entre estes dois grupos, permite destacar os itens alimentares responsáveis pela maior diferenças entre as duas espécies nomeadamente crustáceos, gastrópodes e ectoparasitas (Fig. 4).

Tabela 2 – Análise PERMANOVA da média de consumo dos itens alimentares na dieta geral entre as duas espécies *C. julis* e *T. pavo* expressados com o índice de importancia relativa (IRI). GL: grau de liberdade, QM: quadrado médio.

Fonte	GL	QM	Pseudo-F	p (perm)
Espécie	1	$3,51 \times 10^8$	55,35	0,001
Residual	58	$6,34 \times 10^6$		
Total	59			

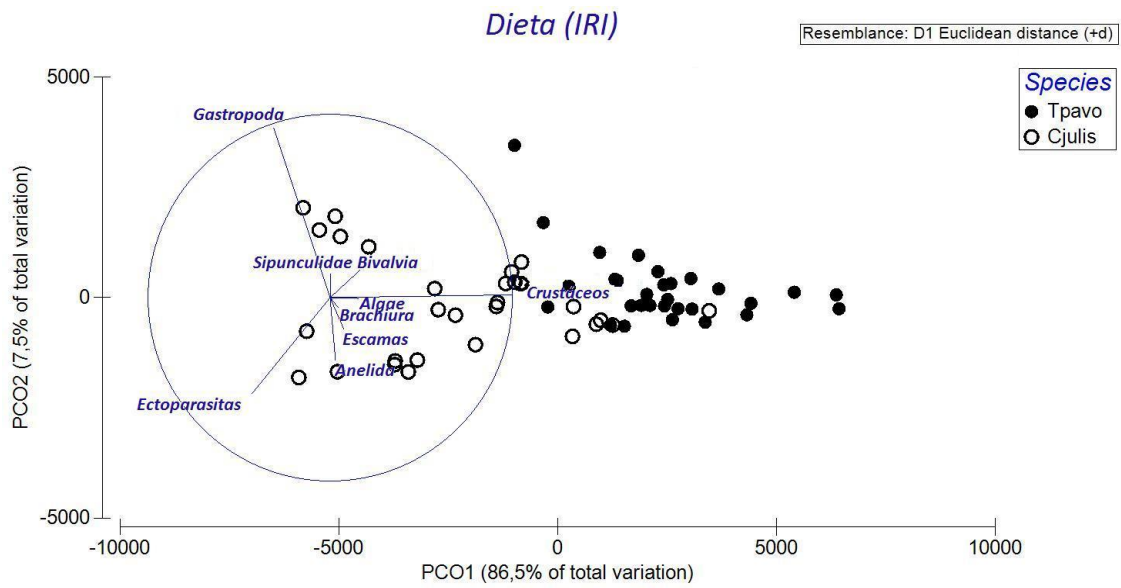
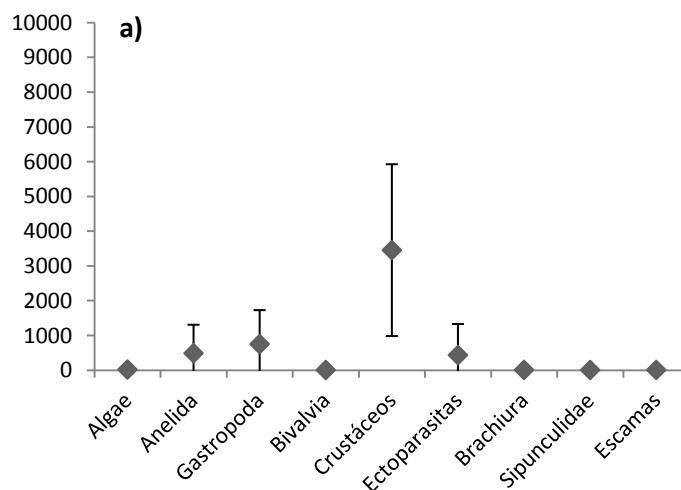


Figura 4 – Comparação das dietas dos peixes *C. julis* e *T. pavo* aleatórios com a Análise de Coordenadas Principais (PCoA).

No que diz respeito ao IRI (Apêndice IV), observou-se que os crustáceos são de um modo geral dominantes na dieta mas do *T. pavo* (Fig. 5b) com um IRI muito maior ($8273,25 \pm 1735,76$) do que a outra espécie *C. julis* ($3456,25 \pm 2471,85$) (Fig. 5a).



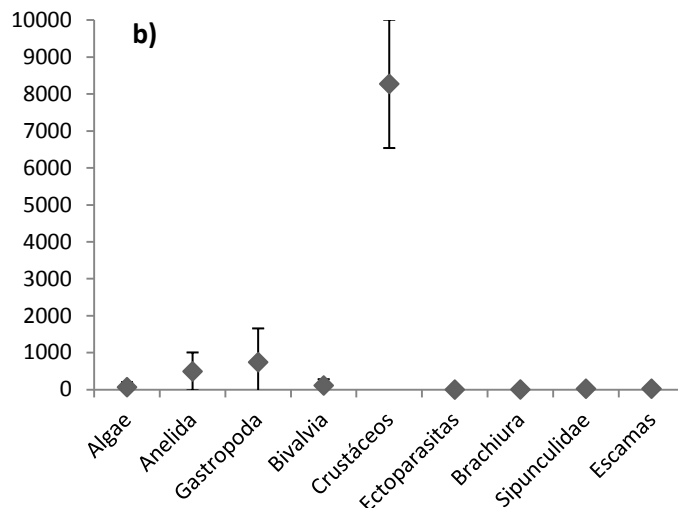


Figura 5 – Representação gráfica do IRI médio (\pm DP) de cada grupos de itens alimentares para a espécie *C. julis* (a) e *T. pavo* (b).

3.3.2. Composição principal na dieta das espécies *C. julis* e *T. pavo* limpadores e variações intraespecíficas entre os peixes limpadores e aleatórios

As larvas de gnatídeos (Gnathiidae) são os itens mais frequentes na dieta dos limpadores de ambas as espécies representando uma ocorrência de 100 % cada (Fig. 8c, d). Em termos de abundância e gravimetria, os gnatídeos foram novamente muito representativos para os limpadores: *C. julis* ($59,96 \pm 30,72$ % para a abundância e $8,66 \pm 6,78$ % para o peso) e *T. pavo* ($78,55 \pm 6,76$ % para a abundância e $7,31 \pm 9,69$ % para o peso). Todos os outros itens não foram representativos na dieta em termo de abundância (Fig. 8a, b) e de peso (Fig. 8e, f). Material amorfo parecido a muco foi encontrado em dois indivíduos de *C. julis* limpadores.

Fragmentos de algas foram encontrados nos *C. julis* e *T. pavo* aleatórios e para *C. julis* limpadores e escamas foram encontradas em muito dos conteúdos estomacais que sejam limpadores ou aleatórios.

Existe uma clara separação entre indivíduos *C. julis* limpadores e *C. julis* aleatórios (Fig. 6). O eixo horizontal (PCO1) é responsável por 64,9 % da variação entre estes dois grupos observando-se que os ectoparasitas e os crustáceos são os dois grupos de itens alimentares que participam mais nas suas divergências.

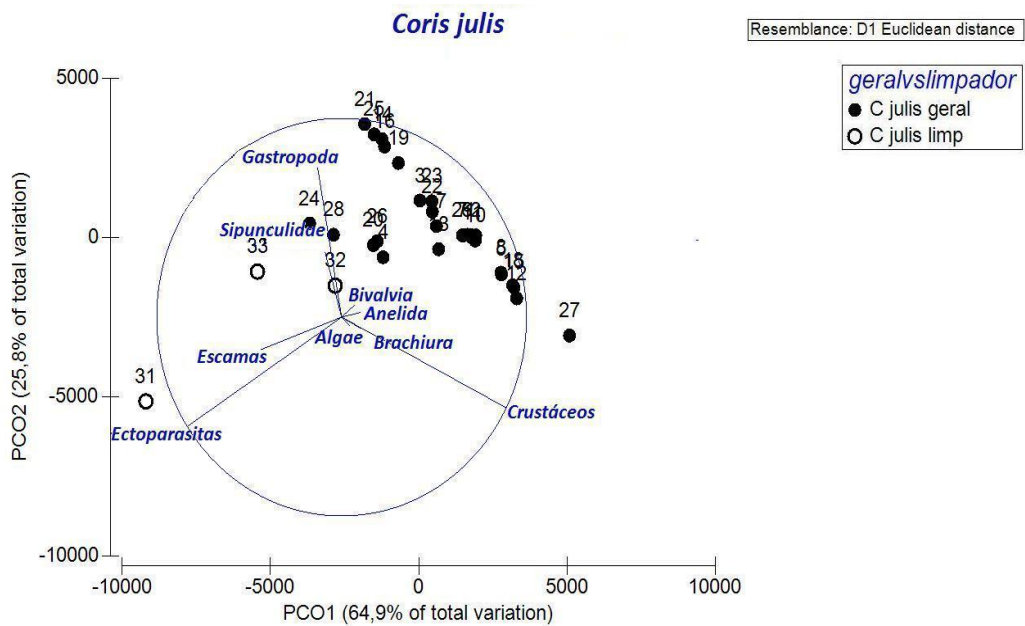


Figura 6 – Comparação das dietas dos peixes da espécie *C. julis* limpadores e aleatórios com a Análise de Coordenadas Principais (PCoA).

No caso de *T. pavo*, a separação entre limpadores e aleatórios é ainda mais evidente do que para *C. julis* (Fig. 7). O eixo horizontal (PCO1) é responsável por uma variação de 77,3 % entre os dois grupos. Os crustáceos, assim como os ectoparasitas e os braquiúras são os três grupos de itens alimentares que participam mais nas suas diferenças.

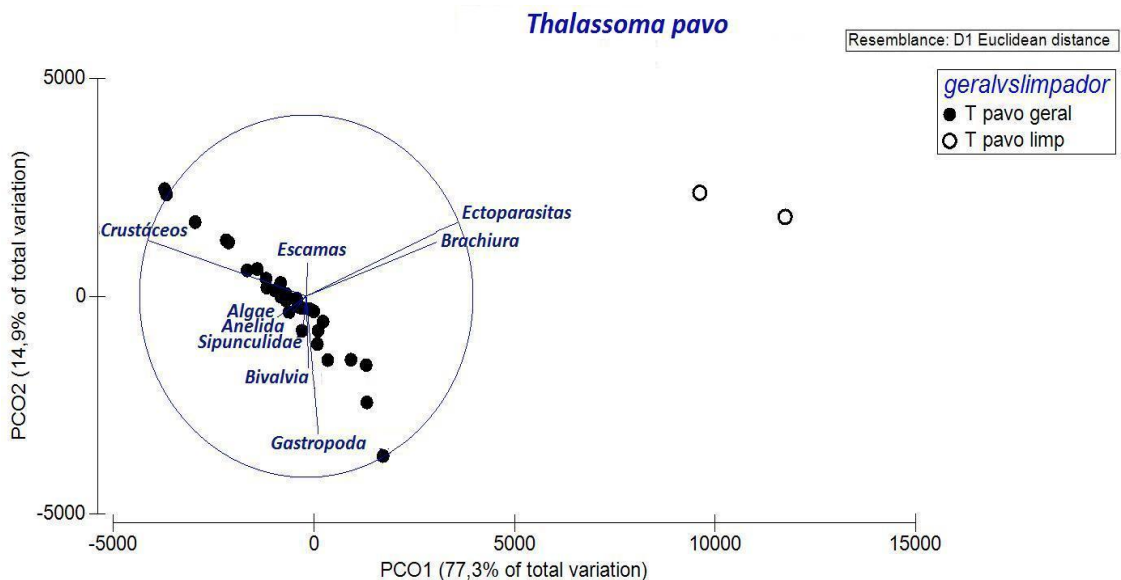


Figura 7 – Comparação das dietas dos peixes da espécie *T. pavo* limpadores e aleatórios com a Análise de Coordenadas Principais (PCoA).

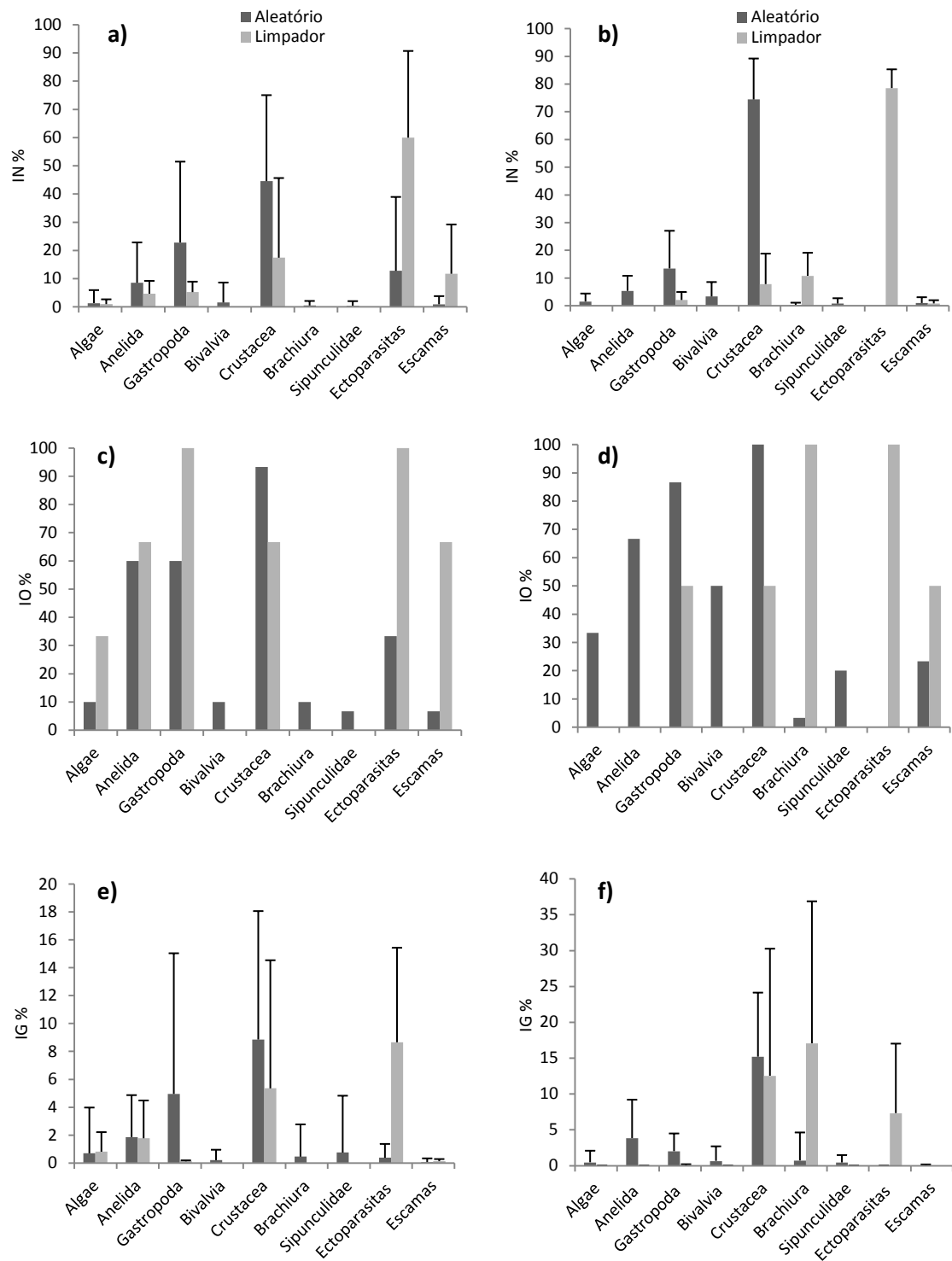


Figura 8 – Representação média (± DP) do índice numérico (IN %), índice de ocorrência (IO %) e índice gravimétrico (IG %) na dieta das espécies *T. pavo* e *C. julis*. Os gráficos da esquerda (a, c, e) representam os índices de *C. julis* limpadores e aleatórios e os gráficos da direita (b, d, f) representam os índices de *T. pavo* limpadores e aleatórios.

3.4. Infestação dos peixes por ectoparasitas

3.4.1. Variação do grau de infestação dos “clientes” e “controles”

Relativamente à análise dos ectoparasitas da comunidade piscícola açoriana, tanto os “clientes” como os “controles” (as espécies não observadas em limpezas mas que se encontraram sempre por perto das “estações de limpeza”, apresentaram de modo geral um número mais elevado de caligídeos (média total de $11,35 \pm 2,91$) do que de gnatídeos (média total de $2,33 \pm 0,41$), presentes nas superfícies dos seus corpos (Fig. 9). Além disso, a espécie *L. bergylta* destaca-se com uma média de $62 \pm 47,21$ caligídeos e $7,75 \pm 2,59$ gnatídeos, num total de quatro indivíduos capturados. Pelo contrário, a espécie *D. sargus* apresentou uma carga parasitária mais baixa com uma média de $3,62 \pm 1,41$ caligídeos e de $0,08 \pm 0,08$ de gnatídeos num total de 13 indivíduos capturados. Diferenças significativas entre todas as espécies de peixes capturadas e o número de ectoparasitas presente na superfície dos seus corpos foram encontradas (teste de Kruskal-Wallis: $H = 22,04$; $GL = 7$; $p = 0,02$). No entanto, o teste post-hoc foi incapaz estabelecer o padrão das diferenças entre cada uma das espécies que seja “clientes” ou “controles” ($p > 0,05$).

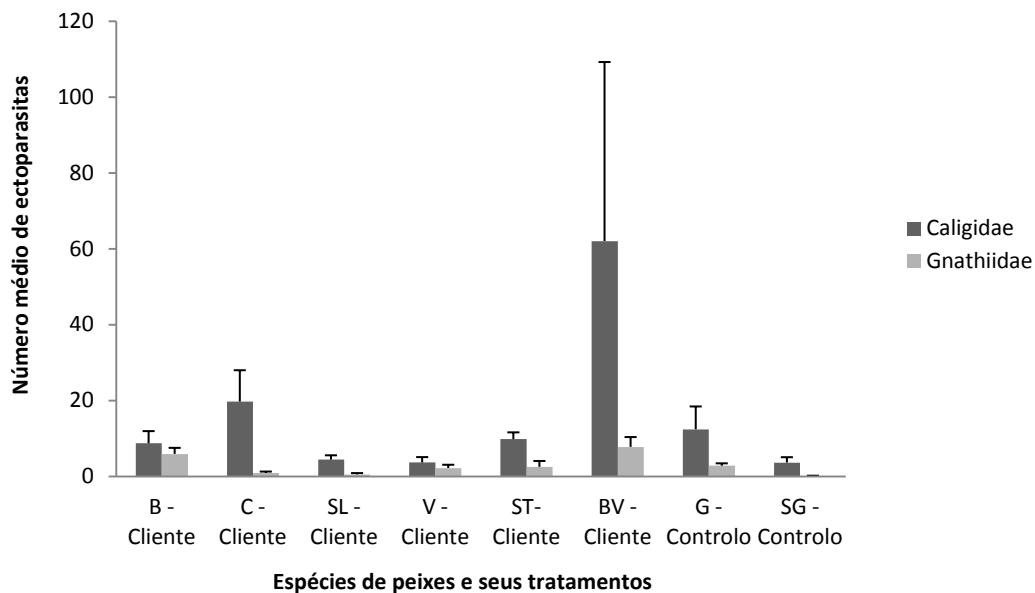


Figura 9 – Número médio (\pm EP) de Caligidae e Gnathiidae encontrados na superfície do corpo das espécies “clientes” e “controles”. B: *S. caeruleus*; C: *A. luridus*; SL: *S. salpa*; V: *S. cretense*; ST: *M. surmuletus*; BV: *L. bergylta*; G: *S. atricauda*; SG: *D. sargus*.

3.4.2. Efeito da área dos “clientes” e “controles” nas suas cargas parasitárias

Não foram encontradas diferenças significativas entre a carga parasitárias das espécies “clientes” e “controles” com a suas áreas (Correlação de Spearman: $r = 0,066$; $GL = 76$; $p = 0,56$). A representação gráfica desta relação mostra que uma quase inexistente correlação (Fig. 10).

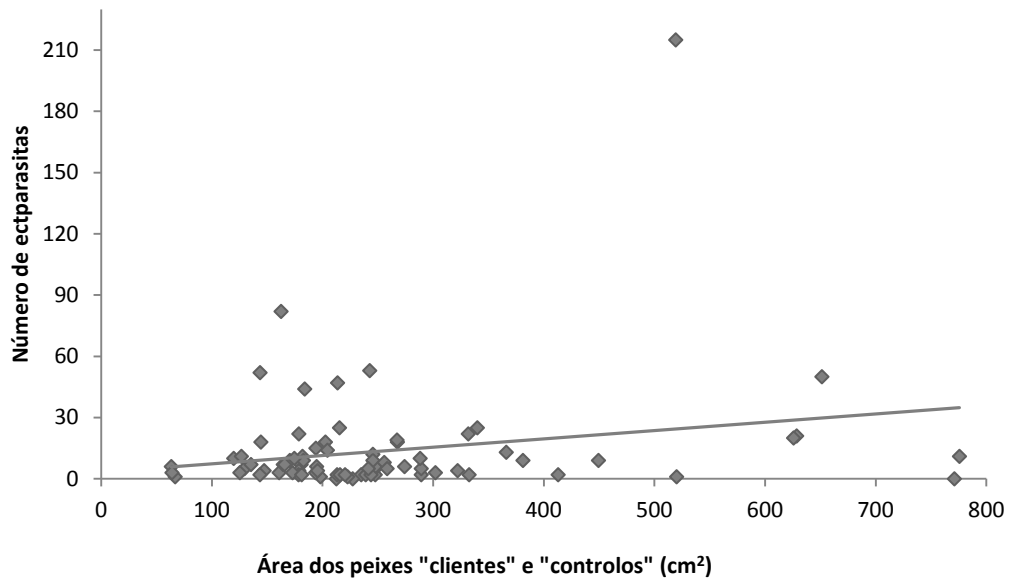


Figura 10 – Representação gráfica da relação entre o número de ectoparasitas encontrados na superfície do corpo dos “clientes” com as suas áreas do corpo respectivas (cm²) e a representação da linha de tendência de tipo linear

4. Discussão

Este estudo contribui para o conhecimento e a caracterização de interacções mutualísticas nas comunidades costeiras em ambientes temperados, mais particularmente no arquipélago dos Açores. O comportamento das espécies de limpadores *C. julis* e *T. pavo* como dos seus “clientes” foram analisados de modo a obter um máximo de informações sobre as suas interacções. A comparação entre as duas espécies de limpadores foi muito importante de modo a compreender o grau de especialização de cada espécie, e se alguma delas pode ser definida como limpador principal. A análise dos conteúdos estomacais das espécies *C. julis* e *T. pavo*, tal como a análise dos ectoparasitas presente nos “clientes” permitiu determinar a dependência de cada espécie e de cada fenótipo (limpador vs não limpador) e o impacto do comportamento na infestação dos “clientes”.

4.1. Os limpadores e sua “clientela”

4.1.1. Os limpadores açorianos – descrição comportamental

No total, vinte “estações de limpeza” foram analisadas (dez para *C. julis* e dez para *T. pavo*), enquanto somente duas tinham sido anteriormente descritas na ilha do Corvo por Bertoncini *et al.* (2009) com a espécie de limpador *C. julis* e a profundidades semelhantes.

Para além disso, fora das “estações de limpeza”, 18 locais não fixos foram encontrados com limpadores em interacções de limpeza, 13 da espécie *C. julis* e 5 de *T. pavo*. Este resultado para a espécie *C. julis* não é surpreendente pois, Galeote e Otero (1998) já a tinham descrito como um limpador não dependente de “estações de limpeza”, em Tarifa (Espanha) tal como a espécie de *T. pavo* no estudo de Van Tassel *et al.* (1994) nas ilhas Canárias.

Estas mesmas duas possibilidades de interacção (dentro ou fora de estações de limpeza) foram também descritas por Ayling e Grace (1971) na Nova Zelândia com a espécie *C. sandageri*. Ao contrário, Hobson (1971) não observou nenhuma agregação de limpadores facultativos californianos (*O. californica*) em “estações de limpeza”, tal como o estudo de Galeote e Otero (1998) com o limpador facultativo *C. exoletus*, em Tarifa (Espanha). Ambos estes autores descreveram os descreveram como “limpadores oportunistas”, ou seja à medida que estes limpadores se movem no seu ambiente, aproximam-se dos “clientes” e interagem com eles em quaisquer sítios que se encontrem.

4.1.2. A “clientela”

Darcy *et al.* (1974) e Sazima *et al.* (1999) notaram que as espécies de peixes limpadores caracterizadas de facultativas, ou menos especializadas, apresentam uma tendência a concentrar as suas actividades de limpeza em poucas espécies de “clientes”. Esta tendência é corroborada pelo presente estudo, em que somente seis espécies foram observadas como “clientes” de *C. julis* e apenas quatro de *T. pavo*, sendo apenas três destas espécies “clientes” comuns às duas espécies de limpadores. Ainda assim, quando comparado com outras espécies de peixes de limpadores em águas temperadas, o número de “clientes” observado nos limpadores açoriano é ainda mais reduzido. Henrique e Almada (1997) registaram um total de 12 espécies de “clientes” para o limpador *C. exoletus* na reserva marinha da Arrábida (Portugal) enquanto Galeote e Otero (1998) encontraram 18 espécies “clientes” para a mesma espécie de limpador (*C. exoletus*) em Tarifa (Espanha). Para além destes estudos, Arnal e Morand (2001) contabilizaram um total de 18 espécies de “clientes” num estudo no mar Mediterrâneo em Banyuls-su-mer (França), desta feita com o limpador *S. melanocercus*. Não obstante o facto de serem diferentes espécies de limpadores que vivem em habitats diferentes, é possível que parte destas diferenças possa estar relacionada com diferenças de estrutura das comunidades em questão. A colonização das ilhas do arquipélago dos Açores pelos organismos litorais é particularmente difícil devido a seu isolamento e a sua estreita faixa costeira (Santos *et al.* 1995). Além disso, a grande distância para as costas continentais é certamente o maior factor que contribuí para a ocorrência de um número reduzido de espécies de peixes costeiros (Brito 1991), que por sua vez se deve reflectir no número de espécies “clientes”.

Este estudo demonstrou que não existem diferenças significativas entre a diversidade de “clientes” para as duas espécies de limpadores, sendo que a espécie *S. caeruleus* é mais frequentemente observada em interacções de limpeza com as duas espécies de limpadores (234 interacções num total de 258). Floeter *et al.* (2007) encontraram uma forte correlação positiva entre a abundância de uma espécie de peixe na comunidade com sua frequência de limpeza. Sendo assim, a dominância das interacções de limpezas por parte da espécie *S. caeruleus* poderá ser uma consequência da sua grande abundância na comunidade costeira açoriana (uma das quatro espécies mais abundantes; Bertoncini *et al.* 2010). Para além disso, Arnal e Morand (2001) demonstraram que as espécies de limpadores preferem interagir com mais frequência e durante mais tempo com as espécies “clientes” que têm melhor qualidade de muco. Neste mesmo estudo, estes autores apontaram que várias espécies (*S. tinca*, *S. mediterraneus*, *S. ocellatus*) que são da mesma ordem que *S. caeruleus*, como tendo muco

mais rico em proteína, com melhor índice de qualidade e mais calórico. É possível também que esta a espécie *S. caeruleus* apresente uma elevada qualidade de muco (semelhante as suas espécies mais próximas filogeneticamente) e este facto pode ser importante para os limpadores (tornando esta espécie mais atraente como “cliente”).

A espécie de “cliente” *S. cretense* foi observada em apenas 13 interações totais de limpeza (5 %), o que é relativamente surpreende, tendo em conta o estudo de Quimbayo *et al.* (2012), nas ilhas de Cabo Verde e São Tomé, considerada uma das mais frequente (20 % das interações totais) com o limpador *Bodianus speciosus*, *Coris atlantica*, *T. pavo* e *Canthigaster capistrata*. A mesma situação foi observada para a espécie *L. bergylta* onde no presente estudo foi observado somente em quatro interações de limpeza, contrastando com o estudo de Henriques e Almada (1997) em que foi observada com uma das espécies mais frequentes em interações mutualísticas com o limpador *C. exoletus* na reserva marinha da Arrábida (Portugal). Também a espécie *A. luridus* (Pomacentridae) foi observada somente em quatro interações de limpezas com o limpador *C. julis*, contrariando vários estudos sobre outras espécies pertencentes à mesma família, como por exemplo, a espécie *Chromis chromis* que foi referida como muito frequente nas “estações de limpeza” com os limpadores *C. exoletus* em Tarifa (Galeote e Otero 1998) e *S. melanocercus* em Banyuls-su-mer (Arnal e Morand 2001). Também, Quimbayo *et al.* (2012) nas águas subtropicais de Cabo Verde e tropicais de São Tomé, reportaram que *Chromis lubbocki* e *C. multilineata* são muito frequentes em interações mutualísticas com os seus limpadores. É possível que estas diferenças comportamentais quando comparadas com outras espécies parentes, podem dever-se a diferenças de abundância destas espécies no local de estudo. Ao contrario de *S. caeruleus*, *S. cretense*, *L. bergylta* e *A. luridus* foram apontados por Bertocini *et al.* 2010 como espécies menos comuns nas águas costeiras açorianas e por isso possa ter sido menos vezes observadas em actividades de limpeza.

Algumas espécies foram encontradas perto das “estações de limpeza” mas nunca foram observadas a interagir com os limpadores. Exemplo disso foram as espécies *D. sargus* e *B. boops* que ao contrário do estudo de Gaelote e Otero (1998) onde foram descritas como “clientes” do limpador *C. exoletus*, não foram observadas em interações de limpeza nos Açores. O mesmo se pode dizer para a espécie *S. atricauda* descrita por Van Tassel *et al.* (1994) como “cliente” de *C. julis*. No entanto, apesar de não se ter observado estas espécies em interações de limpeza, segundo Losey (1971), pode-se caracterizar-las como potenciais “clientes” destes limpadores.

Como tal, neste nenhum peixe piscívoro foi encontrado em interações de limpeza tal como no estudo de Johnson e Ruben (1998) sobre o peixe limpador facultativo *T. bifasciatum*

nas Caraíbas. Estes autores demonstraram que os custos para estes limpadores podem ser elevados, já que ao aproximarem-se duma espécie piscívora, podem ser atacados e predados.

4.1.3. O comportamento genérico de limpeza

De um modo geral, neste estudo e semelhante ao que acontece na grande parte das interações de limpeza, o peixe-visitante (“cliente”) é que solicita a interação de limpeza adoptando posturas estereotipadas e imóveis, que sinaliza o sua motivação a interagir (Côté *et al.* 1998). Ao assumirem estas posturas, que variaram de espécie para espécie, os indivíduos aumentam a probabilidade de serem inspeccionados pelos limpadores (Côté *et al.* 1998). Esta postura foi caracterizada pela abertura de todas as suas barbatanas, e dependente do seu centro de gravidade, o peixe vai descaindo lentamente (Ayling e Grace 1971).

Em geral, as interações foram iniciadas pelos “clientes” em postura de limpeza tanto para *C. julis* e *T. pavo* (78,9 % dos casos). O mesmo foi observado por Santos (1996) que reportou um número maior de interações iniciadas pelos “clientes” com o limpador facultativo *C. exoletus* no parque marinho da Arrábida. A finalização das limpezas foi normalmente marcada pelo abandono do limpador (81,9 % dos casos), o que pode mostrar o desinteresse do limpador pelo “cliente”. Santos (1996) põe a hipótese que este abandono possa estar relacionado com o esgotamento da fonte de alimento essencial (ectoparasitas).

4.2. Qualidade de limpeza

4.2.1. Preferência dos limpadores em função da área corporal dos “clientes”

Os limpadores da espécie *T. pavo*, limpam significativamente mais tempo e dão significativamente mais toques quando em interação com “clientes” maiores, ao invés da espécie *C. julis*, em que os limpadores interagem menos tempo, porém também tocam mais vezes nos “clientes” maiores.

Uma possível hipótese para a relação do número de toques e a área do “cliente” encontrada nas duas espécies, talvez reside no facto que os “clientes” maiores terem normalmente mais parasitas (Noble *et al.* 1963; Buchmann 1989; Grutter 1994; Poulin 2000) e como tal, os limpadores necessitam de mais toques para os retirar por completo.

As diferenças no tempo de interação entre as duas espécies de limpadores com os seus “clientes”, pode estar relacionada com o facto que a espécie *C. julis* é mais especializada em interações de limpeza, logo mais competente e consequentemente mais rápida na procura de alimento de interesse (*e.g.* ectoparasitas, muco, tecido morto) na superfície do corpo dos

“clientes” do que *T. pavo*. A relação não significativa entre o tempo de interacção e a área do “cliente” na espécie de limpador *C. julis*, também já foi encontrada no estudo de Arnal *et al.* (2000) onde observaram que o tamanho do corpo dos “clientes” do cabozes limpador das Caraíbas (*Elacatinus* spp.) não influencia o tempo das interacções das suas limpezas. A relação significativa entre o tempo de interacção e a área do “cliente” com a espécie de limpador *T. pavo* vai de encontro com o estudo de Grutter (1995) onde este autor demonstrou que os “clientes” maiores são mais apelativos para os limpadores *L. dimidiatus*, são limpos mais frequentemente e durante mais tempo, uma vez que poderão ter mais parasitas ou mais muco.

4.2.2. Níveis de cooperação dos limpadores com os seus “clientes”

A aparente especialização dos limpadores *C. julis* (quando comparados com os *T. pavo*), que pode pressupor que estes preferem alimentar-se de parasitas, não retira a possibilidade de existência de desonestidade nestas interacções. De facto, em termos comportamentais, os “clientes” dos *C. julis* parecem fazer mais “jolts” (1,16 “jolts” / 60 s) do que os “clientes” dos limpadores *T. pavo* (0,18 “jolts” / 60 s). Ainda assim, em conjunto, as espécies “clientes” destas duas espécies de limpadores respondem às mordidas dos limpadores relativamente menos quando comparadas com as espécies “clientes” do limpador obrigatório *Elacatinus evelynae* nas Caraíbas (4,2 “jolts” / 60 s) (Soares 2008a). Isto pressupõe que o nível de desonestidade nestes sistemas açorianos é pouco importante, tal como para limpadores caribenhos, visto que ambos parecem preferir alimentar-se de ectoparasitas ao contrário de muco dos “clientes” (Soares *et al.* 2008a). Este facto pode estar relacionado com o encontrado por Barbu *et al.* (2011), que demonstraram que os limpadores facultativos fazem normalmente menos batotas com os “clientes” em relação a limpadores obrigatórios. Bshary e Grutter (2002b) referem que a única forma para o “cliente” de controlar esta forma de batota por parte do limpador será de lhe punir (activamente castigando-o ou simplesmente abandonando a estação). No entanto foram poucos os casos em que os “clientes” reagiram à potencial batota destes limpadores açorianos, tal como foram poucos os “clientes” que terminaram activamente as interacções. É possível então que, nestes sistemas açorianos, os “jolts” sejam uma reacção associada à remoção dos parasitas e não correlacionado com a desonestidade ou seja, quando se alimentam de activamente de ectoparasitas podem sem propósito alimentar de outras fontes que provocam o “jolt” por parte do “cliente”. Pode também existir alguma desonestidade relacionada com o esgotamento da fonte alimentar primordial (ectoparasitas).

Em relação ao tempo de espera, os peixes “clientes” esperam significativamente mais tempo para ser atendidos por *T. pavo* do que *C. julis*. Este resultado pode ser apoiado com o encontrado neste estudo sobre a relação entre o tempo de interação e o tamanho dos “clientes”. Tendo em conta que os limpadores *C. julis* parecem ser mais especializados e passam menos tempo com os seus “clientes”, permitem também que estes esperem menos tempo pelo início da sua interação. Ao contrário, *T. pavo* ao perder mais tempo a inspeccionar os “clientes” faz com que os seus “clientes” esperem mais tempo até ao início das suas limpezas.

4.3. Alimentação das espécies de peixes *C. julis* e *T. pavo*

4.3.1. Composição da dieta nas espécies *C. julis* e *T. pavo* aleatórios

No presente estudo, as dietas de *C. julis* e *T. pavo* aleatórios foram compostas maioritariamente por crustáceos, poliquetas, anfípodes, copépodes e gastrópodes. Este perfil de dieta é muito semelhante à de outros labrídeos descrito por Galeote e Otero (1998) e Michel *et al.* (1987) que estudaram o comportamento de limpeza das espécies *C. exoletus* no Atlântico e de *S. melanocercus* no Mediterrâneo. Apesar de ambas os indivíduos aleatórios (de ambas as espécies) revelarem uma elevada dependência de crustáceos, este item alimentar participa na diferença de alimentação entre elas. Este resultado foi apoiado pela representação gráfica do IRI de cada grupo alimentar para cada espécie aleatória. O IRI dos crustáceos revelou ser superior para a espécie *T. pavo* quando é comparado com *C. julis*, demonstrando uma maior dependência de crustáceos para *T. pavo*. Esta grande diferença pode ser explicada pelo facto que o índice composto IRI resulta da combinação de índices simples (ocorrência, numérico e gravimétrico) que são todos mais elevados para *T. pavo*, amplificando assim as diferenças quando combinados. Dentro dos crustáceos, uma maior representatividade coube aos anfípodes (*cf.* Apêndice IV), tal como Azevedo *et al.* (1999) reportaram para esta mesma espécie de *T. pavo*.

Para além desta diferença observada para os crustáceos, *C. julis* apresentaram larvas de gnatídeos nos conteúdos estomacais (ocorrência de 33,33 %), enquanto estes estiveram ausentes para *T. pavo*. Isto pode indicar que estes indivíduos *C. julis* terão limpo, apesar de menos frequentemente, o que também indica que esta espécie poderá estar mais dependente de ectoparasitas e conseqüentemente de interações interespecíficas em comparação com o seu homólogo *T. pavo*. No entanto, apesar de não se ter observado ectoparasitas no estômago destes indivíduos *T. pavo*, a presença de escamas no seu estômago (23,33 %) (em comparação com as observadas nos estômagos de *C. julis* (6,67 %), poderá também estar ligada a

interacções de limpeza. No entanto, a não observação de ectoparasitas no estômago de *T. pavo*, pode reflectir uma ausência de remoção de ectoparasitas nas horas anteriores a serem capturados mas também pode ser consequência de tempos de digestão diferentes – as escamas sendo mais difícil de digerir. Em todos os casos, a presença de escamas podem reflectir um comportamento de desonestidade da parte do limpador (Arnal e Côté 2000; Soares *et al.* 2008b, 2009), o que poderá denunciar uma maior frequência de batota na espécie *T. pavo* que em *C. julis*.

4.3.2. Composição principal na dieta das espécies *C. julis* e *T. pavo* limpadores e variações intraespecíficas entre os peixes limpadores e aleatórios

Embora a amostragem de limpadores após interacções de limpeza seja muito reduzida (cinco amostras), todas as amostras de ambas as espécies foram encontradas com larvas de gnatídeos e em grande abundância. Apesar de sua difícil identificação na dieta dos peixes (Arnal e Morand 2001), a presença de muco foi encontrada em dois dos três peixes limpadores *C. julis* ao invés de *T. pavo* onde este esteve ausente. A menor abundância de parasitas em *C. julis* quando comparado com *T. pavo*, pode estar relacionada com a presença e/ou ausência de muco no *C. julis* e *T. pavo* respectivamente. Arnal e Morand (2001) demonstraram que os limpadores da espécie *S. melanocercus* preferem alimentar-se de muco do que ectoparasitas. Também, Soares *et al.* (2008a, 2010) notaram que os limpadores do género *Elacatinus* spp. podem começar as interacções cooperando com os “clientes” à procura de ectoparasitas mas alimentando-se de outras fontes quando os ectoparasitas se tornam menos frequentes. Estas diferenças de dieta entre os limpadores-foco deste estudo, são reflexo de possíveis diferenças comportamentais entre as espécies ou provavelmente diferenças na carga parasitária ou muco dos seus “clientes”. A presença de escamas na dieta destas duas espécies (66,67 % de ocorrência para *C. julis* e 50 % de ocorrência para *T. pavo*) indica que os limpadores não se alimentam unicamente dos ectoparasitas dos “clientes” mas também de outros materiais presentes na superfície dos seus corpos – referido normalmente como comportamento desonesto (Bshary e Grutter 2002a).

Quando comparada a dieta tanto para *C. julis* como *T. pavo* entre os peixes não limpadores e limpadores, observou-se grandes diferenças. Nos limpadores verificou se a presença quase exclusiva de ectoparasitas gnatídeos para ambas as espécies. Os limpadores (que tinham ectoparasitas nos estômagos) eram também sempre mais pequenos que os peixes capturados aleatoriamente (todos juvenis). Este resultado pode indicar primeiramente umas mudanças na alimentação entre os peixes juvenis e os adultos tal como observados no estudo

de Cook (1996) e de Ebert (2002) com a espécie *Clinocottus analis* e *Notorynchus cepedianus* respectivamente. Feder (1996) também notou que todos os limpadores eram pequenos. O facto que muitas espécies limpam somente quando são juvenis parece apoiar esta afirmação.

4.4. Infestação dos peixes por ectoparasitas

4.4.1. Variação do grau de infestação dos “clientes” e “controles”

Embora as espécies variem em termos de infestação em termos gerais, não foram encontradas diferenças entre as espécies “clientes” e “controles”.

Em geral, na superfície do corpo de todos os indivíduos capturados, a família de ectoparasitas mais abundantes foram os caligídeos comparando com gnatídeos. Este resultado difere do estudo de Arnal e Morand (2001) no qual encontraram mais gnatídeos do que caligídeos. No entanto, estes mesmos autores observaram que, em média, as espécies “clientes” com mais gnatídeos foram as espécies *S. tinca* ($5,6 \pm 2,8$) e *S. mediterraneus* ($2,2 \pm 0,7$). Um resultado semelhante foi obtido neste estudo para espécies *L. bergylta* e *S. caeruleus*, pertencentes à mesma família e ordem, respectivamente, que apresentaram também um maior número médio de gnatídeos ($7,75 \pm 2,59$ para *L. bergylta* e $5,9 \pm 1,59$ para *S. caeruleus*).

Já relativamente à abundância de caligídeos, Arnal e Morand (2001) demonstraram que as três espécies que se apresentaram mais parasitadas por este parasita foram *D. sargus* ($3,2 \pm 1,0$), *C. chromis* ($2,6 \pm 1,1$) e *Serranus cabrilla* ($1,2 \pm 0,5$). O resultado obtido por estes autores para *D. sargus* revelou-se muito semelhante ao presente estudo ($3,62 \pm 1,41$; sendo esta espécie caracterizada de “controle”) mas diferindo em muito com *A. luridus* ($19,7 \pm 8,26$; espécie “cliente”) e *S. atricauda* ($12,4 \pm 6,01$; espécie “controle”), espécies da mesma família que *C. chromis* e *S. cabrilla*, respectivamente. Esta mesma tendência foi observada para as espécies *M. surmuletus* e *S. salpa* que apresentaram uma maior abundância de caligídeos neste estudo em comparação ao do Arnal e Morand (2001).

Em geral, os resultados demonstraram que nas águas costeiras de São Miguel, os peixes recolhidos caracterizados de “clientes” e “controles” encontraram-se mais parasitados que os “clientes” estudados por Arnal e Morand (2001) na costa Sul de França. Estas diferenças podem reflectir diferenças no ambiente entre estes dois locais, um baixo número de amostras colectadas por estes autores ($n = 5$), como diferentes períodos de capturas dos peixes “clientes” entre o estudo destes autores (Verão) e o presente estudo (Inverno / Primavera).

Relacionando a maiores abundâncias de caligídeos do que gnatídeos, com a dieta dos limpadores *C. julis* e *T. pavo*, pode-se por a hipótese que os limpadores procuram de maneira

selectiva os gnatídeos na superfície do corpo dos “clientes”, sem dar grande interesse aos caligídeos. Este resultado confirma a preferência geral dos peixes limpadores pelos gnatídeos, quer seja em águas tropicais (Grutter 1997; 1999; Arnal e Côté 2000) como em águas temperadas (Galeote e Otero 1998).

4.4.2. Relação entre área dos “clientes” e os seus ectoparasitas

Os peixes maiores apresentam normalmente mais ectoparasitas, pois têm uma maior superfície (área) propícia a uma maior infestação (Noble *et al.* 1963; Buchmann 1989; Grutter, 1994; Poulin 2000) e porque também são mais velhos, e terem sido expostos durante mais tempo, aumenta as probabilidades de serem parasitados (Eiras 1994). Embora este fenómeno tenha sido demonstrado por Grutter (1994) para numerosas espécies (*Hemigymnus melapterus*, *Scolopsis bilineatus* e *Ctenochaetus striatus*), uma generalização desta relação tem que ser cuidada, pois no presente estudo, não foi encontrada relação entre o número de ectoparasitas com a área dos peixes “clientes”. O mesmo foi demonstrado por Cressey e Collette (1970) que não encontrou relação entre a área de alguns peixes da família Belontiidae com o seu número de parasitas.

Apesar do número de toques de ambas as espécies de limpadores estar positivamente relacionado com áreas do corpo dos seus “clientes” (*cf.* divisão 4.2.1), o facto de não se ter encontrado uma relação positiva entre o número de ectoparasitas por “cliente” e as suas áreas poderá estar associado ao facto de “clientes” de maiores dimensões poderem apresentar uma distribuição mais difusa de ectoparasitas na superfície dos seus corpos do que peixes menores, podendo ter uma concentração de ectoparasitas em locais específicos tal como as barbatanas.

5. Considerações finais

Ao contrário da maioria dos trabalhos já realizados sobre as interações mutualísticas e focados nos peixes em águas tropicais, poucos estudos estão disponíveis para interações decorrentes em água temperadas e muito menos envolvendo os peixes limpadores facultativos *C. julis* e *T. pavo*. O presente estudo demonstrou que o papel destas espécies nos ecossistemas temperados e especificamente no ecossistema costeiro açoriano, é de enorme importância, já que: a) as espécies açorianas estão de facto parasitadas e essa parasitação é superior por exemplo ao que é referido em estudos decorridos no Mediterrâneo (Arnal e Morand 2001) e b) estas espécies de limpador removem de facto ectoparasitas dos seus peixes “cliente”, onde o nível de parasitação descoberto nestes sistemas açorianos sustenta a presença de “estações de limpeza” fixas. De acordo ao que foi previamente previsto, as espécies de limpador deste estudo apresentam comportamento diferentes quando interagem com a sua “clientela” e em termos de dieta, sendo a espécie *C. julis* aparentemente mais especializada e dependente da remoção e alimentação de ectoparasitas dos seus “clientes” do que a sua congénere *T. pavo*. Futuros estudos deverão focar-se mais especificamente no impacto deste nível de parasitação nos “clientes” destes limpadores e especificamente nos seus níveis de stresse e na sua taxa de dependência deste tipo de interações (taxas de retorno às estações de limpeza etc.). Muito ainda existe para explicar no que toca às diferenças cognitivas destas espécies de limpador, nomeadamente no que os fará comportar-se como limpador em alguns locais (como nos Açores) e não noutros. Num futuro estudo, deveria também se tomar em consideração que a concentração de ectoparasitas pode variar ao longo do dia tal como ao longo dos anos, e assim, alargar os períodos de amostragens para analisar as diferentes cargas parasitárias em função dos diferentes períodos e hora do dia.

Referências bibliográficas

- Afonso P. 2002. Spatial patterns in the littoral fish community of the Azores. Tese de Mestrado. Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Afonso P. 2007. Habitat use and movement patterns of three sympatric fishes with different life history strategies: implications for design of marine reserves. Tese de Doutoramento. University of Hawaii, Manoa.
- Afonso P, Morato T, Santos RSS. 2008. Spatial patterns in reproductive traits of the temperate parrotfish *Sparisoma cretense*. Fish Res. 90:92–99.
- Anderson MJ. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Austral Ecol. 26:32–46.
- Arnal C, Côté IM. 2000. Diet of broadstripe cleaning gobies on a Barbadian reef. J Fish Biol. 56:1075–1082.
- Arnal C, Côté IM, Morand S. 2001. Why clean and be cleaned? The importance of client ectoparasites and mucus in a marine cleaning symbiosis. Behav Ecol Sociobiol. 51:1–7.
- Arnal C, Côté IM, Sasal P, Morand S. 2000. Cleaner-client interactions on a Caribbean reef: influence of correlates of parasitism. Behav Ecol Sociobiol. 47:353–358.
- Arnal C, Morand S. 2001. Importance of ectoparasites and mucus in cleaning interactions in the Mediterranean cleaner wrasse *Symphodus melanocercus*. Mar Biol. 138:777–784.
- Axelrod R, Hamilton WD. 1981. The evolution of co-operation. Science. 211:1390–1396.
- Ayling AM, Grace RV. 1971. Cleaning symbiosis among New Zealand fishes. New Zeal Mar Freshwat Res. 5:205–218.
- Azevedo JMN. 1997. Estrutura de uma comunidade ictiológica do litoral da Ilha de São Miguel (Açores): caracterização e variações espaço-temporais. Tese de doutoramento. Universidade dos Açores, Ponta Delgada.
- Azevedo JMN. 1999. *Centrolabrus caeruleus* sp. nov., a long unrecognized species of marine fish (Teleostei: Labridae) from the Azores. Bocagiana. 196:1–11.
- Azevedo JMN, Cepeda HIR, Rodrigues JB. 1999. Notes on the biology of *Centrolabrus caeruleus* Azevedo, 1999 (Teleostei: Labridae). Arquipel Life Mar Sci. 17A:27–36.
- Barber I, Hoare D, Krause J. 2000. The effects of parasites on fish behaviour: a review and evolutionary perspective. Rev Fish Biol Fisher. 10:131–165.
- Barbu L, Guinand C, Bergmüller R, Alvarez N, Bshary R. 2011. Cleaning wrasse species vary with respect to dependency on the mutualism and behavioural adaptations in interactions. Anim Behav. 82:1067–1074.

- Barreiros JP, Cardigos F, Soares MS, Machado LF. 2008. Juvenile *Sphyraena viridensis* preyed by the lizard fish *Synodus saurus*, a new predatory association from the Azores (NE Atlantic Ocean). *Cybium*. 32:273–274.
- Barreiros JP, Santos RS. 1998. Notes on the food habits and predatory behaviour of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces: Serranidae) in the Azores. *Arquipel Life Mar Sci*. 16A:29–35.
- Barreiros JP, Santos RS, De Borba AE. 2002. Food habits, predatory and schooling behaviour of the yellowmouth barracuda *Sphyraena viridensis* Cuvier, 1829 (Perciformes: Sphyraenidae) of the Azores. *Cybium*. 26:83–88.
- Bertoncini AA, Machado LF, Barreiros JP, Hostim-Silva M, Verani JR. 2009. Cleaning activity among Labridae in the Azores: the rainbow wrasse *Coris julis* and the Azorean blue wrasse *Centrolabrus caeruleus*. *J Mar Biol Assoc U K*. 89:859–861.
- Bertoncini AA, Machado LF, Barreiros JP, Hostim-Silva M, Verani JR. 2010. Rocky reef fish community structure in two Azorean islands (Portugal) central North Atlantic. *J Mar Biol Assoc U K*. 90:1353–1362.
- Brito, A. 1991. *Catálogo de los Peces de las Islas Canaria*. Santa Cruz de Tenerife. La Laguna, Francisco Lemus.
- Brown BL, Creed RP, Skelton J, Rollins MA, Farrell KJ. 2012. The fine line between mutualism and parasitism: complex effects in a cleaning symbiosis demonstrated by multiple field experiments. *Oecologia*. 170:199207.
- Bshary R, Bergmüller R. 2008. Distinguishing four fundamental approaches to the evolution of helping. *J Evol Biol*. 21:405–420.
- Bshary R, Grutter AS. 2002a. Asymmetric cheating opportunities and partner control in a cleaner fish mutualism. *Anim Behav*. 63:547–555.
- Bshary R, Grutter AS. 2002b. Experimental evidence that partner choice is a driving force in the payoff distribution among cooperators or mutualists: the cleaner fish case. *Ecol Lett*. 5:130–136.
- Burdon JJ, Jarosz AM, Kirby GC. 1989. Pattern and patchiness in plant–pathogen interactions—causes and consequences. *Annu Rev Ecol Syst*. 20:119–136.
- Buchmann K. 1989. Relationship between host size of *Anguilla anguilla* and infection level of the monogeneans *Pseudodactylogyus* spp. *J Fish Biol*. 35:599–601.
- Cheney KL, Côté IM. 2005. Mutualism or parasitism? The variable outcome of cleaning symbioses. *Biol Lett*. 2:162–165.
- Clarke KR, Gorley RN. 2006. *PRIMER v6: User Manual / Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth.
- Cook A. 1996. Ontogeny of feeding morphology and kinematics in juvenile fishes: a case study of the Cottid Fish *Clinocottus analis*. *J Exp Biol*. 199:1961–1971.

- Connor RC. 1995. The benefits of mutualism: a conceptual framework. *Biol Rev.* 70:427–457.
- Cortés E. 1997. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can J Fish Aquat Sci.* 54:726–738.
- Côté IM. 2000. Evolution and ecology of cleaning symbioses in the sea. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev.* 38:311–355.
- Côté IM, Arnal C, Reynolds JD. 1998. Variation in posing behaviour among fish species visiting cleaning stations. *J Fish Biol.* 53:256–266.
- Côté IM, Soares MC. 2011. Gobies as cleaners. In: Patzner RA, Van Tassell JL, Kovacic M, Kapoor BG, editors. *The Biology of gobies*. Enfield, New Hampshire: Taylor and Francis Group, Science Publishers inc. p. 531–557.
- Cressey RF, Collette BB. 1970. Copepods and needlefishes: A study in host-parasite relationships. *Fish Bull.* 68:347–432.
- Darcy G, Maisel JC, Ogden JC. 1974. Cleaning preferences of gobies *Gobiosoma evelynae* and *G. prochilos* and the juvenile wrasse *Thalassoma bifasciatum*. *Copeia.* 1974:375–379.
- DOP. 2013. Departamento de Oceanografia e de Pescas. World Wide Web electronic publication. www.horta.uaç.pt; acedido a 08/13.
- Ebert DA. 2002. Ontogenetic changes in the diet of the sevengill shark (*Notorynchus cepedianus*). *Mar Freshw Res.* 53:517–523.
- Eibl-Eibesfeldt I. 1955. Über Symbiosen, Parasitismus und andere besondere zwischenartliche Beziehungen tropischer Meeresfische. *Zf Tierpsychol.* 12:203–219.
- Eiras J. 1994. *Elementos de Ictioparasitologia*. Porto: Fundação Eng. Antonio de Almeida.
- FAO. 2013. Food and Agriculture Organization. World Wide Web electronic publication. www.fao.org; acedido a 08/13.
- Feder HM. 1966. Cleaning symbiosis in the marine environment. In: Henry SM, editor. *Symbiosis*. Volume 1. New York City, New York: Academic Press. p.327-380.
- Floeter SR, Vázquez DP, Grutter AS. 2007. The macroecology of marine cleaning mutualisms. *J Anim Ecol.* 76:105–111.
- Francini-Filho RB, Sazima I. 2008. A comparative study of cleaning activity of two reef fishes at Fernando de Noronha Archipelago, tropical West Atlantic. *Environ Biol Fishes.* 83:213–220.
- Froese R, Pauly D. Editors. 2007. *Fishbases*. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org; acedido a 08/13.
- Galeote MD, Otero JG. 1998. Cleaning behaviour of rock cook, *Centrolabrus exoletus* (Labridae) in Tarifa (Gibraltar Strait Area). *Cybium.* 22:57–68.

- Gorlick DL. 1980. Ingestion of host fish surface mucus by the Hawaiian USA cleaning wrasse, *Labroides phthirophagus*, Labridae, and its effect on host species preference. *Copeia*. 863–868.
- Gower JC. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*. 53:325–338.
- Grutter AS. 1994. Spatial and temporal variations of the ectoparasites of seven reef fish species from Lizard Island and Heron Island, Australia. *Mar Ecol Prog Ser*. 115:21–30.
- Grutter AS. 1995. Relationship between cleaning rates and ectoparasite loads in coral reef fishes. *Mar Ecol Prog Ser*. 118:51–58.
- Grutter AS. 1996. Parasite removal rates by the cleaner wrasse *Labroides dimidiatus*. *Mar Ecol Prog Ser*. 130:61–70.
- Grutter AS. 1997. Spatiotemporal variation and feeding selectivity in the diet of cleaner fish *Labroides dimidiatus*. *Copeia*. 1997:346–355.
- Grutter AS. 1999a. Fish cleaning behaviour in Noumea, New Caledonia. *Mar Freshw Res*. 50:209–212.
- Grutter AS. 1999b. Cleaner fish really do clean. *Nature*. 398:672–673.
- Grutter AS. 2004. Cleaner fish use tactile dancing behavior as a pre-conflict management strategy. *Curr Biol*. 14:1080–1083.
- Grutter AS. 2005. Cleaning mutualism in the sea. In: Rohde K, editor. *Marine Parasitology*. Collingwood, Ontario: CSIRO Publishing. p.264–278.
- Grutter AS, Murphy JM, Choat JH. 2003. Cleaner fish drives local fish diversity on coral reefs. *Curr Biol*. 13:64–67.
- Grutter AS, Poulin R. 1998. Intraspecific and interspecific relationships between host size and the abundance of parasitic larval gnathiid isopods on coral reef fishes. *Mar Ecol Prog Ser*. 164:263–271.
- Guidetti P, D'Ambrosio P. 2004. Spatial variability in the distribution patterns of *Coris julis* and *Thalassoma pavo* (Pisces, Labridae) along the south-eastern Apulian coast. *Thalassia Salentina*. 27:81–90
- Harmelin-Vivien ML, Harmelin JG, Almeida AJ. 2001. Structure of fish assemblages on coastal rocky shores of the Azores. *Bol Mus Munic Funchal*. 6:127–138.
- Hayward PJ, Ryland JS. 1995. *Handbook of the marine fauna of North-West Europe*. Oxford: Oxford University Press.
- Henriques M, Almada VC. 1997. Relative importance of cleaning behaviour in *Centrolabrus exoletus* and other wrasses at Arrábida, Portugal. *J Mar Biol Assoc UK*. 77:891–898.
- Herre EA, Knowlton N, Mueller UG, Rehner SA. 1999. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends Ecol Evol*. 14:49–53.

- Hobson ES. 1971. Cleaning symbiosis among California inshore fishes. *Fish Bull.* 69:491–523.
- Hureau JC. 1970. Biologie comparée de quelques poissons antartiques. Tese de Doutorado. Université de Paris, Paris.
- Johnson WS, Ruben P. 1988. Cleaning behavior of *Bodianus rufus*, *Thalassoma bifasciatum*, *Gobiosoma evelynae*, and *Periclimenes pedersoni* along a depth gradient at Salt River Submarine Canyon, St. Croix. *Environ Biol Fishes.* 23:225–232.
- Johnstone RA, Bshary R. 2002. From parasitism to mutualism: partner control in asymmetric interactions. *Ecol Lett.* 5:634–639.
- Jordano P, Bascompte J, Olesen JM. 2003. Invariant properties in co-evolutionary networks of plant–animal interactions. *Ecol Lett.* 6:69–81.
- Kearn GC. 1975. The mode of hatching of the monogenean *Entobdella soleae*, a skin parasite of the common sole (*Solea solea*). *Parasitol.* 71:419–431.
- Limbaugh C. 1961. Cleaning symbiosis. *Sci Am.* 205:42–49.
- Losey GS. 1971. Communication between fishes in cleaning symbiosis. In: Cheng TC, editor. *Aspects of the Biology of Symbiosis*. Baltimore, Maryland: University Park Press. p. 45–76.
- Losey GS. 1972. The ecological importance of cleaning symbiosis. *Copeia.* 1972:820–833.
- Losey GS. 1974. Cleaning activity in Puerto Rico with comparison to the tropical Pacific. *Copeia.* 1974:961–970.
- Losey GS. 1978. The symbiotic behavior of fishes. In: Mostofsky DI, editor. *The behavior of fish and other aquatic animals*. New York City, New York: Academic Press. p. 1–31.
- Losey GS. 1987. Cleaning symbiosis. *Symbiosis.* 4:229–258.
- Magurran AE. 2004. *Measuring Biological Diversity*. Malden, Massachusetts: Blackwell Publishing.
- Manly BFJ. 2006. *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*, Third Edition. London: Chapman & Hall.
- McDonald JH. 2009. *Handbook of Biological Statistics, Second Edition*. Baltimore, Maryland: Sparky House Publishing.
- Mendes C, Dias E. 2007. Ecologia e Vegetação das Turfeiras de *Sphagnum* spp. da Ilha Terceira (Açores), *Cadernos de Botânica* 5. Angra do Heroísmo: Herbário da Universidade dos Açores.p.
- Michel C, Lejeune P, Voss J. 1987. Biologie et comportement des Labridés européens (Labres, Crénilabres, Rouquiers, Vieilles et Girelles). *Rev Aquariol.* 14:80.
- Moosleitner VH. 1980. Putzerfische und - garnelen im Mittelmeer. *Zool Anz.* 205:219–240.

- Morato T, Santos RS, Andrade JP. 2000. Feeding habits, seasonal and ontogenetic diet shift of blacktail comber, *Serranus atricauda* (Pisces: Serranidae), from the Azores, north-eastern Atlantic. *Fish Res.* 49:51–59.
- Morton B, Britton JC, de Frias Martins AM. 1998. Coastal Ecology of the Açores. Ponta Delgada: Sociedade Afonso Chaves.
- Nagasawa K. 1985. Comparison of the infection levels of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda) on chum salmon captured by two methods. *Jpn J Ichthyol.* 32:368–370.
- Nash RDM, Santos RS. 1993. The occurrence of the *Lesser weever* in the Azores. *J Fish Biol.* 43:317–319.
- Pascual M, Dunne JA. 2006. Ecological networks: linking dynamics in food webs. Oxford: Oxford University Press.
- Patzner RA, Santos RS. 1993. Ecology of rocky littoral fishes of the Azores. *Cour Forsch Inst Senckenb.* 159:423–427.
- Pinkas L, Oliphant MS, Iverson ILK. 1971. Food habits of albacore, bluefin tuna, and bonito in California waters. *Calif Fish Game. Fish Bull.* 152:1–105.
- Porteiro FM, Barreiros JP, Santos RS. 1996. Wrasses (Teleostei: Labridae) of the Azores. *Arquipel. Life Mar Sci. Suppl.* 14:23–40.
- Potts GW. 1973. The ethology of *Labroides dimidiatus* (Cuv. & Val.) (Labridae; Pisces) on Aldabra. *Anim Behav.* 21:250–291.
- Poulin R. 2000. Variation in the intraspecific relationship between fish length and intensity of parasitic infection: biological and statistical causes. *J Fish Biol.* 56:123–137.
- Poulin R, Grutter A. 1996. Cleaning symbiosis: proximate and adaptive explanations. *Bioscience.* 46:512–517.
- Quimbayo JP, Floeter SR, Noguchi R, Rangel CA, Gasparini JL, Sampaio CLS, Ferreira CE, Rocha LA. 2012. Cleaning mutualism in Santa Luzia (Cape Verde Archipelago) and São Tomé Islands, Tropical Eastern Atlantic. *Mar Biodiv.Records.* 5–e118.
- Randall JE, Allen GR, Steene RC. 1990. *Fishes of the Great Barrier Reef and Coral Sea.* Honolulu, Hawaii: University of Hawaii Press.
- Rodrigues SB. 1995. *Biologia de espécies de peixes litorais dos Açores. Família Labridae: Centrolabrus trutta* (Lowe, 1834), *Coris julis* (L. 1758), *Symphodus mediterraneus* (L. 1758) e *Thalassoma pavo* (L. 1758). Relatório de Licenciatura. Universidade dos Açores, Ponta Delgada.
- Sachs JL, Mueller UG, Wilcox TP, Bull JJ. 2004. The evolution of cooperation. *Quart Rev Biol.* 79:135–160.
- Santos FM. 1996. *Interações de limpeza em peixe com especial referência para Centrolabrus exoletus* (PISCES: LABRIDAE). Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa.

- Santos RS, Hawkins SJ, Monteiro LR, Alves M, Isidro EJ. 1995. Marine Research, Resources and Conservation in the Azores. *Aquat Conserv.* 5:311–354.
- Santos RS, Porteiro FM, Barreiros JP. 1997. Marine Fishes of the Azores. Annotated Checklist and Bibliography. *Arquipel Life Mar Sci.* 1–241.
- Sazima I, Moura RL, Sazima C. 1999. Cleaning activity of juvenile angelfish, *Pomacanthus paru*, on the reefs of the Abrolhos Archipelago, South Atlantic. *Environ Biol Fishes.* 56:399–407.
- Slobodkin LB, Fishelson L. 1974. The effect of the cleaner fish *Labroides dimidiatus* on the pount diversity of fishes on the reef front at Eilat. *Am Nat.* 108:369–376.
- Soares MC, Barreiros JP. 2003. Following associations with the striped red mullet *Mullus surmuletus* Linnaeus, 1758 (Perciformes, Mullidae) from the Azores. *Aqua J Ichthyol Aquat Biol.* 7:139–144.
- Soares MC, Barreiros JP, Sousa L, Santos RS. 2002. Agonistic and predatory behaviour of the lizardfish *Synodus saurus* (Linnaeus, 1758) (Actinopterygii: Synodontidae) from the Azores. *Aqua J Ichthyol Aquat Biol.* 6:53–60.
- Soares MC, Bshary R, Cardoso SC, Côté IM. 2008a. The meaning of jolts by fish clients of cleaning gobies. *Ethology.* 114:209–214.
- Soares MC, Bshary R, Cardoso SC, Côté IM. 2008b. Does competition for clients increase service quality in cleaning gobies? *Ethology.* 114:625–632.
- Soares MC, Bshary R, Côté IM. 2009. Cleaning in pairs enhance honesty in male cleaning gobies. *Behav Ecol.* 20:1343–1347.
- Soares MC, Côté IM, Cardoso SC, Bshary R. 2008d. The cleaning goby mutualism: a system without punishment, partner switching or tactile stimulation. *J Zool.* 276:306–312.
- Soares MC, Côté IM, Cardoso SC, Oliveira RF, Bshary R. 2010. Caribbean cleaning gobies prefer client ectoparasites over mucus. *Ethology.* 116:1244–1248.
- Soares MC, Oliveira RF, Ros AFH, Grutter AS, Bshary R. 2011. Tactile stimulation lowers stress in fish. *Nat Commun.* 2:534.
- Sousa L, Barreiros JP, Soares MC, Hostim-Silva M, Santos RS. 2003. Preliminary notes on the reproductive biology of the lizardfish, *Synodus saurus* (Actinopterygii: Synodontidae) in the Azores. *Cybium.* 27:41–45.
- Tittley I, Neto AI. 2000. A provisional classification of algal characterised rocky shore biotopes in the Azores. *Hydrobiologia.* 440:19–25.
- Trivers RL. 1971. The evolution of reciprocal altruism. *Q Rev Biol.* 46:35–57.
- Van Tassell JL, Brito A, Bortone SA. 1994. Cleaning behavior among marine fishes and invertebrates in the Canary Islands. *Cybium.* 18:117–127.
- Vázquez DP, Aizen MA. 2004. Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant–pollinator interactions. *Ecology.* 85:1251–1257.

- Vázquez DP, Poulin R, Krasnov BR, Shenbrot GI. 2005. Species abundance and the distribution of specialization in host–parasite interaction networks. *J Anim Ecol.* 74:946–955.
- Vieira C. 2007. Biologia alimentar do *Etmopterus pusillus* e relação com as suas presas no Algarve. Tese de Mestrado. Universidade do Algarve, Faro.
- Waldie PA, Blomberg SP, Cheney KL, Goldizen AW, Grutter AS. 2011. Long-term effects of the cleaner fish on *Labroides dimidiatus* on coral reef communities. *PLoS One.* 6:e21201.
- West SA, Griffin AS, Gardner A. 2007. Social semantics: altruism, cooperation, mutualism, strong reciprocity and group selection. *J Evol Biol.* 20:415–432.
- Wicksten MK. 1995. Associations of fishes and their cleaners on coral reefs of Bonaire, Netherlands Antilles. *Copeia.* 1995:477–481.
- Youngbluth MJ. 1968. Aspects of the ecology and ethology of the cleaning fish, *Labroides phthiophagus* Randall. *Z Tierpsychol.* 25:915–932.
- Zander CD, Sötje I. 2002. Seasonal and geographical differences in cleaner fish activity in the Mediterranean Sea. *J Helgol Mar Res.* 55:232–241.

Apêndices

Apêndice I

Tabela 1 – Tabela apresentando as espécies de peixes que foram capturados ao longo das duas estações do ano (Inverno e Primavera) de amostragem nos diferentes locais com suas respectivas cargas parasitárias em função das duas diferentes famílias principais de ectoparasitas encontradas na superfície do corpo dos indivíduos (Caligidae e Gnathiidae).

Espécies	Tamanho peixe (cm)	Local de captura	Tratamento	Período de recolha	Caligidae	Gnathiidae	Número total ectoparasitas
<i>Symphodus caeruleus</i>							
B01	11,8	Lagoa	Cliente	Inverno	1	0	1
B02	19,9	Lagoa	Cliente	Inverno	1	0	1
B03	18,0	Lagoa	Cliente	Inverno	1	2	3
B04	11,5	Lagoa	Cliente	Inverno	6	0	6
B05	19,2	S. Roque	Cliente	Inverno	34	10	44
B06	25,8	S. Roque	Cliente	Inverno	16	9	25
B07	25,5	S. Roque	Cliente	Inverno	12	10	22
B08	23,0	S. Roque	Cliente	Inverno	6	12	18
B09	19,7	S. Roque	Cliente	Inverno	4	11	15
B10	19,1	S. Roque	Cliente	Inverno	6	5	11
<i>Abudefduf luridus</i>							
C01	17,8	S. Roque	Cliente	Inverno	22	0	22
C02	17,9	S. Roque	Cliente	Inverno	7	0	7
C03	17,4	S. Roque	Cliente	Inverno	7	2	9
C04	16,2	S. Roque	Cliente	Inverno	4	0	4
C05	16,0	S. Roque	Cliente	Inverno	50	2	52
C06	18,0	S. Roque	Cliente	Inverno	8	1	9
C07	17,0	S. Roque	Cliente	Primavera	82	0	82
C08	17,6	S. Roque	Cliente	Primavera	9	1	10
C09	17,1	S. Roque	Cliente	Primavera	7	0	7
C10	17,8	S. Roque	Cliente	Primavera	1	3	4
<i>Sarpa salpa</i>							
SL01	23,3	Lagoa	Cliente	Inverno	5	0	5
SL02	23,2	Lagoa	Cliente	Inverno	3	0	3
SL03	24,5	S ^{ta} Cruz	Cliente	Inverno	6	0	6
SL04	23,2	S ^{ta} Cruz	Cliente	Inverno	12	0	12
SL05	22,7	S ^{ta} Cruz	Cliente	Inverno	2	0	2
SL06	23,3	S ^{ta} Cruz	Cliente	Inverno	2	0	2
SL07	23,2	S ^{ta} Cruz	Cliente	Inverno	1	3	4
SL08	23,3	Lagoa	Cliente	Inverno	6	0	6
SL09	21,6	Lagoa	Cliente	Inverno	0	0	0
SL10	23,2	Lagoa	Cliente	Inverno	7	2	9
<i>Sparisoma crestense</i>							
V01	22,9	S. Roque	Cliente	Inverno	6	2	8
V02	24,2	Lagoa	Cliente	Inverno	2	0	2
V03	21,1	Lagoa	Cliente	Inverno	2	0	2
V04	37,6	Mosteiros	Cliente	Primavera	0	0	0
V05	31,5	Mosteiros	Cliente	Primavera	1	0	1
V06	37,7	Mosteiros	Cliente	Primavera	2	9	11
V07	24,2	Mosteiros	Cliente	Primavera	1	4	5
V08	34,3	Capelas	Cliente	Primavera	17	4	21
V09	29,5	Capelas	Cliente	Primavera	4	4	9
V10	28,4	Capelas	Cliente	Primavera	2	0	2
V11	25,4	Capelas	Cliente	Primavera	3	1	4

Continua

Tabela 1 – Continuação.

Espécies	Tamanho peixe (cm)	Local de captura	Tratamento	Período de recolha	Caligidae	Gnathiidae	Número total ectoparasitas
<i>Mullus surmuletus</i>							
ST 01	23,8	Lagoa	Cliente	Inverno	2	16	18
ST 02	32,0	Mosteiros	Cliente	Primavera	6	3	9
ST 03	31,4	S. Roque	Cliente	Primavera	13	0	13
ST 04	18,6	Água d'Alto	Cliente	Primavera	10	0	10
ST 05	19,0	Água d'Alto	Cliente	Primavera	3	0	3
ST 06	27,1	Água d'Alto	Cliente	Primavera	18	1	19
ST 07	19,7	S. Roque	Cliente	Primavera	6	1	7
ST 08	23,9	Água d'Alto	Cliente	Primavera	14	1	14
ST 09	20,3	Água d'Alto	Cliente	Primavera	17	1	18
ST 10	19,1	Água d'Alto	Cliente	Primavera	9	2	11
<i>Labrus bergylta</i>							
BV01	19,7	Mosteiros	Cliente	Primavera	0	4	4
BV02	23,8	Capelas	Cliente	Primavera	2	8	10
BV03	35,4	Água d'Alto	Cliente	Primavera	46	4	50
BV04	31,7	Água d'Alto	Cliente	Primavera	200	15	215
<i>Serranus atricauda</i>							
Controlo							
G01	14,0	Água d'Alto	Controlo	Inverno	2	1	3
G02	19,7	Lagoa	Controlo	Inverno	2	3	5
G03	22,2	Lagoa	Controlo	Inverno	1	6	7
G04	23,0	Mosteiros	Controlo	Primavera	0	2	2
G05	31,1	Capelas	Controlo	Primavera	0	2	2
G06	20,7	Capelas	Controlo	Primavera	0	2	2
G07	25,1	Água d'Alto	Controlo	Primavera	44	3	47
G08	25,2	Água d'Alto	Controlo	Primavera	25	0	25
G09	26,7	Feteiras	Controlo	Primavera	47	6	53
G10	24,0	Água d'Alto	Controlo	Primavera	3	3	6
<i>Diplodus sargus</i>							
Primavera							
SG01	19,2	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	0	0	0
SG02	19,0	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	1	0	1
SG03	18,7	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	2	0	2
SG04	19,7	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	2	0	2
SG05	17,7	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	3	0	3
SG06	16,7	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	1	0	3
SG07	17,1	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	2	0	2
SG08	32,2	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	20	0	20
SG09	22,2	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	3	0	3
SG10	20,5	P ^t Delgada	Controlo	Inverno	4	1	5
SG11	19,9	Água d'alto	Controlo	Inverno	2	0	2
SG12	19,8	S ^{ta} Cruz	Controlo	Inverno	5	0	5
SG13	18,9	S ^{ta} Cruz	Controlo	Inverno	2	0	2

Apêndice II – Exemplo de cálculo da área de um peixe “cliente” com as diferentes etapas com o exemplo da espécie *Abudefduf luridus*

Etapa nº 1: Amplificar os desenhos científicos com quatro, cinco ou seis ampliações diferentes, e calcular a área do quadrado (Fig. 1).

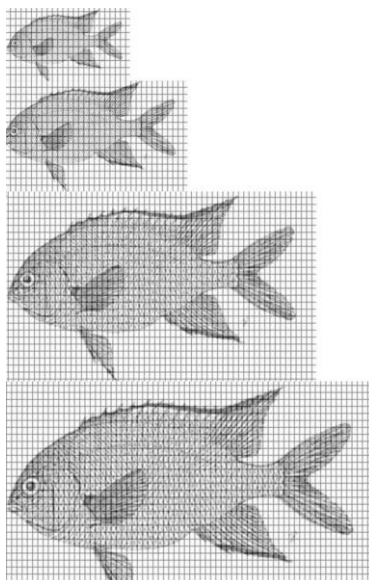


Figura 1 – Representação das quatro ampliações para a espécie “cliente” *A. luridus*.

Etapa nº 2: Medir o comprimento de cada ampliação e calcular o número de quadrados que cobre cada peixe para cada amplificação (Tabela 2).

Tabela 2 – Apresentação dos tamanhos (cm) e número de quadrado de cada ampliação com cada área total correspondente (cm²).

Espécie	Ampliação	Comprimento (cm)	Nº de quadrado	Área total (cm ²)
<i>A. luridus</i>	1	5,7	98	17,15
<i>A. luridus</i>	2	8,4	227	39,72
<i>A. luridus</i>	3	14,1	588	102,90
<i>A. luridus</i>	4	16,9	964	168,70

Etapa nº 3: Graficar os diferentes comprimento das ampliações com as diferentes área total (Fig. 2).

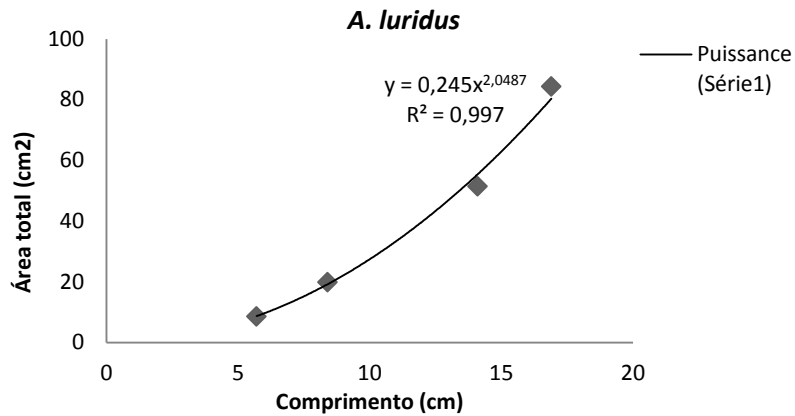


Figura 2 – Apresentação do comprimento (cm) de cada ampliação da espécie *A. luridus* em função da área total destas (cm²).

Etapa nº 4: Adaptar esta equação para cada uns dos peixes apanhados com os seus comprimentos. A equação foi a seguinte: $a \times \text{comprimento}^b$ (Tabela 3).

Tabela 3 – Representação das dez amostras de *A. luridus* com os seus comprimentos (cm), número de parasitas respectivos assim que suas áreas correspondentes (cm²).

Espécie	Comprimento (cm)	Total parasitas	Área (cm ²)
C01	17,8	22	178,62
C02	17,9	7	180,68
C03	17,4	9	170,49
C04	16,2	4	147,27
C05	16,0	52	143,57
C06	18,0	9	182,76
C07	17,0	82	162,56
C08	17,6	10	174,53
C09	17,1	7	164,53
C10	17,8	4	178,62

Apêndice III



Figura 3 – Foto representando uma “estação de limpeza” da espécie *C. julis*, com a presença de *T. pavo* por perto da “estação de limpeza”.

Apêndice IV

Tabela 4 – Representação dos três índices alimentares simples (Numérico: IN %, Ocorrência: IO % e Gravimétrico: IG %) assim que o índice composto de Importância Relativa (IRI) para *C. julis* aleatório e limpador assim que *T. pavo* aleatório e limpador. NI: Não Identificado.

Categoria das presas	<i>T. pavo</i> aleatório				<i>C. julis</i> aleatório				<i>C. julis</i> limpador				<i>T. pavo</i> limpador			
	% IN	% IO	% IG	IRI	% IN	% IO	% IG	IRI	% IN	% IO	% IG	IRI	% IN	% IO	% IG	IRI
BIVALVIA	3,32 (±5,21)	93,33	0,65 (±2,02)	111,08 (±170,54)	1,54 (±7,07)	10	0,21 (±0,75)	6,96 (±27,30)	-	-	-	-	-	-	-	-
Bivalvia (NI)	1,73 (±2,99)	40,00	0,18 (±0,62)	76,87 (±140,73)	0,26 (±1,23)	6,66	0,08 (±0,32)	2,27 (±10,32)	-	-	-	-	-	-	-	-
Pectinidae	1,59 (±4,42)	16,67	0,47 (±1,96)	34,21 (±102,36)	1,28 (±7,02)	3,33	0,13 (±0,69)	4,69 (±25,71)	-	-	-	-	-	-	-	-
GASTROPODA	13,44 (±13,69)	86,66	2,00 (±2,47)	731,03 (±900,48)	22,68 (±28,63)	60,00	4,85 (±10,08)	753,28 (±977,07)	5,23 (±3,70)	100,00	0,12 (±0,06)	469,20 (±402,69)	2,04 (±2,89)	50,00	0,07 (±0,01)	106,27 (±150,28)
Gastropoda (NI)	8,32 (±13,90)	60,00	1,48 (±1,97)	551,54 (±945,74)	1,84 (±5,47)	13,33	0,23 (±0,65)	27,67 (±79,83)	-	-	-	-	-	-	-	-
Rissoidae	3,06 (±5,55)	33,33	0,50 (±1,56)	118,45 (±225,84)	7,23 (±13,23)	40,00	1,12 (±2,64)	333,78 (±584,3)	0,98 (±1,74)	33,33	0,01 (±0,02)	33,08 (±57,29)	1,64 (±2,32)	50,00	0,04 (±0,05)	83,87 (±118,61)
Omalogyridae	0,82 (±2,08)	16,67	0,01 (±0,06)	14,01 (±35,46)	0,32 (±1,09)	10,00	0,01 (±0,05)	3,12 (±11,32)	4,25 (±4,23)	100,00	0,11 (±0,08)	436,13 (±427,02)	0,40 (±0,58)	50,00	0,03 (±0,05)	22,4 (±31,67)
Cerithiidae	-	-	-	-	12,18 (±26,75)	23,33	3,44 (±10,15)	364,57 (±847,5)	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bittium nanum</i>	-	-	-	-	1,11 (±2,83)	20,00	0,05 (±0,18)	23,24 (±58,52)	-	-	-	-	-	-	-	-
Patellidae	0,11 (±0,48)	6,67	0,01 (±0,08)	0,85 (±3,43)	44,54 (±30,49)	93,33	8,85 (±9,20)	3456,25 (±2471,84)	17,42 (±28,23)	100,00	5,35 (±9,18)	796,93 (±1245,86)	7,78 (±11,01)	100,00	12,52 (±17,72)	1015,77 (±1436,5)
CRUSTACEA	74,45 (±14,46)	100,00	15,18 (±8,93)	8273,24 (±1735,7)	44,54 (±30,49)	93,33	8,85 (±9,20)	3456,25 (±2471,84)	17,42 (±28,23)	100,00	5,35 (±9,18)	796,93 (±1245,86)	7,78 (±11,01)	100,00	12,52 (±17,72)	1015,77 (±1436,5)
Amfipoda (NI)	61,87 (±13,40)	100,00	12,28 (±8,13)	7414,35 (±1772,58)	27,00 (±23,79)	83,33	3,85 (±4,07)	2570,3 (±2197)	12,42 (±21,5)	33,33	4,32 (±7,48)	557,97 (±966,32)	6,56 (±9,27)	50,00	8,49 (±12,01)	752,47 (±1064,1)
Caprellidae	7,03 (±8,27)	70,00	1,68 (±1,92)	609,92 (±691,29)	9,71 (±12,81)	56,67	2,03 (±2,93)	66,41 (±855,3)	3,92 (±6,79)	33,33	0,99 (±1,72)	163,73 (±283,58)	1,23 (±1,74)	50,00	4,04 (±5,71)	263,34 (±372,37)
Brachyura	0,17 (±0,91)	3,33	0,71 (±3,87)	2,93 (±16,06)	0,5 (±1,6)	10,00	0,46 (±2,31)	9,54 (±37,32)	-	-	-	-	10,79 (±8,31)	100,00	17,05 (±19,81)	2784,33 (±2811,3)
Peracarida	4,03 (±9,22)	43,33	0,6 (±1,26)	200,74 (±443,24)	0,48 (±1,79)	10,00	0,03 (±0,15)	5,09 (±19,39)	-	-	-	-	-	-	-	-
Tanaidacea	0,05 (±0,29)	3,33	0,04 (0,22)	0,31 (±1,73)	2,52 (±13,45)	6,67	0,58 (±3,17)	20,69 (±110,7)	-	-	-	-	-	-	-	-
Isopoda (NI)	0,05 (±0,29)	3,33	0,04 (0,22)	0,31 (±1,73)	2,52 (±13,45)	6,67	0,58 (±3,17)	20,69 (±110,7)	-	-	-	-	-	-	-	-

Continua

Tabela 4 – Continuação

Categoria das presas	<i>T. pavo</i> não limpador				<i>C. julis</i> não limpador				<i>C. julis</i> limpador				<i>T. pavo</i> limpador			
	% IN	% IO	% IG	IRI	% IN	% IO	% IG	IRI	% IN	% IO	% IG	IRI	% IN	% IO	% IG	IRI
Sphaeromatidae																
<i>Dynamene bidentata</i>	1,05 (±2,07)	26,67	0,59 (±1,29)	43,75 (±86,08)	3,43 (±9,43)	30,00	2,17 (±6,34)	168,12 (±373,2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gnathiidae	-	-	-	-	12,71 (±26,02)	33,33	0,37 (±0,98)	436,04 (±893,7)	59,96 (±30,7)	100,00	8,66 (±6,78)	6862,4 (±3746,1)	78,55 (±6,76)	100,00	7,31 (±9,69)	8586,27 (±293,28)
Copepoda																
Caligidae	-	-	-	-	0,06 (±0,35)	3,33	0,004 (±0,02)	0,23 (±1,24)	-	-	-	-	-	-	-	-
Decapoda																
Pandalidae	-	-	-	-	0,38 (±1,27)	10,00	0,15 (±0,58)	5,47 (±17,75)	-	-	-	-	-	-	-	-
ANNELIDA	5,36 (±5,44)	66,67	3,83 (±5,36)	492,55 (±513,23)	8,51 (±14,34)	63,33	1,86 (±3,00)	490,06 (±819,61)	4,66 (±4,55)	66,67	1,77 (±2,71)	441,05 (±468,23)	-	-	-	-
Polichaeta	1,93 (±2,75)	46,67	0,87 (±1,51)	130,83 (±178,6)	6,84 (±14,46)	53,33	1,42 (±2,92)	440,72 (±831,47)	3,36 (±4,99)	66,67	1,64 (±2,82)	333,38 (±519,8)	-	-	-	-
Nereidae	3,43 (±3,96)	56,67	2,96 (±4,32)	361,72 (±415,6)	1,67 (±3,7)	23,33	0,44 (±1,22)	49,34 (±111,00)	1,31 (±2,26)	33,33	47,95 (±83)	47,95 (±83,05)	-	-	-	-
SIPUNCULA	0,76 (±1,93)	20,00	0,43 (±1,03)	23,90 (±54,97)	0,36 (±1,68)	6,67	0,75 (±4,08)	7,39 (±38,24)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sipunculidae	0,76 (±1,93)	20,00	0,43 (±1,03)	23,90 (±54,97)	0,36 (±1,68)	6,67	0,75 (±4,08)	7,39 (±38,24)	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroalgas	1,52 (±2,87)	33,33	0,45 (±1,61)	65,77 (±138,5)	1,34 (±4,61)	10,00	0,69 (±3,28)	20,32 (±77,33)	0,98 (±1,7)	33,33	0,81 (±1,41)	59,72 (±103,4)	-	-	-	-
Escamas	0,98 (±2,08)	23,33	0,04 (±0,12)	23,65 (±50,46)	0,93 (±2,88)	10,00	0,06 (±0,27)	9,94 (±30,77)	11,74 (±17,4)	66,67	0,13 (±0,15)	791,32 (±1174)	0,82 (±1,16)	50,00	0,04 (±0,05)	42,89 (±60,65)
Não Identificado (NI)	0,00	100,00	76,69 (±13,00)	7669,28 (±1305)	0,00	100,00	81,78 (±12,81)	8177,84 (±1281,00)	0,00	100,00	83,14 (±4,83)	8314,32 (±482,6)	0,00	100,00	62,99 (±7,77)	6299,54 (±776,97)

Anexos

Anexo I



Figura 1 – Foto representando uma interação de limpeza entre *C. julis* juvenil e um “clientes” da espécie *S. caeruleus* (direita) e onde um outro “cliente” da mesma espécie está a espera do limpador para ser limpo.