

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Neurociências

Eliane Pesente Soares

**ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE POLVOS EM CATIVEIRO: um estudo
comparativo das espécies *Octopus americanus* e
*Octopus insularis***

Belo Horizonte

2025

Eliane Pesente Soares

**ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE POLVOS EM CATIVEIRO: um estudo
comparativo das espécies *Octopus americanus* e
*Octopus insularis***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Neurociências.

Orientadora: Prof. Dra. Grace Schenatto Pereira Moraes (Depto de Fisiologia e Biofísica).

Belo Horizonte

2025

043

Soares, Eliane Pesente.

Análise comportamental de polvos em cativeiro: um estudo comparativo das espécies *Octopus americanus* e *Octopus insularis* [manuscrito] / Eliane Pesente Soares. – 2025.

103 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof. Dra. Grace Schenatto Pereira Moraes.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Octopodiformes. 3. Comportamento Animal. 4. Transtorno Alimentar Restritivo Evitativo. I. Moraes, Grace Schenatto Pereira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

ATA DE DEFESA DE TESE

Realizou-se, no dia 15 de maio de 2025, às 13:00 horas, na sala J2 222, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 129ª defesa de tese, intitulada *ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE POLVOS EM CATIVEIRO: UM ESTUDO COMPARATIVO DAS ESPÉCIES OCTOPUS AMERICANUS E OCTOPUS INSULARIS*, apresentada por ELIANE PESENTE SOARES, número de registro 2021662386, graduada no curso de PEDAGOGIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em NEUROCIÊNCIAS, à seguinte Comissão Examinadora: Profa. Grace Schenatto Pereira Moraes - Orientadora, Prof. Theo Rolla Paula Mota (UFMG), Profa. Ana Flávia Santos Almeida (FAMINAS), Prof. Rodrigo Antonio Peliciari Garcia (UNIFESP), Prof. Marlon Carlos França (IFES).

A Comissão considerou a tese:

☒ (x) Aprovada

☐ () Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 15 de maio de 2025.

Renata Angélica França Mendes - Secretária

Profa. Grace Schenatto Pereira Moraes (Doutora) - Orientadora

Prof. Theo Rolla Paula Mota (Doutor)

Profa. Ana Flávia Santos Almeida (Doutora)

Prof. Rodrigo Antonio Peliciari Garcia (Doutor)

Prof. Marlon Carlos França (Doutor)



Documento assinado eletronicamente por **Ana Flávia Santos Almeida, Usuário Externo**, em 15/05/2025, às 14:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Antônio Peliciari Garcia, Usuário Externo**, em 15/05/2025, às 17:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Grace Schenatto Pereira Moraes, Professora do Magistério Superior**, em 16/05/2025, às 10:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Theo Rolla Paula Mota, Professor do Magistério Superior**, em 26/05/2025, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marlon Carlos França, Usuário Externo**, em 05/06/2025, às 16:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Angelica Franca Mendes, Secretária Executiva**, em 09/06/2025, às 13:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4209071** e o código CRC **6B329464**.

AGRADECIMENTOS

À professora Grace Schenatto Pereira Moraes (UFMG), minha orientadora, que aceitou o desafio de se aventurar nesse universo dos *Octopus*. Obrigada pela oportunidade e paciência.

Agradeço ao Instituto Federal do Espírito Santo - Ifes, campus Piúma, que cedeu espaço e equipamentos para o desenvolvimento e conclusão desta pesquisa, bem como aos alunos João Otávio de Carvalho Andrade, Guilherme Taylor da Silva, João Victor Cardozo de Miranda Bento e Gustavo Ribeiro Longue, bolsistas e voluntários do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, que atuaram como parte fundamental em todas as atividades de atenção e cuidado realizadas com os animais. À professora Andressa Carolina Mendes de Melo pelo apoio em técnicas de laboratório.

Agradeço à minha amiga, Flávia Roberta Mariz Carvalho, que foi companheira nos estudos de ingresso e permanência no programa. Foi acalanto e abraço nas horas mais difíceis, peça fundamental nesse processo.

Ao colega Caio e à professora Andressa Mello que, com toda sabedoria, atenção e boa vontade, me auxiliaram nas atividades de preparação de tecidos e análises microscópicas nos laboratórios do Núcleo de Neurociências da UFMG e do Ifes, campus Piúma.

À banca examinadora professor Theo Rolla Paula Mota, professor Rodrigo Antonio Peliciari Garcia, professora Ana Flávia Santos Almeida e ao professor Marlon Carlos França pelo carinho em terem aceitado o convite e pela disponibilidade em ler esta tese.

Também agradeço a participação voluntária dos pescadores locais na habilidade artesanal de captura de espécimes, possibilitando a coleta de animais com as melhores condições físicas possíveis.

Aos meus filhos, Daniel e Laís, pelo apoio irrestrito.

E, por tudo isso, agradeço a Deus.

Muito obrigada.

RESUMO

Os polvos são moluscos cefalópodes que apresentam um rico repertório comportamental, raro entre outros invertebrados. Entre as mais de 300 espécies reconhecidas de polvos, destacamos a *Octopus insularis* e a *Octopus americanus*, que foram recentemente diferenciadas da *Octopus vulgaris* e habitam águas brasileiras. Enquanto *O. insularis* é menor e habita recifes rochosos, *O. americanus* prefere águas rasas de até 200m. Ambas as espécies são alvo de pesca artesanal e comercial em toda a sua distribuição e têm sido usadas em pesquisas sobre ecologia comportamental e os efeitos das alterações climáticas. Entretanto, embora diferentes na natureza, não há estudos comparando seu comportamento em cativeiro, o que é particularmente importante para sua aplicação em neurociências. No presente estudo, primeiramente construímos uma infraestrutura laboratorial para manutenção dos animais em ambiente controlado, condição fundamental para as análises comportamentais. A seguir, avaliamos o comportamento dos animais em 3 tarefas que estimam aversão à novidade. Escolhemos esses ensaios, pois a neofobia é essencial à sobrevivência e reproduz comportamentos observados no habitat natural. Além disso, as variações nos protocolos de neofobia permitem inferir bases neurofisiológicas distintas. Foram capturados trinta e oito (38) animais das espécies *O. americanus* (17) e *O. insularis* (21) no litoral do Espírito Santo, Brasil. Os animais foram aclimatados e submetidos às tarefas de neofobia alimentar, a objetos e social. O sexo dos animais foi determinado visualmente e por análise histológica. Ambas as espécies se adaptaram à alimentação em cativeiro, embora *O. americanus* tenha se adaptado mais rapidamente que *O. insularis*. A neofobia em relação à alimentação foi mais pronunciada em *O. insularis*, assim como a neofobia a objetos, sendo a última especialmente maior em indivíduos do sexo feminino. Os polvos são conhecidos por serem sociais, ou seja, vivem de maneira isolada na natureza. Portanto, esperávamos que tivessem alta neofobia social. De maneira geral o *O. americanus* pareceu ter um nível de neofobia social menor que o *O. insularis*, mas devido à alta variabilidade e o tamanho amostral insuficiente, não foi possível detectar diferenças estatísticas. Nosso estudo é pioneiro ao mostrar que essas duas espécies diferem em testes comportamentais específicos, realizados em laboratório. Estabelecemos condições básicas de manutenção dessas espécies em cativeiro, testando comportamentos fundamentais, com distinção por sexo. Esses achados

ampliam o conhecimento sobre o comportamento dos polvos, contribuindo para o bem-estar animal, a conservação das espécies e a elaboração de desenhos experimentais com cefalópodes. Ademais, nossos resultados reforçam a importância de considerar o sexo ao estudar o comportamento de *O. insularis*. Pesquisas futuras devem explorar os mecanismos neurobiológicos subjacentes aos comportamentos descritos neste trabalho.

Palavras-chave: polvos; comportamento; adaptação em cativeiro; neofobia.

ABSTRACT

Octopuses are cephalopod mollusks that possess a rich behavioral repertoire, which is rare among other invertebrates. Among the more than 300 recognized species of octopus, we highlight *Octopus insularis* and *Octopus americanus*, recently differentiated from *Octopus vulgaris* and native to Brazilian waters. While *O. insularis* is smaller and inhabits rocky reefs, *O. americanus* prefers shallow waters up to 200 meters deep. Both species are artisanal and commercial fishing targets throughout their distribution and have been used in research on behavioral ecology and the effects of climate change. However, although these species differ in nature, no previous studies have compared their behavior in captivity, a particularly relevant gap considering their potential application in neuroscience research. In the present study, we first established laboratory infrastructure to house the animals in a controlled environment, a fundamental requirement for conducting behavioral analyses. We then selected three tasks designed to assess novelty aversion. These tests were chosen because neophobia plays a critical role in animal survival and reflects behaviors typically observed in natural habitats. Additionally, variations in neophobia protocols may allow for inferences regarding distinct neurophysiological mechanisms. A total of 38 animals—17 *O. americanus* and 21 *O. insularis*—were collected along the coast of Espírito Santo, Brazil. The animals were acclimated and subjected to food, objects, and social neophobia tasks. Sex was determined through histological analysis. Both species adapted to feeding in captivity, although *O. americanus* adapted more rapidly than *O. insularis*. Food-related neophobia was more pronounced in *O. insularis*, as was object-related neophobia, particularly among females. Octopuses are generally known to be asocial, meaning they live in isolation in natural settings. Thus, we anticipated a high degree of social neophobia. Overall, *O. americanus* appeared to exhibit lower levels of social neophobia than *O. insularis*; however, statistical differences could not be confirmed due to the high variability in data from this type of test. This pioneering study demonstrates that these two species exhibit different responses in specific behavioral tasks under laboratory conditions. It also establishes baseline conditions for maintaining these species in captivity and for testing fundamental behaviors with sex-based distinctions. These findings enhance our understanding of octopus behavior and contribute to animal welfare, species conservation, and the development of experimental designs involving cephalopods.

Moreover, our results underscore the importance of considering sex as a biological variable when investigating the behavior of *O. insularis*. Future research should explore the neurobiological mechanisms underlying the behaviors described herein.

Keywords: octopuses; behavior; captivity adaptation; neophobia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anatomia básica de um polvo	17
Figura 2 - Desenho esquemático da morfologia de um polvo e dos principais elementos do sistema nervoso central.....	20
Figura 3 - <i>Octopus insularis</i> em aquário, ilustrando algumas de suas características morfológicas diagnósticas.....	24
Figura 4 - Ocorrência de <i>O. americanus</i> no Brasil.....	27
Figura 5 - <i>Octopus americanus</i> no laboratório de pesquisa.....	28
Figura 6 - Paralarva de <i>O. americanus</i>	29
Figura 7 - <i>Octopus insularis</i> e <i>O. americanus</i> nas Américas.....	32
Figura 8 - <i>Octopus insularis</i> no mundo.....	34
Figura 9 - Mapa de localização de capturas de <i>O. insularis</i>	40
Figura 10 - Pesca de espinhel com potes no litoral de Marataízes, ES.....	41
Figura 11 - Diferenças morfológicas entre <i>O. americanus</i> e <i>O. insularis</i>	42
Figura 12 - Imagem orientadora de tomada de medidas de um octopus.....	43
Figura 13 - Alimentação dos polvos.....	44
Figura 14 – Neofobia a objetos.....	46
Figura 15 - Teste de Neofobia social.....	47
Figura 16 - Referenciais anatômicos utilizados no ensaio de imunofluorescência.....	49
Figura 17 - Espécimes machos de <i>O. insularis</i> e <i>O. americanus</i> em aquários do laboratório.....	53
Figura 18 - Exemplo das imagens histológicas que confirmaram o sexo dos animais.....	54
Figura 19 - Aclimação no laboratório.....	57
Figura 20 - Comportamento de neofobia alimentar.....	58
Figura 21 - Comportamento de neofobia a objetos	61
Figura 22 - Latência para sair do compartimento central (latency to leave center) durante o teste de exploração em <i>Octopus insularis</i> e <i>O. americanus</i>	62
Figura 23 - Tempo de permanência no compartimento social (Time in the social compartment (s) por <i>Octopus insularis</i> e <i>O. americanus</i>	63

Figura 24 - Tempo de permanência nos diferentes compartimentos (Time in the compartment) do aquário tripartido durante o teste de abordagem social em <i>Octopus insularis</i> e <i>O. americanus</i>	64
Figura 25 - Corte histológico sagital do lobo vertical de <i>Octopus insularis</i>	65
Figura 26 - Ampliação da mesma área com aumento de 10x, sem marcação nuclear (DAPI).....	66
Figura 27 - Ampliação da mesma região do lobo vertical com aumento de 20x.....	66
Figura 28 - Detalhamento com aumento de 40x da área marcada, revelando intensa colocalização de c-Fos e NeuN em neurônios ativados no trato neural do lobo vertical.....	67
Figura 29 – Reprodução em cativeiro durante o estudo.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Total de capturas de <i>Octopus</i> entre os anos de 2012 a 2021.....	34
Tabela 2 - Descrição dos Parâmetros de Controle no Laboratório de <i>Octopus</i>	38
Tabela 3 - Protocolo de testes realizados	47
Tabela 4 – Dados da coleta de <i>O. americanus</i> e <i>O. insularis</i>	51
Tabela 5 - Resumo dos espécimes coletados de <i>O. insularis</i>	52
Tabela 6 - Resumo dos espécimes coletados de <i>O. americanus</i>	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3Rs	Reduzir, Reutilizar e Reciclar
ANOVA	Análise da Variância
AQUOS	Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CM	Comprimento de Manto
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CPIME	Colección de Peces e Invertebrados Marinos y Estuarinos
DAPI	4',6-diamidin-2-fenilindole
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
EP	Extra Pequeno
ES	Espírito Santo
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FO	Folículos Ovarianos
G	Grande
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GenBank	Genetic Sequence Database
GPS	Global Positioning System
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
Ifes	Instituto Federal do Espírito Santo
LABECE	Laboratório de Bentos e Cefalópodes
LABNUTRI	Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas
LaCCeph	Laboratório de Cultivo de Cefalópodes e Ecologia Marinha Experimental
LTP	Long Term Potentiation
M	Médio
MATLAB	Matrix Laboratory
MDMA	Methylendioxy-methamphetamine
MgCl₂	Cloreto de Magnésio
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NeuN	núcleos neuronais
NH₄	Íon Amônio
NNC	Núcleo de Neurociências
NO₂	Dióxido de Nitrogênio - nitrito
NOR	Novel Object Recognition
O₂	Oxigênio
P	Pequeno
PBS	Tampão Fosfato em Salina
PBST	Phosphate Buffered Saline Tween-20 – PBS-T (Tampão Fosfato Salino)
PFA	Paraformaldeído

pH	Potencial Hidrogeniônico
ppt	Partes por mil
ppm	Partes por milhão
PSA	Prostate-Specific Antigens
PVC	Policloreto de Vinil
SAP/MAP	Sistemas, Aplicativos e Produtos em Processamento de
A	Dados/ Ministério da Pesca e Aquicultura
SEAP/PR	Secretaria de Estado da Administração e da Previdência-Paraná
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TPA	Troca Parcial de Água
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UV	Ultravioleta
WiFi	Wireless Fidelity

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1. Os POLVOS	17
2.2. O SISTEMA NERVOSO DOS POLVOS	19
3. COMPORTAMENTO, APRENDIZADO E MEMÓRIA EM POLVOS	22
3.1. <i>OCTOPUS INSULARIS</i>	23
3.2. <i>OCTOPUS AMERICANUS</i>	26
4. VALOR COMERCIAL DOS POLVOS.....	31
5. OBJETIVOS.....	35
5.1. OBJETIVO GERAL.....	35
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
5.2.1. Padronizar métodos de coleta de <i>O. insularis</i> e <i>O. americanus</i> para estudos comportamentais em cativeiro.....	35
5.2.2. Padronizar o manejo de <i>O. insularis</i> e <i>O. americanus</i> para estudos comportamentais em cativeiro.....	35
5.2.3 Avaliar, em cativeiro, os comportamentos de aclimatização, neofobia alimentar, neofobia por objetos e neofobia social de <i>O. insularis</i> e <i>O. americanus</i>	35
5.2.4. Verificar se há diferença entre as espécies nos comportamentos acima citados.	35
5.2.5. Verificar se há diferença entre os sexos quanto aos comportamentos acima citados.....	35
5.2.6. Testar se anticorpos desenvolvidos para mamíferos marcam o tecido cerebral de polvo.	35
6. MATERIAIS E MÉTODOS	36
6.1 ASPECTOS ÉTICOS	36
6.2 PREPARAÇÃO DO LABORATÓRIO	36
6.3 CAPTURA E TRANSPORTE DE ANIMAIS	39
6.4 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES.....	41
6.5 ALIMENTAÇÃO	43
6.6 ANÁLISES COMPORTAMENTAIS	44
6.6.1 Aclimação	44
6.6.2 Neofobia alimentar.....	45
6.6.3 Neofobia a objetos.....	45
6.6.4 Neofobia social	46
6.7 DESENHO EXPERIMENTAL	47
6.8 EUTANÁSIA.....	47
6.9. ANÁLISE HISTOLÓGICA	48
6.10 ENSAIO PILOTO DE IMUNOFLOURESCÊNCIA.....	48
7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
8. RESULTADOS.....	51

8.1 <i>O. INSULARIS</i> E <i>O. AMERICANUS</i> ESTÃO PRESENTES NAS ÁGUAS DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL.	51
8.2 OBSERVAÇÕES GERAIS SOBRE O COMPORTAMENTO DOS ANIMAIS EM CATIVEIRO	54
8.3 <i>O. AMERICANUS</i> ADAPTA-SE MAIS RAPIDAMENTE À ALIMENTAÇÃO EM CATIVEIRO QUE <i>O. INSULARIS</i>	56
8.4 A NEOFOBIA ALIMENTAR É MAIS EVIDENTE EM <i>O. INSULARIS</i> QUE EM <i>O. AMERICANUS</i>	58
8.5 FÊMEAS DE <i>O. INSULARIS</i> APRESENTAM UM NÍVEL MAIS ELEVADO DE COMPORTAMENTO DE NEOFOBIA A OBJETOS.	60
8.6. NEOFOBIA SOCIAL EM <i>OCTOPUS AMERICANUS</i> E <i>OCTOPUS INSULARIS</i>	61
8.7 TECIDO CEREBRAL DE POLVO REAGE A ANTICORPOS DE DESENVOLVIDOS PARA MAMÍFEROS.	64
8.8. RESULTADOS INESPERADOS	67
9. DISCUSSÃO	69
10 - DESAFIOS E LIMITAÇÕES	76
10.1 DIFICULDADES EM SE MONTAR E MANTER UM LABORATÓRIO DE PESQUISA MARINHA.	76
10.2 POLVOS TÊM COMPORTAMENTOS QUE VÃO ALÉM DOS DESCRITOS NA LITERATURA..	76
10.3 AUSÊNCIA DE UM PROTOCOLO PRÓPRIO DE MANUTENÇÃO	77
11. PERSPECTIVAS FUTURAS PARA O ESTUDO DE <i>OCTOPUS AMERICANUS</i> E <i>OCTOPUS INSULARIS</i>	79
12. CONCLUSÃO	81
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
APÊNDICE A - INSTRUÇÃO NORMATIVA SEAP/PR Nº 26	
APÊNDICE B – PORTARIA SAP/MAPA Nº 452	
ANEXO 1 – CÁLCULO DE TAMANHO DE OVO E EMBRIÃO – <i>OCTOPUS INSULARIS</i>	

INTRODUÇÃO

O nome popular – polvo – refere-se a um grupo de animais pertencentes à ordem Octopoda, que dentre os gêneros da família Octopodidae, destaca-se o *Octopus*, com mais de 300 espécies descritas. Esses animais vivem nos mais diversos ambientes marinhos e de acordo com seu habitat desenvolveram, ao longo da evolução, adaptações fisiológicas e repertórios comportamentais diversos.

Os polvos são usados como modelos em neurociências desde o início do século XX, com estudos focados em neuroanatomia, aprendizado e memória (MACKIE, 1972; WELLS, 1972). Esses animais possuem um sistema nervoso altamente desenvolvido e complexo, que os torna um modelo interessante para estudar princípios fundamentais da neurobiologia. Sua capacidade de aprendizado, memória e tomada de decisões oferece informações importantes sobre a plasticidade neural e a cognição animal (AMODIO; FIORITO, 2013; HOCHNER, 2013; SHOMRAT et al., 2008, 2011; VERGARA-OVALLE et al., 2023). Além disso, os polvos compartilham muitos recursos neurais e comportamentais com os vertebrados, tornando-os importantes para estudos comparativos em neurociências (ALBERTIN et al., 2015; BUDELMANN, 1996; DI COSMO A.; POLESE G., 2014; EDSINGER; DÖLEN, 2018; HOCHNER; SHOMRAT; FIORITO, 2006).

A investigação do comportamento de polvos em ambiente controlado permite isolar variáveis ambientais e sociais que influenciam suas respostas cognitivas e emocionais. O uso de cativeiro permite o controle de estímulos, o monitoramento contínuo do animal e a repetibilidade experimental, aspectos fundamentais para estudos de neofobia, que envolvem a reação a estímulos novos e potencialmente aversivos. Esse tipo de abordagem é particularmente relevante em polvos, dada sua natureza exploratória, flexibilidade comportamental e sensibilidade a mudanças ambientais. Ao expor os indivíduos a objetos ou alimentos desconhecidos, é possível avaliar suas estratégias de enfrentamento, latência à exploração e padrões de evitação, fornecendo dados sobre aspectos emocionais, como cautela, curiosidade e aprendizado associativo. Dessa forma, estudos em cativeiro contribuem não apenas para a compreensão da ecologia comportamental das espécies, mas também para o avanço de modelos experimentais em neuroetologia e cognição comparada.

Nos últimos anos, a aplicação de técnicas imunohistoquímicas tem avançado no estudo do sistema nervoso de cefalópodes. Estudos como os de Shomrat et al.

(2008) e Shigeno et al. (2018) demonstraram a viabilidade do uso dessa abordagem para mapear circuitos neurais e caracterizar a organização neuroanatômica em *Octopus vulgaris*, especialmente em contextos relacionados à aprendizagem. Mais recentemente, Vergara-Ovalle et al. (2023) empregaram métodos imunohistoquímicos para evidenciar a ativação do lobo vertical em *O. maya* durante testes de memória visual. Com base nesses achados e na crescente aplicabilidade desses protocolos em cefalópodes, este estudo propôs testar se anticorpos amplamente utilizados em vertebrados, como anti-c-Fos e anti-NeuN, também poderiam identificar marcadores neuronais em espécies do gênero *Octopus*, contribuindo para investigações sobre cognição e plasticidade neural.

Apesar da sua potencialidade, o uso de polvos em ambiente de laboratório impõe desafios já que estes animais não se habitam facilmente ao cativeiro (BOLETZKY; HANLON, 1983; CARERE; MATHER, 2019; CHANCELLOR et al., 2021; COOKE; TONKINS; MATHER, 2019; FIORITO et al., 2014). Neste trabalho, desenvolvemos protocolos de captura, manejo e análise comportamental em cativeiro para duas espécies de polvos muito comuns no litoral brasileiro, o *Octopus insularis* e o *O. americanus*. Nossa perspectiva é de que o conhecimento gerado por esse trabalho possa ser explorado futuramente, especialmente em estudos de neurociências.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Os polvos

O gênero *Octopus* é um dos mais numerosos da ordem Octopoda (do grego oito pés). Trata-se de cefalópodes com oito braços, cujas mais de 300 espécies habitam todos os oceanos (JEREB; ROPER, 2014; PACKARD, 2004; ROPER; GUTIERREZ; VECCHIONE, 2015; VON BOLETZKY, 1999), mas principalmente as águas rasas tropicais. A anatomia dos polvos é altamente adaptada para um estilo de vida predatório, enfatizando a flexibilidade, a capacidade sensorial avançada e o controle motor descentralizado. Sua anatomia básica envolve um corpo, uma cabeça, um sifão e 8 braços cobertos de ventosas (Figura 1).

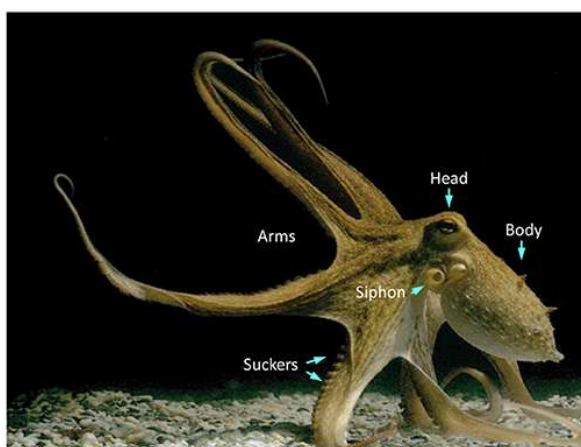


Figura 1- Anatomia básica de um polvo (Photo credit: Benny Hochner, HUJI)

O corpo do polvo é flexível e desprovido de esqueleto rígido, o que possibilita sua capacidade de compressão e camuflagem. A epiderme contém cromatóforos, iridóforos e leucóforos, que permitem mudanças rápidas de cor e textura para fins de comunicação e defesa (HANLON; MESSENGER, 2018). Internamente, os polvos possuem um sistema circulatório fechado e corações branquiais que garantem um suprimento eficiente de oxigênio para os tecidos (WELLS, 1972). O oxigênio é transportado pela hemocianina, uma proteína com alta concentração de cobre e que, apesar de ser incolor, torna-se azul quando se liga com oxigênio (WELLS, 2013a). Também usam a cefalotoxina, uma substância produzida pelas glândulas salivares que, após a perfuração de carapaças de crustáceos, causa fibrilação e retardo nos movimentos da presa (WELLS, 2013a).

O sifão é um órgão muscular tubular localizado na região ventral, essencial

para a locomoção a jato e a expulsão de água para controle direcional. Essa estrutura também participa da excreção e da dispersão de tinta como mecanismo de defesa contra predadores (HANLON; MESSENGER, 2018).

Os polvos possuem oito braços revestidos por ventosas e ricamente inervados. Cada braço contém gânglios neuronais capazes de processar informações sensoriais e motoras independentemente do cérebro central, o que possibilita um controle descentralizado e altamente eficiente dos movimentos (GUTNICK et al., 2011). De fato, os polvos podem caminhar com todos ou alguns braços em contato com o substrato (HOCHNER, 2012; LEITE; MATHER, 2008; MESSENGER; HANLON, 1997; OLSON; RAGSDALE, 2023). Estudos mostram que os braços desempenham funções na manipulação de objetos, aprendizado tátil e tomada de decisão independente (AMODIO; FIORITO, 2013; SHOMRAT et al., 2008).

Em machos adultos, o braço chamado hectocótilo, do terceiro par de braços, é modificado para transferir espermatozoides para a fêmea, que, por sua vez, pode reter por longo tempo o esperma no oviduto, numa parede chamada espermateca. Esta também pode receber espermatozoides de vários machos. Quando a fêmea está madura para liberar ovos, eles passam pela espermateca e são incubados (JENNIFER A. MATHER; ROLAND C. ANDERSON; JAMES B. WOOD, 2013). A maioria dos polvos são semelparosos, desovando apenas uma vez no final de seu ciclo de vida e seus ovos têm apenas uma membrana coriônica protegendo o óvulo. Diferentes de outros tipos de cefalópodes (BOLETZKY, 1998), não há membranas protetoras, cápsulas ou massas adicionais.

As ventosas, distribuídas ao longo dos braços, contêm quimiorreceptores responsáveis por identificar texturas e composição química dos objetos, desempenhando papel fundamental na predação e interação com o ambiente (AMODIO; FIORITO, 2013; HOCHNER, 2013; HOCHNER; SHOMRAT; FIORITO, 2006). Esses receptores permitem aos polvos reconhecerem presas e manipular ferramentas, demonstrando alta capacidade cognitiva.

A cabeça dos polvos é o centro de processamento sensorial e neural. Os olhos dos polvos são altamente desenvolvidos e similares aos dos vertebrados, mas evoluíram independentemente. Diferente dos vertebrados, focam movendo o cristalino para frente e para trás e não possuem ponto cego. Apesar de serem daltônicos, compensam essa limitação detectando a polarização da luz e ajustando

a forma de sua pupila em fenda. Essa pupila dinâmica também regula a entrada de luz, melhorando a adaptação a diferentes ambientes. Além disso, seus olhos móveis e independentes garantem um amplo campo de visão, essencial para caça e sobrevivência (WELLS, 1972, 2013b) . O cérebro é um dos maiores entre os invertebrados, com aproximadamente 500 milhões de neurônios, a maioria distribuída pelos braços, permitindo autonomia motora e respostas comportamentais complexas (HOCHNER, 2013).

2.2. O sistema nervoso dos polvos

O sistema nervoso dos polvos apresenta uma organização especializada e descentralizada, diferenciando-se de vertebrados e outros invertebrados. O cérebro, localizado entre os olhos e protegido por uma estrutura cartilaginosa, é composto por uma série de lóbulos interconectados que controlam funções motoras, sensoriais e cognitivas. Apesar de sua distância filogenética dos vertebrados, os polvos exibem estruturas cerebrais com funcionalidades análogas às encontradas em organismos com sistemas nervosos mais complexos, sugerindo convergência evolutiva (GODFREY-SMITH, 2013).

O cérebro dos polvos é dividido em diversas regiões especializadas, sendo os lobos ópticos, o lobo vertical e o lobo subesofágico alguns dos principais centros de processamento neural. Os lobos ópticos, conectados diretamente aos olhos, são responsáveis pelo processamento visual, permitindo que esses cefalópodes interpretem estímulos luminosos e adaptem-se a diferentes condições ambientais (MACKIE, 1972; YOUNG JZ, 1971). O lobo vertical, por sua vez, tem sido amplamente estudado devido ao seu papel central na aprendizagem e memória de longo prazo. Pesquisas conduzidas por Shomrat (SHOMRAT et al., 2008) demonstraram que essa estrutura modula a taxa de aprendizado de curto prazo e está envolvida em processos de potenciação de longa duração (LTP), mecanismo essencial para a formação de memórias persistentes. Além disso, estudos indicam que esse lobo possui circuitos neuronais alternativos para plasticidade sináptica, permitindo ajustes comportamentais em resposta a novas experiências (SHOMRAT et al., 2011).

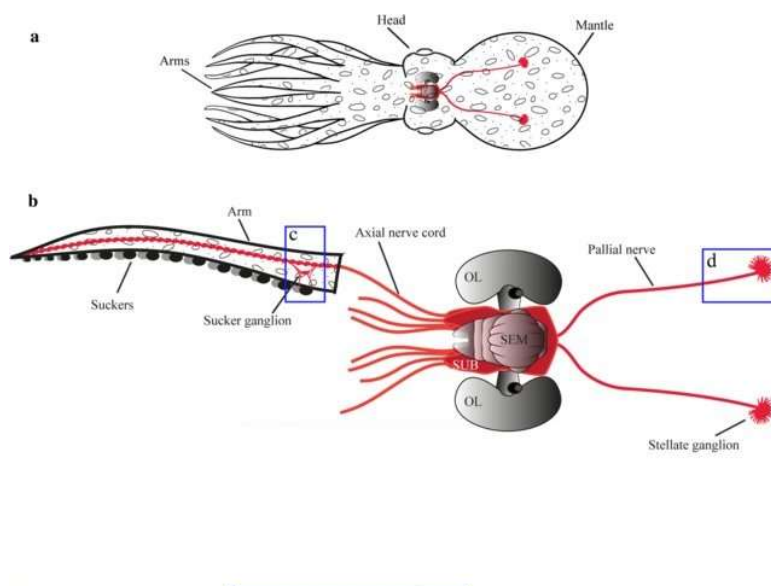


Figura 2. Desenho esquemático da morfologia de um polvo e dos principais elementos do sistema nervoso central. (a) Anatomia geral (*Arms* = braços; *Head* = cabeça; *Mantle* = manto). (b) Da parte posterior do cérebro emerge um par de nervos paliais (*Pallial Nerve*) que terminam em gânglios estelares bilaterais (*stellate ganglion*). Da parte anterior, emergem 8 nervos (*axial nerve cord*), que enervam os braços (*Arm*) e cujas terminações nas ventosas (*suckers*) formam gânglios (*sucker ganglion*). O cérebro é composto pelo Lobo óptico (*OL = optic lobe*); massa supraesofágica (*SEM = supra-esophageal mass*) e massa subesofágica (*SUB = sub-esophageal mass*). Figura modificada de Imperadore et al., 2019.

Outro aspecto fundamental do sistema nervoso central dos polvos é sua segmentação em massas supraesofágica e subesofágica (Figura 2). A região supraesofágica está associada ao processamento de estímulos sensoriais e à tomada de decisões, enquanto a porção subesofágica está ligada ao controle motor dos braços (NAVET; FIORITO, 2018). Essa segmentação reflete a distribuição funcional do controle neural, em que os braços podem executar ações coordenadas com certo grau de independência, graças à presença de circuitos neurais locais. O sistema nervoso periférico dos polvos complementa essa organização, com gânglios distribuídos ao longo dos braços, permitindo o processamento descentralizado de informações sensoriais e motoras e a geração de respostas rápidas a estímulos ambientais (MATHER; ANDERSON, 1993) (Figura 2).

Os braços dos polvos contêm um número expressivo de neurônios, superando até mesmo a quantidade presentes no cérebro. Essa descentralização permite que cada braço responda de maneira independente a estímulos táteis e químicos, possibilitando uma interação precisa com o meio ambiente. As ventosas, equipadas com quimiorreceptores e mecanorreceptores, permitem a identificação de texturas, composição química dos objetos e captura de presas (HANLON; MESSENGER,

2018). Estudos recentes indicam que os braços de polvos são capazes de gerar decisões motoras localmente, com base em circuitos neurais periféricos especializados, o que confere um grau significativo de autonomia sensório-motora a cada membro. No entanto, essas ações descentralizadas estão integradas a um sistema de coordenação superior mediado pelo anel nervoso — uma estrutura periesofágica que conecta as massas supraesofágica e subesofágica ao sistema nervoso periférico. O anel nervoso funciona como um centro de integração neural, permitindo a bidirecionalidade na transmissão de informações entre o cérebro central e os gânglios periféricos dos braços. Essa arquitetura possibilita a sincronização de múltiplos membros em comportamentos complexos e coordenados, como a manipulação de objetos, predação e exploração ambiental, promovendo a flexibilidade comportamental característica do gênero *Octopus* (CHANG; HALE, 2023).

Além das particularidades estruturais do sistema nervoso, os polvos apresentam ausência de mielina em seus axônios — característica marcante em contraste com os vertebrados, nos quais a mielinização permite a condução saltatória dos impulsos nervosos e, conseqüentemente, maior velocidade de transmissão. Nos cefalópodes, essa ausência é compensada pelo aumento significativo do diâmetro axonal, o que reduz a resistência interna e facilita a propagação dos potenciais de ação, de acordo com os princípios da condução contínua (MACKIE, 1972; YOUNG, 1971). Aliada à organização descentralizada do sistema nervoso, essa adaptação possibilita respostas rápidas e eficazes a estímulos ambientais, mesmo na ausência de um sistema nervoso centralizado e mielinizado como o dos vertebrados.

3. COMPORTAMENTO, APRENDIZADO E MEMÓRIA EM POLVOS

Os polvos apresentam um repertório comportamental diversificado que inclui aprendizado, memória, resolução de problemas e adaptação ambiental. Estudos indicam que esses cefalópodes apresentam aprendizado associativo, sendo capazes de estabelecer relações entre estímulos e consequências, um mecanismo utilizado para a sobrevivência em ambientes dinâmicos (FIORITO; VON PLANTA; SCOTTO, 1990; HOCHNER; SHOMRAT; FIORITO, 2006). Experimentações em labirintos e testes de reconhecimento indicam que os polvos podem associar padrões visuais a recompensas alimentares, ajustando seu comportamento com base nas experiências adquiridas (MATHER; DICKEL, 2017; NAVET; FIORITO, 2018). Essas características demonstram plasticidade comportamental, alinhada à capacidade de discriminação entre estímulos.

A memória dos polvos tem sido amplamente estudada, com evidências de armazenamento e recuperação de informações por longos períodos (SHOMRAT et al., 2008, 2011; WILLIAMSON; CHRACHRI, 2007). Essa capacidade permite que memorizem locais de forrageamento, predadores e abrigos seguros ao longo de seu habitat.

A potenciação de longa duração (LTP) tem sido identificada como um dos principais mecanismos neurais subjacentes ao aprendizado e memória nos polvos. Estudos demonstraram que o lobo vertical regula a taxa de aprendizado de curto prazo e facilita a consolidação da memória de longo prazo por meio de alterações sinápticas duradouras (SHOMRAT et al., 2008, 2011). Esses estudos indicam uma semelhança funcional entre o lobo vertical dos polvos e o hipocampo dos vertebrados, sugerindo que mecanismos neurofisiológicos fundamentais para a memória podem ter surgido de forma convergente ao longo da evolução animal (SHOMRAT et al., 2015; TURCHETTI-MAIA; SHOMRAT; HOCHNER, 2017).

Além do aprendizado e memória, os polvos demonstram habilidades de resolução de problemas, adaptando-se a desafios ambientais e manipulando objetos de forma precisa e intencional (AMODIO; FIORITO, 2013; DISSEGNA et al., 2023). Esses animais foram observados abrindo recipientes, desmontando estruturas e utilizando elementos do ambiente como ferramentas para proteção ou forrageamento (JENNIFER A. MATHER; ROLAND C. ANDERSON; JAMES B. WOOD, 2013; OLSON; RAGSDALE, 2023). A capacidade de manipulação de objetos e exploração

tátil dos polvos está diretamente relacionada à distribuição descentralizada de seu sistema nervoso, no qual grande parte do processamento ocorre nos gânglios localizados nos braços (GUTNICK et al., 2011; MATHER; ANDERSON, 2007).

Outro aspecto fundamental do repertório comportamental dos polvos é sua camuflagem dinâmica, um mecanismo de defesa que depende de estruturas neuromusculares especializadas e da integração sensorial mediada pelo sistema nervoso (FORSYTHE; HANLON, 1997; HANLON; MESSENGER, 2018). O controle da cor e textura da pele é realizado por cromatóforos, iridóforos e leucóforos, permitindo aos polvos se adaptarem visualmente ao ambiente de maneira quase instantânea (JENNIFER A. MATHER; ROLAND C. ANDERSON; JAMES B. WOOD, 2013; MESSENGER; HANLON, 1997). Essa habilidade não apenas auxilia na evasão de predadores, mas também pode ser utilizada em contextos de comunicação intraespecífica.

Recentemente, pesquisas têm explorado a possibilidade de que os polvos apresentam padrões de sono com características distintas, incluindo estágios ativos e passivos que podem estar relacionados ao processamento e consolidação da memória (D.V et al., 2011; FERREIRA, 2023; MEDEIROS et al., 2021; POPHALE et al., 2023). Evidências indicam que durante os estados de sono ativo, os polvos podem exibir mudanças rápidas na pigmentação da pele, sugerindo uma atividade neural intensa possivelmente associada a processos de simulação mental ou revisão de experiências vividas. Essas observações podem estar associadas à capacidade de aprendizagem dos polvos baseadas na integração de experiências anteriores.

3.1. *Octopus insularis*

Inicialmente, introduzimos a anatomia básica dos polvos, com ênfase em estruturas fundamentais para sua alimentação e identificação taxonômica. A rádula é um órgão bucal dotado de fileiras de dentes microscópicos, utilizado para raspar e triturar alimentos, enquanto o rostro corresponde à porção pontiaguda e anterior do bico, essencial para perfurar e manipular presas. Já as chamadas asas referem-se a espessamentos musculares localizados nas laterais do manto, próximos à base dos braços, que contribuem para a estabilidade e movimentação durante o nado. O *Octopus insularis*, espécie comum em águas rasas tropicais e temperadas, é frequentemente confundido com outras espécies próximas. No entanto, apresenta

características morfológicas distintas, como menor tamanho na maturidade (120 mm de comprimento de manto – CM), braços relativamente mais curtos, teia interdigital mais profunda, rádula diferenciada, bicos mais robustos com rostro proeminente e asas espessas (Figura 3), além de espermatóforos menores (Mangold, 1998).

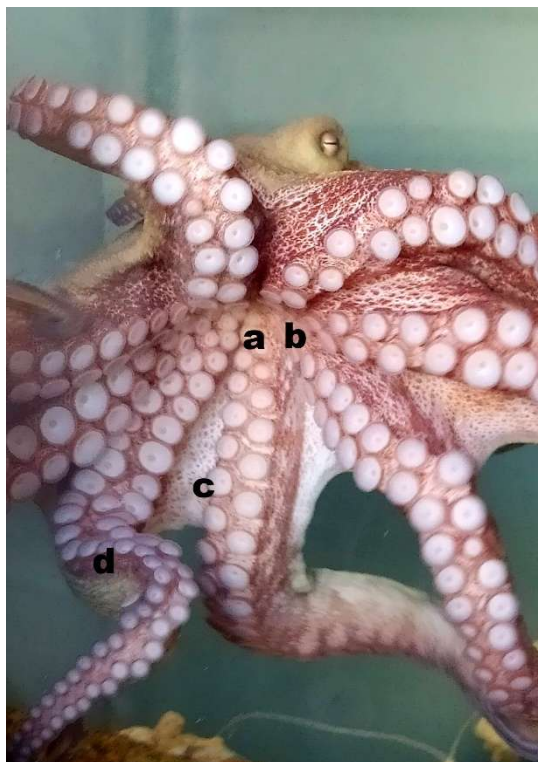


Figura 3 - *Octopus insularis* em aquário, ilustrando algumas de suas características morfológicas diagnósticas. a – rádula, localizada no interior do bico, não visível externamente, mas indicada na região anatômica correspondente; b – rostro, porção anterior e afilada do bico, essencial para perfuração de presas (não visível); c – espessamento lateral conhecido como “asa”, localizado entre o manto e a base dos braços. d- braços mais curtos. Fonte: a autora, 2023.

O reconhecimento do *O. insularis* como espécie distinta só foi possível nos últimos anos, com o avanço das técnicas genéticas. Estudos comparativos revelaram a similaridade genética entre indivíduos da espécie coletados em diferentes regiões do Brasil, incluindo Rio Grande do Norte (RN), Arquipélago de Fernando de Noronha, Atol das Rocas e Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Todas as sequências genéticas dessas amostras foram depositadas no banco de dados do European Molecular Biology Laboratory – EMBL (LEITE et al., 2008; SALES et al., 2013).

Após sua descrição formal, novos estudos registraram a presença do *O. insularis* em outras regiões, como o Golfo do México (FLORES-VALLE et al., 2018; GONZÁLEZ-GÓMEZ et al., 2018) e o sul da Flórida, nos Estados Unidos (MALONEY

et al., 2023). Além disso, projeções baseadas em modelos climáticos sugerem que a espécie pode expandir sua distribuição para o litoral sul do Brasil (LIMA et al., 2020a).

A comparação dos índices morfométricos entre machos e fêmeas mostrou dimorfismo sexual, com diferenças significativas apenas na largura do braço e no diâmetro normal da ventosa. Os machos apresentaram braços mais grossos e ventosas maiores que as fêmeas. Os machos atingem a maturidade sexual em um tamanho menor (78 mm de Comprimento de Manto - CM) do que as fêmeas (95 mm CM) (LEITE et al., 2008).

Geralmente, a espécie é encontrada em recifes, leitos rochosos, entulho, cascalho e areias e fundos rochosos, independentemente da presença de algas (LEITE et al., 2009). No arquipélago de Fernando de Noronha, pequenos espécimes, em sua maioria fêmeas imaturas e quase maduras (58–90 mm CM), foram coletados em águas rasas e em poças rochosas; espécimes maiores, principalmente machos maduros e em maturação (78–116 mm CM), foram encontrados durante mergulhos mais profundos, até uma profundidade de 20 m nos recifes e fora da área de maré. No Atol das Rocas, polvos maduros e juvenis foram encontrados em águas rasas dentro do recife circundado de corais, assim como em uma área de planaltos biogênicos de baixa complexidade localmente denominados pelos pescadores como região de restinga (BOUTH et al., 2011). Ao longo da plataforma continental, espécimes maduros (102–116 mm CM) foram capturados por pescadores locais em profundidades de 5–15 m em recifes a 30 km da costa, enquanto juvenis (54–97 mm CM) foram capturados em águas rasas (menos de 2 m) em rochas e em manchas recifais em rochas sedimentares (LEITE; HAIMOVICI, 2006).

Além do substrato, da disponibilidade e do tipo de toca, a presença e abundância de presas adequadas é outro fator ambiental que pode influenciar a escolha do habitat. Polvos são considerados predadores generalistas, podendo se alimentar com uma grande gama de opções, mas também oportunistas. Estudos mostram que a dieta dos polvos pode ser influenciada tanto pela preferência alimentar quanto pela disponibilidade de presas (AMBROSE, 1984; HARTWICK; L. TULLOCH; S. MACDONALD, 1981; SCHEEL; LAUSTER; VINCENT T.L.S., 2007).

Ainda em relação aos fatores abióticos que afetam a distribuição desta espécie, recentemente foram encontradas diferenças significativas na fisiologia de *O. insularis*, sendo esta última uma espécie mais eurialina quando comparada a *O. vulgaris* (AMADO et al., 2015). Essa capacidade de suportar mudanças de salinidade para

cima ou para baixo pode ajudar a explicar a dominância de *O. insularis* em águas tropicais rasas, onde a salinidade pode atingir até 35 ppm em poças de recifes costeiros de marés.

Os *Octopus insularis* preferem os pequenos caranguejos, siris e moluscos, confirmando que esta espécie utiliza a estratégia de forrageamento conhecida como "minimização do tempo" (SCHMID-HEMPEL, 1988), conforme descrito por (LEITE et al., 2009). A estratégia de forrageamento de "minimização do tempo" envolve uma abordagem em que os organismos otimizam o tempo investido em busca de alimento. Nesse contexto, os indivíduos buscam reduzir o tempo gasto no forrageamento para maximizar a eficiência de coleta de recursos, equilibrando a necessidade de obtenção de nutrientes com a economia de tempo que pode ser dedicado a outras atividades, como reprodução ou proteção contra predadores.

3.2. *Octopus americanus*

Por muito tempo, o *Octopus americanus* foi erroneamente classificado como *Octopus vulgaris* tipo I, com base em suas características morfológicas. Essa identificação equivocada levou à sua inclusão no complexo de espécies de *O. vulgaris*, dificultando seu reconhecimento como uma espécie distinta (NORMAN, 2016). Recentes revisões taxonômicas, baseadas em análises morfológicas, merísticas e moleculares, permitiram distinguir *O. americanus* do complexo *O. vulgaris*. Estudos genéticos, incluindo técnicas de sequenciamento associadas a loci de DNA (ddRADseq), confirmaram a validade da espécie *O. americanus* como separada das demais (AVENDAÑO et al., 2020a).

O *Octopus americanus* é um polvo bentônico nerítico, que se distribui em regiões subtropicais e temperadas, associado a águas frias desde a costa nordeste dos Estados Unidos até o norte da Argentina.

No Brasil, é possível encontrar exemplares da espécie do Amapá ao Rio Grande do Sul. Em regiões onde a temperatura da água é maior, atingem maiores profundidades (costa do Nordeste), ocorrendo em menores profundidades onde as águas são mais frias (costa Sudeste-Sul) (BASTOS et al., 2020; HAIMOVICI; PEREZ J.A.A.; SANTOS R.A, 1994; MAZZINI, 2013; SALES et al., 2013).

O *O. americanus* é uma espécie que habita águas mais frias (< 22°C) e profundas que *O. insularis*, sendo encontrado em profundidades de até 200 m. Nessas

regiões, as águas rasas (Figura 4) podem ser importantes para essa espécie como local de recrutamento (processo de adicionar novos indivíduos à população de uma espécie por meio do nascimento, imigração ou estabelecimento da semente para contribuir com a população), devido às maiores temperaturas da água, que aceleram o crescimento e desenvolvimento, e à maior disponibilidade de alimento e abrigo (BENNICE et al., 2019; BOUTH et al., 2011; GUERRA et al., 2014; KATSANEVAKIS; VERRIOPOULOS, 2004; LEITE et al., 2009).

O foco de sua exploração pesqueira ocorre no Sudeste-Sul, onde é capturada principalmente por embarcações industriais de pote (alvo) e arrasto de fundo (fauna acompanhante) (HAIMOVICI et al., 2024).

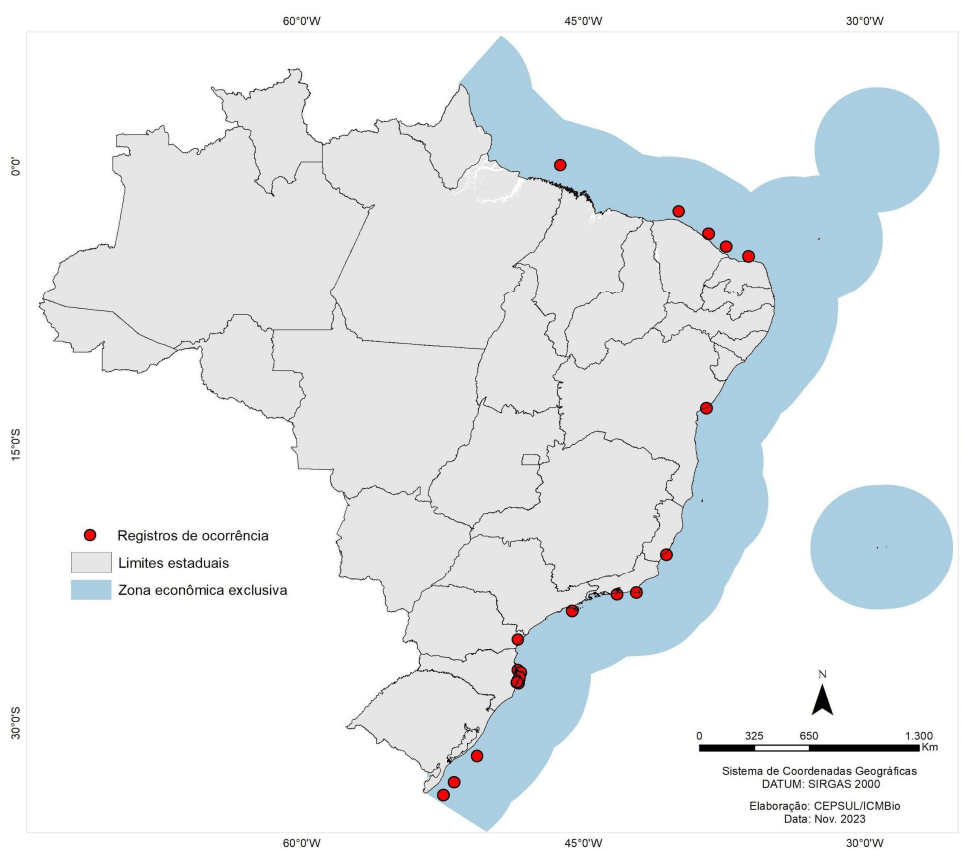


Figura 4 - Ocorrência de *O. americanus* no Brasil. Fonte: (HAIMOVICI et al., 2024).

Dentre as características morfológicas do *O. americanus* destacam-se o tamanho da espécie, moderado a grande (comprimento dorsal do manto: 80-132 mm), podendo atingir mais de 3 kg de peso e 220 mm de comprimento dorsal do manto (TOMÁS, 2003). Braços longos (4 a 5 vezes o comprimento do manto), robustos,

afilados e pontas arredondadas estreitas. Terceiro braço direito masculino hectocotilizado, mais curto que o braço oposto (índice de comprimento do braço oposto: 70-94%); lígula pequena a diminuta. Braços com duas fileiras de ventosas; o número de ventosas nos braços normais não hectocotilizados dos animais maiores varia de 224 a 258, e as ventosas nos braços hectocotilizados variam de 138 a 158 (Figura 5). Os machos maduros têm três ventosas aumentadas nos braços II e III ao nível do 7º e 8º ventosas proximais. Teias de profundidade moderada (15-20% mais profundo do braço mais longo) (AVENDAÑO et al., 2020a). O *O. americanus*, em vida, apresenta cor esbranquiçada com manchas marrons. Uma papila supraocular e duas papilas secundárias presentes em cada olho.



Figura 5 - *Octopus americanus* no laboratório de pesquisa. O *O. americanus*, quando em repouso, apresenta coloração clara e uniforme na região ventral. Na figura, pela apresentação de dimorfismo nas ventosas do terceiro braço direito, observa-se se tratar de um animal sub-adulto, entrando em sua fase de maturação. Fonte: a autora, 2023.

Os holótipos desta espécie foram depositados na Colección de Peces e Invertebrados Marinos y Estuarinos - CPIME da Escola Nacional de Ciências Biológicas do Instituto Politécnico Nacional do México. Além disso, os dados genéticos podem ser encontrados no GenBank sob os números de adesão: MT022413MT022426 (COI), MT025987-MT026000 (16S); MT035860- MT035873 .

Os *Octopus* da espécie *americanus* também apresentam alta fecundidade

(assim como as fêmeas das espécies *O. vulgaris* e *O. insularis*. *O. americanus* podem produzir de 100.000 a 500.000 ovos) (HANLON; MESSENGER, 2018; LENZ et al., 2015; MANGOLD, 1983; VIDAL; FUENTES; DA SILVA, 2010), e são animais semélparos, apresentam um ciclo de vida curto, vivendo em média um ano (HAIMOVICI et al., 2024).

Há poucas informações sobre locais de desova. Na Flórida, EUA, (BENNICE et al., 2019) observaram que as áreas rasas analisadas (até 3 m) podem funcionar como berçário e área reprodutiva para esta espécie.

Os *O. americanus* produzem ovos pequenos, dos quais eclodem em paralarvas planctônicas, em torno de 2 a 3mm CM (Fig. 6) (CASTELLANO et al., 2018).



Figura 6 - Paralarva de *O. americanus*. Uma amostra de paralarva, em seu segundo dia de eclosão.
Fonte: a autora, 2023.

O. americanus são encontrados em plataformas sobre fundos de areia ou lama, substratos rochosos, cascalhos, leitos de conchas ou mesmo na interface entre rocha e areia (AVENDAÑO et al., 2020a; HAIMOVICI; ANDRIGUETTO-FILHO, 1986; O'BRIEN; BENNICE; LEITE, 2021). Estudos feitos no ambiente natural em águas rasas do litoral da ilha de Florianópolis (SC) e ilhas do entorno identificaram desde juvenis a adultos em profundidades de 1 a 10 m. A maior parte ocorre na interface do costão rochoso com a areia e no costão rochoso. O tipo de toca mais frequentemente encontrado foi embaixo de rocha sobre areia e entre rochas, mas também em substratos arenosos e em fundos de conchas, buracos na areia ou cascalho e embaixo de rochas sobre cascalho ou conchas (CÔRTEZ, 2022).

O tempo de incubação de um *O. americanus* é de 1-3 mes(es) e o tamanho da prole pode atingir até 395 mil ovócitos em desenvolvimento nos ovários (HAIMOVICI et al., 2024).

Enquanto os *O. insularis* preferem os crustáceos na sua dieta, os *O. americanus* são adeptos dos bivalves. Trabalhos realizados no Sul do Brasil coletaram restos alimentares de juvenis e adultos *O. americanus* em águas rasas, tendo sido Perna perna (*Menippe nodifrons* e *Olivancillaria urceus*) as espécies mais consumidas. Gastrópodes, crustáceos, peixes e poliquetas seguem sendo preferências da espécie (CÔRTEZ, 2022).

As pesquisas com essa espécie, no Brasil, são direcionadas principalmente para a pesca e engorda para o cultivo comercial (AMADO et al., 2015; BASTOS et al., 2020; MOREIRA; TOMÁS; HILSDORF, 2011).

4. VALOR COMERCIAL DOS POLVOS

Embora o consumo mundial tenha avançado nos últimos anos e, proporcionalmente, aumentado o interesse dos setores industriais ligados à pesca e aquicultura, essas atividades vêm sofrendo duras críticas em função de estudos que comprovam características comportamentais dos polvos, inserindo-os na categoria de animais sencientes (MATHER, 2019). Alia-se a essas barreiras o fato de que o cultivo de polvos em cativeiro é dificultado pela alta mortalidade de paralarvas. Dessa forma, a principal forma de obtenção desses animais, hoje, para a indústria de consumo, é através da captura pela pesca *in situ* ou alocação de animais sub-adultos em fazendas de engorda (GARCÍA GARCÍA; CEREZO VALVERDE, 2006).

Estritamente marinhos, os polvos são candidatos à aquicultura industrial por apresentarem muitos requisitos favoráveis: alta taxa de conversão alimentar, adaptação às condições de cativeiro, reprodução elevada, aceitação de alimentos naturais de baixo valor, aumento de consumo mundial e grande valor de mercado. De acordo com o boletim FAO 2021, a indústria de pesca não tem conseguido acompanhar o crescimento do consumo global (Fishery and Aquaculture Statistics – Yearbook 2021, 2024; GARCÍA GARCÍA; RODRÍGUEZ GONZÁLEZ; GARCÍA GARCÍA, 2004; MANGOLD, 1983; TEIXEIRA, 2018).

Esta defasagem econômica se deve a gargalos significativos referentes às técnicas de produção aquícola. As informações técnicas são escassas, já que a reprodução do ciclo biológico completo ainda não foi atingida e o sistema atual de produção baseia-se na captura de animais juvenis selvagens e engorda em gaiolas ou tanques.

Incessantes pesquisas têm sido feitas mundialmente e avanços conquistados, como tecnologias para incubação e eclosão de ovos em cativeiro e sistemas artificiais que eliminam os custos associados à manutenção de fêmeas para cuidados parentais (LENZ et al., 2015; SPREITZENBARTH; JEFFS, 2020).

No Brasil, o *Octopus insularis*, juntamente com o *Octopus americanus* (O'BRIEN; BENNICE; LEITE, 2021) são duas das mais importantes espécies de polvo ligadas ao comércio, devido à sua grande abundância em águas brasileiras, principalmente no Nordeste, onde ocupam o lugar das principais espécies comercializadas (LIMA et al., 2014). Sua distribuição vai do Caribe ao estado do Espírito Santo e se espalhou para o sul da costa brasileira (Fig. 7) devido,

possivelmente, ao aumento da temperatura da água oceânica (LIMA et al., 2020b).



Figura 7. *Octopus insularis* e *O. americanus* nas Américas. Distribuição de *O. insularis* e *O. americanus*. A faixa atualmente reconhecida de *O. americanus* é indicada em azul (AVENDAÑO et al., 2020), a faixa atualmente reconhecida de *O. insularis* em laranja (LIMA et al., 2014). Fonte: (O'BRIEN; BENNICE; LEITE, 2021).

No estado do Espírito Santo, segundo dados do Projeto de Monitoramento e Caracterização Socioeconômica da Atividade Pesqueira no Rio Doce e no Litoral do Espírito Santo (Universidade Federal do Espírito Santo - UFES e Instituto de Pesca, com sede em Santos, São Paulo), a atividade pesqueira marinha e estuarina é realizada ao longo de seus 15 municípios costeiros, com predomínio da pesca caracteristicamente artesanal. As regiões Sul e Central do estado têm melhores condições de suportar a atividade (MUSIELLO-FERNANDES et al., 2021). Nesse sentido, nos portos do Sul e Centro são desembarcados principalmente recursos oceânicos, pelágicos e recifais, enquanto nos portos da região Norte a atividade pesqueira é mais direcionada aos recursos costeiros (MUSIELLO-FERNANDES et al., 2021).

No Brasil, a espécie *O. americanus* é alvo de pescaria industrial de espinhel de potes regulamentada pela Instrução Normativa SEAP/PR nº26 de 19 de dezembro de 2008 (SEAP/PR (2008) 19/12/2008 *Instrução Normativa SEAP/PR nº26 de 19 de dezembro de 2008 DOU 22/10/2012 - SEÇÃO 1 - PÁGINA: 37*), que regulamenta a pesca de 28 embarcações do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul, a partir dos 70 m

de profundidade, máximo de 20 mil potes por espinhel, dentre outras determinações. Em 2021, a Portaria SAP/MAPA nº452 de 18 de novembro de 2021 (SAP/MAPA (2021) 19/11/2021 Portaria SAP/MAPA nº452 de 18 de novembro de 2021 DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO Publicado em: 19/11/2021, edição: 217 | Seção: 1.) modificou o limite mínimo de operação para 35 m de profundidade, ampliando a área de permissão legal da pesca de polvos (HAIMOVICI et al., 2024).

A principal forma de captura de *O. insularis* no Brasil é a pesca artesanal, destacando-se o uso de manzuás, armadilhas confeccionadas em madeira ou metal, nas quais os polvos são atraídos por iscas, como peixes ou crustáceos, e acabam retidos em seu interior. Essa técnica é amplamente empregada em regiões como o Nordeste do Brasil, especialmente no litoral de estados como Pernambuco e Ceará, bem como em Fernando de Noronha. Além disso, a pesca pode ser realizada por meio do uso de puças durante mergulho livre, em que os pescadores capturam os indivíduos manualmente em recifes e áreas rochosas, com ou sem equipamentos de respiração. Outra estratégia utilizada em algumas comunidades é a captura manual durante a maré baixa com o uso do bicheiro (uma espécie de arpão ou gancho, geralmente feito de metal, com uma ponta que pode ser usada para fugar ou empurrar o animal nas fendas), na qual os polvos são encontrados em poças de maré ou sob rochas e estruturas coralinas. Essas técnicas são favorecidas pela ampla distribuição de *O. insularis* em habitats recifais e substratos rochosos, onde a espécie encontra abrigo e alimento, tornando-a um recurso pesqueiro relevante nas regiões costeiras do país.

Desde 2000, as exportações de polvos têm sido dominadas por Marrocos, Mauritânia, China, Espanha e Vietnã, enquanto as importações têm sido lideradas pelo Japão, Espanha, Itália, Coreia e Estados Unidos (OSPINA-ALVAREZ et al., 2022). Como a comercialização ainda é baseada na captura de organismos silvestres (Tabela 1), há um crescente interesse em estudos que busquem técnicas para o manejo e cultivo do polvo em cativeiro.

Tabela 1 - Total de capturas de *Octopus* entre os anos de 2012 e 2021. A tabela apresentada contém dados quantitativos sobre as capturas de diferentes espécies de polvos ao longo dos anos, de 2012 a 2021. Os dados indicam que *Octopus vulgaris* e *Octopus maya* são as espécies mais exploradas comercialmente, com capturas crescentes até 2019 e declínios em 2020, enquanto as demais espécies apresentam volumes menores e maior estabilidade, refletindo possíveis variações ambientais, econômicas ou relacionadas à gestão pesqueira. Fonte: (Fishery and Aquaculture Statistics – Yearbook 2021, 2024).

Captura Mundial (em toneladas) das principais espécies de octopus relatadas pela FAO (2024) dos anos 2012 a 2021										
Nome científico/Nome popular	2021	2020	2019	2018	2017	2016	2015	2014	2013	2012
<i>Octopus vulgaris</i> [common octopus]	36929.77	32521.76	45725.44	38431.48	37351.55	34931.61	33297.91	42286.86	42234	40681.73
<i>Octopus maya</i> [Mexican four-eyed octopus]	20722.57	19193.53	20119	28809	26020	25722	23441	15403	8806	12629
<i>Eledone cirrhosa</i> [Horned octopus]	1908.734	2136.885	3719.71	3437	2780	2215	2609	593	855	136
<i>Eledone ssp</i> [Horned and musky octopuses]	1324.433	1252.945	1291.101	1011.086	923.723	977.171	1210.688	6297.553	5739	5137
<i>Octopus spp</i> [Octopus nei]	7.634	0.35	13.35							

A espécie *Octopus vulgaris* (*common Octopus*) é a mais estudada geneticamente (CARLINI DB; GRAVES JE., 1999; GUZIK; NORMAN; CROZIER, 2005), provavelmente por apresentar maior valor comercial. Norman e Hochberg (NORMAN MD; HOCHBERG FG, 2005) referiram-se a esse táxon como um “complexo de espécies” já que vários táxons distintos são classificados incorretamente como *O. vulgaris* em diferentes partes do mundo (Fig. 8). Porém, uma crescente série de estudos genéticos e morfológicos tem contribuído na descrição de novas espécies, como é o caso do *O. maya* (VOSS GL; SOLÍS RAMÍREZ M., 1966), *O. mimus* (GUERRA A; CORTEZ T; ROCHA F, 1999), *O. insularis* (BATISTA; LEITE, 2016; FLORES-VALLE et al., 2018; GONZÁLEZ-GÓMEZ et al., 2018) e o *O. americanus* (AVENDAÑO et al., 2020a).

A grande distribuição de *O. insularis* no Atlântico, no entanto, tem sido comprovada pela análise genética molecular de espécimes de águas costeiras do Atlântico Sudoeste ao longo do Brasil (LEITE; MATHER, 2008; SALES et al., 2013; WARNKE et al., 2004), e África do Sul (OOSTHUIZEN A; JIWAI M; SHAW P., 2004).

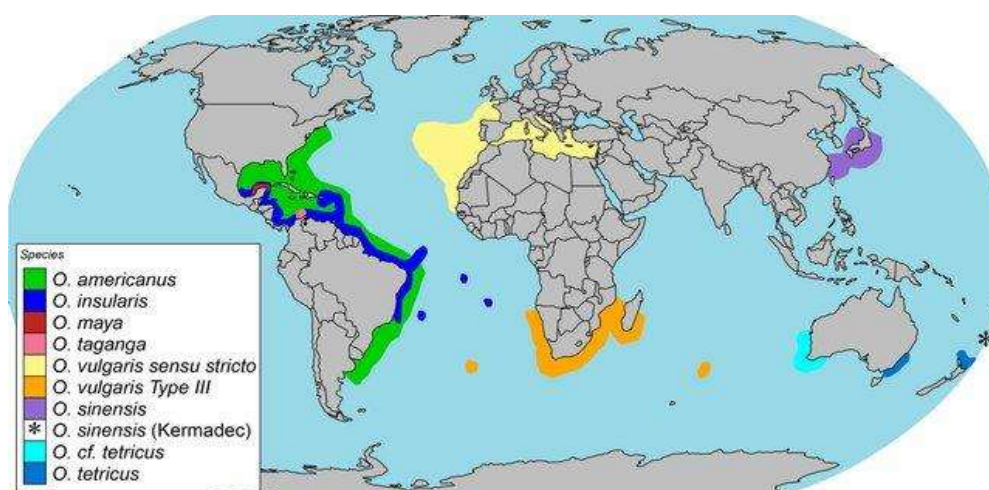


Figura 8 - *Octopus insularis* no mundo. Distribuição mundial das diferentes espécies pertencentes ao complexo de espécies de *O. vulgaris*, incluindo a nova espécie *O. americanus*, juntamente com outros polvos do Caribe (*O. insularis*, *O. maya* e *O. taganga*). Fonte: (AVENDAÑO et al., 2020b).

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo Geral

Apresentar duas espécies do gênero *Octopus* do bioma brasileiro como potenciais candidatas a modelo animal para estudos neurocientíficos.

5.2. Objetivos específicos

5.2.1. Padronizar métodos de coleta de *O. insularis* e *O. americanus* para estudos comportamentais em cativeiro;

5.2.2. Padronizar o manejo de *O. insularis* e *O. americanus* para estudos comportamentais em cativeiro;

5.2.3 Avaliar, em cativeiro, os comportamentos de aclimatização, neofobia alimentar, neofobia por objetos e neofobia social de *O. insularis* e *O. americanus*;

5.2.4. Verificar se há diferença entre as espécies nos comportamentos acima citados;

5.2.5. Verificar se há diferença entre os sexos quanto aos comportamentos acima citados;

5.2.6. Testar se os anticorpos primários Santa Cruz sc-52 e Millipore MAB377 e secundários anti-mouse 568 e anti-rabbit 647, desenvolvidos para mamíferos, marcam o tecido cerebral de polvo.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Aspectos Éticos

O estudo foi realizado mediante aprovação e autorização de captura e manutenção de cefalópodes nativos no Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO - número: 80463-2. No Brasil, não há outra Lei específica que determine as condições necessárias para a manutenção de cefalópodes em cativeiro.

No entanto, foi feita uma consulta à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG em 11/05/2021, com a confirmação:

“A Lei 11.794/2008 abrange apenas os animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, exceto o homem. Portanto, apesar de existirem várias discussões acerca dos aspectos éticos e de bem-estar na utilização de animais invertebrados, não compete às CEUAs avaliar procedimentos de ensino e/ou pesquisa envolvendo estes animais” reiterando a legitimidade do projeto quanto ao uso de invertebrados em pesquisa.

Ainda assim, foi utilizada a Diretiva 2010/63 da União Europeia, relativa à proteção destes cefalópodes, como responsabilidade ética de uso de animais para fins científicos.

6.2 Preparação do Laboratório

O laboratório foi instalado em uma sala de 5x4m onde foram alocados 4 (quatro) aquários para polvos e uma caixa de policloreto de vinila - PVC, de 50l - para crustáceos. Um sistema de aeração composto por um compressor radial (aerador) e tubos de PVC que distribuía o ar para vários subsistemas. Além disso, o laboratório mantinha uma câmera infravermelha para observação 24 horas e sistemas de recirculação marinha (Wireless Ip Camera 360°HD WiFi RJ45 Luatek Night Vision).

Foram montados aquários de vidro medindo 50x50x50 cm que, segundo Fiorito (FIORITO et al., 2015; PONTE et al., 2019), atendem ao espaço mínimo recomendado de 0,30 cm/animal e onde apenas a frente é transparente. Essa medida serve para

evitar a reflexão da imagem do polvo e o aumento do nível de estresse, confundindo a própria imagem com outro espécime. Os aquários continham uma fina camada de substrato dolomítico ou aragonita. Evitou-se uma espessa camada de substrato para que os crustáceos vivos (caranguejos e camarões) não se enterrassem e dificultassem o controle alimentar dos polvos.

Polvos são muito persistentes na busca de possibilidades de fuga e podem passar por qualquer fenda onde cabe seu bico quitinoso, que é a única parte dura de seu corpo. Por isso, todos os furos de entrada e saída de água foram bem projetados ou fechados com telas.

Para manter a boa circulação da água, foi instalado um arejador interno (Sunsun Circulation Pump Jvp-201a 6000l/h Jvp 201a) e um termômetro (LCD Digital Aquarium Self Adhesive Thermometer temperature 0-60°C). Também foram fornecidas conchas ou canos de PVC (30 cm) para que o animal pudesse se abrigar e se sentir mais seguro.

Esse sistema deve ciclar, por, pelo menos 50 dias, antes da chegada dos animais para que o aquário alcance estabilidade química, física e biológica, evitando grandes alterações no ciclo do nitrogênio. Este é um processo para formar uma colônia de bactérias benéficas suficientes para controlar e reduzir substâncias tóxicas na água que podem ser letais para o polvo.

Uma caixa de 50 litros de água do mar com fundo de cascalho e um pequeno sistema de filtragem mecânica alimentado com bomba de aquário (2.000l/h) sobre manta acrílica perlou foi mantida em laboratório para o armazenamento de crustáceos vivos para a fase de aclimação.

A qualidade da água e, conseqüentemente, a qualidade de vida dos animais em sistemas fechados também dependem de um bom sistema de filtração. Para polvos foram utilizadas duas caixas de PVC de 100l. Uma das caixas fez a filtração mecânica com cascalho, filtro *skimmer* (magnus protein skimmer curve5 300-500l) e manta de perlou acrílico. A segunda caixa continha meios biológicos e aeração (33). Antes de a água retornar ao aquário, ela era submetida à filtragem UV (Filtro UV 9000 Litros Ocean Tech 18w).

Foi elaborada uma tabela (Tabela 2) com adaptação das indicações retiradas do International Journal of Laboratory Animal Science and Welfare (FIORITO et al., 2015) para servir de parâmetro visual na checagem diária e acertos de parâmetros.

Tabela 2 – Descrição dos Parâmetros de Controle no Laboratório de *Octopus*. Esta tabela estabelece um protocolo de manejo para garantir o bem-estar dos polvos em cativeiro, ao mesmo tempo que assegura condições apropriadas para observação e experimentação científica. Os parâmetros de enriquecimento ambiental e qualidade da água são fundamentais para replicar as condições naturais dos habitats dessas espécies, enquanto os dados de identificação auxiliam no monitoramento e no estudo individualizado dos animais. Fonte: elaborado pela autora (2023), adaptado de (FIORITO et al., 2015).

Identificação	Origem Espécie Data de captura Sexo Peso Comprimento do manto
Enriquecimento	Brinquedos, jarras, desafios
Água	Checagem ao menos 1x ao dia
Medida do aquário	0.30 m ² por animal
Cobertura	Bem segura
Lâmpada	Halógena
Temperatura da água	22-26°C
Salinidade da água	32 a 35 ppt
pH	7,9 – 8,3
NH ₄	< 0,10 mg/L
NO ₂	< 0,10 mg/L
NO ₃	< 0,20 mg/L
O ₂	8 ppm
Iluminação dentro do aquário	Natural – 3,5m Luz azul ou sombra
Intensidade da luz na superfície da água	200 a 400 lux

Diariamente, os tanques eram limpos e sifonados para retirada de material particulado, restos de alimentos e excrementos de animais. Trocas parciais de água (TPA até 30%) eram realizadas a cada dez dias para reduzir os níveis de nitrato e repor a água evaporada. Medidas de parâmetros físicos e químicos (salinidade, temperatura, pH e compostos nitrogenados - nitrito, nitrato e amônia) também eram realizadas diariamente e acertadas, caso houvesse disparidade.

Os parâmetros de qualidade da água eram frequentemente monitorados por meio de equipamentos capazes de registrar dados de temperatura da água 24 horas por dia (TidbiT de temperatura submersível), refratômetro para medir e controlar a salinidade (KASVI - K52 100) e oxímetro digital para oxigênio dissolvido (YSI Ecosense® DO200A).

Estes aquários tinham um sistema fechado de recirculação de água a 25 ± 1 °C e 34 ± 1 salinidade de acordo com as amostras retiradas dos locais de captura.

Seguindo as orientações metodológicas propostas por Borrelli, Chiandetti e

Fiorito (2020), as condições de iluminação do laboratório foram cuidadosamente controladas para garantir a padronização dos ciclos circadianos dos animais. Reproduzimos, sempre que possível, as mesmas condições descritas no protocolo original, respeitando os períodos naturais de claro/escuro ao longo do ano no Brasil. Para isso, utilizamos um temporizador automático (Intelbras EWS 201) programado para acender e apagar as luzes de forma regular, mantendo um ciclo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro (12L:12E), de acordo com a variação sazonal local. Essa medida teve como objetivo minimizar o estresse ambiental e assegurar a consistência dos ritmos comportamentais durante os testes experimentais.

6.3 Captura e transporte de animais

Espécimes de *O. americanus* e *O. insularis* foram capturados durante vinte e seis meses (junho de 2021 a agosto de 2023), por meio de mergulho, coleta em estruturas rochosas em águas rasas e embarcações de pesca dos municípios de Guarapari, Anchieta e Piúma, litoral do Espírito Santo, Sudeste do Brasil.

Os animais capturados por mergulho ou pesca de espinhel de potes foram mantidos a bordo em tanque circular com capacidade de 100 (cem) litros. A água do mar no tanque era constantemente renovada para manter a qualidade e reduzir os efeitos da liberação de muco durante o transporte. A bordo das embarcações, também foram utilizados cilindros de oxigênio e equipamentos para observar a temperatura e oxigenação da água.

A espécie *O. insularis* é encontrada em condições rochosas e rasas do litoral do Espírito Santo e os animais utilizados nesta pesquisa foram capturados principalmente na bacia da Enseada do Guaibura (20°43'42.1"S 40°31'20.4"W) no município de Guarapari - ES sob condições lunares, altura das marés, direção do vento e chuva (Fig. 9). Durante as luas cheias e novas, as marés ficam mais baixas, o que expõe melhor as tocas, facilitando a visão de animais nas ondas que recuam. A tábua de marés também foi observada para determinar o menor tempo em que as tocas estão mais expostas, proporcionando a captura sem lesões. Os animais foram cuidadosamente retirados para evitar ferimentos, mas com firmeza, pois são extremamente ágeis para fuga.

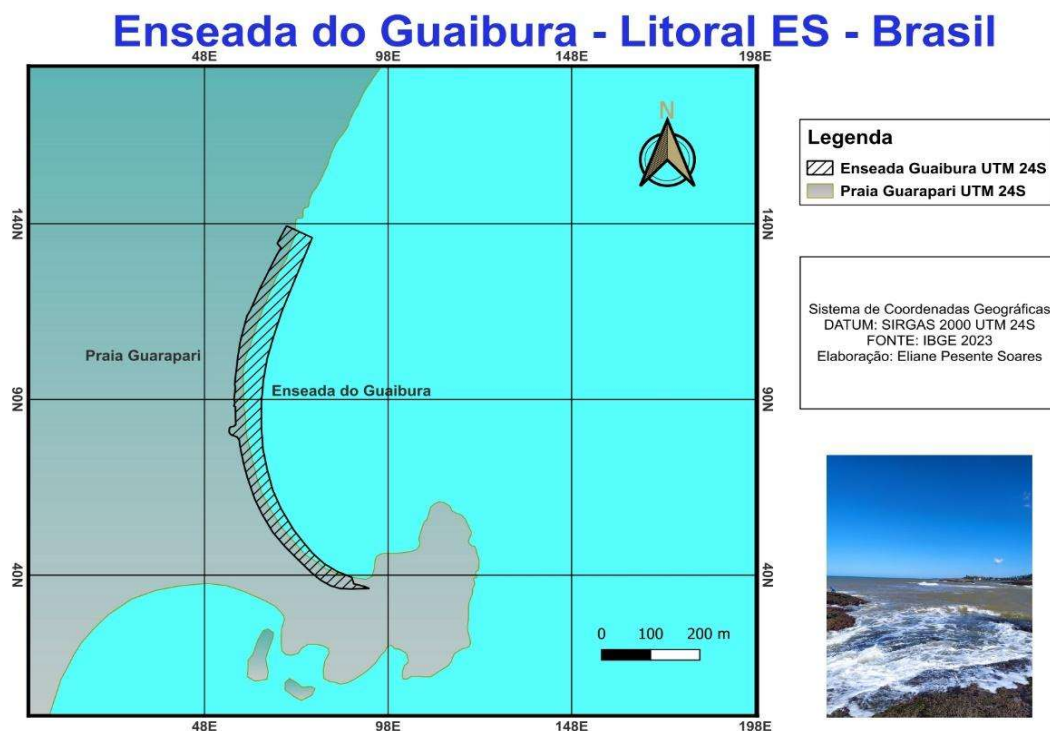


Figura 9 – Mapa de localização de capturas de *O. insularis*. Há um grande adensamento de animais nessa região, próxima à Guarapari- ES, devidos às condições rochosas da região. A grande maioria dos animais dessa espécie, usados na pesquisa, foram capturados nessa região. Fonte: a autora, 2024.

As coordenadas geográficas e profundidade das capturas em embarcações ou mergulhos do *O. americanus* foram realizadas com o auxílio de um Sonar GPS (GARMIN- Ecomapa 54CV). Foram coletadas amostras de águas superficiais e do fundo do mar para obter dados de salinidade, pH, oxigênio dissolvido e temperatura para cada ponto (Fig. 10).



Figura 10 - Pesca de espinhel com potes no litoral de Marataízes, ES. A espécie *O. americanus* prefere águas mais profundas e frias e sua captura, geralmente se dá por pesca de arrasto ou potes, como mostrado na figura, feita por pescadores locais. Fonte: elaborado pela autora (2023).

Os polvos capturados nessas expedições marinhas foram colocados em caixas térmicas de poliuretano (15 l) com fundo preto, adaptadas com oxigenadores portáteis (Oxygenator Super Air Pump Ap-800) para o laboratório.

Os espécimes foram mantidos em tanques individuais para que não houvesse canibalismo ou estresse excessivo após o transporte e foram identificados quanto ao sexo, comprimento e peso do manto. Os aquários foram identificados por dados de espécie, data e local de captura.

6.4 Identificação das espécies

A identificação das espécies foi baseada em suas características visuais distintas. A principal diferença observada entre as duas espécies é a configuração da superfície ventral dos braços. *O. americanus* apresenta coloração mais uniforme, variando do laranja ao marrom, sem manchas ou reticulações bem definidas (Figura 11A). Em contraste, a superfície ventral dos braços de *O. insularis* apresenta um arranjo distinto de “manchas” em tons roxo/vermelho/marrom sobre fundo claro

(Figura 11B) (LEITE et al., 2008).

Outra diferença entre as duas espécies é a área ao redor dos olhos durante a exibição deimática, onde o padrão corporal é alterado quando o animal é ameaçado. Em *O. insularis*, esse padrão inclui um olho branco e um anel pálido ao redor dele (branco ou azul esverdeado), geralmente acompanhado por uma barra escura no olho dentro de uma área escura mais ampla (Fig. 11B). Em *O. americanus*, a exibição deimática consiste no escurecimento contínuo ao redor dos olhos, que também ficam escuros, criando uma aparência uniforme (Fig. 11A). Estas características são facilmente observadas dentro e fora da toca do animal, muitas vezes em resposta à aproximação de um mergulhador (*in situ*) ou de um observador desconhecido (*ex situ*).

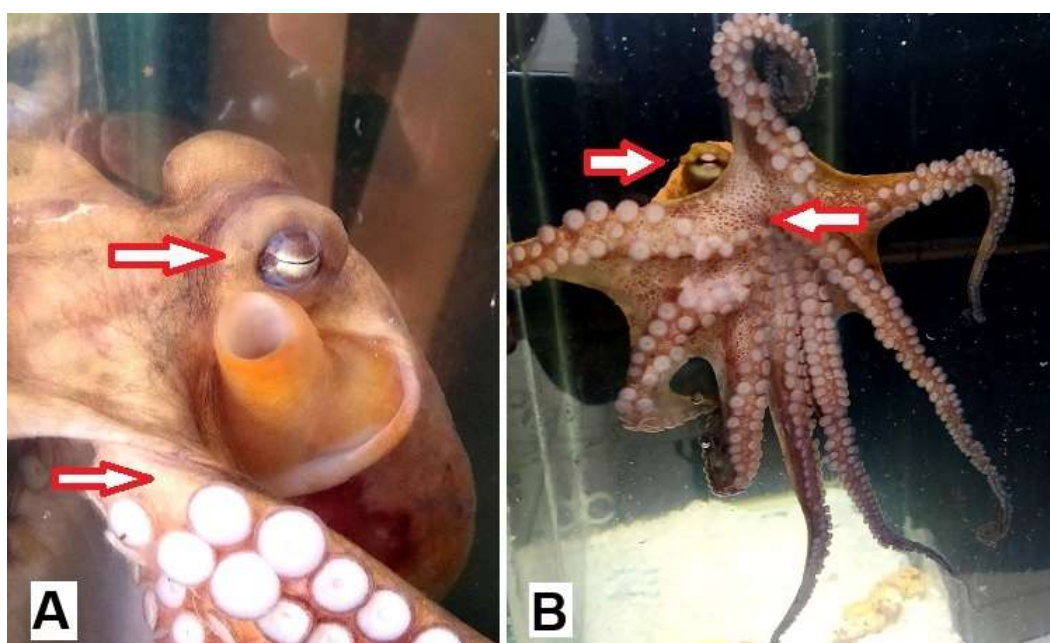
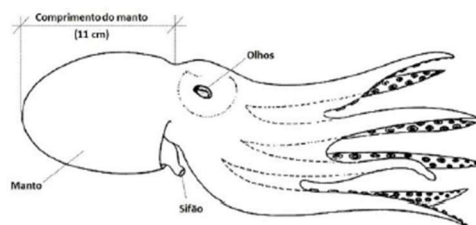


Figura 11. Diferenças morfológicas entre (A) *O. americanus* e (B) *O. insularis*. O *O. americanus* apresenta coloração mais uniforme na superfície ventral dos braços e o escurecimento ao redor dos olhos é contínuo. O *O. insularis* apresenta um arranjo distinto da superfície ventral e durante a exibição deimática, observa-se um olho branco com um anel claro e uma barra escura dentro de uma área mais escura. As setas vermelhas indicam as principais características distintivas. (Foto: Eliane Pesente).

ANEXO

DESENHO ESQUEMÁTICO DE UM POLVO (*OCTOPUS AMERICANUS*,
OCTOPUS INSULARIS)

O comprimento do manto do polvo (*Octopus americanus*, *Octopus insularis*) deve ser medido ao longo da linha mediana dorsal, referente à distância entre a ponta posterior do manto e o bordo deste, situado acima dos olhos, na altura do sifão.

Figura 12 - Imagem orientadora de tomada de medidas de um *Octopus*. Fonte: Portaria SAP/MAPA Nº 452, de 18 de novembro de 2021.

A Figura 12 serviu como base orientadora na tomada de medidas dos animais capturados auxiliando a estimativa de idade e identificação.

6.5 Alimentação

A dieta dos animais consistiu em presas vivas: siri azul (*Callinectes sapidus*, Rathbun 1869), camarão (*Litopenaeus Vannamei*) e mexilhões (*Perna perna* Linnaeus, 1758). As conchas e tecidos não digeridos eram rapidamente removidos dos tanques para garantir a manutenção da qualidade da água. Após 4 dias, o polvo se acostumava com a alimentação dos tratadores e conseguia capturar animais pequenos e descongelados. Crustáceos vivos (*Callinectes sapidus*, Rathbun 1869) foram oferecidos na proporção de um a dois crustáceos por polvo por dia. Camarões, assim como mexilhões, berbigões e pequenos peixes, foram oferecidos eventualmente com o objetivo de variar a oferta alimentar (Fig. 13).



Figura 13 - Alimentação dos polvos. 1- camarão (*Litopenaeus Vannamei*) 2- peixe (espécie desconhecida) 3- mexilhão *Perna Perna* (*Linnaeus, 1758*) 4- conchas (*Stramonita haemastoma*, *Cymatium parthenopeum*) 5- siri azul (*Callinectes sapidus*), 6- siri calico (*ovalipes ocellatus*), 7- siri bola (*Persephona lichtensteinii*). Fonte: a autora (2023).

Para o monitoramento da adaptação em sistema fechado de aquicultura, foram utilizados apenas crustáceos vivos nos primeiros cinco dias.

6.6 Análises comportamentais

Uma câmara infravermelha (Wireless IP Camera 360°HD WiFi RJ45 Luatek Night Vision) monitorou os animais durante 24 horas para verificar o seu bem-estar no ambiente em cativeiro (Diretiva 2021/63 UE). Também foram observados padrões de textura e cor da pele, movimentos, tentativas de fuga e repouso. Todos os testes comportamentais foram realizados entre 8h e 17h.

6.6.1 Aclimação

No dia seguinte à chegada dos animais no laboratório e por cinco dias consecutivos, cada animal foi apresentado a um crustáceo vivo preso a um fio de algodão (crustáceo amarrado), procedimento comumente utilizado por experimentadores de cefalópodes para medir os níveis motivacionais dos polvos e a

recuperação em desempenho predatório (AMODIO; FIORITO, 2013; MALDONADO, 1963, 1964). Uma vez que a presa pousava no fundo do tanque, ela geralmente se movia espontaneamente; no caso de o crustáceo ficar parado (comportamento de congelamento), o fio era gentilmente puxado para incentivar a presa a se mover.

O crustáceo era prontamente retirado do tanque antes que o polvo pudesse atacá-lo, com exceção dos dias 3 e 5, em que o polvo era autorizado a alimentar-se.

O tempo máximo esperado para o animal responder era de 300 segundos.

6.6.2 Neofobia alimentar

O teste de neofobia alimentar consiste em oferecer o alimento familiar ao animal na presença de um objeto desconhecido. Os objetos eram de tamanho proporcional ao manto do animal, como abridor de garrafas de metal (14 cm de largura, 3 cm de espessura), ou frascos de esmalte vermelho.

Os objetos eram amarrados a um fio de algodão, assim como o alimento (crustáceo). Ambos eram apresentados simultaneamente, na frente do animal. Cada sessão tinha duração máxima de 5 minutos (300 segundos). Caso não houvesse ataque do animal à presa durante a primeira tentativa, retiravam-se o alimento e o objeto do aquário. Após 2 minutos, uma segunda sessão era realizada, com o mesmo alimento e o mesmo objeto.

Uma segunda sessão foi realizada 24h depois, exatamente como na primeira sessão.

6.6.3 Neofobia a objetos

Usamos uma versão modificada do teste descrito por Vergara-Ovalle (VERGARA-OVALLE et al., 2023) para estimar a neofobia a objetos.

O teste consistiu em três sessões. Na sessão de habituação, os animais são colocados em um aquário novo, mas de mesma dimensão, por 24h. Considerava-se que o animal estava habituado se ele assumisse a posição "descanso na toca" por pelo menos uma vez. Durante esse período o animal era alimentado. Após 24 horas, iniciamos a segunda sessão, denominada teste 1, que consistia em apresentar dois objetos idênticos (A+A) (Figura 14). O tempo de interação, com um ou ambos os objetos, foi quantificado durante 30 minutos. Vinte e quatro horas depois, na terceira

sessão denominada teste 2, dois objetos foram apresentados ao animal, um idêntico ao apresentado no teste 1, e um novo (A+B). O tempo de interação, com um ou ambos os objetos, foi quantificado durante 30 minutos.

Os objetos eram de tamanho aproximado ao tamanho do manto do animal testado, para evitar aversão e promover o interesse do animal, como, miniaturas de bonecos, patinhos de borracha, bolas de plástico, potes de fermento. Os dois objetos foram colocados equidistantes em frente ao animal.



Figura 14 – Neofobia a objetos. Exemplar de *Octopus insularis* no teste 1 (A+A) . Fonte: elaborado pela autora (2023).

6.6.4 Neofobia social

Usamos uma versão modificada do teste descrito por Edsinger e colaboradores (2018) para estimar a neofobia social em cativeiro. O teste foi realizado num aquário retangular de vidro (35 cm de altura, 30 cm de profundidade e 50 cm de comprimento) separado em três câmaras de tamanho igual. As paredes divisórias contêm pequenas aberturas circulares (3,5 cm de diâmetro) para permitir o livre acesso dos animais às câmaras (Fig.15). As paredes externas da câmara são cobertas com película blecaute (Window Whirl).

O teste consistiu introduzir um animal no compartimento central do aquário, que continha de um lado um objeto familiar, e do outro um segundo animal (estímulo), que estava contido dentro de um pote cilíndrico de plástico, proporcional ao seu tamanho e fechado com tampa de rosca que continha um anel de chumbo em forma de C de

450 g preso com Epóxi (Durepóxi®). O animal estímulo foi habituado ao pote por dois minutos, antes da introdução do animal teste no aquário.

A sessão durou 30 minutos, e durante esse período quantificamos o tempo que o animal ficou em cada compartimento do aquário.



Figura 15 - Teste de Neofobia social. Exemplares de *Octopus americanus* no teste de sociabilidade. Fonte: Elaborado pela autora (2023).

6.7 Desenho experimental

A seguir, apresentamos a sequência em que os experimentos foram realizados (Tabela 3).

Tabela 3 - Protocolo de testes realizados.

Chegada	Aclimação (sem alimento)	Aclimação	Aclimação (sem alimento)	Aclimação	Neofobia	Neofobia	Neofobia	Teste Social	Eutanásia
Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

6.8 Eutanásia

Dissolvemos MgCl em 2L de água de oceano filtrada, de modo que o MgCl ficasse em 3.5%. O animal foi colocado dentro desta solução até estar todo coberto e

tampado firmemente para que não fugisse. Foram deixados por cerca de 30 minutos ou até que apresentassem os sinais de anestesia profunda: palidez, relaxamento completo das ventosas e total interrupção de movimentos respiratórios.

6.9. Análise Histológica

Após a verificação dos sinais indicativos de anestesia profunda, procedeu-se à identificação visual do sexo. Posteriormente à eutanásia, cortes transversais (3–5 mm) dos testículos e ovários foram realizados na região mediana dos respectivos órgãos. Os tecidos foram fixados em formol a 10% por 24 horas e armazenados em etanol a 70% até o processamento. Seguiu-se o protocolo rotineiro de inclusão em parafina, com cortes histológicos realizados a 5 µm de espessura, desparafinação e reidratação gradual em série alcoólica. Em seguida, os tecidos foram submetidos à coloração de rotina com hematoxilina-eosina (HE), e as imagens foram obtidas por meio de microscopia estereoscópica e de luz, utilizando câmera HD acoplada e o *software* Sigma Scan Pro 5.0 para análise de imagem.

6.10 Ensaio piloto de imunofluorescência

Após a eutanásia, a massa cerebral foi dissecada (Figura 16) e colocada em uma solução de PFA 4% em água do mar filtrada. Cerca de duas horas depois, quando o cérebro submergisse nessa solução, este era retirado e colocado em PBS (tampão fosfato em salina, 0.1M, pH 7.4) e agitado por 10min. Repetiu-se essa lavagem por pelo menos mais 5 vezes. O PBS era então substituído por uma solução de 30% de sacarose em PBS. Os cérebros permaneceram na geladeira (4°C) até que fossem fatiados no criostato. Fatias sagitais de 40µm (Figura16) foram lavadas em PBST 0,2% por 10min, e em seguida, bloqueadas com solução de BSA 6%. A seguir as fatias foram incubadas, por 24 horas a 4°C, com os anticorpos primários anti-c-Fos (Santa Cruz, sc-52) e anti-NeuN (Millipore MAB377) nas concentrações de 1:1000 (Stern-Mentch et al., 2021).

No dia seguinte, as fatias foram lavadas por 3x de 5min em PBST, e incubadas com por 2 horas em temperatura ambiente com os anticorpos secundários, anti-mouse 568 (1:1000) e anti-rabbit 647 (1:2000). A seguir, as fatias foram lavadas por 2x de 5 min com PBS e incubadas com DAPI por 5 minutos. Por fim, as fatias foram lavadas novamente com PBS. As lâminas foram montadas com Fluoromount.

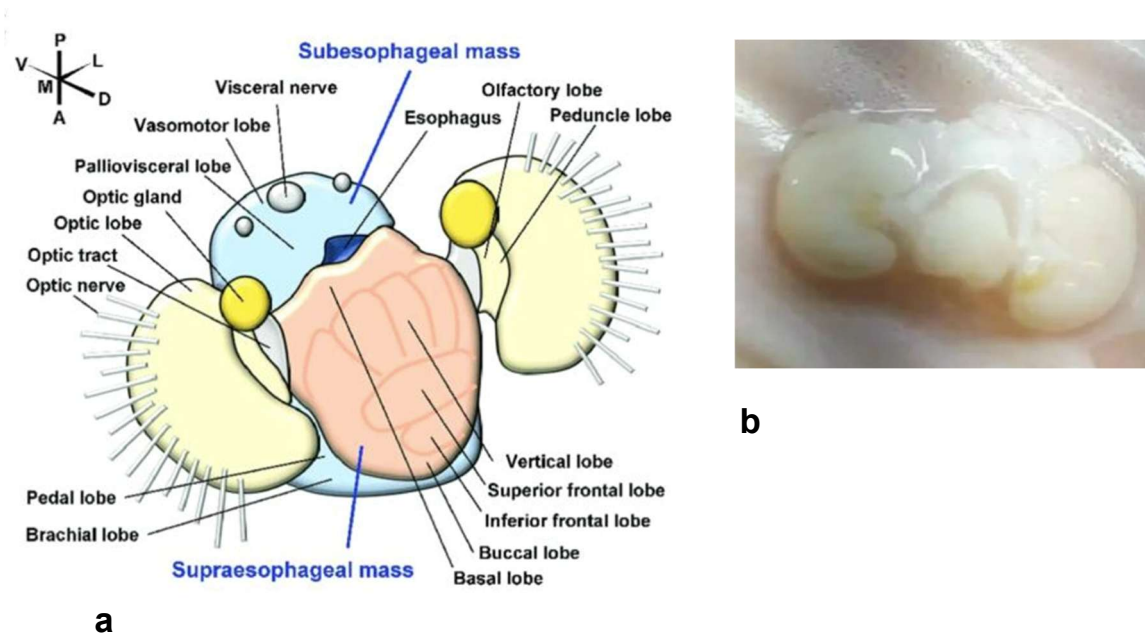


Figura 16 – Referenciais anatômicos utilizados no ensaio de imunofluorescência. (a) Figura esquemática do cérebro de um polvo, evidenciando o lobo vertical (vertical lobe), que foi alvo da imunofluorescência (Jung et al., 2018). Em (b) um dos cérebros que foi, posteriormente, fatiado em nosso laboratório (Fonte: Elaborado pela autora, 2023).

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism 10. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM), e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Para os testes de latência ao ataque à presa, foi utilizada uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas (two-way repeated measures ANOVA), considerando os fatores dias de exposição ao estímulo e sexo (para análises intraespécie), bem como espécie (para análises interespecíficas). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram exploradas por meio do teste post hoc de Bonferroni.

Para a análise do tempo de interação com os objetos (A+A versus A+B), os dados também foram analisados com uma ANOVA de duas vias, considerando os fatores tipo de estímulo e sexo (para comparações intraespécie), além da espécie (para comparações interespecíficas). Diferenças estatísticas foram determinadas com o teste post hoc de Bonferroni.

Já os dados de latência para sair do compartimento central foram analisados por meio de testes não paramétricos, devido à distribuição dos dados. Para comparações entre grupos independentes (espécies ou sexos), utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Quando aplicável, as frequências de resposta dos animais (“sim” ou “não” quanto à saída do centro) foram comparadas entre espécies por meio do teste exato de Fisher.

8. RESULTADOS

8.1 *O. insularis* e *O. americanus* estão presentes nas águas do Espírito Santo, Brasil.

Nos municípios de Guarapari, Anchieta e Piúma, no litoral do Espírito Santo, sudeste do Brasil, capturamos 17 exemplares de *O. americanus* e 21 de *O. insularis* durante vinte e seis meses (junho de 2021 a agosto de 2023) por meio de mergulho, coleta em estruturas rochosas em águas rasas e embarcações de pesca artesanal (Tabela 4). Antes da realização dos testes comportamentais, 12 animais faleceram por causas naturais.

Tabela 4. Dados da coleta de *O. americanus* e *O. insularis*

Data de captura	Localização	Temperatura da água (°C)	Número de animais coletados	Espécies
28/07/2021	S 21.0555° / W 40.3949°	22.3	1	<i>O. americanus</i>
09/08/2021	S 20°37'26.4" / W 40°30'10.8"	24	1	<i>O. insularis</i>
23/08/2021	S 21.0555° / W 40.3949°	24.3	3	<i>O. insularis</i>
09/09/2021	S 21°00.337' / W 040°46.403'	23	1	<i>O. insularis</i>
15/05/2022	S 20°37'26.4" / W 40°30'16.2"	23	2	<i>O. insularis</i>
28/06/2022	S 20°37'31.2" / W 40°30'10.8"	25.2	1	<i>O. insularis</i>
29/06/2022	S 21°00.337' / W 040°46.403'	25	1	<i>O. insularis</i>
10/09/2022	S 20°37'31.2" / W 40°30'10.8"	24	2	<i>O. insularis</i>
07/10/2022	S 21.0555° / W 40.3949°	25.3	3	<i>O. insularis</i>
08/10/2022	S 20°37'26.4" / W 40°30'16.2"	25	2	<i>O. insularis</i>
10/12/2022	S 21.0555° / W 40.3949°	26.3	2	<i>O. insularis</i>
20/12/2022	S 21.0555° / W 40.3931°	24.8	1	<i>O. insularis</i>
08/06/2023	S 21.0555° / W 40.394°	22.8	4	<i>O. americanus</i>
06/08/2023	S 21.0555° / W 40.394°	22.8	2	<i>O. insularis</i>
05/07/2023	S 21.0048° / W 40.773383°	21.8	12	<i>O. americanus</i>

Nas tabelas 5 e 6 estão detalhadas as informações sobre os espécimes coletados de *O. insularis* e *O. americanus*, respectivamente.

Tabela 5: Resumo dos espécimes coletados de *O. insularis*. Os valores do comprimento do manto (CM) foram utilizados para categorizar os animais por tamanho da seguinte forma: extra-pequeno (EP): $CM \leq 50$ mm; pequeno (P): $CM > 51$ e < 80 mm; médio (M): $CM > 81$ e < 100 mm; e grande (G): $CM > 100$ mm. As medidas foram realizadas no momento da captura. O sexo foi confirmado após eutanásia (F = fêmea; M = macho; ? = indefinido) [Bouth et al., 2011].

Animal	Sexo	Peso (g)	Comprimento de manto (mm)	Tamanho
#2	M	402	112	G
#3	M	560	127	G
#4	F	330	109	G
#5	F	428	115	G
#6	M	204	40	EP
#7	F	298	82	M
#8	M	400	120	G
#9	F	83	30	EP
#10	F	120	40	EP
#11	F	353	111	G
#12	M	423	114	G
#13	M	704	70	P
#14	M	247	30	EP
#15	?	20	30	EP
#16	F	302	60	P
#17	F	230	40	EP
#18	F	386	40	EP
#19	M	522	60	P
#20	M	427	40	EP
#23	F	120	77	P
#24	M	114	70	P

Tabela 6: Resumo dos espécimes coletados de *O. americanus*. Os valores do comprimento do manto (CM) foram utilizados para categorizar os animais por tamanho da seguinte forma: extra pequeno (EP): $CM \leq 50$ mm; pequeno (P): $CM > 51$ e < 80 mm; médio (M): $CM > 81$ e < 100 mm; e grande (G): $CM > 100$ mm. As medidas foram realizadas no momento da captura. O sexo foi confirmado após eutanásia (F = fêmea; M = macho; ? = indefinido) [37].

Animal	Sexo	Peso (g)	Comprimento do manto (mm)	Tamanho
#1	F	342	110	G
#21	M	181	82	M

#22	M	153	87	M
#25	F	116	75	P
#26	M	117	76	P
#28	M	167	80	P
#29	M	321	102	G
#30	M	119	72	P
#31	F	100	74	P
#32	?	34	17	EP
#33	M	58	45	EP
#34	F	90	54	P
#35	F	41	40	EP
#36	F	34	50	EP
#37	?	61	48	EP
#38	M	128	79	P

A determinação visual do sexo dos animais (Figura 17) foi confirmada pela análise histológica das gônadas.



Figura 17. Espécimes machos de (A) *O. insularis* e (B) *O. americanus* em aquários do laboratório. As setas indicam o dimorfismo nas ventosas do terceiro braço direito, uma característica sexual distintiva associada à maturação dos machos. (Foto por: Eliane Pesente)

Nos machos, o órgão reprodutivo primário é o testículo, localizado na parte posterior da cavidade do manto. Os dutos deferentes e as glândulas associadas também foram analisados. Já, nas fêmeas, os órgãos reprodutivos incluem o ovário, os ovidutos e as glândulas ovidutárias, localizadas na cavidade do manto. A principal diferença entre machos e fêmeas de *Octopus* em análises histológicas é a presença

de espermatócitos e estruturas associadas à produção de espermatozoides nos machos, em contraste com a presença de oócitos e estruturas relacionadas à reprodução ovípara nas fêmeas (Figura 18).

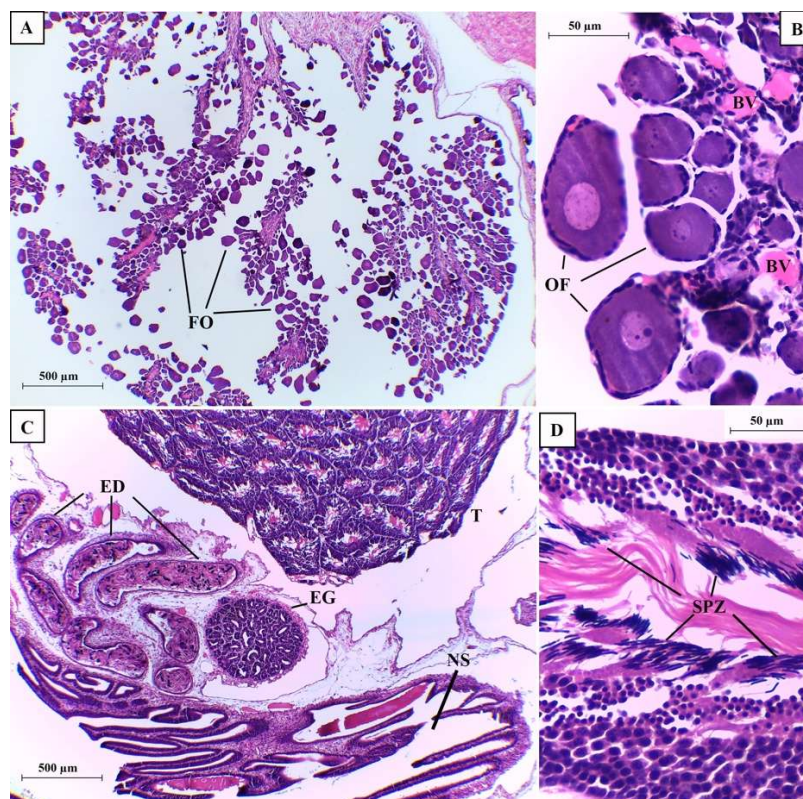


Figura 18. Exemplo das imagens histológicas que confirmaram o sexo dos animais. (A) Ovário de uma fêmea madura apresentando abundantes folículos ovarianos (FO); (B) Folículos aumentados; (C) Trato reprodutivo masculino mostrando testículo (T), ducto espermático (ED) repleto de espermatozoides (SPZ), glândula espermatóforica (EG) e glândula de Needman (EG); (D) Detalhe de um espermatócito com todas as fases da espermatogênese, destacando no lúmen os espermatozoides (SPZ). Fonte: Elaborado pela autora.

8.2 Observações gerais sobre o comportamento dos animais em cativeiro

O comportamento adaptativo dos animais foi observado classificando-se as ações em categorias que indicavam condições favoráveis de ambiente (Diretiva 2021/63 EU apud Fiorito et al.), tais como análise de textura, padrões de cores, movimento, curiosidade, tentativa de fuga, alimentação ou repouso. Esperava-se detectar ações (comportamentos) que indicassem condições de bem-estar dos animais em cativeiro. Para tanto, os comportamentos foram registrados durante três observações diárias (manhã, meio do dia e à noite) (FIORITO et al., 2014; PONTE et al., 2019).

Os animais foram expostos a quatro diferentes condições de substrato no aquário: brita, areia, pedra branca de dolomita e ausência de substrato. Não foram identificadas diferenças comportamentais evidentes associadas ao tipo de substrato. No entanto, visando facilitar a limpeza dos aquários, proporcionar maior conforto aos animais e garantir um melhor controle da alimentação, optou-se pelo uso de pedra dolomita ou aragonita (concha moída), uma vez que essas substâncias ajudam a manter o pH ideal de tamponamento da água.

Os polvos receberam diversas opções de tocas para livre escolha, incluindo tubos de PVC (50 mm) de cores variadas, conchas naturais (*Lobatus gigas*) e lajes de pedra organizadas no fundo do tanque. Como é característico desses animais, que não possuem uma carapaça protetora, a maior parte do tempo foi passada em refúgios. Contudo, mesmo dentro das mesmas espécies, a preferência por determinado tipo de toca variou individualmente. Alguns indivíduos ignoraram todas as opções disponíveis e preferiram se enterrar no substrato de areia, enrolando-se em seus próprios braços para se camuflar. Polvos menores mostraram predileção por conchas, enquanto outros optaram por aderir às paredes do aquário por longos períodos, aparentando conforto nessa posição. Houve também aqueles que preferiram utilizar os tubos de PVC como abrigo.

Ao longo do estudo, *O. insularis* e *O. americanus* exibiram características físicas condizentes com as documentadas para outras espécies de polvos. As células cromatóforas presentes em sua pele permitem rápidas mudanças na textura e coloração do manto, conferindo vantagens adaptativas como camuflagem e estratégias de defesa contra predadores. Observou-se que, em situações de predação iminente ou estresse, tanto *O. insularis* quanto *O. americanus* adotavam um padrão de coloração mais escuro e apresentava um aumento na expressão de espículas (papilas) na pele. Por outro lado, quando os polvos estavam calmos e bem adaptados ao ambiente do aquário, raramente alteravam sua postura, textura ou coloração na presença de estímulos já conhecidos.

A partir da posição e movimentação dos braços, foi possível identificar comportamentos específicos desses animais. Muitos desses comportamentos já foram descritos por Mather e outros pesquisadores ao longo de diversos estudos sobre polvos (MATHER, 1998, 2008; WELLS, 2013b). Os movimentos de um único braço podem envolver flexão, alongamento, estabilização, desvio, reflexo, preensão ou empurrão em relação a objetos e ao espaço ao redor. Os braços dos polvos, por

meio das ventosas dotadas de quimiorreceptores, captam informações sobre textura, odor, sabor e temperatura dos itens manipulados. Foi notado que alimentos descongelados que não estavam aclimatados à temperatura do ambiente eram frequentemente rejeitados.

Além disso, os polvos apresentaram movimentos e posturas que envolviam múltiplos braços, como as posições retroflexa, extravagante, de oposição, espalhada, de teia, de saco de sena e de rasteira. No ambiente do aquário, a postura retroflexa foi frequentemente observada, caracterizando-se pelo dobramento dorsal dos braços sobre a cabeça e, às vezes, sobre o corpo, formando uma estrutura achatada e bidimensional. Nessa posição, os polvos armazenavam objetos, alimentos ou partes do substrato. Esse comportamento também era comumente exibido durante o repouso, podendo durar várias horas. No entanto, a postura retroflexa também foi associada a situações defensivas, principalmente quando os animais se sentiam ameaçados, como observado no momento da captura. A diferenciação entre um comportamento de defesa e um estado de repouso pode ser feita pela coloração do manto, que escurece em momentos de ataque ou defesa.

Outra postura associada ao comportamento de predação foi identificada por meio da posição do saco sena. Durante a caça, os polvos estendiam e arremessavam os braços, especialmente o primeiro par, dobrando o terço distal lateralmente até que as pontas se encontrassem. Nesse momento, os braços eram estabilizados em contato com o substrato, enquanto a teia era rapidamente expandida para cobrir a área entre os braços. Essa postura podia ser mantida por até 30 segundos e era utilizada especialmente no momento do ataque à presa. Outro movimento registrado foi a chamada “manobra de limpeza”, na qual os polvos rolavam seus braços soltos ao redor de si mesmos, esfregando suas superfícies entre si em um movimento cíclico semelhante ao formato do número oito. Esse comportamento era seguido pelo bombeamento de jatos de água através dos funis, como se os polvos estivessem removendo impurezas ou células da pele solta (MATHER, 1998).

8.3 *O. americanus* adapta-se mais rapidamente à alimentação em cativeiro que *O. insularis*.

Os animais foram treinados a se alimentar em cativeiro utilizando pequenos siris vivos, amarrados a um fio de algodão, começando no dia seguinte à chegada ao

laboratório (dia 1). O tempo até o ataque à presa (latência) foi medido nos dias 1, 2, 3 e 4. A alimentação foi permitida nos dias 2 e 4.

Inicialmente, avaliamos se o sexo dos animais, em cada espécie, poderia alterar o comportamento alimentar. Os dados de *O. insularis* não apresentaram interação (Dia x Sexo: $F(3,27)=0,38$, $p=0,7$) nem efeito principal do sexo ($F(1,9)=0,2$, $p=0,66$) sobre a latência para atacar a presa. No entanto, houve um efeito principal do tempo ($F(1,482,13,34)=8,1$, $p=0,007$), indicando que os animais se adaptaram à alimentação em cativeiro (Figura 19 A e B).

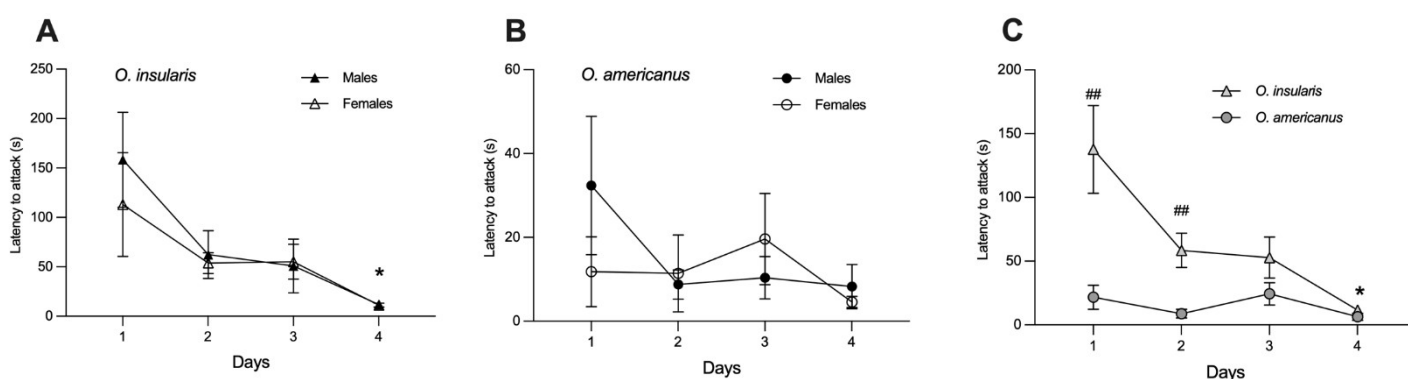


Figura 19 - Aclimação no laboratório. Latência para atacar (em segundos) a presa ao longo de quatro dias consecutivos. (A) *O. insularis*, (B) *O. americanus* e (C) comparação entre as espécies. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Foi utilizada uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas, seguida do teste post hoc de Bonferroni para comparações múltiplas. Asterisco (*) indica diferença significativa em relação ao dia 1 ($P < 0,05$). Cerquilhas duplas (##) indicam diferenças significativas entre as espécies ($P < 0,01$). Número de indivíduos: *O. insularis* ($N = 11$), *O. americanus* ($N = 15$). Latency to attack (s) = Latência para atacar (em segundos) a presa em 4 dias consecutivos. * ($P < 0,05$) em comparação com o dia 1. ## ($P < 0,01$) indicam diferenças entre as espécies.

Como não houve efeito do sexo em ambas as espécies, realizamos a comparação agrupando os dois sexos. Encontramos uma interação entre os fatores ($F(3,72)=8,0$, $p=0,001$), um efeito principal para o tempo ($F(1,754,42,1)=12,27$, $p=0,0001$) e um efeito principal para espécie ($F(1,24)=16,94$, $p=0,0004$) (Figura 19C). As espécies diferiram nos dias 1 e 2, com *O. americanus* apresentando latência muito baixa para se alimentar, indicando melhor adaptabilidade. De fato, não houve diferença entre os dias dentro da espécie *O. americanus*. Apesar das latências maiores para alimentação, *O. insularis* também se adaptou ao cativeiro, demonstrado pela diferença entre as latências dos dias 1 e 2 em relação ao dia 4.

Machos de ambas as espécies apresentam maior latência inicial em comparação com as fêmeas, mas ambos os grupos mostram uma redução ao longo dos dias, indicando um possível efeito de aprendizagem ou adaptação.

Fêmeas de *O. americanus* demonstram o comportamento mais consistente, com latências baixas e pouca variabilidade desde o início.

A redução das latências ao longo dos dias sugere um processo de habituação em machos e fêmeas, mas com diferenças evidentes entre as espécies.

8.4 A neofobia alimentar é mais evidente em *O. insularis* que em *O. americanus*.

Após a aclimação, foi realizado o teste de neofobia. Se os animais estiverem adaptados à condição de cativeiro, espera-se que se alimentem mesmo na presença de novos objetos.

Ambos os grupos apresentaram tempos semelhantes para alimentação no primeiro dia do teste. No segundo dia, entretanto, *O. americanus* mostrou uma redução na latência para alimentação, sugerindo menor neofobia alimentar em comparação com *O. insularis*.

Inicialmente, analisamos as espécies separadamente e não encontramos efeito do sexo no comportamento de neofobia alimentar (*O. insularis*: interação: $F(1,11)=0,38$; $p=0,5$; Dia $F(1,11)=3,5$, $p=0,08$; Sexo $F(1,11)=0,06$, $p=0,79$, Figura 20A; *O. americanus*: interação: $F(1,8)=1,14$; $p=0,3$; Dia $F(1,8)=0,01$, $p=0,9$; Sexo $F(1,8)=0,1$, $p=0,7$ (Figura 20B).

Conforme apresentado na Figura 20C, ambas as espécies levaram tempo semelhante para se alimentar na presença de um objeto novo no primeiro dia do teste (Interação: $F(1,23)=2$, $p=0,16$; Dia: $F(1,23)=1,62$, $p=0,21$; Espécie: $F(1,23)=1,26$, $p=0,23$). No entanto, no segundo dia, a latência para alimentação diminuiu em *O. americanus*, que também parece se alimentar mais rapidamente que *O. insularis*, embora não tenha sido detectada diferença estatística significativa.

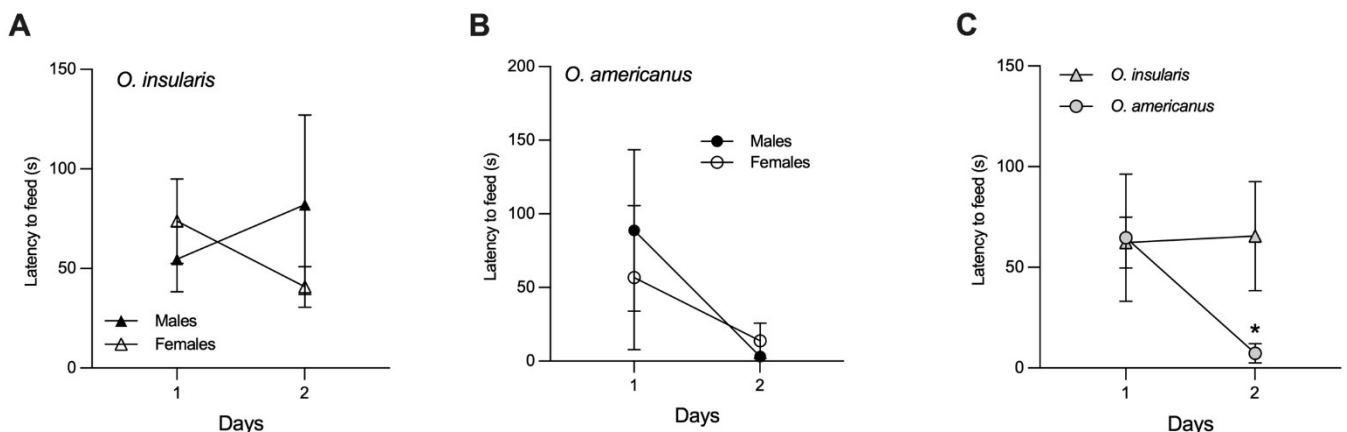


Figura 20 - Comportamento de neofobia alimentar. Latência para se alimentar (em segundos) na presença de um objeto novo em dois dias consecutivos. (A) *O. insularis*, (B) *O. americanus* e (C) comparação entre as espécies. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Foi utilizada uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas, considerando os fatores dia e sexo (para análises intraespecíficas) e espécie (para análises interespecíficas), seguida do teste post hoc de Bonferroni para comparações múltiplas. Asterisco (*) indica diferença significativa em relação ao dia 1 ($P < 0,05$). Número de indivíduos: *O. insularis* (N = 10), *O. americanus* (N = 15).

Os resultados revelam padrões distintos de resposta à neofobia alimentar entre as duas espécies estudadas. Em *O. insularis* (Gráfico A), não foi observada uma redução consistente da latência para se alimentar entre os dias de teste, e a variação entre os sexos parece elevada, especialmente entre os machos. Essa oscilação e a ausência de uma tendência clara sugerem que essa espécie, de modo geral, pode apresentar maior resistência à habituação ao ambiente experimental ou ao objeto novo. Por outro lado, em *O. americanus* (Gráfico B), ambos os sexos apresentaram uma redução expressiva na latência para se alimentar do primeiro para o segundo dia, com valores próximos de zero no segundo teste. Esses dados indicam que *O. americanus* se aclimata mais rapidamente ao contexto experimental, superando mais facilmente a inibição causada pela novidade.

A comparação direta entre as espécies (Gráfico C) evidencia que, embora os valores iniciais de latência tenham sido semelhantes no primeiro dia, apenas *O. americanus* apresentou uma diminuição significativa no segundo dia ($p < 0,05$), enquanto *O. insularis* manteve os níveis elevados. Essa diferença reforça a hipótese de que *O. americanus* possui maior flexibilidade comportamental diante de estímulos novos e se adapta mais prontamente ao ambiente artificial. Do ponto de vista funcional, essa diferença pode estar relacionada a estratégias ecológicas distintas — como maior generalismo de habitat ou histórico evolutivo com maior exposição à variabilidade ambiental — conforme discutido na literatura (GREENBERG, 1990; AVENDAÑO et al., 2022). Além disso, a mudança no desempenho entre os dias pode refletir não apenas a redução da neofobia, mas também processos de memória de curto prazo, uma vez que a resposta comportamental foi modulada por experiências anteriores com o mesmo estímulo.

8.5 Fêmeas de *O. insularis* apresentam um nível mais elevado de comportamento de neofobia a objetos.

Utilizamos uma versão modificada do teste descrito por Vergara-Ovalle (2023) para avaliar a neofobia a objetos, analisando quão interativos os animais eram com novos objetos. Os animais foram expostos a duas sessões de 30 minutos com objetos: a primeira sessão com dois objetos idênticos (A+A) e a segunda sessão com um objeto familiar e um objeto novo (A+B). Apenas quantificamos o tempo gasto tocando um dos objetos. Não havia alimento disponível durante o teste.

Para *O. insularis*, não encontramos interação significativa ($F(1,8)=1,8$, $p=0,21$) ou efeito principal para a sessão ($F(1,8)=1,9$, $p=0,19$) no tempo de interação com objetos. Contudo, houve um efeito principal significativo do sexo ($F(1,8)=5,3$, $p=0,04$), indicando que as fêmeas interagiram menos que os machos com objetos na sessão A+B (Figura 21A).

Em relação a *O. americanus*, não houve interação significativa ($F(1,13)=0,57$, $p=0,21$) nem efeito principal do sexo ($F(1,13)=0,74$, $p=0,4$). No entanto, observamos um efeito principal significativo para a sessão ($F(1,13)=20,9$, $p=0,0005$), indicando que ambos os sexos interagiram mais com os objetos na segunda sessão (Figura 21B).

Como detectamos uma influência do sexo no comportamento de interação com objetos em *O. insularis*, (fêmeas interagiram menos) comparamos as espécies separadamente por sexo. Para os machos, não encontramos interação significativa ($F(1,14)=0,06$, $p=0,8$) nem efeito principal para espécie ($F(1,14)=0,09$, $p=0,76$), sugerindo que os machos das duas espécies têm níveis semelhantes de neofobia a objetos. Contudo, identificamos um efeito principal significativo para a sessão ($F(1,14)=11,7$, $p=0,004$), indicando que machos de *O. americanus* interagiram mais com objetos na segunda sessão (Figura 21C).

Quanto às fêmeas, detectamos significância estatística na interação entre fatores ($F(1,7)=0,73$, $p=0,02$), no efeito principal para sessão ($F(1,7)=9,15$, $p=0,01$) e para espécie ($F(1,7)=9,98$, $p=0,01$). Enquanto fêmeas de *O. americanus* aumentaram a interação com objetos na segunda sessão, as fêmeas de *O. insularis* mantiveram uma baixa interação com objetos, significativamente menor que as fêmeas de *O. americanus* (Figura 21D). Esses resultados indicam que as fêmeas de *O. insularis* apresentam maior nível de neofobia a objetos.

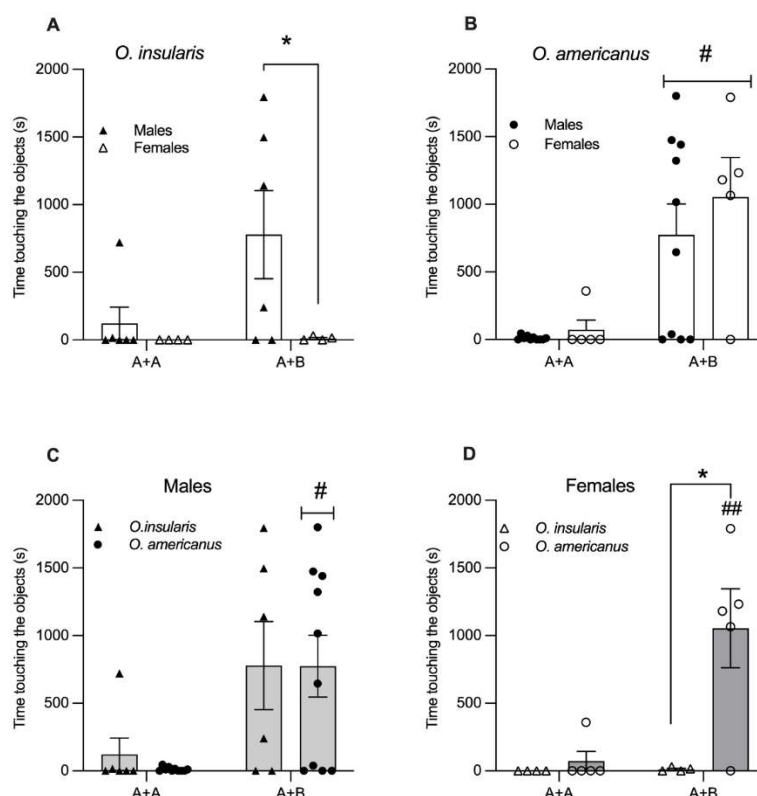


Figura 21 - Comportamento de neofobia a objetos. Tempo tocando os objetos (em segundos) durante duas sessões: (A+A) sessão 1, com dois objetos idênticos (familiarização); (A+B) sessão 2, com um objeto familiar e um objeto novo (teste de reconhecimento de objeto). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Foi utilizada uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas, considerando os fatores sessão e sexo (para análises intraespecíficas), bem como espécie (para comparações interespecíficas), seguida do teste post hoc de Bonferroni para comparações múltiplas. Asterisco (*) indica diferença significativa entre as sessões ($P < 0,05$). Cerquilha (#) indica diferença significativa entre as espécies ($P < 0,05$) e (##) para $P < 0,01$. Número de indivíduos: *O. insularis* ($N = 10$), *O. americanus* ($N = 15$).

8.6. Neofobia social em *Octopus americanus* e *Octopus insularis*

Idealmente, o teste de sociabilidade para estimar a neofobia social é feito de maneira que possam ser feitas combinações de interações entre animais de mesmo sexo e de sexo oposto. Como no nosso estudo não tivemos um tamanho amostral para todas essas combinações, os resultados apresentados para o teste de neofobia social não foram estratificados pelo sexo no animal estímulo.

Inicialmente, fizemos uma análise qualitativa para verificar a quantidade de animais que sai do compartimento central. Embora a maioria sai (sim), a análise qualitativa pelo teste de Fisher não demonstrou diferença intra - ou interespecíficas ($p > 0,99$) (Figura 22A). A seguir, considerando apenas os animais que saíram do compartimento central, comparamos a latência entre as espécies, que mostrou não diferir ($p = 0,6$) (Figura 22B). Estratificando as amostras pelo sexo dos animais

experimentais, também não foi possível detectar diferença estatística (Figura 22C): Machos, $p=0.5$) e (Figura 22D: Fêmeas, $p=0.8$). Por fim, fizemos comparação entre os sexos dos animais experimentais, dentro de cada espécie. Novamente, não observamos diferença estatística (Figura 22E: *O. insularis*, $p=0.3$) e (Figura 22F: *O. americanus*, $p=0.9$).

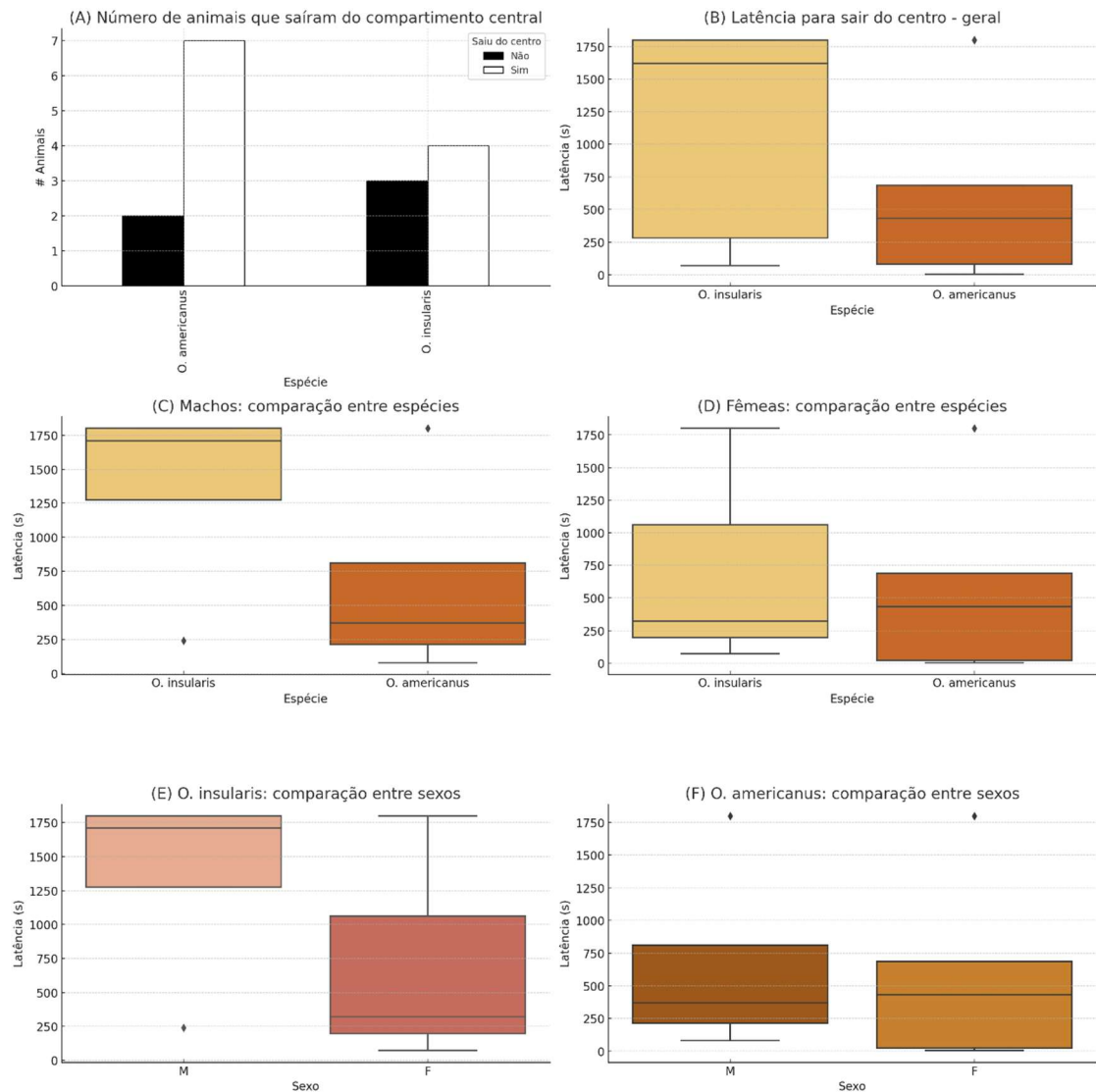


Figura 22 – Latência para sair do compartimento central durante o teste de exploração em *Octopus insularis* e *O. americanus*. (A) Número de animais que deixaram o compartimento central (“Sim”) ou permaneceram nele durante todo o teste (“Não”), por espécie. A comparação foi realizada com o teste exato de Fisher. (B) Comparação entre as espécies no tempo de latência (em segundos) para deixar o compartimento centra. (C) Comparação entre as espécies considerando apenas os machos. (D) Comparação entre as espécies considerando apenas as fêmeas. (E) Comparação entre machos e fêmeas de *O. insularis*. (F) Comparação entre machos e fêmeas de *O. americanus*. Os dados são apresentados como mediana e intervalo interquartil (IQR). Cada ponto representa um indivíduo. As comparações entre grupos independentes foram realizadas com o teste de Mann-Whitney. Número de indivíduos: *O. insularis* (N = 7), *O. americanus* (N = 9).

A seguir, considerando apenas os animais que saíram do compartimento central, repetimos a análise qualitativa, para verificar a quantidade de animais que entraram no compartimento contendo o animal estímulo (compartimento social).

Embora quase o dobro de animais da espécie *O. americanus* não tenha visitado o compartimento social, a análise qualitativa pelo teste de Fisher não demonstrou diferença intra- ou interespécies ($p=0.43$) (Figura 23A). Considerando apenas os animais que visitaram o compartimento social, não houve diferença entre as espécies ($p=0.5$) (Figura 23B). Devido ao tamanho amostral insuficiente, não foi possível a comparação interespécies em machos, apenas em fêmeas, cuja análise não demonstrou diferença ($p=0.5$) (Figura 23C). Também não foi possível uma análise intra-espécie.

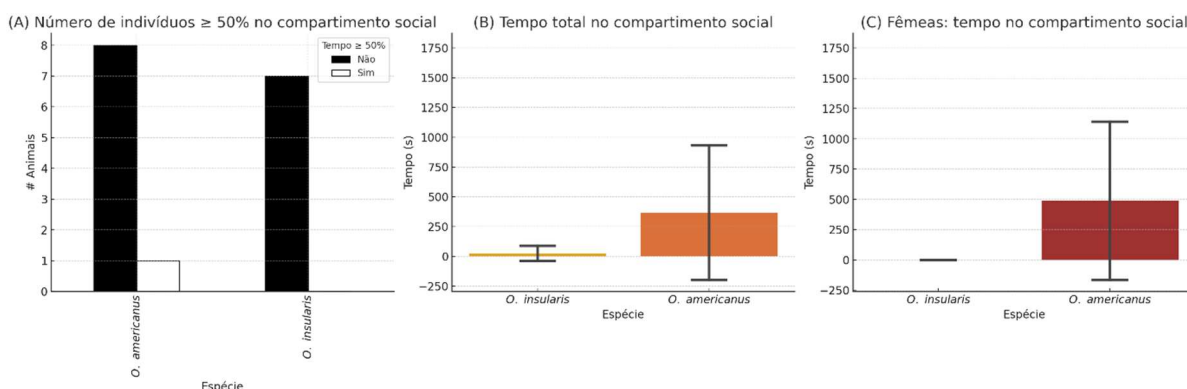


Figura 23 – Tempo de permanência no compartimento social por *Octopus insularis* e *O. americanus*. (A) Número de indivíduos de cada espécie que permaneceram no compartimento social por 50% ou mais do tempo total do teste (“Sim”) ou menos que isso (“Não”). As proporções foram comparadas entre espécies por meio do teste exato de Fisher. (B) Comparação entre as espécies no tempo total (em segundos) passado no compartimento social. (C) Comparação restrita às fêmeas das duas espécies no tempo total de permanência no compartimento social. Cada ponto representa um indivíduo, e as barras indicam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM). As comparações entre grupos independentes foram realizadas com o teste de Mann-Whitney. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Número de indivíduos: *O. insularis* (N = 7), *O. americanus* (N = 9).

Por fim, plotamos todos os animais de cada espécie comparando o tempo em cada compartimento, para novamente detectar a ausência de diferença (Figura 24A): *O. insularis*: $F(15,30)=0.01$; $p>0.99$ e Figura 24B: *O. americanus*: $F(8,16)=0.03$; $p>0.99$. Em conjunto, nossos resultados de neofobia social não permitiram detectar diferenças entre as espécies. Entretanto, apesar da ausência de significância estatística foi evidente a aversão da maioria dos animais ao compartimento social, reforçando a característica social seletiva dos polvos, observada em seu habitat natural.

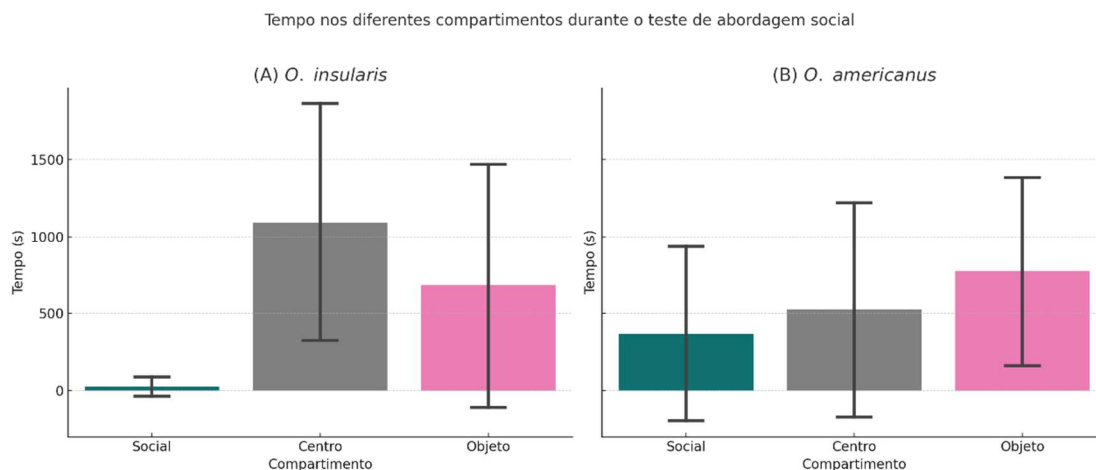


Figura 24 – Tempo de permanência nos diferentes compartimentos durante o teste de abordagem social em *Octopus insularis* e *O. americanus*. (A) Tempo total (em segundos) que os indivíduos de *O. insularis* permaneceram no compartimento social (com um congênere contido em recipiente perfurado; à esquerda), no compartimento central (neutro) e no compartimento com objeto (item inanimado do tipo enriquecimento ambiental; à direita). (B) Tempo total de permanência nos compartimentos para indivíduos de *O. americanus*, sob o mesmo arranjo experimental. Cada ponto representa um indivíduo, e as barras indicam média $\pm$ erro padrão da média (EPM). As comparações entre os compartimentos foram realizadas com o teste de Friedman (método não paramétrico para medidas repetidas): *O. insularis*: N = 7, $p = 0,054$ *O. americanus*: N = 9, $p = 0,439$

Os resultados dos testes de abordagem social revelaram uma tendência geral de evitação do compartimento social por parte dos indivíduos de ambas as espécies, com *O. insularis* demonstrando comportamento mais reservado.

Apesar da baixa frequência de interações sociais prolongadas, foi registrada uma exceção: durante um dos testes, um macho de *O. americanus* demonstrou comportamento de corte ao encontrar-se com uma fêmea da mesma espécie. O indivíduo realizou aproximação lenta, com os braços estendidos em direção à fêmea, seguido por contato com o hectocótilo na região ventral do manto, através dos orifícios existentes no pote que separava os animais. O comportamento foi acompanhado por mudanças na coloração da pele e postura corporal característica da espécie, como expansão dos braços dorsais e leve arqueamento do manto. A interação foi pacífica e culminou em cópula, sendo o único caso observado durante a bateria de testes. Esse episódio sugere que, embora os polvos tenham tendência geral à evitação social, há situações específicas em que interações reprodutivas podem ocorrer espontaneamente, mesmo em ambiente experimental.

8.7 Tecido cerebral de polvo reage a anticorpos desenvolvidos para mamíferos.

Realizamos um teste piloto com o objetivo de verificar se o lobo vertical do cérebro central de polvos apresentaria reatividade aos anticorpos marcadores de neurônios (NeuN) e de atividade neural (c-Fos). A Figura 25 mostra coloração positiva c-Fos (vermelho), sugerindo que esses anticorpos podem ser aplicáveis a tecidos de *Octopus insularis*.

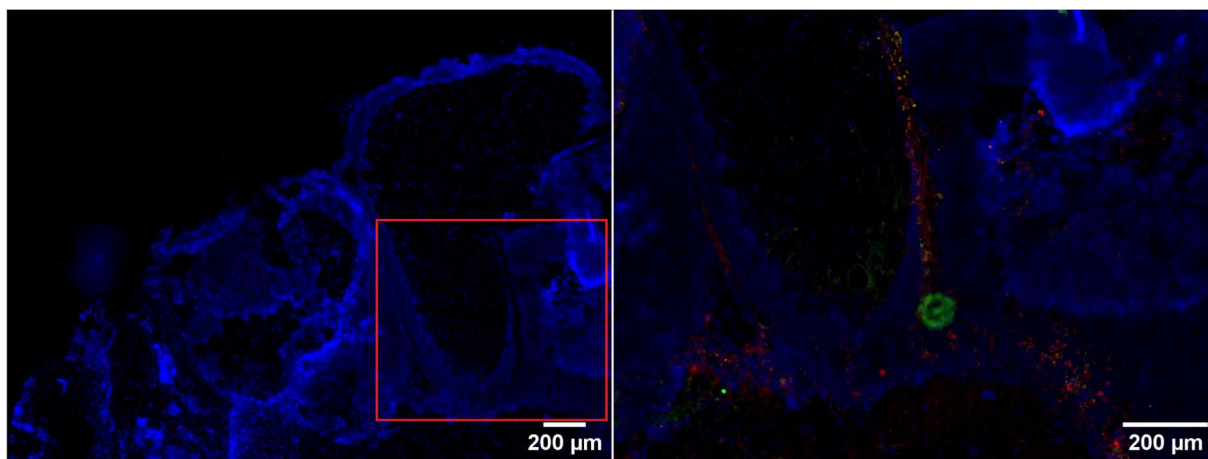


Figura 25 - Corte histológico sagital do lobo vertical de *Octopus insularis*. À esquerda, imagem obtida com aumento de 5x utilizando coloração com DAPI (azul), evidenciando núcleos celulares. A área demarcada em vermelho representa a região ampliada na imagem à direita (10x), onde são visíveis maior densidade nuclear e marcações fluorescentes (vermelho) indicativas de c- Fos. A barra de escala representa 200 µm em ambas as imagens.

A colocalização dos sinais (amarelo) ao longo do trato neural, observada na Figura 26, sugere a presença de neurônios maduros (NeuN+) que estariam ativados (c-Fos+). Esse padrão pode indicar envolvimento funcional recente do lobo vertical no processamento de estímulos, embora novos experimentos sejam necessários para confirmar essa interpretação.

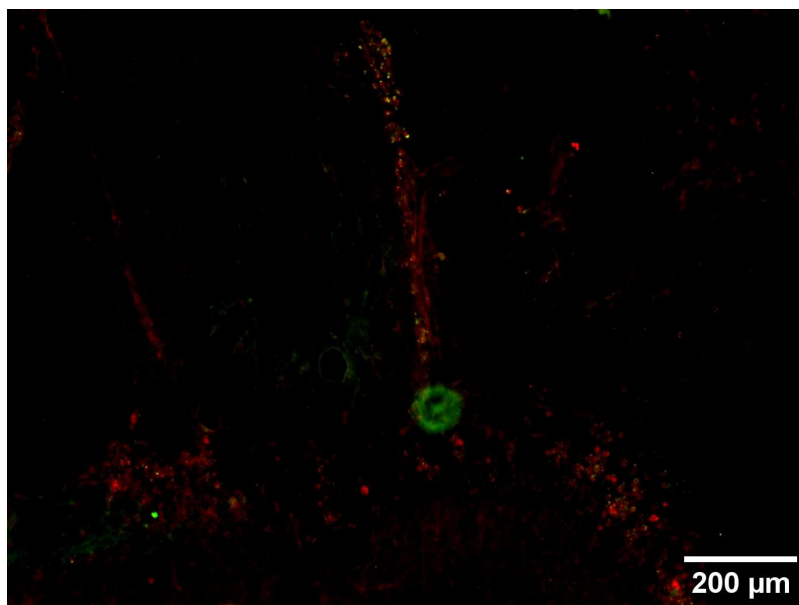


Figura 26 – Ampliação da mesma área com aumento de 10x, sem marcação nuclear (DAPI). Destaque para o feixe neural com marcação fluorescente para c-Fos (vermelho). Escala: 200 μ m.

A Figura 27 oferece maior resolução, permitindo observar possíveis padrões de ativação em neurônios individuais. A disposição da marcação pode sugerir uma organização funcional, como faixas ou colunas de células ativas, mas essa hipótese precisa ser testada com séries amostrais maiores e controle de estímulos.

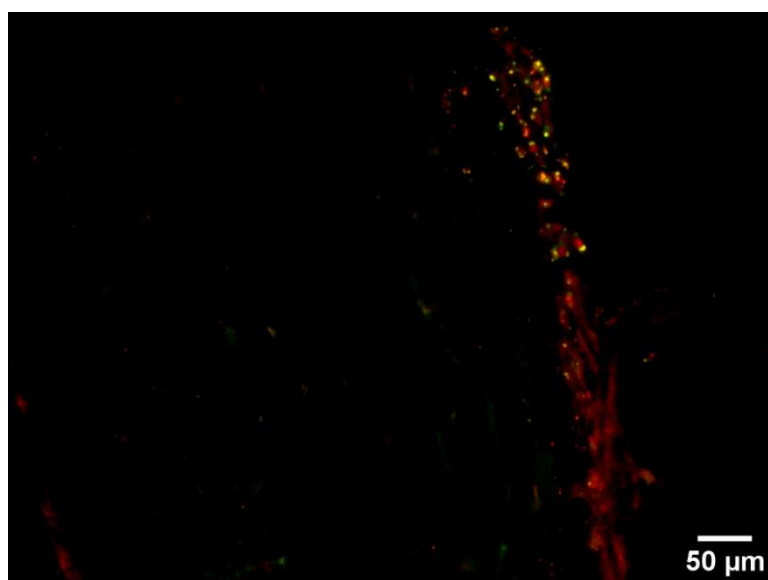


Figura 27 - Ampliação da mesma região do lobo vertical com aumento de 20x. Observa-se maior resolução dos corpos celulares marcados com NeuN (verde) e expressão nuclear de c-Fos (vermelho), com colocalização evidenciada em amarelo. Escala: 50 μ m.

A Figura 28 reforça a possibilidade de que a ativação de c-Fos esteja ocorrendo

em neurônios NeuN+, e não em células gliais ou não neuronais. A intensidade e o padrão da marcação apontam para uma potencial resposta coordenada em pequena escala, possivelmente associada à exposição recente a estímulos comportamentais. No entanto, dado o caráter exploratório do teste e o número limitado de amostras, esses achados devem ser interpretados com cautela.

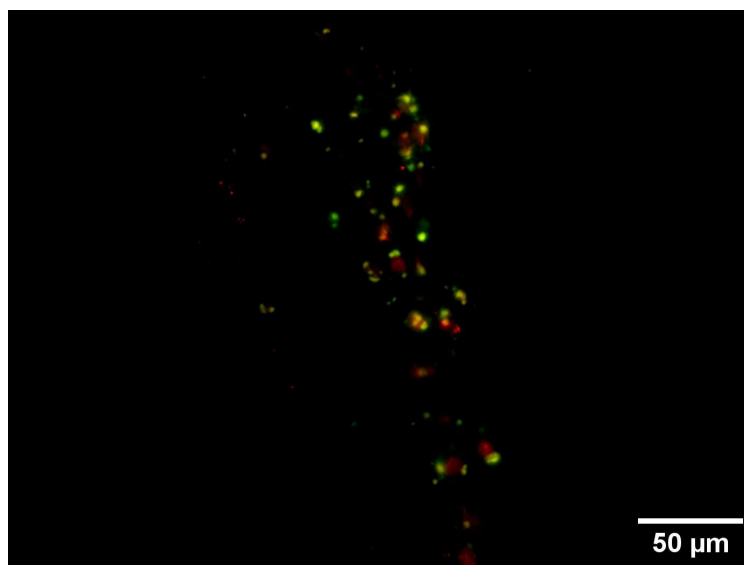


Figura 28. Detalhamento com aumento de 40x da área marcada, revelando intensa colocalização de c-Fos e NeuN em neurônios ativados no trato neural do lobo vertical. As marcações amarelas indicam células NeuN+ que expressam c-Fos, evidenciando atividade neuronal localizada. Escala: 50 µm.

As imagens obtidas neste teste preliminar indicam a viabilidade do uso conjunto de marcadores NeuN e c-Fos em *O. insularis*, com indícios de colocalização no lobo vertical — região associada à memória e integração sensorial em polvos. Embora os dados sejam promissores, é necessário ampliar a amostragem e aplicar controles experimentais rigorosos para confirmar a especificidade das marcações e estabelecer sua relação com tarefas comportamentais específicas.

8.8. Resultados inesperados

Um fato não planejado durante a pesquisa foi o acasalamento e a reprodução ocorrida em cativeiro. Durante o teste de sociabilidade, um dos animais chamou a atenção pelo tempo que permaneceu no mesmo compartimento onde se encontrava o animal estímulo. Após alguns dias, notou-se também que o mesmo animal

apresentou um comportamento não habitual de alimentação, alimentando-se em demasia e atacando presas de tamanho desproporcional ao seu. Posteriormente, esse animal parou de sair da concha usada como toca, o que levantou suspeitas de um possível acasalamento, que foi confirmado pela revisão da gravação do experimento quando o macho, preso no pote de plástico, inseriu um dos braços pelos furos a fim de fecundar a fêmea.

Um dos sinais de que o animal atingiu a idade adulta é o fato de se reproduzir. O Octopus fêmea tem uma estrutura chamada espermateca (WELLS, 1972, 2013a), onde armazena e preserva os espermatozoides do macho até que esteja pronto para fertilizar seus óvulos. Outros dois Octopus, sem contato com machos, em cativeiro, puseram ovos (Figuras 26 A e B) e passaram a cuidar parentalmente de seus cordões, aerando-os por uma média de 30 dias, sendo assim consideradas fêmeas adultas.

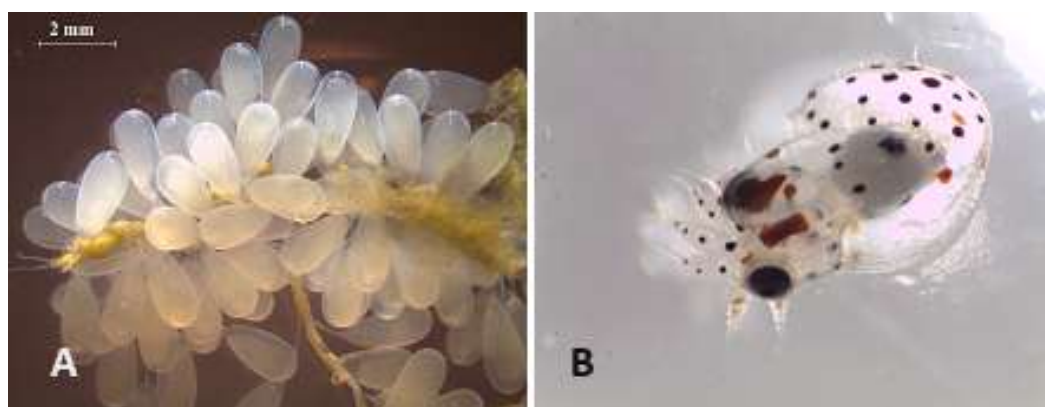


Figura 29 – Reprodução em cativeiro durante o estudo. A - Cordão de ovos de *O. insularis* B - Paralarva de *O. insularis*. Fonte: a autora, 2023.

Este comportamento não programado durante o período em que os animais estiveram no laboratório pode levar a crer que os animais da pesquisa estavam bem adaptados às condições de cativeiro fornecidas.

9. DISCUSSÃO

Este estudo comparativo entre *Octopus insularis* e *Octopus americanus* revelou diferenças comportamentais significativas em testes de aclimação, neofobia alimentar, neofobia a objetos e interação social, realizados em condições laboratoriais controladas. Os resultados ampliam o conhecimento sobre a ecologia comportamental de cefalópodes do Atlântico Sul e reforçam a importância de considerar variáveis como espécie e sexo nas interpretações de comportamento.

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a comparar sistematicamente o comportamento de *O. insularis* e *O. americanus* em cativeiro. Embora essas espécies sejam visualmente semelhantes e co-ocorram em ambientes costeiros, elas apresentam respostas distintas em diferentes paradigmas experimentais. Há, inclusive, interesse crescente na diferenciação dessas espécies em relação a *O. vulgaris* (AVENDAÑO et al., 2020a; LEITE et al., 2008).

A latência para alimentar-se em ambiente controlado tem sido amplamente utilizada como indicador de aclimação em polvos recém-transferidos para o cativeiro, pois reflete diretamente o nível de conforto comportamental do animal diante de um novo contexto físico e social. Neste estudo, adotamos esse parâmetro como indicador de conforto ambiental via latência alimentar, conforme proposto por Borrelli, Chiandetti e Fiorito (2020), que padronizaram esse tipo de medida como um dos primeiros sinais comportamentais de adaptação ao ambiente laboratorial. A retomada da alimentação espontânea pressupõe que o animal não apenas reconheceu a presa como familiar e aceitável, mas também que superou a inibição inicial associada à neofobia e ao estresse pós-captura. Assim, a redução progressiva da latência alimentar nos primeiros dias de cativeiro é interpretada como um sinal confiável de que o polvo começa a perceber o ambiente artificial como seguro o suficiente para expressar comportamentos naturais, o que é essencial para garantir a validade de observações posteriores em estudos comportamentais e neurobiológicos.

Neste sentido, em relação à aclimação à alimentação em cativeiro, *O. americanus* demonstrou uma adaptação mais rápida do que *O. insularis*. As latências para o ataque à presa foram significativamente menores para *O. americanus* desde o primeiro dia, com pouca variabilidade entre os dias subsequentes. Em contraste, *O. insularis* apresentou latências iniciais mais altas e redução progressiva ao longo dos dias, sugerindo um processo de habituação mais lento. Um estudo anterior com *O.*

insularis (MEDEIROS et al., 2021) relata uma aclimação de cerca de 10 dias, embora sem dados quantitativos. As latências observadas para *O. americanus* são semelhantes às descritas para *O. vulgaris* (BORRELLI; CHIANDETTI; FIORITO, 2020), e indicam que esses animais atingem rapidamente sua capacidade máxima de capturar presas em cativeiro. Não foram observados efeitos significativos do sexo nos testes de aclimação, o que está em consonância com parte da literatura sobre comportamento alimentar em polvos.

O *Octopus americanus* apresenta características comportamentais e adaptativas que sugerem um perfil ecológico mais generalista e exploratório em comparação ao *O. insularis*, com importantes implicações evolutivas e ecológicas. Sua maior propensão à exploração de novos ambientes, menor latência frente a estímulos desconhecidos (como observado nos testes de neofobia) e rápida aclimação à alimentação em cativeiro indicam uma maior plasticidade comportamental. Do ponto de vista ecológico, essas características podem favorecer o *O. americanus* em ambientes costeiros com maior variabilidade ambiental ou pressão antrópica, como áreas sujeitas a mudanças rápidas de temperatura, salinidade ou disponibilidade de abrigo e alimento. Evolutivamente, essa flexibilidade pode representar uma vantagem adaptativa, permitindo sua expansão para nichos diversos e aumentando sua resiliência frente a distúrbios ambientais. Além disso, a capacidade de responder mais prontamente a estímulos novos pode estar associada a estratégias reprodutivas mais oportunistas ou a um espectro trófico mais amplo, favorecendo o sucesso ecológico da espécie em áreas de coocorrência com congêneres mais especializados ou mais cautelosos, como o *O. insularis*.

A neofobia tem um papel adaptativo importante, uma vez que o medo de estímulos novos pode ser benéfico em ambientes de alto risco, onde tais estímulos frequentemente indicam perigo (COREY, 1978; CRANE; FERRARI, 2017). A hipótese do limiar sugere que a neofobia tem uma base predominantemente genética e está ligada à plasticidade ecológica das espécies (GREENBERG, 1990). Em outras palavras, espécies generalistas tendem a apresentar níveis mais baixos de neofobia do que espécies especialistas em habitats (GREENBERG, 1990, 2003). Em nosso estudo, ambas as espécies apresentaram latências semelhantes para alimentação na presença de objetos novos no primeiro dia. Entretanto, no segundo dia, apenas *O. americanus* reduziu a latência para alimentação. Considerando a hipótese do limiar da neofobia, especulamos que *O. americanus* possa ser mais generalista de habitat

do que *O. insularis* (AVENDAÑO et al., 2022; O'BRIEN; BENNICE; LEITE, 2021).

Além disso, as respostas comportamentais observadas nos testes de neofobia alimentar, neofobia a objetos e neofobia social sugerem uma possível atuação de mecanismos de memória de curto prazo, especialmente na modulação das respostas diante de estímulos repetidos. No teste de neofobia alimentar, *O. americanus* apresentou redução na latência para capturar a presa no segundo dia, mesmo na presença do objeto estranho, enquanto *O. insularis* manteve latências elevadas, o que pode indicar uma maior persistência da inibição frente à novidade. No teste com objetos, observou-se um aumento geral na interação no segundo dia em ambas as espécies, com exceção das fêmeas de *O. insularis*, que mantiveram baixo nível de exploração. No teste de neofobia social, embora não tenham sido detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os dias, alguns indivíduos demonstraram leve aumento de permanência no compartimento social no segundo teste, especialmente entre os machos de *O. americanus*. Esses resultados, ainda que não conclusivos, são compatíveis com a ideia de que os polvos possam reconhecer estímulos previamente apresentados e ajustar seu comportamento de acordo, o que indicaria algum nível de retenção de informação e aprendizado. Estudos anteriores com *O. vulgaris* e *O. maya* demonstraram ativação do lobo vertical — região associada à memória — após tarefas de exposição a objetos, por meio da expressão de c-Fos (SHOMRAT et al., 2008; VERGARA-OVALLE et al., 2023). Assim, os dados obtidos neste estudo levantam a hipótese de que a memória possa influenciar a redução gradual da neofobia em polvos, destacando a relevância de investigações futuras que combinem testes comportamentais repetidos com análise neurobiológica para elucidar os mecanismos cognitivos subjacentes em cefalópodes.

Não identificamos diferenças relacionadas ao sexo na aclimação e na neofobia alimentar. No entanto, nosso estudo é pioneiro em considerar o sexo dos animais como uma variável nesses comportamentos. Grande parte das pesquisas existentes sobre comportamento de polvos não separa explicitamente os sujeitos por sexo, focando principalmente em padrões gerais de comportamento, aprendizado e resolução de problemas (AMODIO; FIORITO, 2013; BORRELLI; CHIANDETTI; FIORITO, 2020; HOCHNER; SHOMRAT; FIORITO, 2006). Papadopoulos e colaboradores (PAPADOPOULO et al., 2024) recentemente utilizaram técnicas acústicas para avaliar a ecologia espacial de *O. vulgaris* em uma área marinha protegida, observando que as fêmeas tinham atividade espacial significativamente

menor que os machos, indicando áreas de vida mais restritas. Resultados semelhantes foram observados em polvos listrados maiores do Pacífico (CALDWELL et al., 2015), onde as fêmeas ocuparam consistentemente o mesmo abrigo durante todo o período em cativeiro.

Não há estudos anteriores sobre neofobia a objetos com *O. insularis* ou *O. americanus* em cativeiro. Nosso estudo mostrou que ambas as espécies interagem menos com objetos diferentes no primeiro contato. Contudo, ambas aumentaram sua interação no segundo encontro, apesar da introdução de um objeto novo. Surpreendentemente, as fêmeas de *O. insularis* praticamente não interagiram com objetos novos. Um estudo anterior quantificou sistematicamente a interação com objetos em dois dias consecutivos em *O. maya*, verificando que esses animais eram capazes de reconhecer um objeto novo, embora os autores tenham focado em diferenças relacionadas à idade, sem destaque para diferenças entre os sexos (VERGARA-OVALLE et al., 2023). Outro estudo com *O. vulgaris* relatou que nove de quatorze sujeitos apresentaram comportamento semelhante a brincadeiras com objetos durante sete dias consecutivos, porém sem influência do sexo (KUBA et al., 2006). Nossos resultados ressaltam a importância de considerar o sexo como variável em estudos laboratoriais com polvos.

Quando novos objetos não são associados a alimentos ou competidores, os animais podem percebê-los como potenciais predadores (CRANE; FERRARI, 2017). A menor interação observada em fêmeas de *O. insularis* pode ser interpretada como aversão a objetos novos, refletindo possivelmente um maior medo. Alternativamente, esse comportamento pode estar alinhado à hipótese do nicho perigoso (GREENBERG, 1983), indicando que a neofobia das fêmeas pode ser um traço adaptativo benéfico, protegendo-as de perigos. Um estudo em ambiente natural mostrou que *O. insularis* passa pouco tempo fora da toca (O'BRIEN; MEDEIROS; LEITE, 2023), corroborando pesquisas anteriores que caracterizam essa espécie como "forrageador de tempo mínimo" (LEITE et al., 2009; MATHER; O'DOR, 1991), que reduz riscos de predação permanecendo pouco tempo exposta. Dado que pesquisas sobre diferenças baseadas em sexo nas respostas de medo em polvos são limitadas, estudos adicionais são necessários para determinar se machos e fêmeas de *O. insularis* realmente diferem em suas respostas de medo.

Nos testes de comportamento social, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as espécies ou entre sexos, seja na latência para

sair do compartimento central, no tempo de permanência no compartimento social ou na comparação entre compartimentos. Apesar da ausência de diferenças estatísticas, observou-se que a maioria dos animais evitou o compartimento social, comportamento coerente com a natureza predominantemente seletiva socialmente dos polvos, os quais tendem a interações sociais estratégicas e contextualmente moduladas (MATHER; ANDERSON, 1993; HANLON; MESSENGER, 2018). Essa tendência foi mais marcada em *O. insularis*, cuja interação com o compartimento social foi menor em comparação ao compartimento com objeto.

As análises comparativas entre *Octopus insularis* e *Octopus americanus* revelaram padrões distintos de exploração e interação social em ambiente experimental. Observou-se que *O. insularis* apresenta um comportamento mais cauteloso, permanecendo por mais tempo no compartimento central antes de explorar novos estímulos, enquanto *O. americanus* se mostrou mais propenso à movimentação entre os compartimentos. Ambos os grupos demonstraram interesse por objetos inanimados, sugerindo que a interação com esses elementos pode estar associada à aversão ao contato social. Entretanto, *O. americanus* exibiu uma interação moderada com estímulos sociais, ao passo que *O. insularis* demonstrou menor interesse nesse tipo de estímulo, indicando um possível perfil comportamental mais reservado.

Uma análise adicional dos dados revelou diferenças intersexuais no comportamento social das espécies, com padrões distintos entre machos e fêmeas. Os machos passaram mais tempo interagindo com estímulos femininos, enquanto as fêmeas demonstraram maior interesse por estímulos masculinos, o que pode estar relacionado a padrões naturais de acasalamento e estratégias reprodutivas. Além disso, observou-se que interações entre indivíduos do mesmo sexo geraram respostas distintas: fêmeas demonstraram menor interesse pelo estímulo social, enquanto machos exibiram comportamentos agonísticos, incluindo mudanças na textura da pele e posturas de confrontação. Essas diferenças refletem dinâmicas sociais intrínsecas e sugerem que fatores contextuais, como disponibilidade de recursos e condições ambientais, podem modular o comportamento social dessas espécies.

Os testes de imunomarcacão com anticorpos anti-NeuN e anti-c-Fos mostraram que o tecido cerebral de *O. insularis* reage positivamente a anticorpos desenvolvidos para mamíferos. A marcação de c-Fos no lobo vertical sugere atividade neuronal localizada em resposta aos estímulos ocasionados pelos testes desse estudo,

oferecendo uma base promissora para estudos futuros sobre a ativação cerebral em cefalópodes.

Embora os anticorpos utilizados neste estudo tenham sido originalmente desenvolvidos para marcação em vertebrados — especificamente anti-NeuN (Millipore MAB377) e anti-c-Fos (Santa Cruz sc-52) —, sua aplicação em tecidos de *Octopus insularis* apresentou resultados promissores. Apesar das diferenças filogenéticas substanciais entre vertebrados e cefalópodes, observou-se marcação compatível com a localização esperada de estruturas neurais, sugerindo reconhecimento de epítomos potencialmente conservados no lobo vertical. Esses achados indicam que tais ferramentas podem ser adaptadas, com cautela, para o estudo da atividade neuronal em invertebrados. Assim, os resultados obtidos contribuem para ampliar as possibilidades metodológicas na neurociência comparada, destacando o potencial dos polvos como modelos experimentais viáveis para investigações sobre cognição e plasticidade neural.

Diferentemente de estudos anteriores focados em observações no ambiente natural (O'BRIEN et al., 2021, 2023) e em *O. americanus* (AVENDAÑO et al., 2020a, 2022; CÔRTEZ, 2022; HAIMOVICI et al., 2024; O'BRIEN; BENNICE; LEITE, 2021; URIARTE et al., 2011), nosso estudo estabeleceu condições básicas de manutenção dessas espécies em cativeiro, testando comportamentos fundamentais com distinção por sexo. Oferecemos novos elementos sobre padrões comportamentais específicos das espécies, enfatizando fatores como neofobia, comportamento exploratório e social. Em conjunto, os resultados obtidos demonstram diferenças interespecies e intersexos relevantes no comportamento de *O. insularis* e *O. americanus* em cativeiro. As evidências apontam para um perfil mais exploratório e adaptativo em *O. americanus*, enquanto *O. insularis* demonstra maior cautela, especialmente entre as fêmeas. Esses achados têm implicações relevantes para o bem-estar animal, a formulação de protocolos experimentais e a compreensão da ecologia comportamental dessas espécies. Estudos futuros devem investigar os mecanismos neurobiológicos subjacentes a essas diferenças, incluindo a expressão diferencial de marcadores neuronais, como c-Fos, e sua relação com processos cognitivos em cefalópodes.

Além disso, as características comportamentais observadas em fêmeas, especialmente de *O. insularis*, revelam particularidades que merecem investigação aprofundada em estudos futuros. A baixa interação com objetos novos, a menor

propensão ao contato social e a permanência prolongada no compartimento central sugerem um perfil comportamental mais cauteloso e possivelmente mais vulnerável à neofobia. Tais respostas podem refletir estratégias adaptativas associadas à redução de risco, conforme propõe a hipótese do nicho perigoso, mas também podem indicar diferenças cognitivas ou emocionais sexuais ainda pouco exploradas em cefalópodes. Adicionalmente, análises específicas do padrão de ativação neural, como a intensidade e distribuição da marcação por c-Fos em fêmeas submetidas a diferentes testes comportamentais, poderiam esclarecer se há diferenças sexuais nos circuitos neurais associados à tomada de decisão, exploração e respostas emocionais. A aplicação de análises multivariadas e modelagens comportamentais pode contribuir para identificar padrões específicos nas fêmeas que, até o momento, têm sido amplamente negligenciados nos estudos com polvos. Considerar o sexo como variável central pode abrir novas perspectivas para compreender as bases neurais da diversidade comportamental em cefalópodes, ampliando a aplicabilidade desses modelos em neurociência comparada.

10 - DESAFIOS E LIMITAÇÕES

Durante a realização desse estudo, encontramos diversas situações desafiadoras que precisam ser abordados para garantir a ampliação de estudos que utilizarem os *O. insularis* e *O. americanus* como modelo de pesquisa.

Abaixo, identificaremos alguns aspectos que foram observados e enfrentados no cotidiano da pesquisa.

10.1 Dificuldades em se montar e manter um laboratório de pesquisa marinha.

Primeiramente, a infraestrutura necessária para replicar as condições marinhas, como sistemas de aquários com controle rigoroso de temperatura, salinidade e qualidade da água, requer investimentos significativos em equipamentos especializados e manutenção contínua. Além disso, a obtenção e manutenção de espécimes marinhos, como os *Octopus americanus* e o *Octopus insularis*, demanda conhecimentos específicos sobre suas necessidades ecológicas e comportamentais, bem como protocolos rigorosos de manejo para garantir seu bem-estar. A logística de coleta e transporte de organismos marinhos também são complexas e dispendiosas, frequentemente exigindo permissões e coordenação com autoridades ambientais.

A formação e retenção de uma equipe qualificada, capaz de lidar com a biologia dos *Octopus* e as técnicas laboratoriais, é outro obstáculo, exacerbado pela necessidade de treinamento constante para acompanhar as atividades diárias. Além disso, a pesquisa com polvos enfrenta desafios regulatórios e éticos, incluindo o cumprimento de normas de bem-estar animal e a minimização do impacto ambiental das operações de pesquisa. Por fim, a disponibilidade de financiamento contínuo para sustentar um laboratório e a compra de materiais é uma limitação crítica, dada a competição acirrada por recursos em instituições de pesquisa demandando, muitas vezes, de recursos do próprio pesquisador.

10.2 Polvos têm comportamentos que vão além dos descritos na literatura

Assim como outros animais, os *Octopus* exibem variabilidade individual em suas respostas comportamentais e fisiológicas (GRASSO FW., 2014; MATHER;

ANDERSON, 1993). Isso pode dificultar a generalização dos resultados obtidos em estudos com um número limitado de indivíduos. Portanto, são necessários protocolos experimentais cuidadosamente projetados que levem em consideração essa variabilidade e permitam a análise estatística adequada dos dados.

Durante todo o período da pesquisa, a observação atenta dos animais em laboratório foi fundamental para identificar as particularidades dessas espécies nacionais, contribuindo significativamente para uma melhor compreensão dos resultados obtidos. A camuflagem e o mimetismo, a manipulação de ferramentas para fugas e a adaptação em situações de cativeiro são exemplos de comportamentos que exigem uma compreensão aprofundada de sua ecologia e biologia. Além disso, a variabilidade individual na expressão dessas habilidades pode tornar ainda mais desafiadora a execução de pesquisas com esses animais. Assim, o conhecimento detalhado das espécies estudadas, adquirido por meio da observação constante, desempenhou um papel essencial na definição e execução dos experimentos.

10.3 Ausência de um protocolo próprio de manutenção

A instalação e a manutenção de *O. americanus* e *O. insularis* em ambiente laboratorial representou um grande desafio, uma vez que os protocolos disponíveis na literatura se referiam predominantemente a outras espécies de polvos (BOLETZKY; HANLON, 1983; FIORITO et al., 2014; JENNIFER A. MATHER; ROLAND C. ANDERSON; JAMES B. WOOD, 2013; KUBA et al., 2006; MANGOLD, 1983; TEIXEIRA, 2018).

Diante dessa lacuna, foi necessária a adaptação de procedimentos por meio de um processo experimental baseado em tentativa e erro, o que resultou em perdas significativas no período inicial do projeto. A captura, o transporte, a dieta e as condições de manutenção dessas espécies exigiram ajustes contínuos para assegurar tanto seu bem-estar quanto a reprodutibilidade e validade dos resultados experimentais. No entanto, a superação desses desafios permitiu o desenvolvimento de um protocolo específico para *O. americanus* e *O. insularis*, o qual pode servir de referência para estudos futuros que utilizem essas espécies como modelos de pesquisa.

A obtenção de um número amostral suficiente para todas as combinações possíveis no teste social representou um desafio técnico significativo nesta pesquisa,

especialmente considerando as exigências de controle experimental envolvendo diferentes espécies, sexos dos animais-teste e dos objetos sociais. A manutenção prolongada de octópodes em cativeiro, somada à variabilidade comportamental individual e às limitações logísticas para coleta e aclimatação, dificultou a formação de grupos plenamente balanceados. Apesar dessas limitações, foi possível reunir um conjunto expressivo de dados, que permitiu avanços relevantes na compreensão dos comportamentos sociais de *Octopus insularis* e *O. americanus* em ambiente controlado, oferecendo subsídios importantes para futuras investigações comparativas e aplicações no campo da neurociência comportamental.

11. PERSPECTIVAS FUTURAS PARA O ESTUDO DE *OCTOPUS AMERICANUS* E *OCTOPUS INSULARIS*

As possíveis direções para futuras pesquisas com espécies de *Octopus* são vastas e abrangem diversas áreas da ciência. Novas abordagens e tecnologias podem ampliar o uso de espécies de *Octopus* como modelos em neurociências, permitindo uma investigação mais detalhada e precisa de sua neurobiologia e comportamento. Abaixo são apresentadas algumas abordagens e tecnologias promissoras:

A incorporação de técnicas avançadas pode ampliar significativamente o entendimento sobre o sistema nervoso de *Octopus americanus* e *Octopus insularis*, permitindo abordagens mais precisas e inovadoras. A optogenética surge como uma ferramenta interessante para modular a atividade neuronal em tempo real, possibilitando o controle de circuitos neurais específicos e a investigação de comportamentos complexos (SHOMRAT et al., 2008). Complementarmente, a imagem por ressonância magnética (MRI) representa uma alternativa não invasiva para visualizar a estrutura e a funcionalidade do sistema nervoso central, facilitando a compreensão da organização neural e da conectividade no cérebro desses moluscos (JACOBS, 2022; JIANG et al., 2014).

Por fim, a modelagem computacional desponta como uma abordagem promissora para integrar dados experimentais e simular funções neurais e comportamentais dos polvos. O estudo de Tinglan Ye (YE et al., 2022) exemplifica essa potencialidade ao demonstrar como manipuladores flexíveis inspirados em polvos podem ser controlados por sistemas de atuadores baseados em ligas com memória de forma.

Nessa perspectiva, nosso estudo contribuiu para avanços ao estabelecer condições experimentais controladas para a manutenção de *Octopus americanus* e *Octopus insularis* em cativeiro, permitindo a análise detalhada de seus padrões comportamentais. Identificamos diferenças na neofobia e no comportamento exploratório, contribuindo para a compreensão de suas capacidades cognitivas e sociais. Esses achados também auxiliam no aprimoramento de protocolos de bem-estar animal e metodologias experimentais para pesquisas com essas espécies.

Ademais, nossos resultados podem contribuir para investigar como essas descobertas podem ser aplicadas a contextos mais amplos, incluindo a ecologia

cognitiva, a evolução dos sistemas nervosos e a bioinspiração para o desenvolvimento de tecnologias baseadas na neurofisiologia de cefalópodes.

12. CONCLUSÃO

No Brasil, a utilização de *Octopus* como modelo animal em pesquisas neurocientíficas ainda é uma prática incipiente, apesar do crescente corpo de evidências, em estudos internacionais, que destacam a eficácia e as vantagens desses cefalópodes. Enquanto pesquisadores ao redor do mundo exploram com sucesso as complexas capacidades cognitivas, a plasticidade neural e os comportamentos adaptativos dos *Octopus*, integrando-os em paradigmas experimentais inovadores e promissores, a comunidade científica brasileira permanece relutante em adotar amplamente esse modelo. Este contraste revela uma oportunidade significativa para avançarmos no campo da neurociência nacional, alinhando-nos com as metodologias e descobertas de ponta que já estão moldando a compreensão global do funcionamento neural e comportamental através do estudo destes invertebrados.

Os resultados obtidos nesta pesquisa destacam o papel relevante de duas espécies do gênero *Octopus*, *O. insularis* e *O. americanus*, como potenciais modelos animais para estudos neurocientíficos no bioma brasileiro. Através de uma série de testes comportamentais e neurobiológicos, as diferenças significativas observadas entre as espécies, em termos de aclimação, neofobia alimentar, neofobia a novos objetos e comportamento social, fornecem fortes evidências sobre suas capacidades cognitivas e adaptativas. Os machos de *O. insularis* apresentaram maior latência inicial na aclimação comparados aos machos de *O. americanus*, mas ambos os grupos demonstraram um processo de aprendizagem consistente ao longo dos dias. Em termos de neofobia, o *O. insularis* exibiu maior aversão a novos estímulos, enquanto *O. americanus* se adaptou mais rapidamente. As capacidades cognitivas complexas de ambas as espécies foram evidenciadas nos testes de neofobia a novos objetos, com *O. insularis* mostrando maior curiosidade visual e o *O. americanus* maior exploração tátil. Adicionalmente, o *O. americanus* apresentou um comportamento social mais pronunciado do que *O. insularis*. Estas observações não apenas reforçam a adequação dessas espécies como modelos experimentais, mas também destacam a oportunidade de ampliar a utilização de polvos em pesquisas neurocientíficas no Brasil, alinhando-nos com as práticas já estabelecidas internacionalmente.

A importância desta pesquisa se estende além dos resultados imediatos, fornecendo uma oportunidade sólida para a formação de novos grupos de pesquisa

focados em *Octopus*. Ao demonstrar a viabilidade de *O. insularis* e *O. americanus* como modelos experimentais, esta investigação abre caminho para o desenvolvimento de projetos colaborativos com outros países que podem expandir significativamente o campo de estudo da neurociência no Brasil. Além disso, os dados obtidos fornecem, também, informações importantes que podem ser usadas para a implantação e manutenção de programas de pesquisa, bem como para a formação de profissionais qualificados no manejo e cuidados de *Octopus* em cativeiro.

Para a realização desse estudo foi necessária uma maior compreensão detalhada dos *habitats* naturais dessas espécies, suas preferências alimentares, padrões reprodutivos, necessidades de bem-estar, fases de desenvolvimento e comportamentos adaptativos. Este conhecimento foi essencial para a criação de um ambiente de cativeiro que mimetizasse as condições naturais, promovendo o bem-estar e a saúde dos animais.

Além de suas aplicações diretas em pesquisa e manejo, os dados gerados por este estudo têm implicações importantes para a conservação e sustentabilidade. A compreensão aprofundada das necessidades ecológicas e comportamentais dos *Octopus* pode fornecer subsídios para a elaboração e cumprimento de políticas e regulamentos que protejam seus *habitats* naturais e assegurem a sustentabilidade das populações selvagens, promovendo práticas de pesca sustentável e regulando a captura e manutenção de *Octopus* para fins científicos e comerciais.

Ao conduzir testes com espécies nativas, os pesquisadores terão a oportunidade de verificar se os padrões de comportamento, fisiologia e resposta a estímulos observados em estudos anteriores com outras espécies de *Octopus* se aplicam igualmente às espécies encontradas na costa brasileira. Isso é essencial para garantir a validade e a generalização dos achados, evitando extrapolá-los indiscriminadamente para contextos em que as condições ambientais e as características biológicas podem diferir.

Além disso, ao confirmar as espécies locais como modelos importantes para a ciência nacional, abre-se espaço para uma maior valorização e investimento em pesquisas que utilizem esses organismos como objeto de estudo. Isso pode resultar em um aumento do interesse e da colaboração científica em torno dessas espécies, estimulando a formação de redes de pesquisa multidisciplinares e o desenvolvimento de infraestrutura e recursos específicos para estudos marinhos no Brasil.

Contudo, diversos desafios e limitações foram identificados ao longo desta

pesquisa, destacando a complexidade do comportamento dos *Octopus*, a necessidade de ferramentas e técnicas experimentais mais avançadas, preocupações éticas relacionadas ao cuidado em cativeiro e questões sobre genética e bem-estar animal. Tais desafios devem ser abordados de forma cuidadosa e sistemática em futuros estudos.

À medida que avançamos para o futuro, vislumbramos oportunidades para expandir nosso conhecimento sobre o sistema nervoso dos *Octopus*. Novas tecnologias, como optogenética e ressonância magnética, prometem oferecer oportunidades de avanços científicos para aplicações em saúde, enquanto abordagens computacionais e genômicas têm o potencial de revelar padrões e processos.

Em última análise, esta tese representa apenas o começo de uma jornada contínua de descoberta e exploração do mundo dos *Octopus*. À medida que avançamos nos estudos do seu sistema nervoso e comportamento, esperamos não apenas enriquecer nossa compreensão da vida marinha, mas também inspirar novas abordagens e aplicações em áreas tão diversas como biologia, neurociência e biomimética.

Em conclusão, a complexidade e a plasticidade do sistema nervoso desses animais, juntamente com sua ampla gama de comportamentos cognitivos, não só validam os *O. insularis* e *O. americanus* como modelos animais promissores para estudos neurocientíficos como reforçam a importância de incluir o Brasil no crescente cenário internacional de pesquisa com *Octopus*.

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTIN, C. B. et al. The octopus genome and the evolution of cephalopod neural and morphological novelties. *Nature*, v. 524, n. 7564, p. 220–224, 12 ago. 2015.
- AMADO, E. M. et al. Different abilities to regulate tissue hydration upon osmotic challenge *in vitro*, in the cephalopods *Octopus vulgaris* and *O. insularis*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, v. 48, n. 3, p. 205–211, 4 maio 2015.
- AMBROSE, R. F. Food preferences, prey availability, and the diet of *Octopus bimaculatus* Verrill. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, p. 29–44, 1984.
- AMODIO, P.; FIORITO, G. Observational and Other Types of Learning in Octopus. Em: [s.l.: s.n.]. p. 293–302. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415823-8.00023-X>.
- AVENDAÑO, O. et al. *Octopus americanus*: a cryptic species of the *O. vulgaris* species complex redescribed from the Caribbean. *Aquatic Ecology*, v. 54, n. 4, p. 909–925, 26 dez. 2020a. <https://doi.org/10.1007/s10452-020-09778-6>.
- AVENDAÑO, O. et al. Relative abundance distribution and body size changes of two co-occurring octopus species, *Octopus americanus* and *Octopus maya*, in a tropical upwelling area (south-eastern Gulf of Mexico). *Fisheries Oceanography*, v. 31, n. 4, p. 402–415, 13 jul. 2022. <https://doi.org/10.1111/fog.12584>.
- BASTOS, P. et al. Digestive enzymes and timing of digestion in *Octopus vulgaris* type II. *Aquaculture Reports*, v. 16, p. 100262, mar. 2020.
- BATISTA, A. T.; LEITE, T. S. *Octopus insularis* (Cephalopoda: Octopodidae) on the tropical coast of Brazil: where it lives and what it eats. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 64, n. 4, p. 353–364, dez. 2016.
- BENNICE, C. et al. Fine-scale habitat partitioning facilitates sympatry between two octopus species in a shallow Florida lagoon. *Marine Ecology Progress Series*, v. 609, p. 151–161, 17 jan. 2019.
- BOAL, J. G. Social recognition: a top down view of cephalopod behaviour. [s.l.] *Vie et Milieu/Life & Environment*, 2006.
- BOLETZKY, S. V. CEPHALOPOD EGGS AND EGG MASSES. Em: ANSELL, A.; BARNES, M.; GIBSON R N (Eds.). *Oceanography and Marine Biology*. 1 st ed. London: CRC Press, 1998. p. 30.
- BOLETZKY, S. V.; HANLON, R. T. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Memoirs of the National Museum of Victoria*, v. 44, p. 147–187, 1983.
- BORRELLI, L.; CHIANDETTI, C.; FIORITO, G. A standardized battery of tests to measure *Octopus vulgaris*' behavioural performance. *Invertebrate Neuroscience*, v. 20, n. 1, p. 4, 14 mar. 2020. <https://doi.org/10.1007/s10158-020-0237-7>
- BOUTH, H. F. et al. Atol das Rocas: an oasis for *Octopus insularis* juveniles (Cephalopoda: Octopodidae). *Zoologia (Curitiba)*, v. 28, n. 1, p. 45–52, fev. 2011. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702011000100007>.

BUDELMANN, B. U. Active marine predators: The sensory world of cephalopods. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, v. 27, n. 2–3, p. 59–75, jan. 1996.

CALDWELL, R. L. et al. Behavior and Body Patterns of the Larger Pacific Striped Octopus. *PLOS ONE*, v. 10, n. 8, p. e0134152, 12 ago. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134152>.

CARERE, C.; MATHER, J. A. *The Welfare of Invertebrate Animals*. Cham: Springer International Publishing, 2019. v. 18

CARLINI DB; GRAVES JE. Phylogenetic analysis of cytochrome c oxidase I sequences to determine higher-level relationships within the coleoid cephalopods. *Bulletin of Marine Science*, p. 57–76, 1999.

CASTELLANO, G. C. et al. Paralarvae of *Octopus vulgaris* Type II are stenohaline conformers: relationship to field distribution and dispersal. *Hydrobiologia*, v. 808, n. 1, p. 71–82, 18 fev. 2018.

CHANCELLOR, S. et al. Determining the effectiveness of using dermal swabs to evaluate the stress physiology of laboratory cephalopods: A preliminary investigation. *General and Comparative Endocrinology*, v. 314, p. 113903, dez. 2021.

CHANG, W.; HALE, M. E. Mechanosensory signal transmission in the arms and the nerve ring, an interarm connective, of *Octopus bimaculoides*. *iScience*, v. 26, n. 5, p. 106722, maio 2023.

COOKE, G. M.; TONKINS, B. M.; MATHER, J. A. Care and Enrichment for Captive Cephalopods. *Em: [s.l: s.n.]*. p. 179–208.

COREY, D. T. The determinants of exploration and neophobia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 2, n. 4, p. 235–253, 1 dez. 1978. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(78\)90033-7](https://doi.org/10.1016/0149-7634(78)90033-7).

CÔRTEZ, M. O. Distribuição e uso de habitat do polvo *Octopus americanus* Monfort, 1802 (Cephalopoda: Octopodidae): informações para manejo e conservação. Dissertação de Mestrado. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2022.

CRANE, A. L.; FERRARI, M. C. O. Patterns of predator neophobia: a meta-analytic review. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 284, n. 1861, p. 20170583, 30 ago. 2017. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0583>.

DI COSMO A.; POLESE G. Cephalopods meet Neuroecology: the role of chemoreception in *Octopus vulgaris* reproductive behaviour. *Em: DI COSMO A; WINLOW W (Eds.). . Neuroecology and neuroethology in Molluscs—the interface between behaviour and environment*. Hauppauge, NY: NOVA Science Publisher, 2014. p. 117–132.

DISSEGNA, A. et al. *Octopus vulgaris* Exhibits Interindividual Differences in Behavioural and Problem-Solving Performance. *Biology*, v. 12, n. 12, p. 1487, 4 dez. 2023. <https://doi.org/10.3390/biology12121487>.

D.V, M. et al. Behavioral sleep in *Octopus vulgaris*. *Vie et Milieu*, v. 61, n. 4, p. 185–190, 2011.

EDSINGER, E.; DÖLEN, G. A Conserved Role for Serotonergic Neurotransmission in Mediating Social Behavior in Octopus. *Current Biology*, v. 28, n. 19, p. 3136– 3142.e4, out. 2018.

FERREIRA, J. Octopus sleep phases are similar to mammals. *Lab Animal*, v. 52, n. 8, p. 175–

175, 31 ago. 2023.

FIORITO, G. et al. Cephalopods in neuroscience: regulations, research and the 3Rs. *Invertebrate Neuroscience*, v. 14, n. 1, p. 13–36, 3 mar. 2014.

FIORITO, G. et al. Guidelines for the Care and Welfare of Cephalopods in Research –A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group. *Laboratory Animals*, v. 49, n. 2_suppl, p. 1–90, 9 out. 2015. <https://doi.org/10.1177/0023677215580006>.

FIORITO, G.; VON PLANTA, C.; SCOTTO, P. Problem solving ability of *Octopus vulgaris* lamarck (Mollusca, Cephalopoda). *Behavioral and Neural Biology*, v. 53, n. 2, p. 217–230, mar. 1990. [https://doi.org/10.1016/0163-1047\(90\)90441-8](https://doi.org/10.1016/0163-1047(90)90441-8).

Fishery and Aquaculture Statistics – Yearbook 2021. [s.l.] FAO, 2024.

FLORES-VALLE, A. et al. First Record of *Octopus insularis* Leite and Haimovici, 2008 in the Octopus Fishery of a Marine Protected Area in the Gulf of Mexico. *Journal of Shellfish Research*, v. 37, n. 1, p. 221–227, abr. 2018.

FORSYTHE, J. W.; HANLON, R. T. Foraging and associated behavior by *Octopus cyanea* Gray, 1849 on a coral atoll, French Polynesia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 209, n. 1–2, p. 15–31, fev. 1997.

GARCÍA GARCÍA, B.; CEREZO VALVERDE, J. Optimal proportions of crabs and fish in diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) on-growing. *Aquaculture*, v. 253, n. 1–4, p. 502–511, mar. 2006.

GARCÍA GARCÍA, J.; RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, L. M.; GARCÍA GARCÍA, B. Cost analysis of octopus on-growing installation in Galicia [Spain]. *Spanish Journal of Agricultural Research*, v. 2, n. 4, p. 531, 1 dez. 2004.

GODFREY-SMITH, P. Cephalopods and the evolution of the mind. *Pacific Conservation Biology*, v. 19, n. 1, p. 4, 2013.

GONZÁLEZ-GÓMEZ, R. et al. An integrative taxonomic approach reveals *Octopus insularis* as the dominant species in the Veracruz Reef System (southwestern Gulf of Mexico). *PeerJ*, v. 6, p. e6015, 6 dez. 2018.

GRASSO FW. The octopus with two brains: how are distributed and central representations integrated in the octopus central nervous system? Em: DARMAILLACQ A-S; DICKEL L.; MATHER J. (Eds.). *Cephalopod Cognition*. [s.l.] Cambridge University Press, 2014. p. 94–122.

GREENBERG, R. The Role of Neophobia in Determining the Degree of Foraging Specialization in Some Migrant Warblers. *The American Naturalist*, v. 122, n. 4, p. 444–453, out. 1983. <https://doi.org/10.1086/284148>.

GREENBERG, R. Feeding neophobia and ecological plasticity: a test of the hypothesis with captive sparrows. *Animal Behaviour*, v. 39, n. 2, p. 375–379, fev. 1990. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80884-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80884-X).

GREENBERG, R. The Role of Neophobia and Neophilia in the Development of Innovative Behaviour of Birds. Em: *Animal Innovation*. [s.l.] Oxford University Press, 2003. p. 175–196. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.12.3778>.

GUERRA, Á. et al. Dwellers in dens on sandy bottoms: Ecological and behavioural traits of

- Octopus vulgaris; Scientia Marina, v. 78, n. 3, p. 405–414, 30 set. 2014.
- GUERRA A; CORTEZ T; ROCHA F. Redescricion del pulpo de los Changos, *Octopus mimus* Gould, 1852, del litoral chileno-peruano (Mollusca, Cephalopoda). *Iberus*, p. 37–57, 1999.
- GUTNICK, T. et al. *Octopus vulgaris* Uses Visual Information to Determine the Location of Its Arm. *Current Biology*, v. 21, n. 6, p. 460–462, mar. 2011.
- GUZIK, M. T.; NORMAN, M. D.; CROZIER, R. H. Molecular phylogeny of the benthic shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 37, n. 1, p. 235–248, out. 2005.
- HAIMOVICI, M. et al. *Octopus americanus* Monfort, 1802. Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade - SALVE., 2024. [s.l.: s.n.]. <https://salve.icmbio.gov.br/salve-consulta/>.
- HAIMOVICI, M.; ANDRIGUETTO-FILHO, J. Cefalópodes costeiros capturados na pesca de arrasto do litoral sul do Brasil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia (TECPAR)*, p. 473–495, 1986.
- HAIMOVICI, M.; PEREZ J.A.A.; SANTOS R.A. Class Cephalopoda. Em: *Seashells of Brazil*. Rio Grande: Editora da FURG, 1994. p. 311–320.
- HANLON, R. T. et al. Cephalopod dynamic camouflage: bridging the continuum between background matching and disruptive coloration. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 364, n. 1516, p. 429–437, 27 fev. 2009.
- HANLON, R. T.; MESSENGER, J. B. *Cephalopod Behaviour*. [s.l.] Cambridge University Press, 2018. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.787139>
- HARTWICK, B.; L. TULLOCH; S. MACDONALD. Feeding and growth of *Octopus dofleini* (Wulker). *Veliger*, p. 129–138, 1981.
- HOCHNER, B. An Embodied View of Octopus Neurobiology. *Current Biology*, v. 22, n. 20, p. R887–R892, out. 2012.
- HOCHNER, B. How Nervous Systems Evolve in Relation to Their Embodiment: What We Can Learn from Octopuses and Other Molluscs. *Brain, Behavior and Evolution*, v. 82, n. 1, p. 19–30, 2013.
- HOCHNER, B.; SHOMRAT, T.; FIORITO, G. The Octopus: A Model for a Comparative Analysis of the Evolution of Learning and Memory Mechanisms. *The Biological Bulletin*, v. 210, n. 3, p. 308–317, jun. 2006. <https://doi.org/10.2307/4134567>.
- JACOBS, R. E. Diffusion MRI Connections in the Octopus Brain. *Experimental Neurobiology*, v. 31, n. 1, p. 17–28, 28 fev. 2022.
- JENNIFER A. MATHER; ROLAND C. ANDERSON; JAMES B. WOOD. *Octopus: The Ocean's Intelligent Invertebrate*. [s.l.] Timber Press, 2013.
- JEREB, P.; ROPER, C. F. E. Octopods and Vampire Squids. Em: JEREB, P. et al. (Eds.). *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date*. Roma: FAO, 2014. v. 3p. 370.
- JIANG, X. et al. Octopus visual system: A functional MRI model for detecting neuronal electric currents without a blood-oxygen-level-dependent confound. *Magnetic Resonance in Medicine*,

v. 72, n. 5, p. 1311–1319, 2 nov. 2014.

KATSANEVAKIS, S.; VERRIOPOULOS, G. Den ecology of <i>Octopus vulgaris</i> Cuvier, 1797, on soft sediment: availability and types of shelter. *Scientia Marina*, v. 68, n. 1, p. 147–157, 30 mar. 2004.

KUBA, M. J. et al. When do octopuses play? Effects of repeated testing, object type, age, and food deprivation on object play in *Octopus vulgaris*. *Journal of Comparative Psychology*, v. 120, n. 3, p. 184–190, 2006. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.120.3.184>.

LEITE, T. et al. Morphological and genetic description of *Octopus insularis*, a new cryptic species in the *Octopus vulgaris* complex (Cephalopoda: Octopodidae) from the tropical South-Western Atlantic. *Journal of Molluscan Studies*, v. 74, p. 63–74, 2008. <https://doi.org/10.1093/mollus/eym050>.

LEITE, T. S. et al. Habitat, distribution, and abundance of the commercial octopus (*Octopus insularis*) in a tropical oceanic island, Brazil: Information for management of an artisanal fishery inside a marine protected area. *Fisheries Research*, v. 98, n. 1–3, p. 85–91, jun. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2009.04.001>.

LEITE, T. S.; HAIMOVICI, M. Presente Conhecimento da biodiversidade e habitat dos polvos (Cephalopoda: Família Octopodidae) de águas rasas das Ilhas Oceânicas do Nordeste Brasileiro. Em: R.J.V. ALVES; J.W.A. CASTRO (Eds.). *Ilhas Oceânicas Brasileiras – da pesquisa ao manejo*. Brasília, DF: Ed. Brasília, 2006. v. 1p. 199–214.

LEITE, T. S.; MATHER, J. A. A new approach to octopuses' body pattern analysis: A framework for taxonomy and behavioral studies*. *American Malacological Bulletin*, v. 24, n. 1, p. 31–41, mar. 2008.

LENZ, T. M. et al. First Description of the Eggs and Paralarvae of the Tropical Octopus, *Octopus insularis*, Under Culture Conditions. *American Malacological Bulletin*, v. 33, n. 1, p. 101–109, mar. 2015.

LIMA, F. et al. Global climate changes over time shape the environmental niche distribution of *Octopus insularis* in the Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, v. 652, p. 111–121, 15 out. 2020a. <https://doi.org/10.3354/meps13486>.

LIMA, F. D. et al. Population structure and reproductive dynamics of *Octopus insularis* (Cephalopoda: Octopodidae) in a coastal reef environment along northeastern Brazil. *Fisheries Research*, v. 152, p. 86–92, abr. 2014.

MACKIE, G. O. A Special Invertebrate: *The Anatomy of the Nervous System of Octopus vulgaris*. J. Z. Young. Oxford University Press, New York, 1972. xxxii, 690 pp., illus. \$35.25. *Science*, v. 177, n. 4055, p. 1183–1183, 29 set. 1972.

MALONEY, B. et al. Genetic confirmation of *Octopus insularis* (Leite and Haimovici, 2008) in South Florida, United States using physical features and de novo genome assembly. *Frontiers in Physiology*, v. 14, 20 jun. 2023.

MANGOLD, K. Food, feeding and growth in cephalopods. *Memoirs of the National Museum of Victoria*, v. 44, p. 81–93, 1983.

MANGOLD, K. The Octopodinae from the Eastern Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. Em: N.A. VOSS; M. VECCHIONE; R.B. TOLL (Eds.). *Systematics and biogeography of cephalopods*. Washington, DC: [s.n.]. v. 11p. 521–547.

MATHER, J. A. How do octopuses use their arms? *Journal of Comparative Psychology*, v. 112, n. 3, p. 306–316, 1998.

MATHER, J. A. Cephalopod consciousness: Behavioural evidence. *Consciousness and Cognition*, v. 17, n. 1, p. 37–48, mar. 2008.

MATHER, J. A. Ethics and Care: For Animals, Not Just Mammals. *Animals*, v. 9, n. 12, p. 1018, 22 nov. 2019.

MATHER, J. A.; ANDERSON, R. C. Personalities of octopuses (*Octopus rubescens*). *Journal of Comparative Psychology*, v. 107, n. 3, p. 336–340, set. 1993.

MATHER, J. A.; ..ANDERSON, R. C. Explorations of the cognitive world of the octopus. Em: *Brain and cognition*. [s.l: s.n.]. v. 3p. 308–315.

MATHER, J. A.; DICKEL, L. Cephalopod complex cognition. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, v. 16, p. 131–137, ago. 2017.

MATHER, J.; O'DOR, R. K. Foraging strategies and predation risk shape the natural history of juvenile *Octopus vulgaris*. *Bulletin of Marine Science*, 49, 256-269., p. 256–269, 1991. <https://www.semanticscholar.org/paper/Foraging-strategies-and-predation-risk-shape-the-of-Mather-O%27dor/6afd5480cd196fb90ad3ca51431fbe1278ffc68a>.

MAZZINI, F. S. Estrutura populacional e biologia de *Octopus vulgaris* em um complexo estuarino subtropical. Dissertação de Mestrado. Pontal do Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2013.

MEDEIROS, S. L. DE S. et al. Cyclic alternation of quiet and active sleep states in the octopus. *iScience*, v. 24, n. 4, p. 102223, abr. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102223>.

MESSENGER, J. B.; HANLON, R. T. Neural control of cephalopod behavior. University Press, 1997.

MOREIRA, A. A.; TOMÁS, A. R. G.; HILSDORF, A. W. S. Evidence for genetic differentiation of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) fishery populations from the southern coast of Brazil as revealed by microsatellites. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 407, n. 1, p. 34–40, out. 2011.

MUSIELLO-FERNANDES, J. et al. ARTISANAL FISHING ON THE COAST OF ESPÍRITO SANTO STATE, SOUTHEASTERN BRAZIL: AN APPROACH TO SOCIOENVIRONMENTAL OCEANOGRAPHY. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 46, n. 4, 9 abr. 2021.

NAVET, S.; FIORITO, G. Brain and intelligence in cephalopods. Em: *Ethology Ecology & Evolution*. [s.l: s.n.]. p. 1–14.

NORMAN, M. D. General Remarks on Octopods. Em: JEREB, P. et al. (Eds.). *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of cephalopod species known to date*. Rome: FAO Species Catalogue for Fishery Purposes, 2016. v. 3p. 6–9.

NORMAN MD; HOCHBERG FG. THE CURRENT STATE OF OCTOPUS TAXONOMY. *Phuket Mar Biol Cent Res Bull*, p. 127–154, 2005.

O'BRIEN, C. E.; BENNICIE, C. O.; LEITE, T. A field guide to distinguishing *Octopus insularis* and *Octopus americanus* (Octopoda: Octopodidae). *Zootaxa*, v. 5060, n. 4, p. 589–594, 2 nov.

2021. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5060.4.8>

O'BRIEN, C. E.; MEDEIROS, S. L. DE S.; LEITE, T. Octospy: What *Octopus insularis* do in their dens. *Marine Ecology*, v. 44, n. 5, 28 out. 2023. <https://doi.org/10.1111/maec.12763>.

OLSON, C. S.; RAGSDALE, C. W. Toward an Understanding of Octopus Arm Motor Control. *Integrative And Comparative Biology*, v. 63, n. 6, p. 1277–1284, 29 dez. 2023.

OOSTHUIZEN A; JIWA M; SHAW P. Genetic analysis of the *Octopus vulgaris* population on the coast of South Africa. *South African Journal of Science*, p. 603–607, 2004.

OSPINA-ALVAREZ, A. et al. A network analysis of global cephalopod trade. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, p. 322, 10 jan. 2022.

PACKARD, A. The Brains and Lives of Cephalopods. Nixon M. and Young J. Z. (2003) Oxford University Press, Oxford, UK. 75.00. ISBN 0-19-852761-6. *Journal of Plankton Research*, v. 26, n. 3, p. 383–385, 16 fev. 2004.

PAPADOPOULOU, K. et al. First insights into the spatial behaviour of *Octopus vulgaris* in the wild using acoustic telemetry. *Animal Biotelemetry*, v. 12, n. 1, p. 16, 19 jun. 2024. <https://doi.org/10.1186/s40317-024-00361-6>.

PONTE, G. et al. Cephalopod Welfare, Biological and Regulatory Aspects: An EU Experience. Em: [s.l: s.n.]. p. 209–228. https://doi.org/10.1007/978-3-030-13947-6_9.

PONTE, G.; FIORITO, G. Immunohistochemical Analysis of Neuronal Networks in the Nervous System of *Octopus vulgaris*. Em: [s.l: s.n.]. p. 63–79.

POPHALE, A. et al. Wake-like skin patterning and neural activity during octopus sleep. *Nature*, v. 619, n. 7968, p. 129–134, 6 jul. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06203-4>.

R. T. HANLON. Behavioral and body patterning characters useful in taxonomy and field identification of cephalopods. *Malacologia*, v. 29, p. 247–264, 1988.

ROPER, C. F. E.; GUTIERREZ, A.; VECCHIONE, M. Paralarval octopods of the Florida Current. *Journal of Natural History*, v. 49, n. 21–24, p. 1281–1304, 30 abr. 2015.

SALES, J. B. D. L. et al. Phylogeographical Features of *Octopus vulgaris* and *Octopus insularis* in the Southeastern Atlantic Based on the Analysis of Mitochondrial Markers. *Journal of Shellfish Research*, v. 32, n. 2, p. 325–339, ago. 2013.

SCHEEL, D.; LAUSTER, A.; VINCENT T.L.S. Habitat ecology of *Enteroctopus dofleini* from middens and live prey surveys in Prince William Sound, Alaska. Em: LANDMAN, N. H.; DAVIS, R. A.; MAPES, R. H. (Eds.). *Cephalopods Present and Past: New insights and fresh Perspectives*. New York: Springer, 2007. p. 434–458.

SCHMID-HEMPEL, P. Stephens, D. W., and J. R. Krebs, *Foraging Theory*, Princeton University Press, Princeton. 1986. 247 pp. \$ 14.50 (pbk.) \$ 40.00 (cloth). *Journal of Evolutionary Biology*, v. 1, n. 1, p. 86–88, 20 jan. 1988.

SHOMRAT, T. et al. The Octopus Vertical Lobe Modulates Short-Term Learning Rate and Uses LTP to Acquire Long-Term Memory. *Current Biology*, v. 18, n. 5, p. 337–342, mar. 2008.

SHOMRAT, T. et al. Alternative Sites of Synaptic Plasticity in Two Homologous “Fan-out Fan-in” Learning and Memory Networks. *Current Biology*, v. 21, n. 21, p. 1773–1782, nov. 2011.

SHOMRAT, T. et al. The vertical lobe of cephalopods: an attractive brain structure for understanding the evolution of advanced learning and memory systems. *Journal of Comparative Physiology A*, v. 201, n. 9, p. 947–956, 26 set. 2015.

SPREITZENBARTH, S.; JEFFS, A. Egg survival and morphometric development of a merobenthic octopus, *Octopus tetricus*, embryos in an artificial octopus egg rearing system. *Aquaculture*, v. 526, p. 735389, set. 2020.

TEIXEIRA, P. B. Fisiologia digestiva e dieta peletizada para engorda do polvo *Octopus vulgaris* tipo II. Tese de Doutorado. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.

TURCHETTI-MAIA, A.; SHOMRAT, T.; HOCHNER, B. The Vertical Lobe of Cephalopods. Em: *The Oxford Handbook of Invertebrate Neurobiology*. [s.l.] Oxford University Press, 2017. p. 559–574.

URIARTE, I. et al. Current Status and Bottle Neck of Octopod Aquaculture: The Case of American Species. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 42, p. 735–752, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00524.x>.

VERGARA-OVALLE, F. et al. Novel object recognition in *Octopus maya*. *Animal Cognition*, v. 26, n. 3, p. 1065–1072, 21 jun. 2023. <https://doi.org/10.1007/s10071-023-01753-6>.

VIDAL, É. A. G.; FUENTES, L.; DA SILVA, L. B. Defining *Octopus vulgaris* populations: A comparative study of the morphology and chromatophore pattern of paralarvae from Northeastern and Southwestern Atlantic. *Fisheries Research*, v. 106, n. 2, p. 199–208, nov. 2010.

VON BOLETZKY, S. A brief outline of the classification of recent cephalopods. *Bulletin de la Societe Zoologique de France*, v. 124, p. 271, 1999.

VOSS GL; SOLÍS RAMÍREZ M. *Octopus maya*, a new species from the Bay of Campeche, Mexico. *Bull Mar Sci*, 1966.

WARNKE, K. et al. A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, v. 42, n. 4, p. 306–312, nov. 2004.

WELLS, M. *Octopus Neuroanatomy*. *Nature*, v. 236, n. 5342, p. 123–123, mar. 1972.

WELLS, M. J. *Octopus: Physiology and Behaviour of an Advanced Invertebrate*. Países Baixos: Springer Netherlands, 2013a.

WELLS, M. J. An Inventory of the Sense Organs - The eyes. Em: *Octopus: Physiology and Behaviour of an Advanced Invertebrate*. 16. ed. [s.l.] Springer Netherlands, 2013b. p. 141–155.

WILLIAMSON, R.; CHRACHRI, A. A model biological neural network: the cephalopod vestibular system. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 362, n. 1479, p. 473–481, 29 mar. 2007.

YE, T. et al. Modeling and motion control of an octopus-like flexible manipulator actuated by shape memory alloy wires. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, v. 33, n. 1, p. 3–16, 16 jan. 2022.

YOUNG JZ. The anatomy of the nervous system of *Octopus vulgaris*. , Oxford, : Clarendon Press, 1971.