

INFLUÊNCIA DA PROPORÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS NA TAXA DE FERTILIZAÇÃO DO PEIXE ANUAL *Austrolebias nigrofasciatus*

DANIELI GUTERRES¹; ALINCA PERES DA FONSECA²; RICARDO BERTEAUX ROBALDO³

¹Universidade Federal de Pelotas, Ciências Biológicas – dani_guterres@hotmail.com

²Universidade Federal de Rio Grande – alincaf@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – ricardo.robaldo@pq.cnpq.br

1. INTRODUÇÃO

Os peixes anuais são assim conhecidos por viverem em áreas úmidas temporárias com volume reduzido de água que, portanto, estão sujeitas a variações extremas das características físicas e químicas em um curto período de tempo (NASCIMENTO et al., 2012). Estas características ambientais fazem com que este grupo de peixes possua diversas adaptações relacionadas ao seu ciclo de vida para garantir sua sobrevivência e perpetuação (BEROIS, et al., 2012).

São características comuns dos peixes anuais a maturação sexual precoce, reprodução contínua, elaborado padrão de corte e grande capacidade reprodutiva (GONÇALVES et al., 2011; GARCIA, et al., 2008). Durante o período de seca, todos os indivíduos adultos morrem, porém, os ovos depositados no substrato permanecem vivos em estágio de diapausa, característica peculiar ao desenvolvimento embrionário de peixes anuais, que pode permanecer estacionado por longos períodos (PODRABSKY et al., 2010; BEROIS, et al., 2012), aguardando a próxima estação chuvosa, quando os ovos eclodem e uma nova geração é formada (VOLCAN et al., 2013a).

A dependência deste hábitat efêmero torna os peixes anuais vulneráveis aos diversos impactos que seu ambiente está sujeito (COSTA, 2002). No Brasil, dentre todas as espécies de peixes ameaçadas de extinção o grupo mais expressivo é o dos anuais, representados pela família Rivulidae (ROSA; LIMA, 2008). Em decorrência desta fragilidade e da constante destruição das áreas úmidas por assoreamento, desmatamento, poluição e drenagens, recentemente foi implantado o Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Rivulídeos Ameaçados de Extinção, o qual inclui em sua estratégia a criação de técnicas de manutenção dos peixes em laboratório aplicadas a sua conservação (ICMBio, 2012).

Dentre as espécies avaliadas no referido Plano de Ação, *Austrolebias nigrofasciatus* Costa & Cheffe, 2001 é uma espécie de pequeno porte, endêmica do sistema lagunar Patos-Mirim e foi incluída na categoria “Em Perigo” e apontada como uma espécie focal dentro de seu grupo, devido à sua distribuição e a relação com as demais espécies que utilizam o mesmo nicho.

Muitos estudos têm sido realizados recentemente com espécies de peixes anuais nas Américas, porém nota-se que não existem protocolos comuns para o manejo básico de Rivulidae em laboratório (FONSECA, 2011; MOURABIT; KUDOH, 2012; PASSOS, et al., 2013; VOLCAN, et al., 2012, 2013).

Diante da necessidade de obtenção de técnicas para manutenção dos peixes anuais em laboratório e da observação da constante pressão dos machos sobre as fêmeas quando mantidos em casais, o objetivo do estudo foi verificar a taxa de fertilização dos ovos de *Austrolebias nigrofasciatus* ao ofertar uma ou mais fêmeas para cada macho.

2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado em setembro de 2013 no Laboratório de Fisiologia Aplicada a Aquicultura da Universidade Federal de Pelotas. Os reprodutores foram coletados com puçá (50 mm de malha) em áreas úmidas localizadas na várzea do Canal São Gonçalo, na localidade da Fundação Tupahue, sob licença do IBAMA/ICMBio,15108-1.

Os peixes foram transportados ao laboratório e transferidos aleatoriamente para as unidades experimentais (UE), as quais foram constituídas por potes cilíndricos com capacidade proporcional para comportar a densidade de 0,67 peixes/L, com aeração constante, musgo de Java e ninho com casca de coco em pó como substrato para postura dos ovos.

Foi ofertado como alimento zooplâncton nativo, diariamente. Para manutenção da qualidade da água foi medido pH, temperatura e amônia tóxica três vezes por semana e foi realizada renovação parcial (50%) da água semanalmente.

O período de aclimação foi de 10 dias, onde os peixes foram mantidos nas mesmas condições de estudo. Os peixes foram submetidos aos seguintes tratamentos (T) com quatro repetições cada um: T1) um macho com uma fêmea; T2) um macho com duas fêmeas; T3) um macho com quatro fêmeas.

Após o período de aclimação foi colocado substrato novo no ninho e mantido por três dias nas UE. Após este período, os ninhos foram removidos e foi retirada uma amostra de 30 ovos aleatoriamente de cada ninho, os quais foram observados com lupa (45x) para confirmação da fertilização ao verificar a presença de espaço perivitelínico. Dos ovos fertilizados, 10 ou o máximo obtido por EU, foram medidos em lupa (45x) com lente ocular micrométrica.

Os peixes foram medidos com régua (0,5 mm) em seu comprimento total (CT) e pesados com balança de precisão (0,0001 g).

As análises estatísticas foram realizadas com o programa "Statistica 7.0". Após confirmação dos pressupostos o efeito dos tratamentos na taxa de fertilização foi testado por ANOVA (uma via) seguida do teste de Tukey, sob nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Dados em percentual foram transformados por Arco de Seno para utilização de Anova.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diferença estatística nos parâmetros de qualidade da água entre os tratamentos, apresentando os seguintes resultados (temperatura, pH e amônia tóxica, respectivamente): T1) $20,38 \pm 0,11^\circ \text{C}$, $7,42 \pm 0,07$, $0,005 \pm 0,002$ ppm; T2) $20,08 \pm 0,15^\circ \text{C}$, $7,41 \pm 0,07$, $0,006 \pm 0,001$ ppm; T3) $20,00 \pm 0,15^\circ \text{C}$, $7,32 \pm 0,07$, $0,006 \pm 0,002$ ppm.

A sobrevivência foi de 100% em todos os tratamentos durante o período de aclimação e experimental. O diâmetro dos ovos não variou significativamente entre os tratamentos apresentando $1,38 \pm 0,01$ mm no T1, $1,38 \pm 0,01$ mm no T2 e $1,40 \pm 0,01$ mm no T3.

O peso e CT das fêmeas ou dos machos não diferiram estatisticamente entre os tratamentos, porém, a porcentagem de ovos fertilizados foi superior quando a relação macho:fêmea foi de 1:1 quando comparada a relação de 1:4. A fertilização apresentada no T2 não diferiu dos demais tratamentos. Os resultados de CT, peso e percentual de ovos fertilizados é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Comprimento total (CT), peso (P) e percentual de ovos fertilizados de exemplares de *Austrolebias nigrofasciatus* mantidos em laboratório com diferentes números de fêmeas (f) para um macho (m). Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas, ANOVA, Tukey, $p < 0,05$.

	CT f (mm)	CT m (mm)	P f (g)	P m (g)	% ovos fertilizados
T1	43,50 ± 0,87 a	42,75 ± 1,93 a	1,01 ± 0,04 a	1,05 ± 0,11 a	91,08 ± 5,35 a
T2	41,88 ± 0,24 a	45,75 ± 1,44 a	0,88 ± 0,01 a	1,31 ± 0,14 a	78,78 ± 5,31 ab
T3	40,75 ± 0,83 a	40,25 ± 0,63 a	0,86 ± 0,05 a	0,93 ± 0,07 a	48,05 ± 9,16 b

T1= 1m:1f, T2= 1m:2f e T3=1m:4f

Quando os peixes anuais são mantidos em casais, rotineiramente se observa a pressão que os machos exercem sobre as fêmeas sendo insistentes e agressivos durante o cortejo pré-desova, frequentemente causando estresse e debilidade com consequente morte das fêmeas. Essa agressividade ocorre também entre os machos, o que justifica não manter mais de um macho em uma mesma UE (VOLCAN, 2010). Neste sentido, têm se observado alguns estudos sendo realizados com um maior número de fêmeas para um macho (FONSECA, 2011; BLAZEK et al., 2013). Além disto, no ambiente natural a proporção entre machos e fêmeas não é igual, sendo comum a predominância de fêmeas (NASCIMENTO et al., 2012; VOLCAN et al., 2013b).

Em observações preliminares a este estudo foi verificado que o número de fêmeas para um macho, dentro das proporções utilizadas neste experimento, não influencia no total de ovos postos, porém, o presente estudo evidenciou que manter reprodutores com uma maior proporção de fêmeas em relação aos machos pode implicar na queda da fertilização dos ovos.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no estudo permitem concluir que reprodutores de *Austrolebias nigrofasciatus* podem ser mantidos com até duas fêmeas para um macho sem prejuízo significativo na fertilização dos ovos e, possivelmente, proporcionando às fêmeas um alívio na pressão exercida pelos machos para reproduzir constantemente, o que, em longo prazo, pode resultar em bem estar e sobrevivência do plantel de reprodutores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEROIS, N.; AREZO M. J. ; PAPA, N. G.; CLIVIO, G. A. Annual fish: developmental adaptations for an extreme environment. **WIREs Developmental Biology**, v. 1, p. 595-602, 2012.

BLAZEK R.; POLACIK. M.; REICHARD Rapid growth, early maturation and short generation time in African annual fishes. **EvoDevo**, v. 4, n. 24, 2013.

COSTA, W. J. E. M. **Peixes anuais brasileiros: diversidade e conservação**. Curitiba, ed. UFPR. p. 1- 238, 2002.

GARCÍA, D.; LOUREIRO, M.; TASSINO, B. Reproductive behavior in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 2, p. 243-248, 2008.

GONÇALVES C. S.; SOUZA U. P.; VOLCAN, M. V. The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, n. 1, p. 191-200, 2011.

ICMBio. 2012. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Sumário executivo do plano de ação nacional para a conservação dos peixes Rivulídeos ameaçados de extinção. Brasília. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/plano-de-acao/2833-plano-de-acao-nacional-para-a-conservacao-dos-rivulideos.html>. Acessado em outubro de 2013.

MOURABIT, S.; KUDOH, T. Manipulation and Imaging of *Kryptolebias marmoratus* Embryos. **Integrative and Comparative Biology**, v. 52, p. 761-768, 2012.

NASCIMENTO, W. S.; YAMAMOTO, M. E.; CHELLAPPA, S. Proporção Sexual e Relação Peso-Comprimento do Peixe Anual *Hypsolebias antenori* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) de Poças Temporárias da Região Semiárida do Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 2, n. 1, p. 37-44, 2012.

PASSOS, C.; TASSINO, B.; LOUREIRO, M.; ROSENTHAL, G. G. Intra- and intersexual selection on male body size in the annual killifish *Austrolebias charrua*. **Behavioural Processes**, v. 96, p. 20-26, 2013.

PODRABSKY, J. E.; GARRETT, I. D. F.; KOHL, Z. F. Alternative developmental pathways associated with diapause regulated by temperature and maternal influences in embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*. **The Journal of Experimental Biology**, v. 213, p. 3280-3288, 2010.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T. Peixes. Pp. 9-285. In: Machado, A. B. M., G. M. Drummond & A. P. Paglia (Eds.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília, Ministério do Meio Ambiente. 906p. 2008.

VOLCAN, M. V., SAMPAIO, L. A.; BONGALHARDO, D. C.; ROBALDO, R. B. Reproduction of the annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* (Rivulidae) maintained at different temperatures. **Journal of Applied Ichthyology**, 29:648-652, 2013.

VOLCAN, M. V.; FONSECA, A. P.; FIGUEIREDO, M. R. C.; SAMPAIO, L. A.; ROBALDO, R. B. Effect of temperature on growth of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* Costa & Cheffe 2001. **Biota Neotropica**, 12(4), 2012.

VOLCAN, M. V.; GONÇALVES, Â. C.; GUADAGNIN, D. L. Length–weight relationship of three annual fishes (Rivulidae) from temporary freshwater wetlands of southern Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, n. 5, p. 1188-1190, 2013b.

VOLCAN, M. V.; SAMPAIO, L. A.; BONGALHARDO, D. C.; ROBALDO, R. B. Reproduction of the annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* (Rivulidae) maintained at different temperatures. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 648-652, 2013a.