



**Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira**

**FECUNDIDADE DE *JENYNSIA MULTIDENTATA* (CYPRINODONTIFORMES:  
ANABLEPIDAE): EXPLORANDO O INVESTIMENTO MATERNO EM MULTIPLAS  
ESCALAS**

**NATHALIA CAROLINA LÓPEZ RODRÍGUEZ**

**MACAÉ,**

**MARÇO DE 2015**

Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira

FECUNDIDADE DE *JENYNSIA MULTIDENTATA* (CYPRINODONTIFORMES:  
ANABLEPIDAE): EXPLORANDO O INVESTIMENTO MATERNO EM MULTIPLAS  
ESCALAS

NATHALIA CAROLINA LÓPEZ RODRÍGUEZ

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

ORIENTADORA: ANA CRISTINA PETRY

COORIENTADORA: CINTIA MONTEIRO DE BARROS

Macaé  
Março de 2015

Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira

FECUNDIDADE DE *JENYNSIA MULTIDENTATA* (CYPRINODONTIFORMES: ANABLEPIDAE):  
EXPLORANDO O INVESTIMENTO MATERNO EM MULTIPLAS ESCALAS

Nathalia Carolina López Rodríguez  
Orientadora: Ana Cristina Petry  
Coorientadora: Cintia Monteiro de Barros

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Aprovada por:

---

Presidente, Dr.<sup>a</sup> Ana Cristina Petry  
(UFRJ-Macaé)

---

Titular Externo, Dr.<sup>a</sup> Ana Cecilia Giacometti Mai  
(FURG)

---

Suplente Externo, Sergio Nestor Bolasina  
(UFRJ-Macaé)

---

Titular Interno, Dr.<sup>a</sup> Erica Maria Pellegrini Caramaschi  
(UFRJ-Campus Ilha do Fundão)

---

Suplente Interno, Dr. Luciano Gomes Fischer  
(UFRJ-Macaé)

Macaé  
Março de 2015

## FICHA CATALOGRÁFICA

López, Nathalia Carolina Rodríguez.

Fecundidade de *Jenynsia multidentata* (Cyprinodontiformes: Anablepidae):  
Explorando o investimento materno em múltiplas escalas / Nathalia C. López Rodríguez.  
- Macaé: UFRJ/Macaé Prof. Aloísio Teixeira, 2015.

Orientadora: Ana Cristina Petry

Coorientadora: Cintia Monteiro de Barros.

Dissertação (mestrado) – UFRJ/Macaé/ Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação, 2015.

Referências Bibliográficas: f. 27-29; 36-38; 57-59; 78-80

1. Fecundidade. 2. Gradiente latitudinal. 3. Matotrofia. 4. Viviparidade. I. Petry, Ana Cristina. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus – Macaé Prof. Aloísio Texeira, Macaé, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação. III. Fecundidade de *Jenynsia multidentata* (Cyprinodontiformes: Anablepidae): Explorando o investimento materno em múltiplas escalas.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que dirige os meus passos, me cuida em todas as latitudes e concede os desejos do meu coração.

A minha mãe Betty, pelo carinho e apoio incondicional, por me escutar, aguentar reclamações, cuidar do meu cachorro, pelo seu otimismo contagioso e por comemorar e sofrer comigo na distância.

A Sergiy, por me acompanhar por Skype as tardes de muitos domingos de trabalho nos laboratórios, por me desconcentrar, pelas confusões idiomáticas, pelas saudades, pelas alegrias, por me fazer sorrir depois de um dia cansativo, pelas luzes e pelas sombras, pelo amor bonito.

À Profa. Dra. Ana Cristina, por ter me dado a oportunidade de desenvolver este projeto sem sequer ter visto meu rosto, por ter me ensinado e explicado cada tema, cada conceito, cada teoria, cada padrão, cada teste estatístico, por argumentar com paciência a cada questionamento, pela sua exigência e por confiar nas minhas iniciativas. Porque além de ser uma excelente orientadora e uma ótima pessoa, se preocupou sempre pelo meu bem-estar físico e emocional, e me deu uma força para lidar com cada situação bizarra da minha existência durante estes dois anos.

À Profa. Dra. Cintia Barros, por aceitar ser a minha coorientadora, por me ensinar e me motivar durante o processamento histológico, por acompanhar cada fase da construção do capítulo de morfologia, por ser criteriosa e rigorosa, por todas as instruções, sugestões e observações que fizeram do primeiro capítulo um trabalho prazeroso.

Ao Prof. Dr. Luciano Fischer por ter aceitado participar da pre-banca, revisar em tempo recorde, mergulhar na dissertação, e pela bibliografia da qual eu já tinha desistido e pelas suas ótimas contribuições para esta dissertação.

A Helenir de Mello Henrique, meu anjo do Barreto, mulher maravilhosa que abriu as portas de seu lar e me tratou como a uma filha. Pelos conselhos, pelas piadas, a canjica, o bolo de milho, as histórias e as gírias que não soube me explicar.

A Carina Azevedo, pela amizade desde o processo de seleção, por me animar, pela sua disposição para me escutar, sempre com tempo para um abraço, um comentário, para resolver minhas dúvidas acadêmicas e existenciais, por concordar e me dar a razão, e por discordar com sorrisos, por me acalmar quando estava a ponto de explodir.

A Manoela Woitowitz, pela amizade desde a primeira semana que cheguei no Nupem, por se preocupar por cada detalhe, por ajudar a resolver cada questão que fugia da minha jurisdição, por todas as opiniões e sugestões, por me tirar de Macaé em períodos estratégicos, abrir a porta do seu lar, pelo café gostoso, e por ter me dado as melhores lembranças na cidade maravilhosa e em Curitiba.

A Elaine Paes, pela amizade que surgiu no Barreto, por compartilhar penas, revoltas e vizinhos chatos, pelas confusões que derivaram em piadas clássicas, pelas pesquisas antropológicas e os inventários de fauna, pelas reflexões sobre o divino e o humano, as palavras certas nos momentos certos, a força espiritual.

A Julia Cardoso por ajudar a coletar as *Jenynsias*, pelo seu temperamento tranquilo, por ser tão simpática e tão experta; sempre pronta para ajudar, pelas risadas, manter a calma nas situações mais extremas, por ser uma excelente parceira de viagem.

A Lais Ventura, minha irmã do mestrado, pelos domingos em Cabiúnas coletando *Poeciliias*, por ser uma ótima parceria de coleta, prestativa, disposta a dar uma força quando precisar, por compartilhar momentos de terror, loucura e desespero com “Statistical”, pelos cafés na sala da Ana, pelas reclamações, pelas conversas e por me fazer rir com as gírias cariocas.

A Valderes de Souza pela paciência e o carinho com que me ensinou os protocolos para montar as lâminas.

A Juliana Silva do Laboratório Integrado de Morfologia por me ajudar com as colorações das lâminas e as dicas para as montagens.

A Izabela Silva do Laboratório de Ecologia Aquática pelas análises de Nitrogênio Total, Fosforo Total e COD.

A meu primo Pipe que arrumou os fundos das montagens das microfotografias das lâminas histológicas e a Carina que corrigiu os tons.

A o equipe de Uruguai que me ajudou a coletar as *Jenynsias* em Punta del Este : O gentilíssimo professor Guillermo Goyenola, Valentina e Alejandra.

A o equipe da FURG que me ajudou a coletar as *Jenynsias* na Lagoa dos Patos: O professor Alexandre Garcia, Wagner, Rodrigo, Mauro e Malu.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Nunes que aprovou o estágio docência na disciplina de Histologia & Embriologia.

As professoras Lisia e Tatiana por emprestar a estufa para secar as carcaças e pela paciência.

A Sergio Bolassina por coletar as *Jenynsias* em Mar Chiquita, na Argentina.

A todas as pessoas que me ajudaram a coletar os peixes nas Lagoas de Jurubatiba, e que em algum momento tomaram conta das *Jenynsias* no biotério aquático.

Aos Professores Ana Mai, Erica Caramaschi, Luciano Fischer e Sergio Bolasina, por aceitarem participar como avaliadores de minha banca.

Aos recursos do PROAP que me permitiram fazer as coletas em RS e UY.

A CAPES por financiar a minha manutenção durante estes 2 anos.

Ao Hospital Público de Macaé pelo ótimo atendimento, e a Clínica São João Batista por monitorar meu dedo quebrado.

Muito Obrigada Brasil!!!

*Dedico esta dissertação a todos os indivíduos de Jenynsia multidentata que morreram durante esta pesquisa, entregando-me segredos maravilhosos da sua história de vida e que agora eu vou compartilhar.*

## Sumário

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xiv
APRESENTAÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DESCRIÇÃO DAS FASES DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE <i>JENYNSIA MULTIDENTATA</i> (Jenyms, 1842) .....	6
INTRODUÇÃO .....	6
MATERIAIS E MÉTODOS .....	10
RESULTADOS.....	13
DISCUSSÃO .....	25
REFERÊNCIAS.....	29
CAPÍTULO 2. VIVENDO NO LIMITE: DINÂMICA REPRODUTIVA INTRAANUAL DE <i>JENYNSIA MULTIDENTATA</i> (JENYNS, 1842) EM SISTEMAS COSTEIROS DO RIO DE JANEIRO.....	32
INTRODUÇÃO .....	32
MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO .....	54
REFERÊNCIAS.....	58
CAPÍTULO 3. VARIAÇÃO DA FECUNDIDADE DE <i>JENYNSIA MULTIDENTATA</i> (JENYNS, 1842) NO GRADIENTE LATITUDINAL DE SUA DISTRIBUIÇÃO .....	61
INTRODUÇÃO .....	61
MATERIAIS E MÉTODOS .....	63
RESULTADOS.....	68
DISCUSSÃO .....	74
REFERÊNCIAS.....	78
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82

## RESUMO

Ao determinar a capacidade reprodutiva, a fecundidade é um dos aspectos mais importantes na história de vida dos indivíduos, e está associada positivamente com o tamanho corporal em muitos organismos, e pode variar entre populações de uma mesma espécie que vivem em ambientes diferentes e que estão sob diferentes tipos de pressões seletivas. A presente dissertação sobre *Jenynsia multidentata* (Cyprinodontiformes: Anablepidae), apresenta três objetivos principais, que contemplam escalas diferenciadas; em *Microescala*, desenvolver uma ferramenta de identificação das fases do desenvolvimento embrionário através da análise macroscópica de embriões e lâminas histológicas, em *Mesoescala*, caracterizar a dinâmica reprodutiva em ambientes costeiros que representam o limite setentrional da distribuição da espécie, e em *Macroescala*, comparar a fecundidade no gradiente latitudinal da distribuição. As amostragens foram realizadas com equipamento padronizado (malha de 0,5 cm de entre-nós adjacentes) e registro de variáveis físicas e químicas. Para o primeiro objetivo, um cultivo de fêmeas por 170 dias, sua indução à reprodução e eutanásia programada de 2-3 fêmeas em intervalos diários buscou a obtenção de embriões durante a gestação. Este procedimento possibilitou a descrição das mudanças morfológicas mais relevantes do desenvolvimento, incluindo estruturas de conexão entre a mãe e o embrião. Para o segundo objetivo amostragens mensais foram realizadas no canal Pitanga e nas lagoas Catingosa e Garça (PARNA Restinga de Jurubatiba, RJ). De cerca de 50 fêmeas de cada uma das 36 amostras foram obtidos o comprimento total (CT), a fecundidade (número de embriões - NE) e o peso seco somático (PS). Picos reprodutivos foram determinados sempre que mais de 60% das fêmeas apresentavam embriões a partir da Fase 3 (%FG). Foi calculada a fecundidade média (FM) por classes de tamanho e os embriões foram classificados em fases de desenvolvimento. Regressões lineares entre o CT X PS e CT X NE evidenciaram que o tamanho do corpo explica mais de 95% da variação do peso das fêmeas, porém não foi um bom preditor da fecundidade para Pitanga (45%) nem para Catingosa (32%). Uma ACP aplicada às variáveis físicas e químicas segregou as amostras espacialmente, principalmente pela influência da salinidade e da clorofila- $\alpha$ , e em segundo lugar em períodos de estiagem e de chuva. Não houve correlação entre essas variáveis físicas e a %FG e a FM. Ciclos reprodutivos diferenciados foram detectados para as três localidades, sendo que no canal Pitanga a maior fecundidade média intraanual ( $18,17 \pm 10,26$ ) e a maior variação do CT e da FM foram detectadas. A Lagoa Catingosa foi a única que apresentou constância na %FG, porém uma fecundidade média intraanual mais baixa ( $10,68 \pm 1,49$ ). Relações mais fortes entre a dinâmica reprodutiva e as variáveis ambientais foram detectadas na Lagoa Garça no período de chuvas, quando as fêmeas estavam em fase de ovogênese e com ovos fecundados entre janeiro e abril. Para o terceiro objetivo, cerca de 50 fêmeas grávidas foram capturadas em dezembro de 2013 em sete ambientes costeiros localizados desde o norte fluminense (Canal Pitanga e Lagoa Garça), o Rio Grande do Sul (Torotama e Prainha no estuário da Lagoa dos Patos), o Uruguai (lagunas de Rocha e Garzón) até a Argentina (Mar Chiquita). Uma análise de covariância demonstrou que as relações entre o comprimento total e a fecundidade são fortemente influenciadas pela latitude, sendo que esta funcionou como um *proxy* de variáveis associadas, como o fotoperíodo e a temperatura. Ao detectar mudanças do tecido ovárico altamente vascularizado e confirmar um aumento no peso embrionário durante seu desenvolvimento, este estudo confirmou a matotrofia da espécie, porém não detectou a ocorrência de superfecundação, característica documentada como das espécies matotróficas. As oito fases de desenvolvimento embrionário contemplam desde a etapa de ovo fecundado até o embrião pronto para o nascimento. Em pequena escala espacial, a dinâmica reprodutiva de *J. multidentata* é assíncrona e parece regida por fatores locais, enquanto em ampla escala espacial, a fecundidade aumenta com a latitude. Ao refletir variações ambientais em diferentes escalas, *J. multidentata* parece se constituir num modelo adequado e interessante para o estudo de variações nas características de história de vida.

**Palavras chave:** Fecundidade, Gradiente latitudinal, Matotrofia, Viviparidade.

## ABSTRACT

Fecundity is one of the most important aspects in the life history of individuals, since it determines its reproductive capacity, is positively associated with body size in many organisms, and can vary between populations living in different environments which are under different selective pressures. This dissertation has three main objectives, each one include different scale; in *Microscale*, to develop a tool for identification of the stages of embryonic development through macroscopic analysis of embryos and histological slides, *Mesoscale*, to characterize the reproductive dynamics in coastal environments that represent the northern limit of the distribution, and in *Macroscale*, to compare the fecundity in the latitudinal gradient of distribution. Samples were collected with standardized equipment (mesh size of 0.5 cm between adjacent knots) and record of physical and chemical variables. For the first goal, females were raised for 170 days, their induction to reproduction and scheduled euthanasia of 2-3 females in daily intervals aimed to obtain embryos during pregnancy. This procedure allowed the description of the most relevant morphological changes of development, including connecting structures between the mother and the embryo. For the second goal, monthly samples were carried out in Pitanga channel and in Catingosa and Garça lagoons (PARNA Restinga de Jurubatiba, RJ). Total length (TL), fecundity (number of embryos - NE) and somatic dry weight (DW) were obtained from 50 females from each of the 36 samples. Reproductive peaks were determined when more than 60% of females had embryos since Stage 3 (FG%). The mean fecundity was calculated by size classes and the embryos were classified in development phases. Linear regressions between the TL x DW and TL x NE evidenced that body size explained more than 95% of the variation in female weight, but it was not a good predictor of fecundity for Pitanga (45%) neither Catingosa (32%). Samples were segregated by the influence of salinity and Chlorophyll- $\alpha$  (mainly) and in drought and rainy periods (secondary) through a PCA applied to physical and chemical variables. There was no correlation between these physical variables and %FG and mean fecundity. Differentiated reproductive cycles were detected for the three locations, and Pitanga channel had the highest intraannual mean fecundity ( $18.17 \pm 10.26$ ) and the highest CT and fecundity variation. Catingosa Lagoons was the only to present constancy in %FG, but with a lower intraannual mean fecundity ( $10.68 \pm 1.49$ ). Stronger relationships between reproductive dynamics and environmental variables were detected in Garça Lagoon during the rainy season (between January and April), when females were in oogenesis process and with fertilized eggs. For the third goal, about 50 pregnant females were captured in December 2013 in seven coastal environments located from the north of the Rio de Janeiro state (Pitanga channel and Garça Lagoon), Rio Grande do Sul (Torotama and Prainha in the estuary of Patos Lagoon) Uruguay (Rocha and Garzón lagoons) to Argentina (Mar Chiquita Lagoon). A covariance analysis showed that relationship between total length and fecundity are strongly influenced by latitude, and this acts as a proxy of associated variables such as photoperiod and temperature. Detected changes in the highly vascularized ovarian tissue and an increase in embryonic weight during development confirmed the matrotrophy in this species, but it was not verified superfetation, a documented feature of matrotrophic species. Eight stages were proposed for embryonic development, from fertilized egg until embryo ready to birth. On a minor spatial scale, reproductive dynamic of *J. multidentata* is asynchronous and seems to be governed by local factors, while in large spatial scale, fecundity increases with latitude, except in the system where species probably were introduced. By reflecting environmental variations at different scales, *J. multidentata* seems to be an appropriate and interesting model for the study of changes in life history traits.

**Key words:** Fecundity, latitudinal gradient, matrotrophy, viviparity.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Variação nas dimensões dos ovários nos aquários  $\delta$  (cinco dias após a potencial fecundação) (A) e  $\zeta$  (54 dias após a potencial fecundação) (B), evidenciando ausência de sincronia no desenvolvimento embrionário.....13
- Figura 2.** Classificação dos ovários das 155 fêmeas submetidas ao experimento de cultivo e gestação. EOP (embriões com olho pigmentado), OCE (ovos com embrião em fase inicial).....13
- Figura 3.** Fêmea de *Jenynsia multidentata* em estágio avançado de gravidez (A) e orientação dos embriões no sentido cabeça-nadadeira caudal (B), sendo que um deles apresenta a cabeça projetada para a porção externa do ovário na porção caudal (à esquerda).....14
- Figura 4.** Região cefálica do ovário de *Jenynsia multidentata* identificando ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento observados macroscópica (A) e microscopicamente (B, C) e ovários do aquário V [D (aberto) e E]. Gr.V: Grânulos de vitelo; Op: Ovócito primário; Os: Ovócito secundário; Om: ovócito maturo. Além dos diferentes estádios dos ovócitos, são identificados os ovos fecundados (OF) e os folículos atrésicos (FA). Barra de escala = 20  $\mu\text{m}$ ..... 15
- Figura 5.** Detalhes macroscópicos do cordão de tecido ovárico de *Jenynsia multidentata* penetrando os embriões por suas brânquias (A-C), e microscópicos da ocorrência de vascularização no tecido ovárico (setas pretas) (D, 4x), do cordão ( $\leftarrow$ ) penetrando as brânquias (E, B), do posicionamento do olho (E, O) (E, 20x) e a ocorrência de vasos sanguíneos (círculos pretos) nas dobras do tecido ovárico (F, 20x).....16
- Figura 6.** Registro de casos infrequentes de variação no tamanho dos embriões de uma mesma ninhada em *Jenynsia multidentata*. Barra de escala = 1 mm).....16
- Figura 7.** Microfotografia de olho completamente pigmentado, evidenciando em corte longitudinal (A) e transversal (B). R: retina, L: lente, C: cornea, I: íris.....17
- Figura 8.** Melanóforos punctiformes no dorso da cabeça (A) de embriões de *Jenynsia multidentata*, mais densos, semelhantes a um coração e outros alinhados ao longo do dorso (B), dendríticos dispersos lateralmente (C), de maior intensidade e aumento na extensão e intensidade da pigmentação na região da cabeça (D) e do dorso (DF).....18
- Figura 9.** Detalhes da Fase 1, apresentando as dimensões do ovo fecundado (A) e a variação de ovos fecundados agrupados (B) de *Jenynsia multidentata* .....19
- Figura 10.** Fases de desenvolvimento de *Jenynsia multidentata* **Ab**: arco branquial; **bnc**: broto nadadeira caudal; **Br**: brânquias; **Bx**: bexiga natatória; **C**: coração **Cv.b**: cavidade bucofaríngea; **CSV**: camada sincicial do vitelo; **En**: encéfalo; **EP**: espaço perivitelínico; **Evo**: esboço da vesícula óptica; **F**: Fígado; **fr**: farínge; **Gr**: Grânulos de vitelo; **i**: intestino; **m**: miômeros; **N**: notocorda; **na**: nadadeira anal; **nc**:nadadeira caudal; **O**: olho; **Os**: osteócistos; **Pc**: Pigmentação na cabeça. **Ps.F**: Pseudoplacenta folicular; **ra**: raios; **S**: somitos; **Tn**: tubo neural; **v**: vértebras; **V**: vitelo. Barra de escala= 20  $\mu\text{m}$ .....21

**Figura 11.** Relação entre os pesos relativos do lote de embriões e dos tecidos ováricos de *Jenynsia multidentata* durante as fases de desenvolvimento propostas neste estudo (A) e variação da massa seca embrionária (média  $\pm$  IC 0,95) em cada fase após controlar o efeito do tecido ovárico (B). Letras diferentes indicam médias que diferem significativamente entre si.....24

## CAPÍTULO 2

**Figura 1.** Representação esquemática do trecho de 40 km do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Norte Fluminense, com setas identificando os três ambientes onde foram coletados os exemplares de *Jenynsia multidentata* (A: Canal Pitanga, B: Lagoa Catingosa e C: Lagoa Garça) (Figura modificada de Di Dario *et al.*, 2013; Imagens de Patricia. Mancini).....35

**Figura 2.** Variação da pluviosidade mensal acumulada (A) e da temperatura máxima média (B) na planície costeira do norte fluminense no período do estudo (Fonte: INMET estação de Campos dos Goytacazes, RJ).....36

**Figura 3.** Ordenação das 36 amostras mensais nas lagoas Garça, Catingosa e canal Pitanga, no PARNA Restinga de Jurubatiba, em relação aos parâmetros físicos e químicos. S: salinidade; Cl: clorofila- $\alpha$ ; P: fósforo total e T: temperatura. Os meses entre maio e outubro e abril foram considerados do período de estiagem e os meses entre novembro e março foram considerados do período chuvoso (E e C, respectivamente). .....40

**Figura 4.** Variação mensal nas concentrações salinidade (A), Fósforo total (B), de clorofila- $\alpha$  e temperatura (D) da água nos três ambientes estudados (Pitanga: -- Catingosa - Garça - entre maio de 2013 e abril de 2014. .... 41

**Figura 5.** Relação entre o tamanho e o peso seco somático de *Jenynsia multidentata* com valores brutos, considerando a totalidade das localidades (A) e com variáveis transformadas no Canal Pitanga (B) e nas Lagoas Catingosa (C) e Garça (D), no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014. ....43

**Figura 6.** Variação temporal na frequência relativa de fêmeas grávidas de *Jenynsia multidentata* (FE) nas Lagoas Garça e Catingosa e no canal Pitanga, no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.....44

**Figura 7.** Variação temporal na frequência relativa nas fases de desenvolvimento embrionário (1 a 8) Fase de ovogênese (0), ovários imaturos (IM) e ovários em repouso (R) de *Jenynsia multidentata* entre maio de 2013 e abril de 2014 em três ambientes costeiros do PARNA Restinga de Jurubatiba. A: Pitanga, B: Catingosa e C: Garça.....45

**Figura 8.** Resultados da análise da variação do PS médio dos lotes de embriões de *Jenynsia multidentata* em seis fases de desenvolvimento (3, 4, 5, 6, 7 e 8). A: entre aos períodos de estiagem e chuvoso. B: entre o PS somático das mães nas fases de desenvolvimento e C: entre as fases de desenvolvimento considerando a origem das amostras.....47

**Figura 9.** Variação temporal na fecundidade (média  $\pm$  erro e desvio-padrão) de *Jenynsia multidentata* entre maio de 2013 e abril de 2014, no Canal Pitanga (A) e nas Lagoas Catingosa (B) e Garça (C), do PARNA Restinga de Jurubatiba.....48

**Figura 10.** Relação entre o comprimento e a fecundidade de *Jenynsia multidentata* com valores brutos, considerando a totalidade das localidades (A) e com variáveis transformadas no Canal Pitanga (B) e nas Lagoas Catingosa (C) e Garça (D), no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.....50

**Figura 11.** Análise da variação da dos resíduos das fêmeas grávidas (GRAV) e não grávidas (NG) de *Jenynsia multidentata* nos períodos de estiagem e chuvoso entre maio de 2013 e abril de 2014 em A: canal Pitanga, B:Lagoa Catingosa e C: Lagoa Garça.....52

### CAPÍTULO 3

**Figura 1.** Localização dos pontos de amostragem nos Estados do Rio de Janeiro-1 (Pitanga-A e Garça-B) e Rio Grande do Sul-2 (Torotama-C e Prainha-D), além de Uruguai-3 (Rocha-E e Garzón-F) e Argentina-4 (Juan y Juan) (Modificada de: Garcia *et al.*, 2004; Santana & Fabiano, 1999; Marcovecchio *et al.*, 2005).....66

**Figura 2.** Relação do tamanho da fêmea e o peso somático seco de *Jenynsia multidentata* nos ambientes (A) e Estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, no Uruguai e na Argentina, nas amostragens realizadas em dezembro de 2013.....68

**Figura 3.** Relação entre o comprimento da fêmea e o número de embriões de *Jenynsia multidentata* nos sete ambientes (A) e estes agrupados por regiões, representadas pelos Estados do Rio de Janeiro (RJ) e Rio Grande do Sul (RS), Uruguai (UY) e Argentina (AR) (B), nas amostragens realizadas em dezembro de 2013.....70

**Figura 4.** Frequência das oito fases de desenvolvimento embrionário e ovogênese (0), nos ovários de 365 fêmeas de *Jenynsia multidentata* nos sete ambientes costeiros amostrados no Brasil (Pitanga, Garça, Torotama, Prainha), Uruguai (Garzón e Rocha) e Argentina (Mar Chiquita) em dezembro de 2013.....72

**Figura 5.** Variação na fecundidade (média da  $\sqrt[4]{}$  do NE  $\pm$  95%IC) após controlar o efeito do comprimento total em fêmeas de *Jenynsia multidentata* amostradas em ambientes costeiros agrupados por região no Brasil (RJ e RS), Uruguai (UY) e Argentina (AR). Letras diferentes indicam médias que diferem significativamente entre si.....73

**Figura 6.** Variação latitudinal do número mediano ( $\pm$ 1 quartil, A) de embriões visíveis de fêmeas de *Jenynsia multidentata* amostradas em sete ambientes do gradiente latitudinal em dezembro de 2013, agrupadas por região A: Mediana do NE de todas as fêmeas. B: Mediana do NE de fêmeas com CT entre 46 e 55 mm. ....74

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1.** Número de fêmeas de *Jenynsia multidentata* dissecadas de cada lagoa costeira do norte fluminense (n) e variação nos valores (média  $\pm$  desvio-padrão) do peso seco do lote de embriões (E) e do tecido ovárico (TO) entre as Fases 3 e 8, porcentagem de razão entre o PS dos embriões e os Tecidos ováricos (E/TO) .....24

### CAPÍTULO 2

**Tabela 1.** Caracterização física e química (média  $\pm$  desvio-padrão) dos ambientes do PARNA Restinga de Jurubatiba investigados mensalmente entre maio de 2013 e abril de 2014.....39

**Tabela 2.** Número total de indivíduos capturados, densidade (d; indivíduos.m<sup>-2</sup>) e razão entre fêmeas e machos ( $\frac{\text{♀}}{\text{♂}}$ ) de *Jenynsia multidentata* nos três ambientes investigados no PARNA Restinga de Jurubatiba através de amostragens mensais realizadas entre maio de 2013 e abril de 2014.....42

**Tabela 3.** Abundância dos indivíduos de *Jenynsia multidentata* nas nove classes de tamanho e a respectiva fecundidade (média  $\pm$  desvio-padrão) avaliada pelo número de embriões em cada classe, nos três ambientes amostrados no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.....51

**Tabela 4.** Resultado do teste Mann-Whitney que comparou os resíduos da regressão entre o comprimento total e o peso somático seco de fêmeas de *Jenynsia multidentata* entre os períodos chuvoso e de estiagem (C e E, respectivamente) e entre grávidas e não grávidas (FG e NG, respectivamente) .....51

**Tabela 5.** Comparação da média e desvio padrão do comprimento total, peso seco somático e fecundidade (NE) das fêmeas grávidas de *Jenynsia multidentata* para cada ambiente nas épocas de estiagem e de chuva entre maio de 2013 e abril de 2014.....53

**Tabela 6.** Correlação dos valores da precipitação mensal acumulada, do Eixo 1 e do Eixo 2 do PCA com a frequência de fêmeas de *Jenynsia multidentata* grávidas, fecundidade mensal, resíduos da relação entre o CT e PS das fêmeas grávidas e os resíduos da relação entre o CT e PS das fêmeas não grávidas.....53

### CAPÍTULO 3

**Tabela 1.** Localização geográfica e características dos ambientes aquáticos costeiros incluídos nesse estudo.....63

**Tabela 2.** Caracterização física e química dos sete ambientes costeiros investigados nos Estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, no Uruguai e na Argentina, em dezembro de 2013..... 68

**Tabela 3.** Caracterização das amostras de *Jenynsia multidentata* em ambientes costeiros do Brasil (RJ e RS), Uruguai (UY) e Argentina (AR) em dezembro de 2013, detalhando o número de fêmeas dissecadas (FD), e valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) do comprimento total (CT), do peso somático seco (PS), a frequência relativa de fêmeas com embrião visível (FE) e o número de embriões visíveis (Fecundidade).....70

**Tabela 4.** Resultados das regressões lineares aplicadas aos valores de comprimento total (CT, mm) e o peso somático seco (PS, g) e a fecundidade (FEC, número de embriões visíveis) das fêmeas de *Jenynsia multidentata* amostradas em ambientes costeiros do Brasil, Uruguai e Argentina em dezembro de 2013.....71

**Tabela 5.** Resultado da ANCOVA que testou a relação entre a fecundidade e o tamanho das fêmeas de *Jenynsia multidentata* entre os sete ambientes costeiros amostrados, agrupados pelas regiões Rio de Janeiro (Pitanga, Garça), Rio Grande do Sul (Torotama, Prainha), Uruguai (Garzón e Rocha) e Argentina (Mar Chiquita) em dezembro de 2013.....72

**Tabela 6.** Compilação das informações sobre tamanho (CT) e Fecundidade (NE) de *Jenynsia multidentata* extraídas de estudos publicados.....75

## APRESENTAÇÃO

As lagoas e ambientes aquáticos associados, tais como poças e brejos, ocupam cerca de 12 % das áreas costeiras do continente Sulamericano. Esses sistemas se encontram na transição entre os ecossistemas continentais e os marinhos e são habitados por uma fauna peculiar com origem diversificada e tolerância diferencial em relação às variáveis físicas e químicas. Nesses, as variações nas características físicas e químicas das águas são pronunciadas e a fauna que os habita difere amplamente em aspectos ecológicos e fisiológicos, tais como a tolerância à salinidade e influência da temperatura (Myers, 1938; Araújo & Azevedo, 2001; de Pinna, 2006).

No Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, norte do Estado do Rio de Janeiro, um mosaico de 14.860 ha de ecossistemas terrestres e aquáticos constitui desde 1998 o único parque nacional protegido na forma de restinga. Há mais de uma década, esta área tem sido alvo de um programa de pesquisa de longo prazo (RELAC, PELD Sítio 5), que investiga os efeitos de perturbações antrópicas e naturais nos processos ecológicos dos ecossistemas da restinga (Rocha *et al.*, 2004). Porém, uma abordagem comparativa das características de história de vida de espécies de peixes desse sistema, que ainda são relativamente pouco investigadas, com populações de sistemas subtropicais cuja autoecologia é relativamente bem conhecida (Garcia *et al.*, 2004; Iglesias *et al.*, 2008; Goyenola *et al.*, 2011) ainda não foi contemplada.

Na faixa tropical, a flutuação diária da temperatura pode exceder as flutuações médias anuais, e o fotoperíodo oscila de forma muito menos pronunciada em relação ao registrado em maiores latitudes, onde os ciclos de comprimento do dia são associados com as mudanças das estações do ano (Winemiller & Rose, 1992). Estes fatores, além da salinidade, que pode variar de forma mais pronunciada também em pequena escala espacial, estão entre os parâmetros que mais afetam os organismos aquáticos de ambientes costeiros, com reflexos na sobrevivência, crescimento, alimentação, reprodução, desenvolvimento e morfologia (Panfili *et al.*, 2006; Gomes & Monteiro, 2007).

A sobrevivência dos indivíduos é determinada pelo grau de tolerância às flutuações dos fatores acima mencionados e da capacidade que esses possuem em modular características de sua história de vida (que nesta dissertação se refere ao termo *life history traits sensu* Stearns 1993) em períodos ou locais críticos a sua sobrevivência. Assim, avaliar respostas das espécies às flutuações ambientais e às características particulares de ambientes confinados como lagoas e lagunas nos quais

o deslocamento pode ser limitado pela dispersão e ou pelo tamanho dos indivíduos é um passo importante na compreensão do padrão da sua distribuição, da dinâmica populacional e da plasticidade que exibem de forma a garantir o sucesso reprodutivo (Garcia *et al.*, 2004; Panfili *et al.*, 2006; Faleiro *et al.*, 2012).

Estudos com teleósteos, especialmente representantes da ordem Cyprinodontiformes, têm corroborado a ideia de que variações nas características de história de vida sejam adaptativas (Winemiller, 1989; Ponce de León *et al.*, 2011), e que dependem de limitantes filogenéticos e fisiológicos (Sainte-Marie, 1991). Assim, combinados com outras informações autoecológicas, as características reprodutivas são de grande importância para entender o grau de plasticidade fenotípica das espécies.

### ***Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842)**



Fonte: Nathalia López.

*Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842) (Cyprinodontiformes, Anablepidae) conhecida como “one-sided livebearer/barrigudinho” representa um interessante modelo para estudos que envolvem variações no investimento reprodutivo em escalas espaciais e temporais. É uma espécie eurihalina, secundária de água doce segundo a classificação de Myers (1938). *Jenynsia multidentata* é muito abundante em algumas lagoas costeiras Sulamericanas e apresenta a distribuição geográfica mais ampla do seu gênero, ocorrendo naturalmente desde o Rio de la Plata na Argentina até o Rio de Janeiro no Brasil (Ghedotti & Weitzman, 1996). Estudos realizados por Quezada-Romegialli *et al.* (2009) confirmaram a sua ocorrência na bacia hidrográfica do Rio Maipo e estero Puangue, no Chile central, provavelmente por introdução acidental.

No século XVII, os gêneros *Fitzroyia* e *Jenynsia* foram descritos por Günther em um único estudo, permanecendo como sinônimos. Porém, *Jenynsia* é considerado o nome válido para o gênero,

de acordo com o princípio do primeiro revisor no Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1985 *apud* Ghedotti, 1998). No final do século XIX, *J. lineata* representava a única espécie tipo do gênero *Jenynsia*, sendo que desde então outras 13 foram descritas. Na década de 1990, Ghedotti & Weitzman removeram *J. multidentata* da sinonímia com *J. lineata*, cuja distribuição passou a se limitar ao Rio Cebollati, no Uruguai. Dessa forma, todas as referências efetuadas a *Jenynsia lineata* em trabalhos publicados há mais de 20 anos se referem a atual *J. multidentata*.

*J. multidentata* é uma espécie de pequeno porte, raramente os indivíduos alcançam comprimento total superior a 85 mm, e os machos se distinguem das fêmeas por apresentarem, além de um menor tamanho, a nadadeira anal modificada em gonopódio. Esta espécie é abundante em ambientes lênticos de águas rasas com vegetação (Betito, 2006), onde desempenha papel fundamental nas curtas cadeias alimentares desses sistemas. Iglesias *et al.* (2008) a classificaram como onívora com tendência zooplantívora em lagoas uruguaias. As características mais relevantes desta espécie são a elevada tolerância a baixos níveis de oxigênio dissolvido e a elevados valores de temperatura, salinidade e turbidez da água (Betito, 2006), além de apresentar uma alta capacidade reprodutiva (Turner, 1957).

A presente dissertação tem como objetivo avaliar a ocorrência de variações em escala espacial e temporal de algumas das características de história de vida de *J. multidentata*. O Capítulo 1 apresenta uma caracterização do desenvolvimento embrionário da espécie, com a proposição de oito fases caracterizadas por aspectos macroscópicos. O Capítulo 2 avalia a variação intraanual de diversos aspectos da dinâmica reprodutiva das fêmeas em sistemas próximos geograficamente (lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba) no limite setentrional da distribuição da espécie. E o Capítulo 3 avalia as variações na fecundidade das fêmeas em ambientes aquáticos no gradiente latitudinal da distribuição da espécie, contemplando amostragens num mesmo e curto intervalo de tempo na Argentina, Uruguai, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro. Os resultados obtidos a partir da abordagem em diversas escalas representam um passo importante no entendimento mais integral da dinâmica reprodutiva desta espécie vivípara e como esta modula respostas nos diferentes ambientes que habita. Um fator determinante para desenvolver esta pesquisa foi contar com a colaboração de equipes de outras instituições, inclusive de outros países, além do trabalho interdisciplinar que permitiu associar esforços para alcançar os resultados que serão apresentados e discutidos nessa dissertação.

## REFERÊNCIAS

- Araújo, F.G & M.C.C Azevedo. 2001. Assemblages of southeast-south Brazilian coastal systems based on the distribution of fishes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52:729–738.
- Betito, R. 2006. Comparação da complexidade das adaptações bioecológicas de dois peixes (*Jenynsia multidentata* e *Poecilia vivipara*) (Cyprinodontiformes) no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). *Revista Didática Sistemática*, 3:71–100.
- de Pinna, M.C.C. 2006. Diversity of tropical fishes. In Val A.L, Val V.M.F.A, Randall D.J. (Eds.), *Fish physiology: the physiology of tropical fishes*, 21:47-84. Elsevier, New York.
- Faleiro, F., L. Paula & L. Narciso. 2012. Hot and salty: the temperature and salinity preferences of a temperature estuarine shrimp larva, *Upogebia pusilla* (Decapoda:Thalassinidea). *Hydrobiologia*, 691: 89-95.
- Ghedotti, M.J & S.H. Weitzman. 1996. A new species of *Jenynsia* (Cyprinodontiformes: Anablepidae) from Brazil with comments on the composition and taxonomy of the genus. *Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas*, 179: 1-25.
- Ghedotti, M.J 1998. Phylogeny and Classification of the Anablepidae (Teleostei: Cyprinodontiformes). Pp. 561-578. In: Malabarba, L.R., R.E. Reis., R.P. Vari., Z.M.S. Lucena & C.A. Lucena. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre: EDIPUCRS.
- Gomes-Jr, J.L & L.R. Monteiro. 2008. Morphological divergence patterns among populations of *Poecilia vivipara* (Teleostei Poeciliidae): Test of an ecomorphological paradigm. *Biological Journal of the Linnean Society of London*, 93: 799-812.
- Iglesias, C., N. Mazzeo., G. Goyenola., C. Fosalba., F. Teixeira de Mello., S. Garcia & E. Jeppesen. 2008. Field and experimental evidence of the effect of *Jenynsia multidentata*, a small omnivorous– planktivorous fish, on the size distribution of zooplankton in subtropical lakes. *Freshwater Biology*, 53: 1797–1807.
- Myers, GL. 1938. Fresh-water fishes and West Indian zoogeography. Pp. 339-364. *Annual Report of the Board of Regents of the Smithsonian Institution*.
- Ponce de León, J.L., R. Rodríguez., M. Acosta & M.C. Uribe. 2011. Egg size and its relationship with fecundity newborn length and female size in Cuban poeciliid fishes (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Ecology of Freshwater Fish*, 20 (2): 243-250.
- Quezada-Romegialli, C., I. Vila & D. Véliz. 2009. A new invasive freshwater fish species in central Chile: *Jenynsia multidentata* Jenyns, 1842 (Cyprinodontiformes: Anablepidae). *Gayana*, 73 (2): 233-236.

- Rocha C.F.D, F.A. Esteves & F.R. Scarano 2004. Pesquisas de Longa Duração na Restinga de Jurubatiba: Ecologia, História Natural e Conservação. RIMA, São Carlos.
- Sainte-Marie, B. 1991. A review of the reproductive bionomics of aquatic gammaridean amphipods: variation of life-history traits with latitude, depth, salinity and superfamily. *Hydrobiologia*, 223: 189–227.
- Turner, C.L. 1957. The Breeding Cycle of the South American Fish, *Jenynsia lineata*, in the Northern Hemisphere. *Copeia*, 3: 195-203.
- Winemiller K.O. 1989. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environment. *Oecologia*, 81: 225-241.
- Winemiller K.O. & Rose K.A. 1992. Patterns of life-history diversification in North American Fishes: implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49: 2196–2218.



# CAPÍTULO 1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DESCRIÇÃO DAS FASES DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE *JENYNSIA MULTIDENTATA* (JENYNS, 1842)

## INTRODUÇÃO

A reprodução representa um dos processos mais importantes da história de vida de um indivíduo ao afetar sua condição e sobrevivência (Fraser & Guillian, 1992; Lodé, 2012). Nesse sentido, o investimento parental tem como objetivo aumentar a probabilidade de sobrevivência do filhote às custas da capacidade dos pais em gerarem outros filhotes. Na maioria dos animais, raramente os sexos investem na reprodução da mesma maneira ou intensidade. No caso das aves, por exemplo, os machos geralmente competem pelas fêmeas, sendo que o seu sucesso reprodutivo aumenta proporcionalmente com o número de cópulas, enquanto que o sucesso reprodutivo da fêmea frequentemente aumenta com o número de filhotes (Clutton-Brock, 1991). Nas espécies com cuidado parental, o número de descendentes produzidos numa estação reprodutiva não é normalmente limitado pelo número de ovos que uma fêmea pode produzir, mas pelo número de descendentes que os pais podem alimentar (Lack, 1968). Em peixes, o padrão geral de reprodução ou estratégias reprodutivas apresentadas pelos indivíduos de uma espécie é extremamente diversificado e resulta da interação entre os componentes da história de vida (Wooton, 1984; Vazzoler, 1996). A forma de atrair parceiros, a seleção de locais, o período de desova, tempo de incubação de ovos, número de embriões e o grau de cuidado que dispensam à prole representam um conjunto das características mais plásticas dentro de um espectro de variação genética, comportamental e fisiológica dos indivíduos de uma espécie, conhecidas como suas táticas reprodutivas (*sensu* Wooton, 1984).

### Modos reprodutivos

Em uma revisão recente que envolve diversos grupos de vertebrados, Lodé (2012) propôs uma classificação dos modos de reprodução que contempla a fonte nutricional no desenvolvimento do embrião, distinguindo os nutrientes derivados do vitelo (lecitotrofia) e aqueles derivados pela mãe. Adicionalmente, este autor caracteriza a viviparidade pelo nível de investimento parental associado com a ela.

1. **Ovuliparidade:** liberação de ovócitos ao ambiente através do trato reprodutivo da fêmea e fertilização externa por parte do macho. O vitelo é a única fonte de nutrição dos embriões.

2. **Oviparidade:** fertilização interna, os embriões se localizam no trato genital da fêmea e são nutridos com vitelo abundante. Todas as aves e mamíferos prototérios primitivos, como o ornitorrinco e o equidna são ovíparos. A oviparidade pode ser:

2.1 **Simple:** cada ovo é liberado individualmente.

2.2 **Múltipla:** alguns ovos são retidos brevemente e depois desovados juntamente com os mais recentes.

3. **Ovoviviparidade:** a fertilização pode ser interna ou externa, com retenção prolongada dos embriões, frequentemente no oviduto.

4. **Viviparidade:** fertilização interna e desenvolvimento do embrião no interior do corpo da fêmea

4.1 **Viviparidade Histotrófica:** desenvolvimento do embrião dentro da fêmea e provisionamento contínuo de nutrientes, além do vitelo.

Adenotrofia: os filhotes são alimentados por secreções glandulares especializadas.

Adelfofagia: canibalismo intrauterino, como no caso do tubarão tigre. Assume-se que esta adaptação promove a sobrevivência de espécies em clima frio e escassez de água, como algumas salamandras.

Oofagia: alimentam-se de ovos. Existem espécies de Lamniformes (Chondrichthyes) que produzem ovos continuamente para alimentar os embriões em desenvolvimento.

Trofodermia: absorção de nutrientes maternos via cutânea ou pelo epitélio intestinal.

4.2 **Viviparidade Hemotrófica:** Fertilização e embriogênese no trato genital da fêmea. O crescimento do embrião apresenta uma nutrição contínua proveniente da mãe, geralmente através de uma placenta ou estrutura similar (pseudoplacenta). Associada com a produção de ovos sem vitelo, a viviparidade hemotrófica é um modo de reprodução no qual o desenvolvimento embrionário ocorre em órgãos especializados e é estimulado pela entrada de nutrientes pela corrente sanguínea materna.

Dessa forma, o termo *matrotrofia* se refere à nutrição materna ao embrião, independentemente da origem ou forma de transferência do recurso, o que tem levado à classificação de algumas espécies de peixes como matrotróficas incipientes e matrotróficas verdadeiras (Lodé, 2012).

Dentre os modos reprodutivos, a viviparidade é uma característica presente em uma ampla diversidade de grupos animais (Clutton-Brock, 1991). A viviparidade é considerada de forma geral como adaptativa em ambientes estáveis, de intensa predação e competição (Helfman *et al.*, 1997). Esta estratégia ocorre em cerca de 510 das 26.891 espécies atuais de peixes teleósteos (Nelson, 2006). De acordo com a literatura, esse modo de reprodução representa uma das formas mais extremas e complexas de cuidado parental, pois além do investimento de seus recursos energéticos na nutrição da prole, a capacidade de deslocamento da fêmea pode ser comprometida, aumentando o risco de sua predação (Hubbs, 1934). A intensidade de provisionamento nutricional da mãe ao filhote desde a fertilização do ovócito até o nascimento contempla um gradiente cujos extremos são ocupados por espécies conhecidas como lecitotróficas e matrotólicas (Lodé, 2012). Na lecitotrofia, o desenvolvimento dos embriões é mantido exclusivamente pelas reservas energéticas presentes no vitelo, enquanto na matotrofia, o embrião é suprido por fontes alternativas ao ovo, durante seu desenvolvimento. O grau de provisionamento materno no ovo e embrião, porém, depende fundamentalmente do desenvolvimento de estruturas específicas, sendo algumas delas limitadas ao período gestacional.

### **Desenvolvimento embrionário em teleósteos vivíparos**

Diferentemente dos demais teleósteos, cujos ovários se apresentam como estruturas pares, na maior parte das espécies vivíparas os dois primórdios de ovários se fusionam para formar uma estrutura única, denominada cistovário. Este é um ovário sacular, cujo lúmen é recoberto pelo epitélio germinal (Wourms *et al.*, 1988; Uribe & Grier, 2011). Devido a esta característica única em vertebrados, durante a ovulação, os ovócitos dos teleósteos vivíparos são liberados no lúmen ovariano, enquanto na maioria dos outros vertebrados vivíparos os ovos são liberados no celoma (Wourms *et al.*, 1988). Outra característica fundamental de peixes teleósteos vivíparos é que esses não desenvolvem os dutos de Müller, que em outros vertebrados são órgãos responsáveis pela manutenção dos embriões, e evoluíram utilizando o ovário como única estrutura reprodutiva. Consequentemente, o ovário em teleósteos vivíparos é a estrutura na qual ocorre, além da produção dos ovos, sua fertilização. Em função de características como a intensa vascularização e capacidade secretora, em teleósteos vivíparos o ovário também está envolvido na manutenção do esperma e gestação dos embriões, não necessariamente de forma concomitante (Wake, 1985).

Como mencionado anteriormente, a gestação na maioria dos teleósteos vivíparos é intrafolicular, ou seja, ela ocorre no interior dos folículos ováricos e a liberação dos embriões ao

lúmen ovárico coincide com o nascimento, como no caso de peixes da família Poeciliidae, ordem Cyprinodontiformes. Dentre as espécies da família Anablepidae, o gênero *Jenynsia* é exceção, por apresentar gestação intraovárica ou intraluminal, na qual os embriões são liberados do folículo ao lúmen ovárico, onde completam seu desenvolvimento (Wourms *et al.*, 1988). Assim, a gestação intraovárica em *Jenynsia* resulta de processos de ovulação e fertilização internas (intraovárica), da ausência de condutos de Müller e do cistoovário. Outra característica interessante descrita por Wourms *et al.* (1988) é que, no tipo de gestação intraovárica de *Jenynsia*, os embriões não estão encapsulados em membranas ou envoltórios embrionários. Dentre as catorze espécies do gênero, a maior parte desses estudos envolveram *Jenynsia lineata* (Turner, 1957; Schindler & de Vries, 1988).

O ovário único de *J. lineata* apresenta quatro camadas: uma cobertura peritoneal externa, seguida por uma camada muscular, outra conjuntiva e o epitélio de revestimento interno. Este último se dobra ao longo e lateralmente à linha média dorsal e sobre a linha média ventral, se estendendo na cavidade ovárica como leques recortados (Schindler & de Vries, 1988), formando um pregueamento interno denominado de vilosidade ovariana. Vasos sanguíneos de grande calibre estão localizados no eixo principal dessas vilosidades, que se ramificam em vasos de menores calibres até formarem uma rede capilar periférica (Hylton, 1918). Em um ovário gravídico, as vilosidades ovarianas formam estruturas semelhantes a uma *borda em escova* (*sensu* Schindler & de Vries, 1988), que se projetam nos espaços livres entre os pacotes de embriões, algumas se inserindo entre as fendas operculares dos embriões. De acordo com Schindler & de Vries (1988), possivelmente sejam estas as estruturas responsáveis pelas transferências de nutrição materna aos embriões, uma conexão que é perdida pouco antes do nascimento.

Exceto pelo cuidado parental após o nascimento, que ocorre em espécies de 21% das famílias de teleósteos (Helfman *et al.*, 1997), as relações que se estabelecem entre a mãe e seus embriões se constituem em um tema interessante sob diversos aspectos, incluindo os ecológicos e os evolutivos. A caracterização morfológica das fases envolvidas desde a produção de ovócitos, sua fecundação, até a formação e desenvolvimento do embrião possibilita o estabelecimento de critérios que podem funcionar como ferramentas metodológicas em estudos comparativos taxonômicos e ecológicos. Uma das oito ou 15 características que caracterizam a história de vida de peixes da família Poeciliidae se relaciona diretamente com uma classificação do desenvolvimento inicial (Reznick *et al.*, 1992).

Este estudo parte do pressuposto de que a caracterização de um aspecto importante da história de vida de um organismo, como seu desenvolvimento inicial, e a investigação dos mecanismos de

provisionamento materno podem servir como ferramentas úteis para estudos que investigam possíveis variações nas táticas reprodutivas de espécies de ampla distribuição geográfica e dispersão limitada. Este é o caso de diversas espécies de peixes de pequeno porte e curto ciclo de vida que habitam ecossistemas aquáticos continentais e que neles estão sujeitas a além dos fatores locais (como predação, competição e disponibilidade de recursos), a fatores em escala regional como temperatura e fotoperíodo (Nakatani *et al.*, 2001). Assim como mencionado na Apresentação desta dissertação, em função de sua distribuição geográfica e elevada tolerância a condições ambientais variáveis, *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842) se constitui numa espécie candidata a estudos dessa natureza. Assim, este estudo teve como objetivo geral descrever macroscopicamente e microscopicamente o desenvolvimento embrionário de *J. multidentata*, e a partir das características morfológicas mais conspícuas dos embriões e do tecido ovárico e propor uma ferramenta metodológica capaz de permitir a identificação e classificação das fases do desenvolvimento inicial dos indivíduos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Cultivo e gestação das matrizes**

Um total de 227 fêmeas de *J. multidentata* foi coletado em 15 de agosto de 2013 na Lagoa Catingosa, situada no norte fluminense, e transportado com o auxílio de aerador para o Biotério Aquático do NUPEM-UFRJ. Esses indivíduos foram mantidos em seis aquários ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ) de 20 L, em condições constantes de temperatura (28 °C), salinidade (35) e fotoperíodo (15 h luz / 9 h escuridão). Considerando o tempo máximo de 60 dias de gestação para a espécie (Betito, 2006), assumiu-se que ao final de três meses de manutenção em cativeiro, fêmeas potencialmente fecundadas em campo teriam parido e estariam com os ovários aptos a iniciar um novo ciclo reprodutivo.

Dessa forma, decorridos 90 dias desde a captura, as fêmeas de cada aquário foram estimuladas com a inserção de dois machos em gaiolas perfuradas durante cinco dias. Em seguida, estes e mais outros três machos foram liberados em cada aquário por outros cinco dias. Este procedimento teve por objetivo controlar o período da fecundação num curto intervalo de tempo (cinco dias) e assim permitir o monitoramento do tempo da gestação.

Um total de 26 machos foi posteriormente introduzido por outros cinco dias em um aquário complementar (V), que continha 35 fêmeas não incluídas no experimento de cultivo e gestação por apresentarem tamanhos diminutos por ocasião da captura no campo. Este procedimento teve o propósito de potencializar a fecundação destas ao introduzir um maior número de machos, assumindo que, pelo reduzido tamanho na ocasião da coleta, essas fêmeas nunca teriam copulado e, portanto, não apresentariam estoque de sêmen, caso da superfecundação, registrada em algumas espécies de Poeciliidae (Turner, 1937; Scrimshaw, 1945; Pires *et al.*, 2010; ).

Com o objetivo de verificar a ocorrência de sincronia ovárica, decorridos os cinco dias da liberação dos cinco machos nos aquários, todas as fêmeas do aquário  $\delta$  foram eutanasiadas por overdose de Benzocaína ( $250 \text{ mg.L}^{-1}$  diluída previamente em 5 ml de etanol) durante dez segundos. Para cada um dos demais aquários ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ), a partir de 25 de novembro de 2013 uma fêmea foi aleatoriamente selecionada a cada 48 h, intercalando os aquários (em um dia  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , no dia seguinte  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ), de forma que a cada 24 h obteve-se duas ou três fêmeas potencialmente fecundadas e que deveriam apresentar a esperada cronologia do desenvolvimento embrionário. Dez fêmeas do aquário complementar V foram selecionadas para verificação do grau de desenvolvimento do ovário, considerando que decorridos quatro meses desde que foram expostas aos machos, não evidenciaram sinal de gestação ou parição.

As fêmeas de todos os aquários foram eutanasiadas como foi descrito anteriormente, sendo registrado o seu tamanho (comprimento total; CT, mm). Em seguida, receberam uma aplicação via abertura urogenital de 4 % de formaldeído com a finalidade de garantir a fixação do ovário e embriões e posteriormente foram fixadas por imersão na mesma solução durante cinco dias e transferidas para 70 % de etanol para conservação.

Em laboratório, cada fêmea foi eviscerada e teve seu ovário removido e desidratado em concentrações crescentes de etanol, iniciando com 80 % até 100 %, três vezes por dez minutos em cada concentração. Após este processo, os ovários foram diafanizados em xilol três vezes por cinco minutos, infiltrados e incluídos em Paraplast® três vezes por 35 min até a obtenção dos blocos.

### **Processamento histológico**

Cortes longitudinais de 5  $\mu\text{m}$  utilizando o micrótomo foram submetidos a colorações de rotina com solução aquosa de Hematoxilina de Harris (Sigma), um corante acidofílico que evidencia

além de outras estruturas o núcleo das células, e com solução alcóolica de Eosina que tem afinidade por substâncias básicas presentes no citoplasma das células.

As imagens foram obtidas utilizando-se câmera Olympus DP71 de 12,5 mega pixels acoplada a um microscópio Olympus BX51. Além da análise dos cortes histológicos, os embriões fixados em 4 % de paraformaldeído foram fotografados inteiros em uma câmera Leica DFC550 de 12,5 mega pixels acoplada à estereomicroscópio Leica modelo M205 FA.

### **Cronologia do desenvolvimento**

Para a caracterização de estádios de desenvolvimento embrionário de *J. multidentata*, os seguintes aspectos foram considerados: a ocorrência de vitelo (CSV), a pigmentação da íris, o grau de desenvolvimento de estruturas como os olhos e as nadadeiras, a extensão, a forma do corpo e os padrões gerais de pigmentação. Além disso, foi computada a frequência de ocorrência desses aspectos nos embriões das 155 fêmeas cultivadas para a gestação e em cerca de outros 1.800 ovários investigados nos demais capítulos desta dissertação.

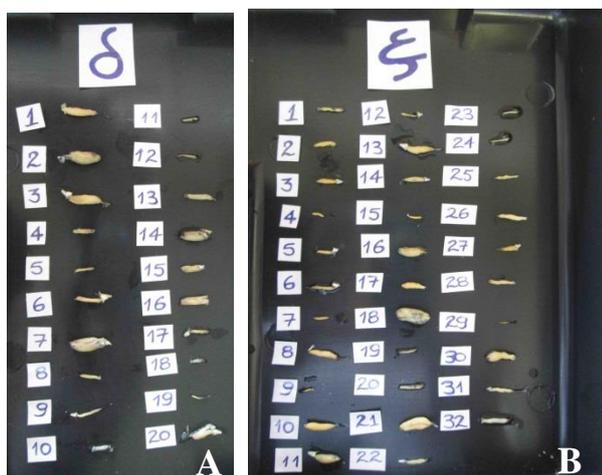
As etapas iniciais de segmentação, morfogênese e organogênese (gastrulação) não foram frequentes nos mais de 2.000 ovários analisados sob microscópio estereoscópico. Este fato pode estar relacionado a uma maior velocidade em que estas etapas ocorrem, quando comparadas as posteriores. Dessa forma, essas etapas iniciais não foram contempladas nesta proposta.

### **Relação entre a massa embrionária e dos tecidos ováricos**

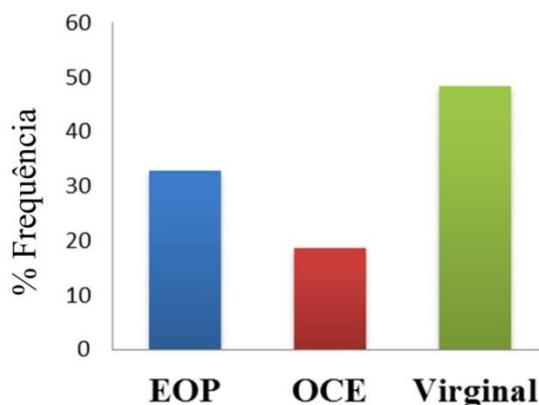
A partir da classificação proposta para o desenvolvimento embrionário, foram selecionadas 93 fêmeas grávidas de *J. multidentata* de três ambientes costeiros do norte fluminense que conjuntamente contemplassem todo o espectro das fases. Os 15 lotes de embriões de cada uma das fases e os respectivos tecidos ováricos foram desidratados em estufa a 65 °C por 12 h e em seguida pesados em balança analítica (cinco casas decimais) para obtenção do peso seco. Uma ANCOVA foi aplicada com a finalidade de avaliar a relação entre o peso seco do lote de embriões (variável resposta) e os respectivos tecidos ováricos (variável categórica contínua) entre as fases de desenvolvimento (variável preditora categórica). O pressuposto de normalidade dos resíduos da ANCOVA foi alcançado. As análises estatísticas foram realizadas com o uso do programa Statistica (Statsoft, 2007) e o nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Foi verificada uma grande variação no grau de desenvolvimento dos ovários das fêmeas de *J. multidentata* ao final de 170 dias do experimento de cultivo e gestação. A variação nas dimensões dos ovários das fêmeas do aquário  $\delta$  ao final dos cinco dias da liberação dos machos revelou uma ausência de sincronia ovárica (Figura 1). Das 155 fêmeas que foram analisadas no experimento de cultivo e gestação, 51 apresentaram embriões com olho pigmentado, 27 apresentaram embriões em fases iniciais de desenvolvimento e 77 apresentaram ovários virginais (Figura 2). O tamanho dessas fêmeas variou entre 34,47 e 68,48 mm (média  $\pm$  desvio-padrão: 47,66  $\pm$  6,95 mm). A ordenação cronológica dos ovários removidos das 155 fêmeas revelou ausência de sequência crescente no desenvolvimento embrionário em todos os aquários que funcionaram como réplicas, como se constata na exemplificação do aquário  $\zeta$  (Figura 1B).



**Figura 1.** Variação nas dimensões dos ovários nos aquários  $\delta$  (cinco dias após a potencial fecundação) (A) e  $\zeta$  (54 dias após a potencial fecundação) (B), evidenciando ausência de sincronia no desenvolvimento embrionário.



**Figura 2.** Classificação dos ovários das 155 fêmeas submetidas ao experimento de cultivo e gestação. EOP (embriões com olho pigmentado), OCE (ovos com embrião em fase inicial).

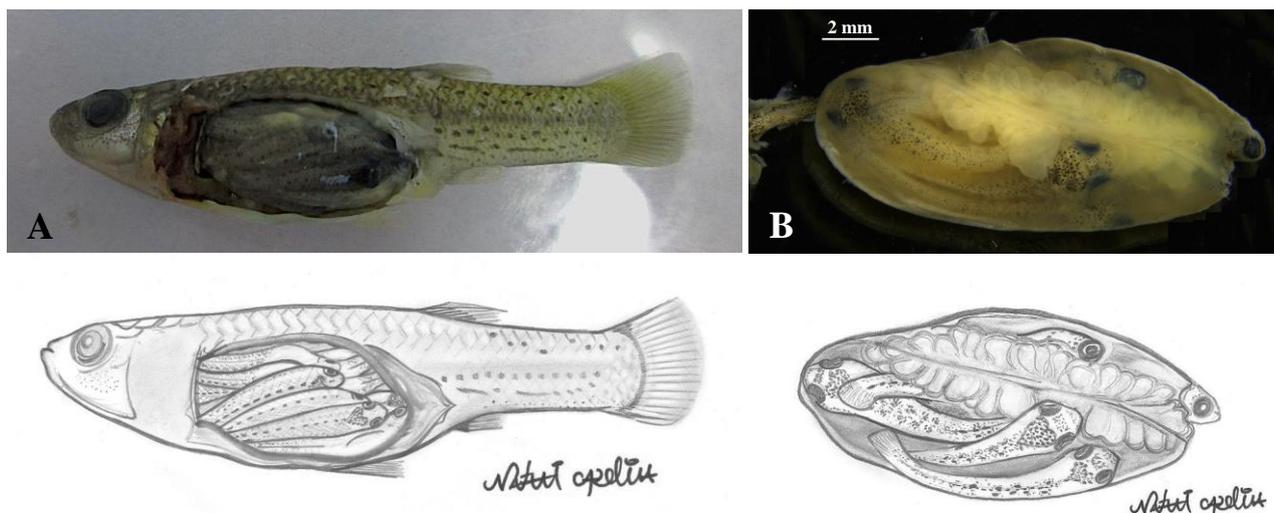
Para o grupo das 10 fêmeas do aquário V, a média do CT foi de 41,84  $\pm$  2,94 mm. Os cortes histológicos efetuados em seus ovários revelaram apenas a ocorrência do processo de ovogênese e ovos fecundados (Figura 4DE). Considerando que não foi registrada uma sequência cronológica no desenvolvimento dos embriões em nenhuma das unidades amostrais, o experimento falhou em determinar o tempo da gestação de *J. multidentata*. Apesar de serem observados acasalamentos e comportamentos de perseguição de fêmeas pelos machos, não foi possível determinar se esses

efetivamente estavam aptos a fecundar as fêmeas, ou se mesmo apresentando ovários em foliculogênese, as fêmeas seriam capazes de entrar em gestação sob condições de cativeiro. Adicionalmente, não foi detectada a ocorrência de espermatozóides em nenhuma das 80 lâminas histológicas analisadas.

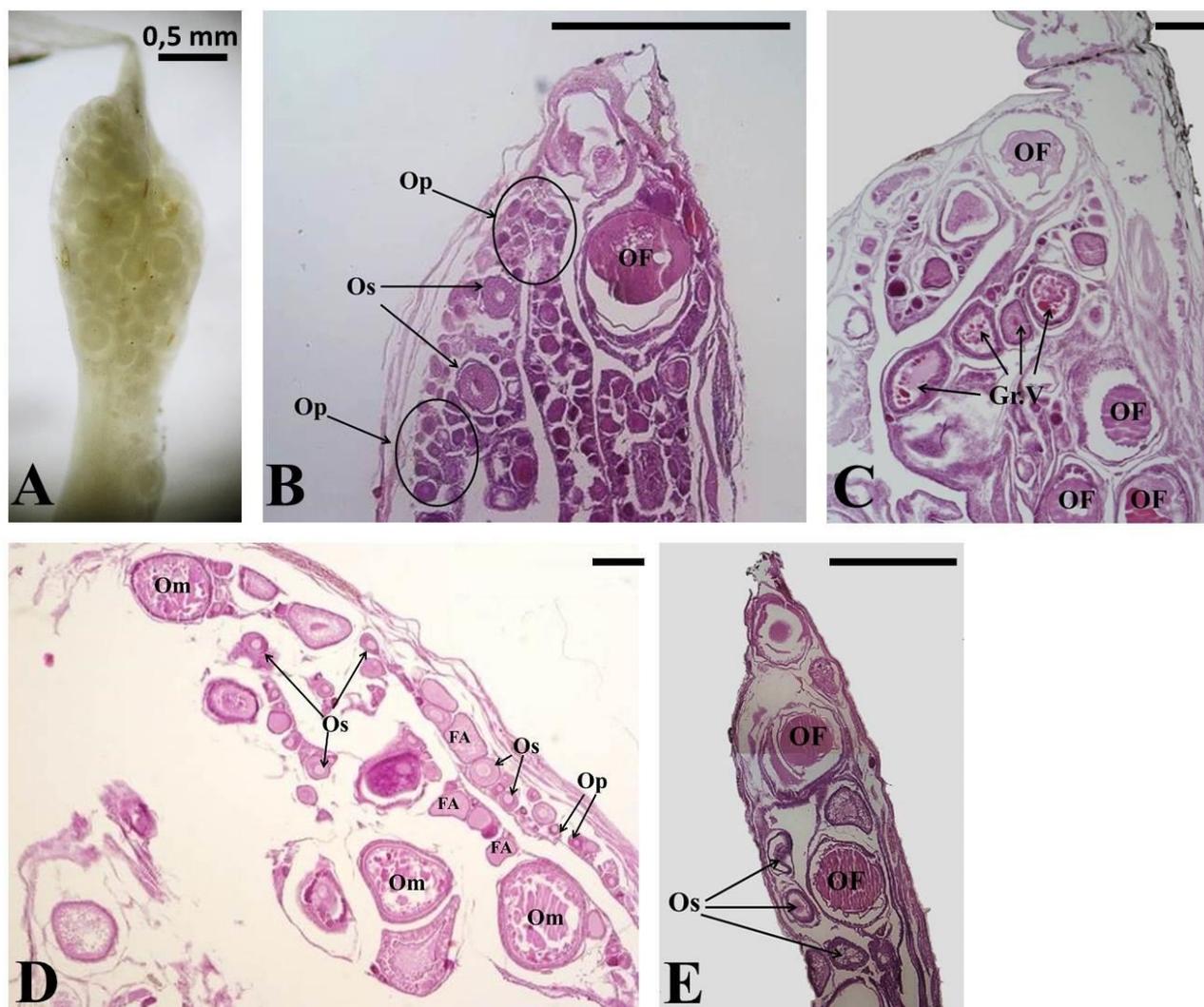
### Morfologia ovariana

Posicionado na porção ventral da cavidade peritoneal, o ovário de *J. multidentata* apresenta um aspecto alongado e se distende no sentido crânio-caudal continuando em oviduto, que se projeta para o meio externo através do poro genital. Na ocorrência de embriões, o ovário apresenta um pregueamento interno e se expande lateralmente, ocupando grande parte da cavidade peritoneal, deslocando o intestino para a porção dorsal (Figura 3A). Já em fases mais avançadas de desenvolvimento embrionário, a membrana que recobre o ovário tem sua espessura reduzida, o que possibilita a observação dos embriões que se organizam numa sequência de cabeça e nadadeira caudal, sugerindo uma forma de otimizar o uso do espaço (Figura 3B).

As análises histológicas permitiram identificar a ocorrência de células germinativas/ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento na totalidade das 80 lâminas analisadas: ovócitos em crescimento primário e secundário, ovócitos maduros (em vitelogênese), assim como ovos fertilizados e folículos atresícos (Figura 4AE) concentrados na região cefálica do ovário. A ocorrência deste tipo de células foi observada macroscopicamente em mais de 95 % dos 155 ovários analisados (Figura 4C).



**Figura 3.** Imagem fotográfica e representação esquemática de fêmea de *Jenynsia multidentata* em estágio avançado de gravidez (A) e orientação dos embriões no sentido cabeça-nadadeira caudal (B), sendo que um deles apresenta a cabeça projetada para a porção externa do ovário na porção caudal (à direita).

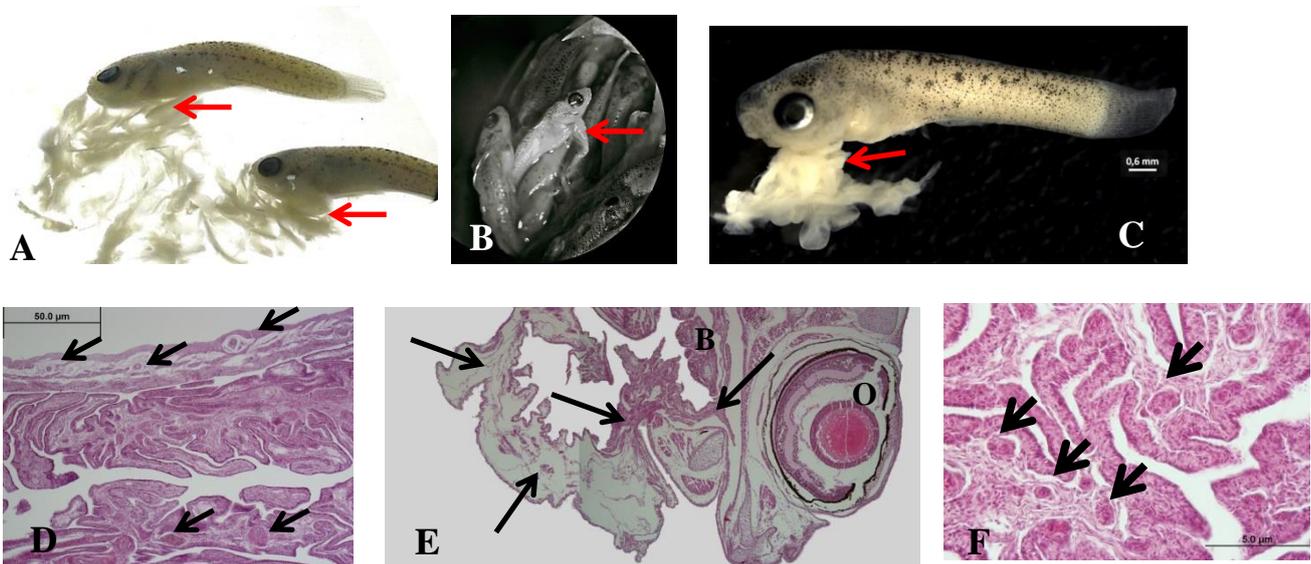


**Figura 4.** Região cefálica do ovário de *Jenynsia multidentata* identificando ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento observados macroscópica (A) e microscopicamente (B, C) e ovários do aquário V [D (aberto) e E]. Gr.V: Grânulos de vitelo; Op: Ovócito primário; Os: Ovócito secundário; Om: ovócito maturo. Além dos diferentes estádios dos ovócitos, são identificados os ovos fecundados (OF) e os folículos atrésicos (FA). Barra de escala = 20  $\mu$ m.

### Estrutura de conexão fêmea-embrião

Durante a contabilização dos embriões, foi visualizado um cordão proveniente das dobras do tecido ovárico semelhante a uma guirlanda (Figura 5A), que se projetava para a cavidade bucofaríngea dos embriões pelas brânquias e pela boca (com menor frequência). A ocorrência desta estrutura foi observada em embriões com corpos mais desenvolvidos (esticados) e com maior grau de pigmentação (Figura 5B). Todos os embriões de uma mesma ninhada apresentavam conexão com o

tecido ovárico através desta estrutura, que pareceu se manter até os estádios finais de desenvolvimento, quando os embriões aparentavam estarem prontos para o nascimento. As análises histológicas permitiram inferir que tanto o cordão quanto as dobras do tecido ovárico são vascularizadas (Figura 5D-F).



**Figura 5.** Detalhes macroscópicos do cordão de tecido ovárico de *Jenynsia multidentata* penetrando os embriões por suas brânquias (A-C), e microscópicos da ocorrência de vascularização no tecido ovárico (setas pretas) (D, 4x), do cordão (←) penetrando as brânquias (E, B), do posicionamento do olho (E, O) (E, 20x) e a ocorrência de vasos sanguíneos (setas pretas) nas dobras do tecido ovárico (F, 20x).

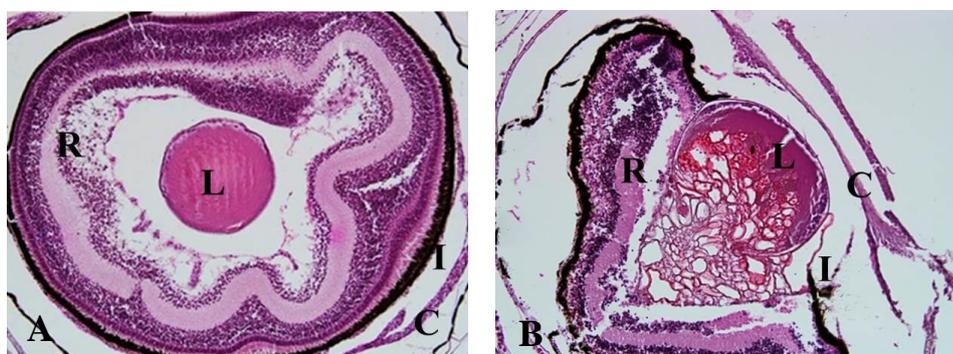
Somente três dentre os 90 ovários com embriões analisados no experimento de cultivo apresentaram dois embriões de dimensões inferiores aos demais embriões da ninhada, o que sugere a ausência de desenvolvimento simultâneo de mais de uma ninhada no mesmo ovário (Figura 6).



**Figura 6.** Registro de um dos casos pouco frequentes de variação no tamanho dos embriões de um mesmo ovário em *Jenynsia multidentata*. Barra de escala = 1 mm.

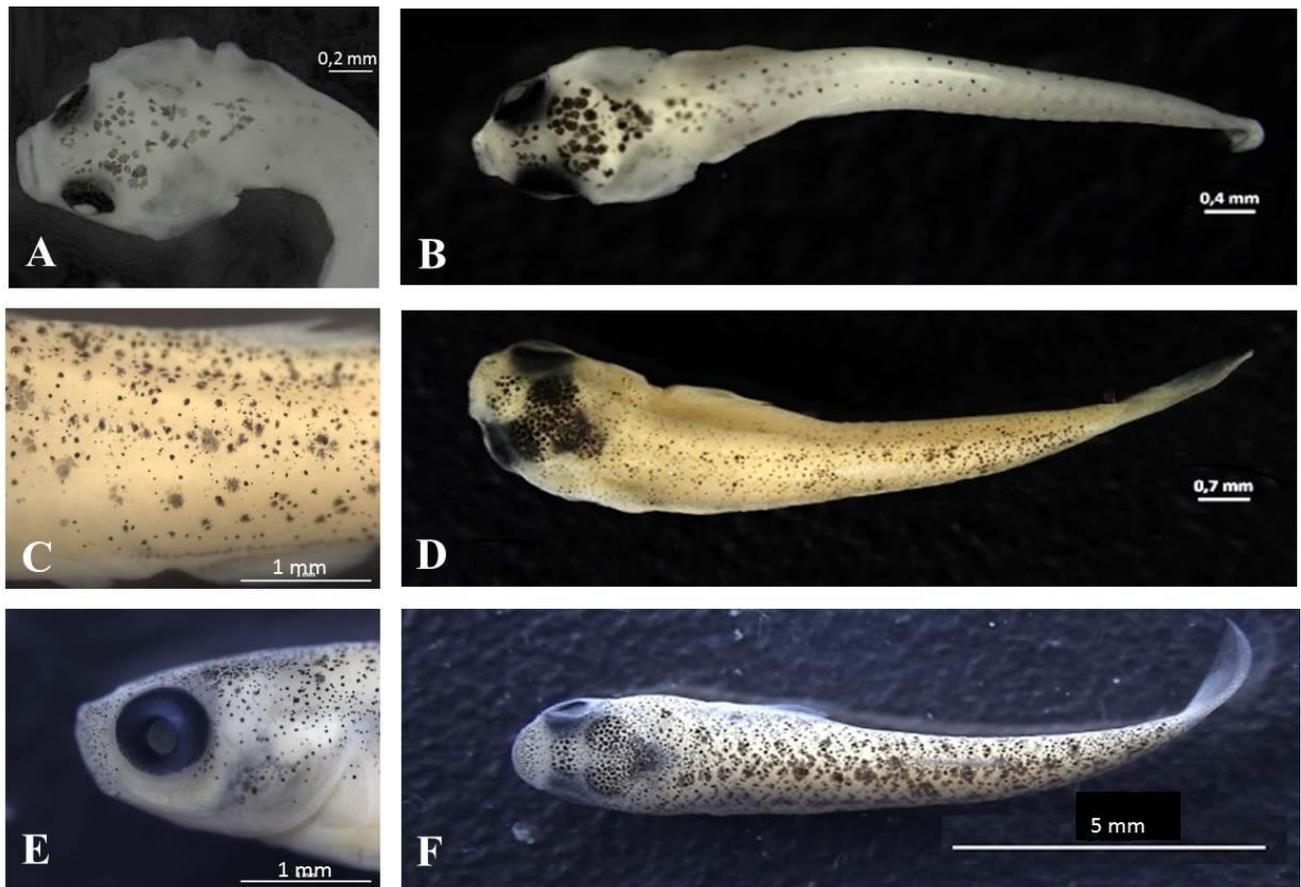
## Padrões de pigmentação dos embriões

Os primeiros sinais de pigmentação nos embriões foram detectados na íris, retina e na região dorsal da cabeça. Na retina, a pigmentação foi verificada em estágios iniciais do desenvolvimento embrionário, sendo que o globo ocular foi a primeira porção do corpo a se apresentar completamente pigmentada (Figura 7). A pigmentação do corpo foi mais gradual em relação à do globo ocular (Figura 8) e se apresentou mais intensa quando os embriões apresentavam o corpo totalmente esticado, sendo possível identificar três linhas de melanóforos punctiformes ao longo do dorso (Figura 8B), uma em cada linha lateral e na base das nadadeiras dorsais e anais.



**Figura 7.** Microfotografia de olho completamente pigmentado de *Jenynsia multidentata*, evidenciado em corte transversal (A) e longitudinal (B). R: retina, L: lente, C: córnea, I: íris.

Melanóforos dendríticos passaram a ser detectados com o aumento no comprimento e espessura do embrião (Figura 8CD). Nos embriões de maiores tamanhos, possivelmente imediatamente antes do nascimento, a pigmentação foi tão intensa que os melanóforos agrupados se assemelhavam a manchas (Figura 8F). As regiões próximas à boca e aos olhos foram as últimas a se pigmentar (Figura 8E). Na região dorsal da cabeça, verificou-se um agrupamento de melanóforos punctiformes assemelhado a um coração (Figura 8D-F).



**Figura 8.** Melanóforos punctiformes no dorso da cabeça (A) de embriões de *Jenynsia multidentata*, mais densos, semelhantes a um coração e outros alinhados ao longo do dorso (B), dendríticos dispersos lateralmente (C), de maior intensidade e aumento na extensão e intensidade da pigmentação na região da cabeça (D) e do dorso (DF).

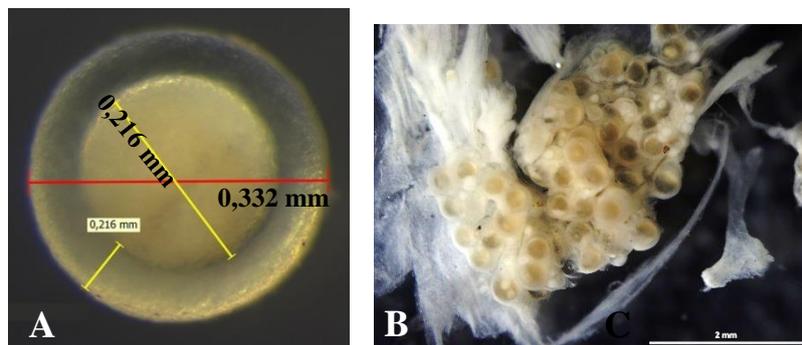
## CARACTERIZAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

A análise morfohistológica dos embriões de *J. multidentata* permitiu agrupá-los em oito fases de desenvolvimento, que contemplam desde a Fase 1, o ovo fecundado (ovum) à Fase 8, na qual os embriões estão prontos e prestes a nascer.

### Fase 1: Ovo fecundado

O ovo fecundado de *J. multidentata* mede aproximadamente 0,330 mm de diâmetro (Figura 9A), apresenta grânulos de vitelo e uma zona perivitelínica delimitada (Figura 10AB). Na maior parte das observações, os ovos estavam livres no ovário, porém também foram vistos agrupados, formando conjuntos de ovos na região cefálica (Figura 9B), de onde parece que migram para aderir à

parede do ovário em diferentes pontos na continuidade do desenvolvimento. Nessa fase, os tecidos ováricos estão geralmente pregueados.



**Figura 9.** Detalhes da Fase 1, apresentando as dimensões do ovo fecundado (A) e a variação de ovos fecundados agrupados (B) de *Jenynsia multidentata*.

### **Fase 2: Esboço da vesícula óptica**

O embrião se encontra despigmentado, apresenta-se curvado, com um diâmetro aproximado de 0,9 mm. A capa sincicial do vitelo (CSV) é abundante, sendo possível diferenciar três regiões: a cefálica, a corporal e a terminal. O esboço da vesícula óptica torna-se evidente e os somitos apresentam uma aparência pontiaguda, que indica a sua futura divisão em massas musculares dorsais (epiaxiais) e ventrais (hipoaxiais) (Kimmel *et al.*, 1995) (Figura 10CD). Os embriões estão encaixados nas dobras do tecido ovárico, que é espesso.

### **Fase 3: Início da pigmentação dos olhos**

O embrião ainda apresenta-se curvado, com um diâmetro aproximado de 1,5 mm. A CSV está presente na maioria dos embriões. É evidente o maior desenvolvimento da região cefálica, que representa aproximadamente 30 % do tamanho corporal. A pigmentação dos olhos inicia na retina e a pigmentação no dorso da cabeça é detectada em poucos embriões. Em nível microscópico, se identifica o nervo óptico, de três a cinco arcos branquiais com tecido conjuntivo hialino, a notocorda, o fígado ocupando grande parte da cavidade abdominal, assim como porções do intestino (Figura 10EF). A partir dessa fase é possível realizar a contagem dos embriões, diferenciados uns dos outros pela pigmentação da retina.

### **Fase 4: Broto da nadadeira caudal**

O corpo dos embriões começa a se estender, mas é delgado, com pouca massa muscular e de coloração translúcida. A baixa frequência de embriões nessa fase e a maior variabilidade em seus

tamanhos dificulta a estimativa de seu comprimento total. Nessa fase, a cabeça representa 25 % do tamanho corporal. Observa-se o início do desenvolvimento da nadadeira caudal. É visível a comissura da boca. As retinas estão totalmente pigmentadas e os primeiros melanóforos punctiformes são identificados na região dorsal. Ainda se observam resquícios da camada sincicial do vitelo (Figura 10GH).

#### **Fase 5: Brotos das nadadeiras dorsal e anal**

A cabeça está mais desenvolvida e no dorso se concentram melanóforos punctiformes, cujo agrupamento se assemelha à forma de um coração. O corpo adquire maior espessura e na maioria dos embriões o tronco está totalmente distendido, atingindo aproximadamente 5 mm. Observam-se melanóforos punctiformes dispersos nos flancos. Em alguns embriões, são ainda visíveis os resquícios da capa sincicial do vitelo (CSV). São visíveis a comissura da boca, o opérculo e as nadadeiras dorsal e anal (Figura 10IJ).

#### **Fase 6: Intrusão das dobras ováricas**

Não são mais evidentes os resquícios da CSV. O embrião está totalmente distendido, seu comprimento total é variável (~6,25 mm), porém existe uma maior proporcionalidade entre a cabeça e o corpo. A pigmentação é a característica mais conspícua para a identificação dessa fase, pois aumenta a concentração de cromatóforos punctiformes grandes no dorso da cabeça e são evidentes três linhas de cromatóforos punctiformes mais finos ao longo do dorso e em cada linha lateral. As nadadeiras ímpares estão muito mais desenvolvidas e observam-se raios na nadadeira caudal, que está arredondada (Figura 10KL). As dobras da mucosa ovárica se projetam sob os opérculos do embrião e penetram profundamente na cavidade branquial.

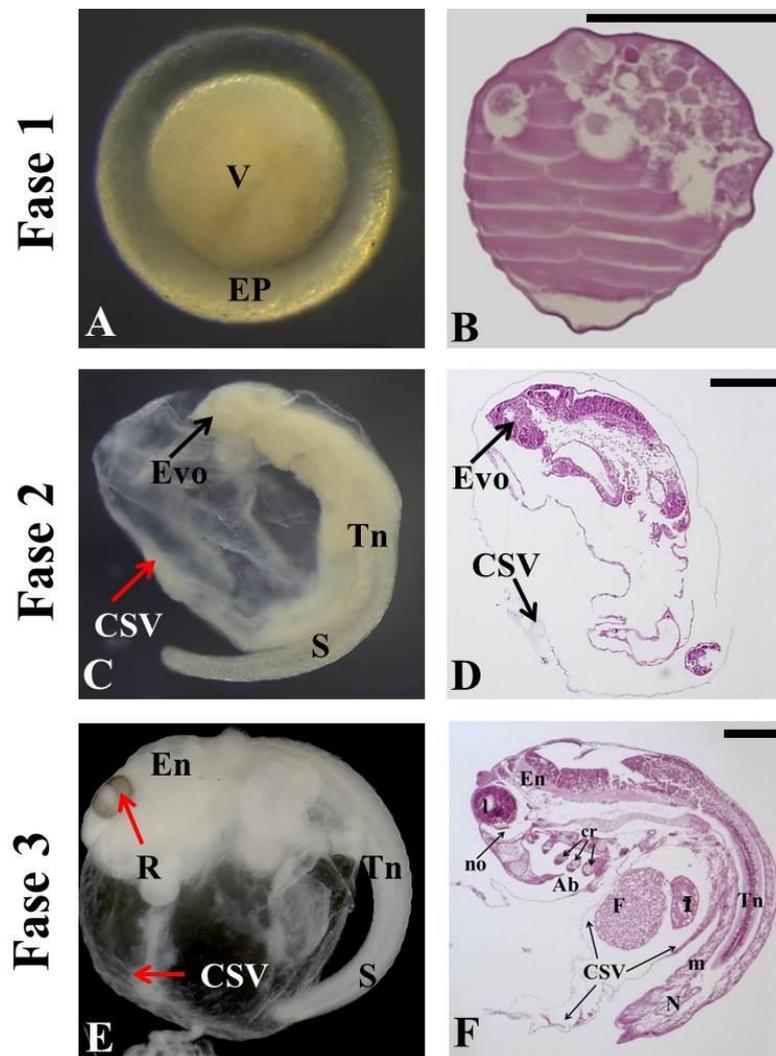
#### **Fase 7: Ocorrência de melanóforos dendríticos**

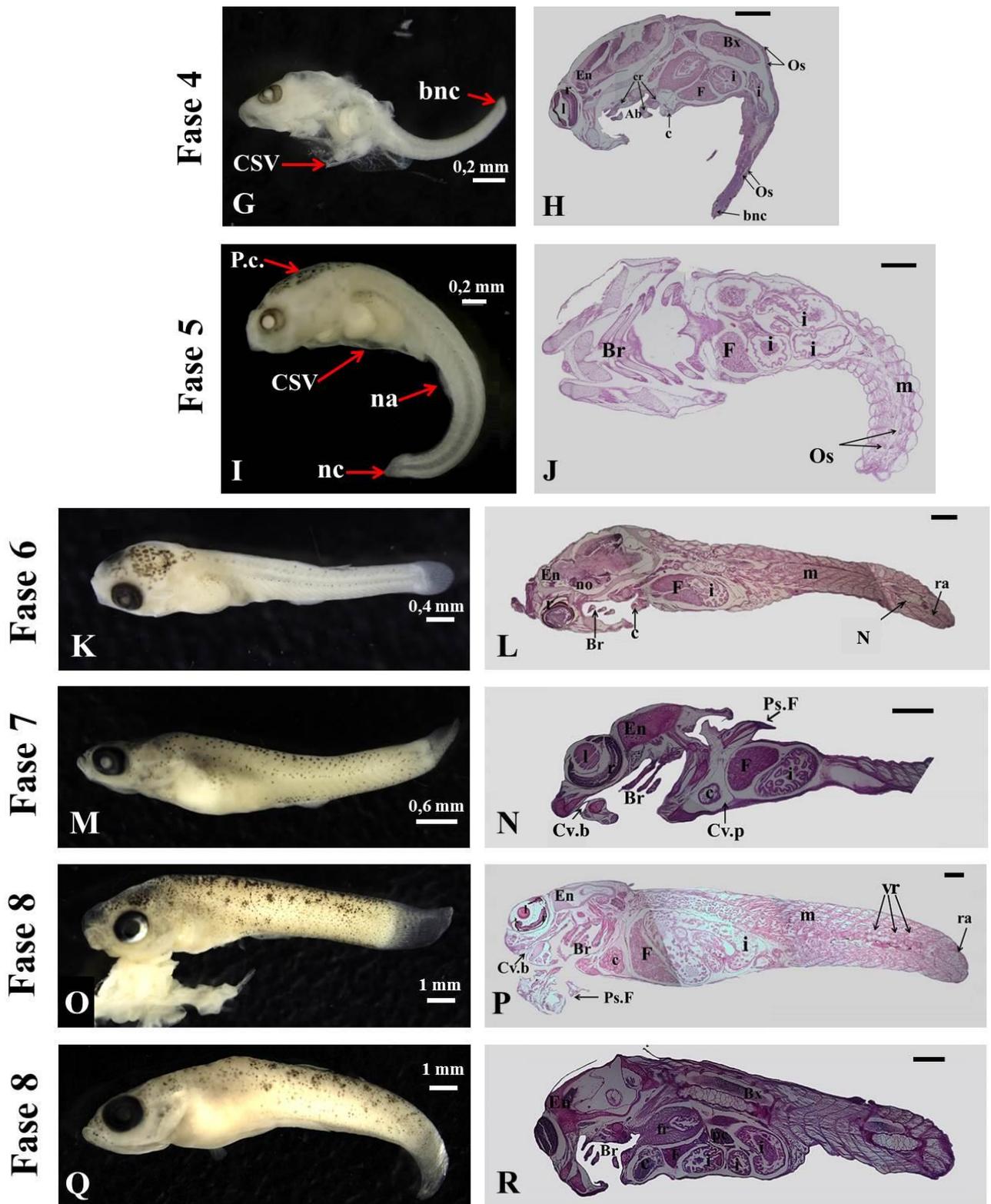
O corpo está muito mais desenvolvido, variando entre 6,85 e 9 mm. Melanóforos dendríticos são identificados e a pigmentação é mais intensa na região mandibular, dorso e lateral da cabeça, avançando em direção caudal. É possível identificar a boca superior. Os embriões estão conectados aos tecidos ováricos através de um cordão (pseudoplacenta branquial) (Figura 10MN).

#### **Fase 8: Próximo ao nascimento**

O corpo está muito mais robusto, o pedúnculo caudal espesso em relação à fase anterior e comprimento varia entre 11,58 e 14,34 mm (n=15;  $13,14 \pm 0,92$  mm). A pigmentação está distribuída por todo o corpo, com maior intensidade na região dorsal, que apresenta dois padrões de

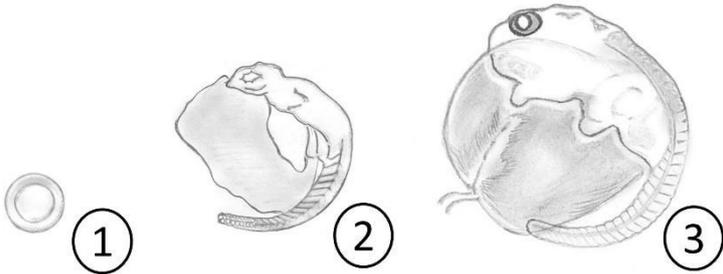
melanóforos: dendríticos (ou ramificados) e manchas (melanóforos punctiformes unidos). Todas as camadas da retina adquirem a pigmentação final (Figura 10OP). É possível ainda encontrar embriões conectados ao tecido ovárico através do cordão (pseudoplacenta branquial) (Figura 10OPQR).



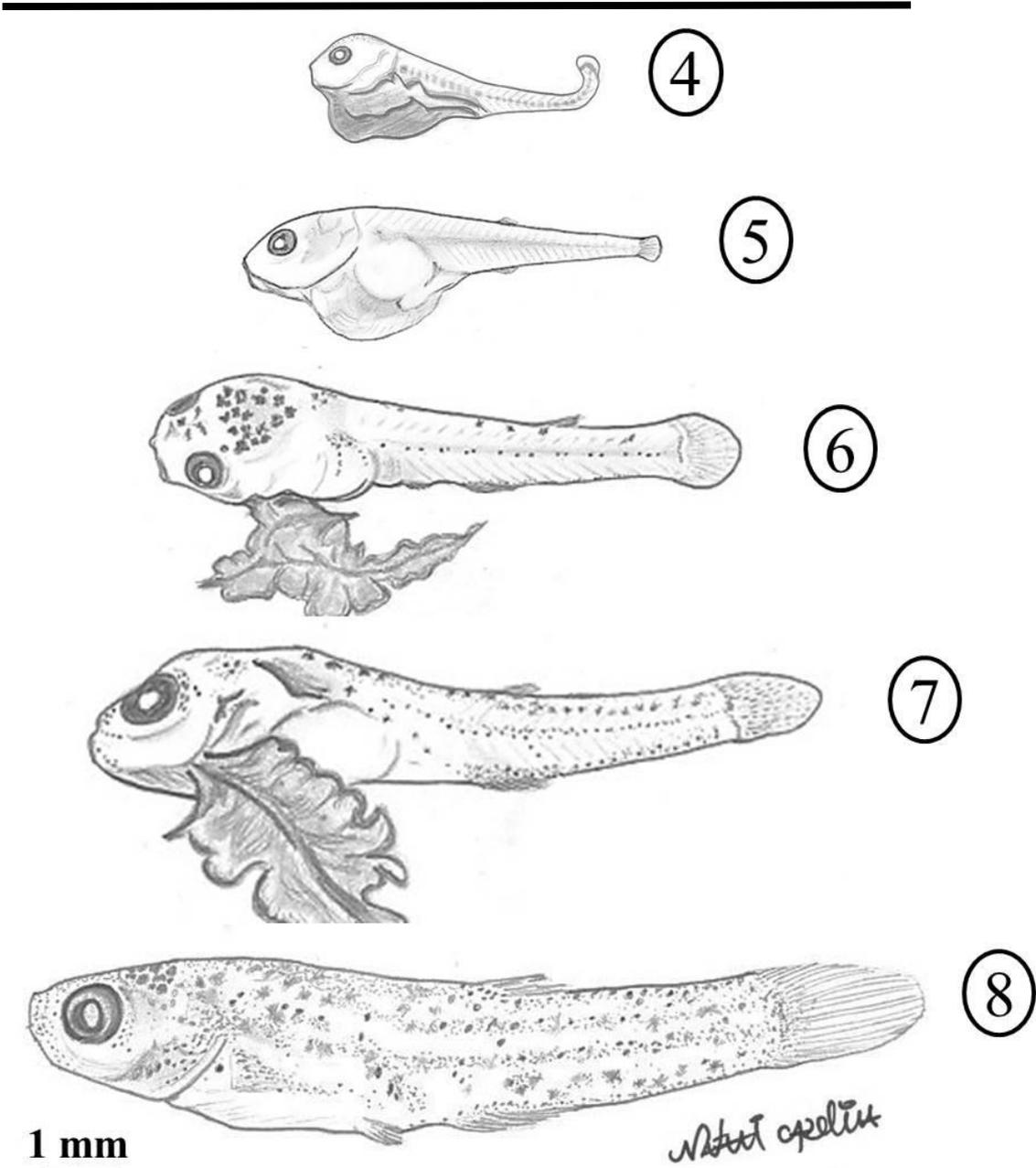


**Figura 10.** Fases de desenvolvimento embrionário de *Jenynsia multidentata* **Ab:** arco branquial; **bnc:** broto nadadeira caudal; **Br:** brânquias; **Bx:** bexiga natatória; **c:** coração; **cr:** cartilagem; **Cv.b:** cavidade bucofaringea; **Cv.p:** cavidade pericardial; **CSV:** camada sincicial do vitelo; **En:** encéfalo; **EP:** espaço perivitelinico; **Evo:** esboço da vesícula óptica; **F:** fígado; **fr:** faringe; **Gr:** grânulos de vitelo; **i:** intestino; **l:** lente; **m:** miômeros; **N:** notocorda; **na:** nadadeira anal; **nc:** nadadeira caudal; **no:** nervo óptico; **O:** olho; **Os:** osteócitos; **Pc:** Pigmentação na cabeça. **Ps.F:** Pseudoplacenta folicular/branquial; **R:** retina **ra:** raios; **S:** somitos; **Tn:** tubo neural; **vr:** vértebras; **V:** vitelo. Barra de escala = 20 µm.

DIAGRAMA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE *JENYNSIA MULTIDENTATA*



0,5 mm



1 mm

*Jenynsia multidentata*

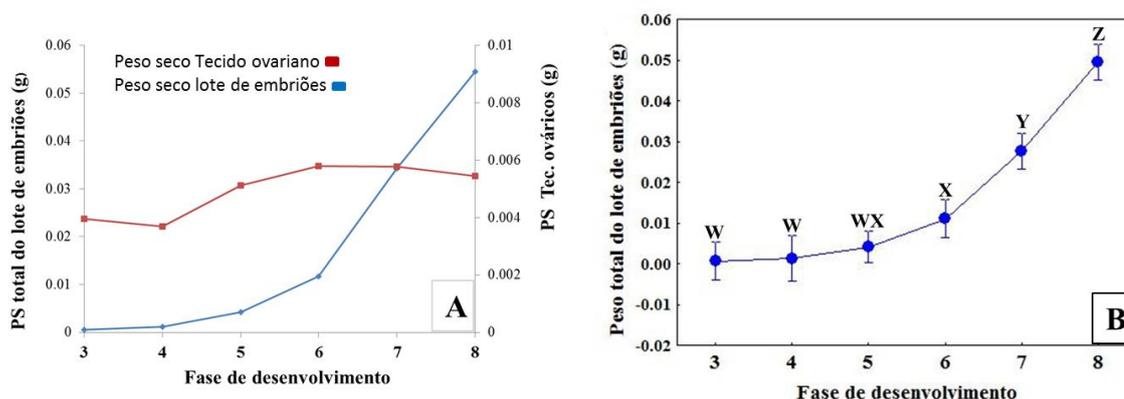
## Varição da massa embrionária durante o desenvolvimento

As observações macroscópicas dos ovários e embriões de 93 fêmeas evisceradas para esta abordagem (mais aproximadamente outras 900 investigadas nos demais capítulos desta Dissertação) revelam que, quando se aproxima o nascimento, o grupo de embriões está coberto por uma fina camada da membrana ovárica. Isto poderia sugerir uma redução no volume dos tecidos ováricos com o desenvolvimento dos embriões (Tabela 1). Porém, quando plotados os valores da massa seca dos tecidos ováricos e do peso do lote de embriões de cada fêmea, se verifica um aumento do peso de ambos (Figura 11A), menos marcado nos tecidos ováricos em relação ao lote de embriões.

**Tabela 1.** Número de fêmeas de *Jenynsia multidentata* dissecadas de cada lagoa costeira do norte fluminense (n) e variação nos valores (média  $\pm$  desvio-padrão) do peso seco do lote de embriões (E) e do tecido ovárico (TO) entre as Fases 3 e 8, porcentagem da razão entre o PS dos embriões e os Tecidos Ovários (E/TO).

Fase	n			Peso seco (g)		
	Pitanga	Catingosa	Garça	Embriões (E)	Tecido ovárico (TO)	E/TO (%)
3	0	6	9	0,000595 $\pm$ 0,000299	0,003965 $\pm$ 0,002006	15
4	2	9	4	0,001132 $\pm$ 0,000573	0,003691 $\pm$ 0,001549	31
5	10	3	5	0,004248 $\pm$ 0,002547	0,005118 $\pm$ 0,002355	83
6	5	3	7	0,011779 $\pm$ 0,005645	0,005802 $\pm$ 0,001693	203
7	5	3	7	0,034272 $\pm$ 0,024948	0,005784 $\pm$ 0,002416	593
8	2	6	7	0,054553 $\pm$ 0,019733	0,005455 $\pm$ 0,001598	1000

A análise que avaliou a relação entre a massa embrionária e a ovariana entre as fases de desenvolvimento detectou um aumento significativo no peso do conjunto de embriões durante o desenvolvimento desses, especialmente entre as três últimas fases (6 a 8) ( $F = 62,424$ ;  $r^2 = 0,880$ ; g.l. = 11;81;  $p < 0,001$ ) (Figura 11B).



**Figura 11.** Relação entre os pesos dos lotes de embriões e dos tecidos ováricos de *Jenynsia multidentata* durante as fases de desenvolvimento propostas neste estudo (A), aumento da massa seca embrionária (média  $\pm$  IC 0,95) em cada fase do desenvolvimento (B). Letras diferentes indicam médias que diferem significativamente entre si.

## DISCUSSÃO

Este estudo representa o primeiro esforço em propor uma ferramenta metodológica baseada em critérios macroscópicos para classificação do desenvolvimento embrionário de *J. multidentata*, uma espécie de Cyprinodontiformes amplamente distribuída pela costa leste Sulamericana. As análises macroscópicas e microscópicas dos ovos e embriões possibilitaram a identificação de oito fases de desenvolvimento embrionário. A primeira, partindo do ovo fecundado; as intermediárias (2, 3, 4 e 5) foram caracterizadas pela presença da capa sincicial do vitelo, padrões de pigmentação dos olhos e dorso da cabeça e aparecimento dos primórdios das três nadadeiras ímpares: caudal, dorsal e anal; e as fases mais avançadas (6, 7 e 8) se caracterizaram pela intrusão das dobras ováricas através das brânquias, o estiramento do corpo assim como uma maior intensidade na pigmentação corporal e aumento da massa muscular. A única iniciativa de atribuição de fases de desenvolvimento para *Jenynsia* detectada na literatura foi o estudo de circulação limitada de Andreatta & Novaes (1996), realizado a partir de amostragens de *J. lineata* na Lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro. Nele, os autores propõem sucintamente quatro fases que caracterizariam o desenvolvimento embrionário da espécie, não fornecendo uma caracterização morfológica dessas, tampouco fazendo referência ao número de embriões e ovários analisados. Os trabalhos de Hylton (1918) e Siccardi (1940), são as únicas referências descritivas e complementares de informações sobre o desenvolvimento inicial de *Jenynsia lineata*. Considerando que Siccardi (1940) focou seu estudo na fase que compreende a fertilização e a gastrulação, não contempladas nesta proposta, os seus resultados não serão discutidos.

A maioria de trabalhos sobre o desenvolvimento inicial em Cyprinodontiformes contempla espécies de Poeciliidae. Há duas décadas, Jody Haynes propôs uma padronização na classificação do padrão do desenvolvimento embrionário dos peixes desta família, reunindo critérios de classificações prévias elaboradas por mais de uma dezena de autores para espécies como *Poecilia vivipara* (lecitotrófica, com superfetação), *Gambusia affinis* (lecitotrófica, sem superfetação), *Xiphophorus maculatus* e *Heterandria formosa* (matrotólicas, com superfetação), entre outras. Utilizando *H. formosa* e *G. affinis* como organismos modelo, Haynes (1995) caracterizou 11 fases de desenvolvimento inicial de Poeciliidae, a partir do ovo imaturo. Em seu estudo, o desenvolvimento do olho foi adotado como um parâmetro importante para a identificação das fases. A diferença fundamental entre a presente proposta com *J. multidentata* e maioria dos trabalhos que contemplam a identificação de fases de desenvolvimento em peixes está na menor ênfase nas etapas de segmentação, morfogênese e organogênese, que não foram frequentes e tampouco de fácil

visualização neste estudo. Dessa forma, a presente classificação propõe na Fase 2 um embrião inicial com o esboço da vesícula óptica, e os critérios de classificação subsequentes se relacionam a mudanças morfológicas e fisiológicas do tecido ovárico, que, pelo menos para *J. multidentata*, parece desempenhar um papel muito importante na manutenção dos embriões especialmente a partir da Fase 6, quando o espaço ovárico se torna reduzido.

### **Estruturas de conexão materna e matrotrofia**

As estruturas de conexão materna se constituíram numa das características mais surpreendentes em *J. multidentata* e também notadas por Hylton (1918), quando a espécie era nomeada *Fiztrozia lineata*, e mais tarde por Turner em *Jenynsia lineata* (1940b). De acordo com Hylton (1918), o embrião cresce às expensas do material nutritivo armazenado no saco vitelínico. De fato, durante os estágios iniciais, quando os embriões apresentam menos de um terço do tamanho que apresentarão quando prestes a nascer, estão imersos em líquido ovárico e através dele devem realizar suas trocas gasosas. Porém, nas fases mais avançadas de desenvolvimento, devido ao seu maior volume, os embriões apresentam-se agrupados e fixos à membrana ovárica, sendo incapazes de mudar de posição (cabeça-nadadeira caudal). Nessa etapa, a renovação do líquido que os banha deve ser insignificante e possivelmente sejam essas estruturas maternas com as quais o embrião está em íntimo contato que provêem o oxigênio indispensável para sua respiração. Com a formação das escamas, a respiração pela epiderme possivelmente deve ser dificultada e a intrusão das membranas maternas nas cavidades branquiais dos embriões devem passar a suprir as suas demandas. Uribe *et al.* (2014) mencionam a ocorrência de uma placenta branquial em embriões de *Ilyodon whitei* (Goodeidae), espécie que apresenta o mesmo tipo de gestação intraluminal de *J. multidentata*. De acordo ainda com esses autores, quando as dobras ováricas entram pelo opérculo nas câmaras branquiais, podem se estender até a cavidade faríngea, sendo que a ocorrência de células escamosas permitiria inclusive que essas atingissem o trato digestivo/alimentar do embrião. Em algumas regiões, pela proximidade dos capilares entre os epitélios das dobras ováricas e dos embriões, ocorre o desenvolvimento uma estrutura placentária essencial para as trocas fisiológicas. Estes autores sugerem que fragmentos das dobras ováricas que poderiam conter ovócitos poderiam ser “tragados” pelos embriões e entrar no canal alimentar e sugere um papel matrotrófico complementar da câmara branquial e cavidade faríngea para a trofotenia, estrutura essencial para o intercâmbio metabólico.

Na matrotrofia, os embriões obtém a maior parte dos seus requerimentos nutricionais diretamente da mãe, através de estruturas foliculares modificadas (Wourms *et al.*, 1988). Alguns

autores consideram a matrotrofia como um caso verdadeiro de viviparidade (Scrimshaw, 1945) e acrescentam mais uma condição: a massa embrionária deve aumentar dramaticamente durante a gestação (Marsh-Matthews, 2011), sendo possível denominar a esta condição de “matrotrofia substancial”.

No presente estudo confirmou-se o vitelo como a primeira fonte de alimento dos embriões, ao evidenciar resquícios de sua capa sincicial nas Fases 2, 3, 4 e 5. Entretanto, quando os embriões aumentam em tamanho e o espaço intraovárico torna-se mais reduzido, as dobras do tecido ovárico passam a penetrar em cada embrião (Fase 6) pelas suas brânquias e em alguns casos pela boca (como menciona Turner, 1940b) na forma de cordões, que exercem presumivelmente uma função de transporte e excreção. As observações realizadas há praticamente um século e aquelas registradas no presente estudo sustentam a ideia de que *J. multidentata* seja uma espécie primariamente matrotrófica, que possui estruturas especializadas altamente vascularizadas para realizar a transferência de nutrientes e sustentar os embriões até o final da gestação, e um aumento progressivo da massa embrionária à medida que avança a gestação, pois entre as Fases 3 e 8, os embriões quintuplicam seu peso.

## **Superfetação**

De acordo com Pollux *et al.* (2009), existe uma estreita associação entre superfetação e matrotrofia, de forma que a origem de um desses processos tenha facilitado a evolução do outro. Por outro lado, um estudo anterior apresenta *Poeciliopsis monacha* como uma espécie com superfetação sem ser matrotrófica, o que sugere que nem sempre estas duas características estejam correlacionadas (Thibault & Schultz, 1978). Ainda com Poeciliidae, outros estudos revelam três de quatro possíveis combinações para os diferentes modos de reprodução: lecitotrofia sem superfetação, lecitotrofia com superfetação, matrotrofia com superfetação (Reznick & Miles, 1989; Pires *et al.*, 2010). De acordo com os resultados do presente estudo, *J. multidentata* poderia ser considerada uma espécie vivípara matrotrófica, sem superfetação. Recentemente, ao investigarem aspectos da história de vida de *Phalloceros anisophallos*, Almeida-Silva & Mazzoni (2014) registraram um aumento significativo do peso seco dos embriões ao longo do desenvolvimento, igualmente sem indícios de superfetação.

Dentre as evidências que sustentam as conclusões desse estudo, estão as células germinais localizadas na porção cefálica do ovário de *J. multidentata*, em pleno processo de diferenciação. Estas foram detectadas durante as análises dos lotes de embriões provenientes de fêmeas de

diferentes ambientes, ressaltando que todos os embriões de cada fêmea encontravam-se na mesma fase de desenvolvimento. A baixa frequência de embriões individuais que apresentaram um tamanho reduzido com relação ao tamanho de sua ninhada ou lote, poderia estar mais relacionada à perda de conexão pelo o cordão, do que representar casos de superfetação. Geralmente, o nascimento de uma ninhada ocorre antes que qualquer conjunto de ovócitos tenha amadurecido suficientemente para ser fertilizado. As observações efetuadas neste estudo indicam este mecanismo como o prevalente em *J. multidentata*, sustentado pelas constatações de todos os embriões de uma ninhada se encontrarem na mesma fase de desenvolvimento em um dado ovário. No caso de *Gambusia*, Turner (1937) observou que o grau no qual as células germinais mais jovens se desenvolvem enquanto os embriões são liberados varia amplamente. Ainda segundo este autor, durante a fertilização dos ovos e do tempo no qual os embriões são desenvolvidos, as células do seguinte lote são pequenas e podem permanecer latentes até que os embriões sejam paridos, para em seguida crescerem e se diferenciarem rapidamente até a próxima fertilização. Nesse trabalho, Turner (1937) compara os seus resultados com outro autor, o qual indicou que um número considerável de ovos atinge a maturidade ao mesmo tempo e são fertilizados dando origem a uma ninhada de filhotes. No entanto, distintos lotes de ovos atingem a maturidade em diferentes momentos e cada um desses poderia ser fertilizado separadamente por duas razões: a primeira porque todos os juvenis nascem ao mesmo tempo, não restando nenhum no ovário, e a segunda porque nos dez dias decorridos do nascimento, outro lote de ovócitos aproximadamente em mesmo número da ninhada nascida anteriormente se desenvolve, estando apto à fertilização. Para pecilídeos tropicais, com ciclos reprodutivos curtos, este processo pode ser repetido de acordo com as condições ambientais, podendo pelo contrário se tornar mais lento sob condições menos favoráveis ou até cessar sob condições adversas (Turner, 1937).

### **Período de gestação**

Adotando o cultivo de organismos e promovendo a fecundação em cativeiro, o presente estudo falhou em determinar o tempo de gestação de *J. multidentata*. Para a espécie, as únicas referências conhecidas são o estudo descritivo de Betito (2006), que sugere um intervalo amplo de gestação, entre 17 e 62 dias em ambientes costeiros do sul do Brasil e o de Bissaza *et al.* (2000), que indicam 40 dias, a partir de observações pessoais. No caso das fêmeas dos “barrigudinhos” a distensão abdominal geralmente é um indicador para estimar a gravidez (Betito, 2006), porém para as fêmeas investigadas no presente estudo, esta condição não foi uma preditora, já que fêmeas delgadas apresentaram desde ovários sem ovos e sem embrião até embriões em fases intermediárias e

inclusive em fase final, prestes à parição, fato que pode ter dificultado ainda mais o monitoramento da gestação. A ausência de sincronia no desenvolvimento embrionário observada nos ovários das fêmeas do experimento de cultivo poderia ser atribuída às condições de cativeiro, pois a manutenção sem a presença dos machos durante três meses poderia ter desestimulado seu comportamento reprodutivo. Outra razão poderia estar relacionada à capacidade das fêmeas em armazenar esperma entre as reentrâncias dos seus ovários, e dessa forma serem capazes de modular a fertilização dos lotes de ovócitos, observada em algumas espécies de Poeciliidae (Turner, 1937). A segunda alternativa parece mais remota para *J. multidentata*, pois não existem registros na literatura da ocorrência de uma espermateca ou compartimento especial intraovariano destinado a alojar os espermatozóides. Dentre as lâminas histológicas analisadas, não se observou a ocorrência de espermatozóides nos ovários. Em ambos os casos, no entanto, não seria possível controlar a fecundação com o delineamento experimental adotado no presente estudo.

Estudos futuros envolvendo controle hormonal e mecanismos fisiológicos relacionados com a formação e manutenção do embrião em *J. multidentata* poderiam elucidar estas questões e propor hipóteses para explicar o fato das fêmeas do aquário V, presumivelmente imaturas por ocasião de sua captura e mantidas isoladas dos machos durante os 90 dias seguintes não terem engravidado. Por fim, é interessante ressaltar que o estudo de características qualitativas da história de vida dos organismos como os modos reprodutivos são aspectos igualmente relevantes para entender o sucesso reprodutivo de um indivíduo, tais como os padrões de crescimento, tamanho e idade da primeira reprodução e o número de filhotes produzidos.

## REFERÊNCIAS

- Andreatta, V & J.L.C. Novaes. 1996. Aspectos reprodutivos de *Jenynsia lineata* Jenyns, 1842 (Osteichthyes, Anablepidae) da Lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro. *Acta Biologica Leopoldensia*, 18(2): 129–139.
- Almeida-Silva, P.H. & R. Mazzoni. 2014. Life history aspects of *Phalloceros anisophallos* Lucinda, 2008 (Osteichthyes, Poeciliidae) from Córrego Andorinha, Ilha Grande RJ, Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1–14.
- Betito, R. 2006. Comparação da complexidade das adaptações bioecológicas de dois peixes (*Jenynsia multidentata* e *Poecilia vivipara*) (Cyprinodontiformes) no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). *Revista Didática Sistêmica*, 3: 71–100.

- Bisazza, A., S. Manfredi & A. Pilastro. 2000. Sexual Competition, Coercive Mating and Mate Assessment in the One-Sided Livebearer, *Jenynsia multidentata*: Are They Predictive of Sexual Dimorphism. *Ethology*, 106: 961-978.
- Clutton-Brock, T.H. 1991. The evolution of parental care. Princeton: Princeton University Press.
- Fraser, D.F. & J.F. Gilliam. 1992. Nonlethal impacts of predator invasion: Facultative suppression of growth and reproduction. *Ecology*, 73: 959-970.
- Haynes J.L. Standardized classification of poeciliid development for life-history studies. *Copeia* 1995: 147-154.
- Helfman, G.S., B.B. Collette, B.B. & D.E. Facey. 1997. The diversity of fishes. Pp. 528. Blackwell Science.
- Hoar, W.S. 1969. Reproduction. Pp.1-72. In: Hoar, W.S., D.J. Randall & E.M. Donaldson. (eds.) *Fish Physiology*. Vol. 3. Academic Press, New York.
- Hubbs, C.L. 1934. Studies of the fishes of the order cyprinodonts. XIII. Quintana Atrizona, a new poeciliid. *Ocasional papers of the Museum of Zoology*, 301: 1-10.
- Hylton Scott, M.I. 1918. Sobre el desarrollo intraovario de *Jenynsia lineata* (Nota preliminar). *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, 86: 349-354.
- Kimmel, C.B., W.W. Ballard, S.R. Kimmel, B. Ullmann & T.F. Schilling. 1995. Stages of embryonic Development of the Zebrafish. *Developmental Dynamics*, 203: 255-310.
- Lack, D. 1968. Ecological adaptations for breeding in birds. Pp. 409. London: Methuen & Co.
- Lodé, T. 2012. Oviparity or viviparity? That is the question. *Reproductive biology*, 12: 259-264.
- Marsh-Mathews, E. & R. Deaton. 2006. Resources and offspring provisioning: A test of the Trexler - De Angelis model for a matrotrophy evolution. *Ecology*, 87 (12): 3014-3020.
- Nakatani, K., A.A. Agostinho., G. Baumgartner, A. Bialecki, P.V. Sanches, M.C. Makrakis & C.S. Pavanelli. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. Pp. 378. Maringá: EDUEM.
- Nelson, J.S. 2006. *Fishes of the World*. Pp. 601. New York : Wiley & Sons.
- Pires, M., J. Arendt & D. Reznick. 2010. The evolution of placentas and superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaeus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 99: 784-796.
- Pollux, B.J. Pires, A., A.I. Banet & D.N. Reznick. 2009. Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: An empirical study of macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40: 271- 289.
- Reznick, D & S. Winslow. Life history of *Poecilia picta* (Poeciliidae) from the island of Trinidad. *Copeia*, 1992: 782-790.
- Reznick, D & B. Miles. 1989. Review of life history patterns in poeciliid fishes. Pp. 125-148. In: Meffe, G.K. & F.F. Snelson. *Prentice Hall. Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*. New Jersey: Engelwood Cliffs.

- Schindler, J & U. de Vries. 1988. Ovarian structural specializations facilitate aplacental matrotrophy in *Jenynsia lineata* (Cyprinodontiformes, Osteichthyes). *Journal of morphology*, 198: 331-339.
- Scrimshaw, N. 1945. Embryonic development in Poeciliid fishes. *Biological Bulletin*, 88: 233-246.
- Siccardi, E.M. 1940. Algunos hechos relativos a las primeras fases del desarrollo de *Jenynsia lineata* (Jenyns) Berg. *Revista de la Sociedad Argentina de biología*. XV. N°2, mayo de 1940. Buenos Aires.
- Thibault R.E & R.J. Schultz. 1978. Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution*, 32: 320–333.
- Turner, C.L. 1937. Reproductive cycles and superfetation in poeciliid fishes. *Biological Bulletin*, 72:145-164.
- Turner, C.L. 1940b. Adaptations for viviparity in Jenynsiid fishes. *Journal of Morphology*, 67: 291-297.
- Turner, C.L. 1957. The Breeding Cycle of the South American Fish, *Jenynsia lineata*, in the Northern Hemisphere. *Copeia*, 3: 195-203.
- Uribe, M.C & H.J. Grier. 2011. Oogenesis of Microlecithal Oocytes in the Viviparous Teleost *Heterandria formosa*. *Journal of Morphology*, 272: 241-267.
- Uribe, M.C., G. De la Rosa-Cruz & A. García-Alarcón. 2014. Branchial placenta in the viviparous teleost *Ilyodon whitei* (Goodeidae). *Journal of morphology*: DOI 10.1002/jmor.20315.
- Vazzoler, A.E. 1996. *Biologia da reprodução de peixes Teleósteos: teoria e prática*. Pp. 169. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá.
- Wake, M.H. 1985. Oviduct structure and function in non-mammalian vertebrates. *Fortschritte der Zoologie*, 30: 427-435.
- Wootton, R.J. 1984. Introduction: Tactics and strategies in fish reproduction. Pp. 55-75. In: Potts, G.W. & R.J. Wootton, R. *Fish reproduction: strategies and tactics*. London: Academic Press.
- Wourms, J.P., B.D. Grove & J. Lombardi. 1988. The maternal embryonic relationship. 11:1-134 In: B. Wourms., W.S. Hoar & D.J. Randall. "Fish Physiology". New York: Academic Press.

## **CAPÍTULO 2. VIVENDO NO LIMITE: DINÂMICA REPRODUTIVA INTRAANUAL DE *JENYNSIA MULTIDENTATA* (JENYNS, 1842) EM SISTEMAS COSTEIROS DO RIO DE JANEIRO**

### **INTRODUÇÃO**

O evento mais notável na vida de um indivíduo é a reprodução. O sucesso reprodutivo de um indivíduo requer uma cuidadosa sincronia na fisiologia, anatomia e comportamento de ambos sexos. Em ambientes sazonais, uma série de sinais ambientais estão relacionados com as fases de cada ciclo reprodutivo através de estímulos neuroendócrinos (Amano *et al.*, 2004). Para as espécies que tem sua dinâmica reprodutiva estreitamente associada à sazonalidade ambiental, o início da estação das chuvas nos trópicos e as mudanças na intensidade de radiação solar e fotoperíodo nas regiões temperadas são alguns exemplos de gatilhos ambientais da reprodução (Goulding, 1980). Esses fenômenos cíclicos exógenos sinalizam para muitas espécies condições mais favoráveis para o crescimento e sobrevivência das larvas. Mesmo as muitas espécies de peixes tropicais e subtropicais que se reproduzem ao longo do ano (como espécies recifais ou outras que vivem em lagos e riachos), apresentam períodos de picos de atividade reprodutiva em períodos relativamente previsíveis (Helfman *et al.*, 2007).

Espécies que habitam ambientes aquáticos continentais hidrologicamente desconectados, como ambientes lênticos, estão mais sujeitas às variações nas características físicas e químicas do ambiente e à intensidade das interações com as demais espécies do que aquelas que vivem em ambientes lóticos ou marinhos. Em lagoas costeiras, as alterações nas táticas reprodutivas nas espécies podem ser desencadeadas pela concentração de sais dissolvidos na água, disponibilidade de recursos, composição da vegetação que serve de refúgio e dessecação (Martin *et al.*, 2009). Estudos que avaliam a variação nas características da história de vida dos organismos que incluem a idade e o tamanho da primeira maturação, o tamanho do corpo e a longevidade, o tamanho da ninhada, do ovo ou do filhote fornecem importantes informações para entender as diferenças nas táticas reprodutivas entre as populações sob diferentes condições ambientais (Reznick & Endler, 1982). Quando contemplam uma escala geográfica ou temporal, esses estudos são capazes de prever respostas demográficas a perturbações ambientais, como aquelas relacionadas a mudanças climáticas, por exemplo (Winemiller, 2005).

De acordo com Stearns (1992) e Winemiller & Rose (1992), um dos desafios dos biólogos é identificar tendências nas características da história de vida dos organismos e determinar se existem e quais são as pressões de seleção que causam variação nessas características, para então interpretar a adaptabilidade dessa variação. No entanto, muitas características da história de vida estão correlacionadas, o que compromete estudá-las de forma isolada. É importante considerar que características da história de vida de um organismo não representam necessariamente soluções encontradas pelos indivíduos a limitações ecológicas vigentes, mas propriedades do seu legado histórico, adquiridas durante centenas ou milhares de gerações (Brooks, 1985).

Estudos abordando as respostas de pressões ambientais nas variações das táticas reprodutivas de peixes teleósteos têm sido amplamente documentados especialmente para espécies de Poeciliidae. Peixes da família Anablepidae compartilham com a maior parte de Poeciliidae, além da viviparidade, outras características como ampla distribuição, elevada abundância e múltiplos eventos reprodutivos ao ano. Porém, são escassos os estudos com um enfoque nas variações das características da história de vida de espécies de Anablepidae. *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842), uma das catorze espécies de Anablepidae, é a que apresenta a distribuição geográfica mais ampla, ocorrendo naturalmente desde o Rio de la Plata na Argentina até o Rio de Janeiro no Brasil (Ghedotti & Weitzman, 1996). Aspectos de sua reprodução e o papel que desempenha nas cadeias alimentares aquáticas foram documentados para sistemas subtropicais (Garcia *et al.*, 2004; Goyenola *et al.*, 2011). No entanto, informações sobre o limite mais setentrional de sua distribuição são escassas. Este estudo teve como objetivo principal avaliar a variação espacial e temporal na abundância, estrutura em tamanho e fecundidade de fêmeas de *J. multidentata* em escala local. Para atender aos objetivos específicos abaixo, amostragens mensais sistematizadas foram conduzidas durante um ano em três ambientes costeiros no norte fluminense.

1. Avaliar a influência de fatores ambientais na dinâmica reprodutiva de *J. multidentata*.
2. Identificar a variação intraanual de períodos reprodutivos, das fases de desenvolvimento embrionário e da fecundidade.
3. Verificar se o peso embrionário aumenta às expensas do peso materno.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de estudo e caracterização da pluviosidade

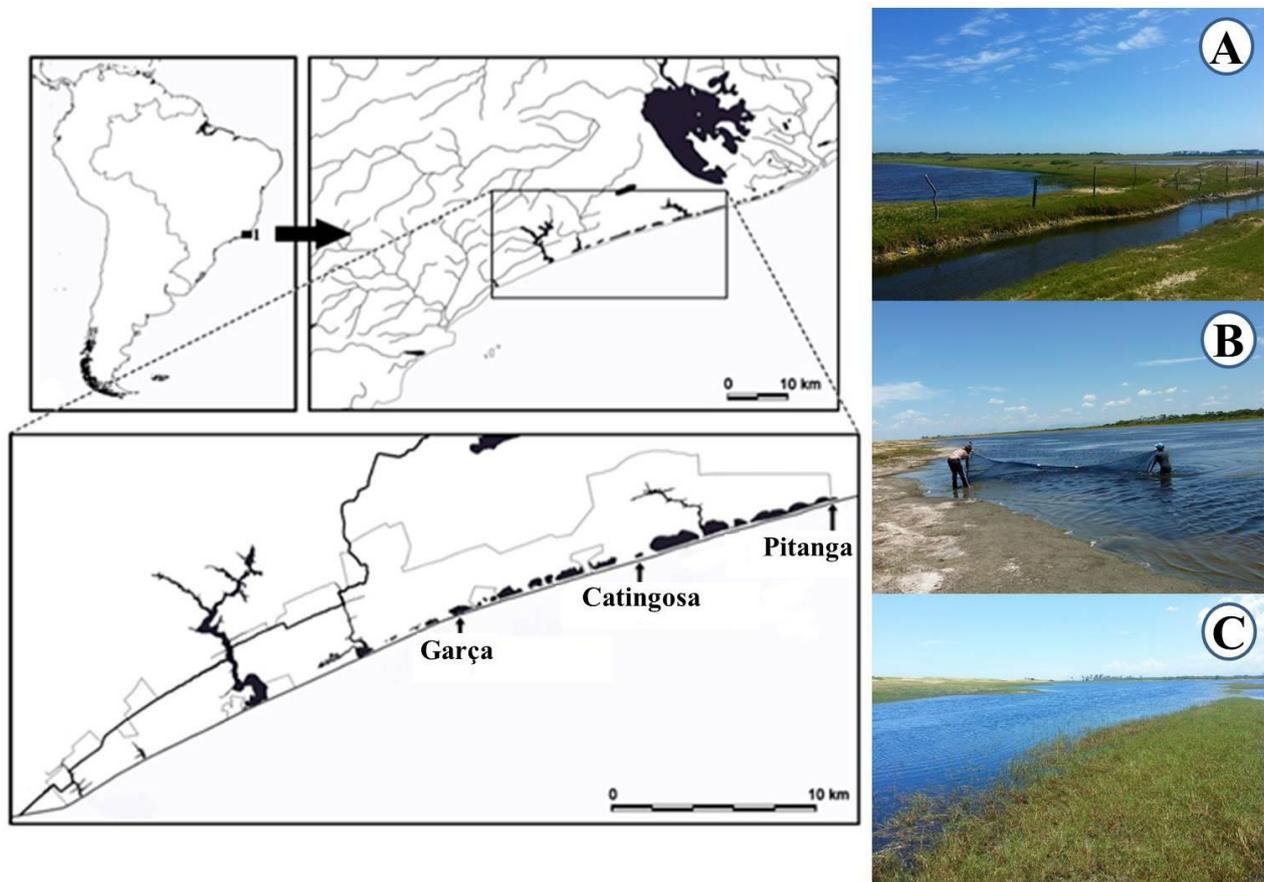
As lagoas costeiras do Leste do continente Sulamericano são corpos d'água que em geral se formaram a partir dos processos decorrentes da variação do nível do mar (especialmente durante o Holoceno). No norte do Rio de Janeiro, em uma extensão de 40 km do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PARNA Restinga de Jurubatiba), mais de uma dezena delas ocorrem em paralelo à costa. Essas são rasas (profundidade média  $0,82 \pm 0,31$  m) e separadas do oceano por uma barreira arenosa e algumas outras mais profundas (até 4 m) são conectadas a ele de forma intermitente (Caliman *et al.*, 2010). Além de eventuais conexões diretas, essas lagoas estão sujeitas a mistura de água marinha pelo aporte das marés e pela percolação pela barra arenosa, determinando que em relação à salinidade esses ambientes variem desde água doce à hipersalina, dependendo do equilíbrio hidrológico (Kjerfve, 1994).

Três ambientes lênticos do PARNA Jurubatiba foram selecionados para as amostragens de *J. multidentata*: um canal adjacente à lagoa Ubatuba (Pitanga), e as lagoas Catingosa e Garça (Figura 1). Apesar de relativamente próximos (21 km) e orientados paralelamente em relação ao mar, esses ambientes diferem em área e nos parâmetros físico-químicos (exceto canal Pitanga, as demais lagoas foram investigadas por Caliman *et al.*, 2010).

O canal Pitanga (41°18'W-22°09'S) é alongado e estreito, com cerca de 100 m de extensão e 3 m de largura, com uma área aproximada de 290 m<sup>2</sup>, profundidade média de 0,50 m, fundo lamoso e águas escuras (Figura 1A). A espécie vegetal mais comumente encontrada é *Ruppia maritima* e a ictiofauna é composta por *Tilapia rendalli*, *Poecilia vivipara* e *Phalloptycus januarius*, além de *Jenynsia multidentata* (observação pessoal).

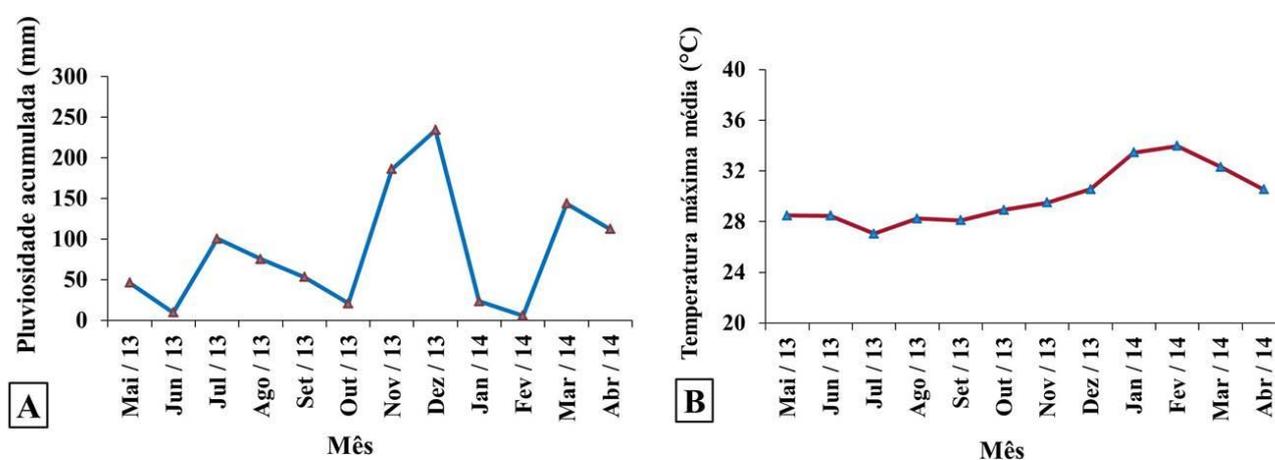
A lagoa Catingosa (41°23'W-22°10'S) possui uma área de 0,09 km<sup>2</sup>, é pequena se comparada às demais lagoas do parque, tem forma irregular, com uma profundidade média de 0,80 m, com fundo lamoso e águas escuras avermelhadas (Figura 1B). As espécies vegetais dominantes na região litorânea são *Ruppia maritima* e *Eleocharis geniculata* (Bove & Paz, 2009). Nove espécies de peixes são registradas nesse ambiente: *Platanichthys platana*, *Anchovia clupeioides*, *Geophagus brasiliensis*, *Tilapia rendalli*, *Gobionellus oceanicus*, *Jenynsia multidentata*, *Poecilia vivipara*, *Phalloptycus januarius* e *Atherinella brasiliensis* (Di Dario *et al.*, 2013).

A lagoa Garça (41°29'W-22°12'S), dentre os ambientes estudados é aquela com a maior superfície (0,21 km<sup>2</sup>), apresenta fundo irregular, o que permite a formação de poças (Hollanda-Carvalho *et al.*, 2003), com uma profundidade média de 0,30 m, um fundo lamoso e águas escuras (Figura 1C). Nesse sistema são duas as espécies vegetais mais representativas, *Typha domingensis* e *Eleocharis geniculata* (Bove & Paz, 2009), e a riqueza de espécies de peixes é maior que nos outros ambientes, composta por *Lycengraulis grossidens*, *Hoplerythrinus unitaeniatus*, *Hoplias malabaricus*, *Hyphessobrycon bifasciatus*, *Hyphessobrycon reticulatus*, *Ctenogobius boleosoma*, *Eucinostomus argenteus*, *Micropogonias furnieri*, *Geophagus brasiliensis*, *Atherinella brasiliensis*, *Jenynsia multidentata*, *Poecilia vivipara* e *Phalloptycus januarius* (Di Dario *et al.*, 2013).



**Figura 1.** Representação esquemática do trecho de 40 km do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Norte Fluminense, com setas identificando os três ambientes onde foram coletados os exemplares de *Jenynsia multidentata* (A: Canal Pitanga, B: Lagoa Catingosa e C: Lagoa Garça) (Figura modificada de Di Dario *et al.*, 2013; Imagens de Patricia Mancini).

Durante o período de estudo, o acumulado médio mensal da pluviosidade na região de Campos dos Goytacazes (RJ) foi  $84,23 \pm 73,46$  mm. De acordo com os registros do INMET, os meses que registraram praticamente ausência de precipitação entre maio de 2013 e abril de 2014 foram junho e fevereiro. Em termos gerais, o primeiro semestre de amostragens foi caracterizado por uma baixa pluviosidade. Os maiores volumes de precipitação foram concentrados em novembro e dezembro e outros dois picos menos expressivos ocorreram em julho, março e abril. Ainda de acordo com os dados do INMET, a temperatura máxima média nessa região variou entre  $27,06$  °C (julho) e  $33,97$  °C (fevereiro), sendo detectado um aumento da temperatura a partir do mês de outubro.



**Figura 2.** Variação da pluviosidade mensal acumulada (A) e da temperatura máxima média (B) na planície costeira do norte fluminense no período do estudo (Fonte: INMET estação de Campos dos Goytacazes, RJ).

### Amostragens

As amostragens de *J. multidentata* ocorreram mensalmente, entre maio de 2013 e abril de 2014. Os peixes foram capturados com uma rede de arrasto (0,5 cm de entrenós adjacentes) na área litorânea de cada ambiente, sendo registrada a distância percorrida para o cálculo da densidade. Em campo, os exemplares foram eutanasiados por overdose de Benzocaína ( $250 \text{ mg.L}^{-1}$ ), mantidos em 4 % formaldeído durante três semanas e posteriormente conservados em álcool 70 %.

Por ocasião das amostragens, foram registrados os fatores físicos e químicos como salinidade, temperatura da água (°C) e oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) com a utilização do Termistor YSI Yellow Spring (Modelo YSI85). Amostras de água foram coletadas e conduzidas para o Laboratório Integrado de Ecologia Aquática do NUPEM/UFRJ, onde foram determinados os valores de pH, e as

concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD, mg.L<sup>-1</sup>), nitrogênio total (µg.L<sup>-1</sup>), fósforo total (µg.L<sup>-1</sup>) e clorofila-*a* (µg.L<sup>-1</sup>) sendo esta determinada pelo método de Nusch & Palmer (1975).

### **Procedimentos laboratoriais: biometria e evisceração**

No Laboratório Integrado de Zoologia do NUPEM/UFRJ todos os lotes de *J. multidentata* foram processados, sendo registrada a quantidade de peixes capturados e determinado macroscopicamente o sexo dos indivíduos (os machos adultos apresentam gonopódio) com a finalidade de cálculo da proporção mensal de machos e fêmeas em cada ambiente. Para este estudo apenas as fêmeas foram selecionadas para biometria e evisceração (~50 em cada amostra). Após o registro do comprimento total (CT, mm) realizado com o auxílio de um paquímetro digital, o ovário foi dissecado sob o microscópio estereoscópico, sendo contabilizados apenas os embriões macroscopicamente visíveis, considerados aqueles possíveis de serem separados e contados pela pigmentação do olho (íris e/ou retina). Os embriões foram classificados de acordo com a sua fase de desenvolvimento proposta para a espécie no Capítulo 1 desta dissertação. Os embriões que foram contabilizados para as análises de fecundidade foram aqueles que estavam pelo menos na fase 3 (entre Fase 3 e Fase 8).

O corpo eviscerado das fêmeas foi mantido em estufa a 65 °C durante 24 h, para a obtenção do peso somático seco (PS, g), determinado em balança analítica. Com o objetivo de minimizar possíveis variações devidas a métodos, experiência e acuidade, esses procedimentos foram efetuados pela mesma pessoa (Nathalia C. López Rodríguez). Exemplares de machos e fêmeas de cada um dos três ambientes foram enviados e inspecionados com a confirmação da identificação taxonômica por especialista (Dr. Paulo Lucinda, Universidade Federal de Tocantins, Campus Porto Nacional) e lotes serão depositados na coleção de Peixes da UFT e do NUPEM-UFRJ (NPM).

### **Análise de dados**

Uma análise de componentes principais (ACP) foi aplicada à matriz das variáveis físicas e químicas das 36 amostras, com o objetivo de identificar os parâmetros que explicaram a maior parte da variação limnológica dos ambientes e investigar possível variação espacial e/ou temporal nos fatores físicos e químicos.

A proporção sexual de *J. multidentata* foi calculada mensalmente para cada localidade. A dinâmica reprodutiva das fêmeas foi caracterizada pela frequência de fêmeas grávidas (%FG), sendo

que foram considerados picos reprodutivos sempre que a %FG de cada amostra foi superior a 60 %. A fecundidade média mensal por localidade foi estimada a partir da contagem dos embriões de cada fêmea com auxílio de microscópio estereoscópico, registrando a respectiva fase de desenvolvimento desses (a partir da Fase 3).

A potencial influência do comprimento total na fecundidade e no peso somático seco fêmeas foi estimada por uma regressão linear sobre os valores do NE e da  $\sqrt[4]{}$  do PS. A relação entre o PS das mães (variável preditora contínua) e o peso seco médio de 30 embriões (variável resposta) em cada uma das seis fases de desenvolvimento (Fases 3, 4, 5, 6, 7 e 8), foi estabelecida com duas ANCOVAS. A primeira teve o objetivo de verificar a ocorrência de variação no peso seco médio dos embriões entre o período de estiagem e chuvoso (variável preditora categórica) e a segunda entre as fases de desenvolvimento (variável preditora categórica). Caso as ANCOVAS detectassem um efeito da sazonalidade e/ou da fase de desenvolvimento, poderia se assumir que efeitos exógenos influenciam indivíduos antes de seu nascimento e inferir sobre o grau de transferência de nutrientes via materna (matotrofia) em *J. multidentata* após a fertilização.

O potencial efeito local sobre a variação do peso seco médio dos embriões na última fase de desenvolvimento (Fase 8) foi comparado entre os três ambientes através de uma ANOVA. Correlações de Spearman foram aplicadas entre os escores dos dois primeiros eixos da ACP e o acumulado mensal da pluviosidade e os valores mensais de %FG, fecundidade média (com embriões a partir da Fase 3), e resíduos da regressão linear entre o CT e o PS de fêmeas grávidas - FG (consideradas aquelas com embrião a partir da Fase 2) e fêmeas não-grávidas - NG (consideradas aquelas com ovos fecundados, porém sem embrião visível, ou ovários imaturos ou em repouso).

Para investigar o efeito da sazonalidade ambiental na variação da condição somática entre as FG e NG foi aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney aos resíduos da regressão linear entre o CT e o PS. Com a exceção da ACP, que foi realizada no programa PC-ORD 4.10 (McCune & Mefford, 1999), todas as demais análises de dados foram realizadas com o uso do programa Statistica (Statsoft, 2007). A normalidade dos dados e a homogeneidade de variância foram alcançados em todos os testes paramétricos (ANOVA, nos resíduos das regressões lineares e da Ancova), sendo que para algumas variáveis, isto foi alcançado após a transformação dos dados originais. O nível de significância adotado em todos os testes foi  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

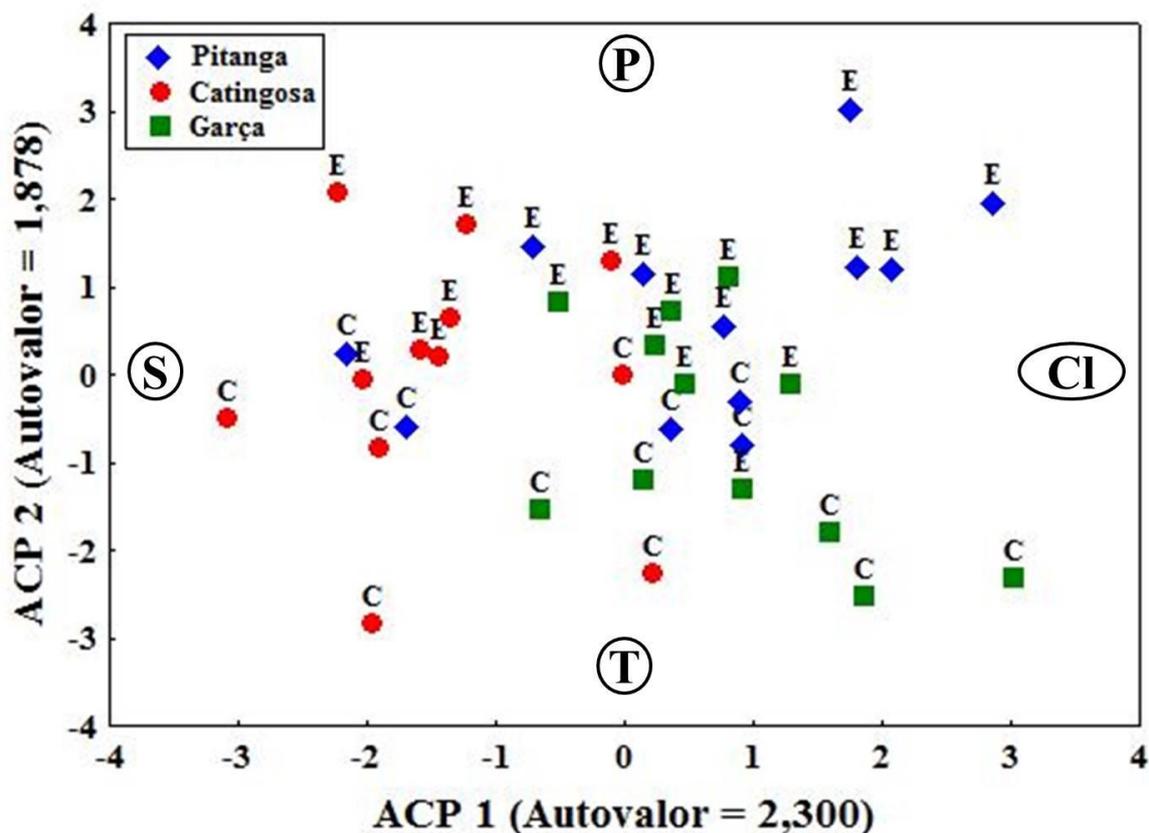
### Caraterísticas dos ambientes e variação dos parâmetros físicos e químicos

De acordo com os registros de pluviosidade para a região (Figura 2), o período entre maio e outubro de 2013 e o mês de abril de 2014 foi considerado como o período seco, e o período entre novembro de 2013 e abril de 2014 foi considerado como chuvoso. Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos de cada ambiente agrupados em períodos seco e chuvoso são apresentados na Tabela 2.

Os dois primeiros eixos da ACP explicaram 46 % da variação total dos oito parâmetros físicos e químicos e expressam uma segregação espacial e outra temporal. De acordo com a ordenação das amostras ao longo do eixo 1 (ACP 1), se observa que as amostras da Lagoa Catingosa se posicionaram mais negativamente, fortemente influenciadas pelas baixas concentrações de Clorofila-*a* e elevadas concentrações de sal. As amostras da Lagoa Garça e de Pitanga foram mais similares entre si, e conseqüentemente apresentaram escores mais similares. A ordenação das amostras no eixo 2 (ACP 2) refletiu uma influência temporal. Independentemente do ambiente, as amostras referentes ao período entre novembro e março apresentaram escores mais negativos e as amostras referentes ao período entre maio e outubro apresentaram os escores mais positivos, refletindo períodos seco e chuvoso (Figura 3).

**Tabela 1.** Caracterização física e química (média  $\pm$  desvio-padrão) dos ambientes do PARNA Restinga de Jurubatiba investigados mensalmente entre maio de 2013 e abril de 2014.

	PITANGA		CATINGOSA		GARÇA	
	ESTIAGEM	CHUVOSO	ESTIAGEM	CHUVOSO	ESTIAGEM	CHUVOSO
Época						
Salinidade	31,76 $\pm$ 3,83	32,7 $\pm$ 6,37	40,59 $\pm$ 5,54	39,8 $\pm$ 11,26	30,89 $\pm$ 6,01	24,54 $\pm$ 9,93
Temperatura (°C)	24,43 $\pm$ 2,41	26,3 $\pm$ 0,36	25,36 $\pm$ 2,38	28,4 $\pm$ 2,15	25,89 $\pm$ 2,27	29,22 $\pm$ 1,08
pH	7,96 $\pm$ 0,75	8,55 $\pm$ 0,09	8,14 $\pm$ 0,47	8,75 $\pm$ 0,47	8,02 $\pm$ 0,12	7,96 $\pm$ 0,42
Oxigênio Dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	5,31 $\pm$ 2,64	5,92 $\pm$ 2,48	10,97 $\pm$ 3,48	7,53 $\pm$ 1,43	8,44 $\pm$ 2,57	6,37 $\pm$ 2,62
N-Total (µg.L <sup>-1</sup> )	2,26 $\pm$ 0,99	6,24 $\pm$ 4,74	5,51 $\pm$ 2,26	4,75 $\pm$ 2,19	2,35 $\pm$ 0,73	3,48 $\pm$ 1,32
P-Total (µg.L <sup>-1</sup> )	168,20 $\pm$ 75,21	285,52 $\pm$ 236,61	370,60 $\pm$ 335,99	235,38 $\pm$ 221,38	54,36 $\pm$ 30,59	99,57 $\pm$ 79,29
Carbono Orgânico Dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	12,44 $\pm$ 11,64	43,31 $\pm$ 31,92	66,9 $\pm$ 33,65	84,49 $\pm$ 33,37	46,85 $\pm$ 29,16	50,96 $\pm$ 15,40
Clorofila- $\alpha$ (µg.L <sup>-1</sup> )	4,88 $\pm$ 4	1226,37 $\pm$ 2048,51	0,68 $\pm$ 0,75	2930,98 $\pm$ 4219,12	0,81 $\pm$ 1	29765,60 $\pm$ 62232,41



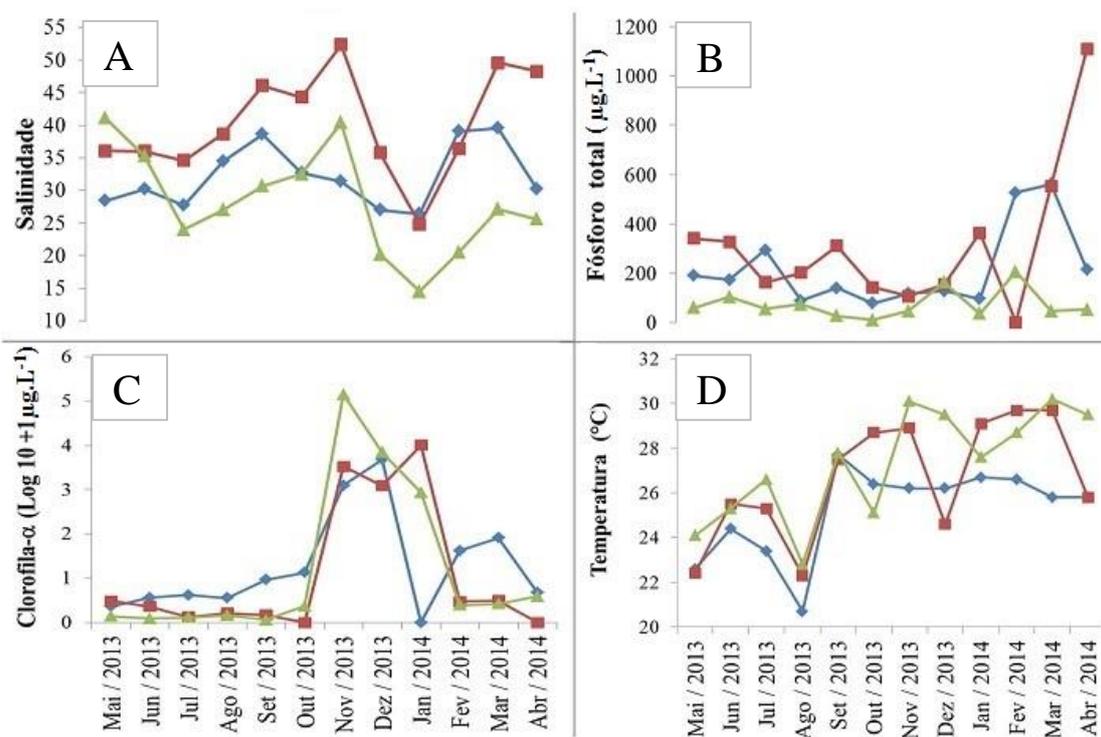
**Figura 3.** Ordenação das 36 amostras mensais nas lagoas Garça, Catingosa e canal Pitanga, no PARNA Restinga de Jurubatiba, em relação aos parâmetros físicos e químicos que foram mais correlacionados aos dois primeiros eixos (ACP 1 e ACP 2). S: salinidade, Cl: clorofila- $\alpha$ , P: fósforo total e T: temperatura. Os meses entre maio e outubro e abril foram considerados do período de estiagem e os meses entre novembro e março foram considerados do período chuvoso (E e C, respectivamente).

Em relação aos parâmetros físicos e químicos registrados mensalmente em cada uma das três localidades, foi entre os meses mais chuvosos (novembro e janeiro) que foram observados os valores brutos mais elevados para as concentrações de Clorofila- $a$  em todos os ambientes:  $4.771 \mu\text{g.L}^{-1}$  em Pitanga,  $10.071 \mu\text{g.L}^{-1}$  em Catingosa e de  $140.000 \mu\text{g.L}^{-1}$  em Garça (Figura 4C). Em relação ao fósforo total, as maiores concentrações foram registradas em Catingosa em abril ( $1100 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), enquanto em Pitanga este parâmetro alcançou seu valor máximo entre fevereiro e março ( $> 600 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e em Garça dois picos menores na concentração de fósforo total foram observados: um em dezembro ( $162,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e outro em fevereiro ( $206,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) (Figura 4B).

O COD apresentou uma tendência inicial similar nos três locais: uma queda em junho e pico em fevereiro. Em Pitanga e Catingosa o COD apresentou valores baixos em abril em relação aos

outros meses, mas em Garça, onde as concentrações sempre foram as mais baixas, nesse mês atingiu um segundo pico mais intenso. Com relação à salinidade, Catingosa e Garça tiveram uma tendência a partir de julho de 2013, mas com picos em meses diferentes, para Catingosa um em novembro (52,4) e outro em março (49,6), que se manteve até abril. Garça apresentou picos de salinidade em maio (41,1) e em novembro (40,4) (Figura 4A). No canal Pitanga não foram observados picos intensos na salinidade, só um aumento em setembro (38,6) e outro em fevereiro (26,6), nessa localidade, uma redução da temperatura foi registrada em agosto e posteriormente se manteve com valores abaixo dos 30 °C ( $26,43 \pm 0,61$  °C).

Na Lagoa Catingosa foi registrado um aumento progressivo da temperatura (de 22,4 a 29,7 °C), seguindo uma tendência que se repetiu a cada quatro meses também para o pH: aumento, estabilização e decaimento. A Lagoa Garça apresentou maior variação da temperatura, essa porém não ultrapassou os 30 °C nem foi inferior a 22 °C (Figura 4D). Em geral, os valores de pH foram constantes, apresentando uma queda pronunciada em Pitanga em abril (6,55).



**Figura 4.** Variação mensal nas concentrações de salinidade (A), Fósforo total (B), de Clorofila- $\alpha$  (C) e temperatura (D) da água nos três ambientes estudados (Pitanga:---, Catingosa: -, Garça: -, entre maio de 2013 e abril de 2014).

## Caracterização das amostras de *Jenynsia multidentata*

As amostragens entre maio de 2013 e abril de 2014 nas três localidades do PARNA Restinga de Jurubatiba resultaram na captura de um total de 6.614 exemplares de *J. multidentata*, dos quais 5.347 fêmeas e 1.267 machos. Considerando todo o período, verificou-se uma razão sexual fortemente tendenciada para fêmeas (6,2:1 em Pitanga, 3,71:1 em Catingosa e 3,5:1 em Garça). No Canal Pitanga se registrou a maior proporção de fêmeas nos meses de outubro e abril, em Garça em julho e agosto e em Catingosa somente em julho. Nesta última lagoa, em duas amostragens machos não foram capturados (agosto e outubro). O maior número de indivíduos coletados em uma amostragem foi 1.382, em fevereiro, na Lagoa Catingosa (Tabela 2).

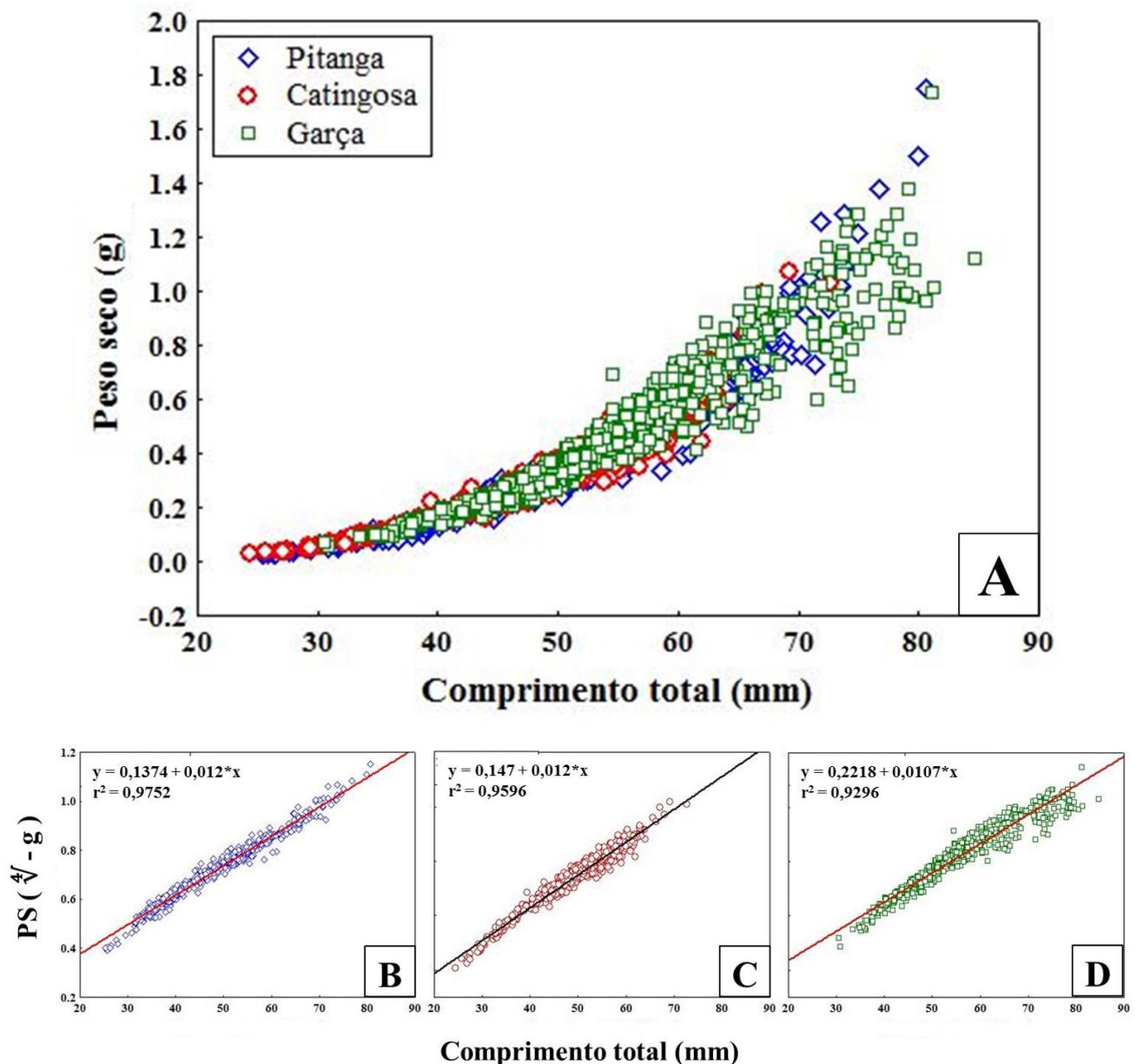
**Tabela 2.** Número total de indivíduos capturados, densidade (d; indivíduos.m<sup>-2</sup>) e razão entre fêmeas e machos (♀/♂) de *Jenynsia multidentata* nos três ambientes investigados no PARNA Restinga de Jurubatiba através de amostragens mensais realizadas entre maio de 2013 e abril de 2014.

Mês	PITANGA				CATINGOSA				GARÇA			
	d	♀	♂	♀/♂	d	♀	♂	♀/♂	d	♀	♂	♀/♂
Maio	1,93	58	9	6:1	0,12	35	8	4:1	0,27	55	41	1:1
Junho	0,29	39	7	6:1	0,23	65	16	4:1	1,27	146	6	24:1
Julho	5,33	173	40	4:1	0,42	64	3	21:1	1,96	152	5	30:1
Agosto	4,32	241	18	13:1	0,14	67	0		0,83	65	1	65:1
Setembro	3,28	122	9	14:1	0,30	40	33	1:1	0,89	65	6	11:1
Outubro	7,55	148	3	49:1	0,15	36	0		2,25	81	9	9:1
Novembro	14,75	237	58	4:1	0,25	46	14	3:1	1,65	56	10	6:1
Dezembro	14,65	208	85	2:1	1,80	174	114	2:1	3,60	117	27	4:1
Janeiro	2,50	369	53	7:1	3,05	143	40	4:1	14,65	139	154	1:1
Fevereiro	5,70	105	9	12:1	7,58	1178	204	6:1	11	137	83	2:1
Março	4,67	54	2	27:1	3	161	79	2:1	1,15	55	37	1:1
Abril	0,86	68	1	68:1	1,14	48	43	1:1	11	400	40	10:1
Total		1822	294	6:1		2057	554	4:1		1468	419	4:1

## Relação entre o comprimento e o peso somático das fêmeas de *Jenynsia multidentata*

O CT das fêmeas variou entre 24,42 e 84,78 mm. Fêmeas de menor tamanho foram registradas na Lagoa Catingosa em setembro, sendo este o ambiente onde se registrou o menor CT médio ( $48,71 \pm 4,59$  mm). Fêmeas de maiores tamanhos foram registradas em Garça em abril, sendo que os maiores valores médios mensais de CT foram registrados nesta lagoa, cujo valor médio geral foi de  $55,45 \pm 4,74$  mm. O peso somático das fêmeas variou entre 0,02286 e 1,74645 g registrados em Pitanga em junho e janeiro respectivamente. A lagoa Garça apresentou o maior peso médio para todo o período de  $0,512114 \pm 0,276$  g, enquanto Pitanga e Catingosa apresentaram valores mais similares entre si ( $0,321247 \pm 0,2387$  g e  $0,324615 \pm 0,275925$  g, respectivamente), mas as fêmeas

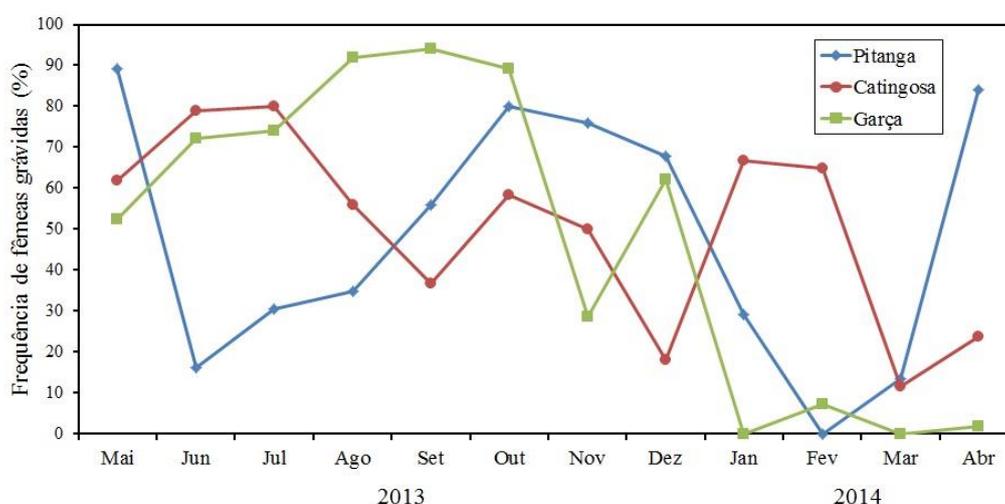
mais pesadas foram registradas no Canal Pitanga. Considerada a totalidade das fêmeas nos três ambientes investigados, a relação entre o comprimento e o peso somático foi significativamente positiva ( $F = 35.267,61$ ; g.l. = 1;1.664;  $r^2 = 0,95$ ;  $p < 0,01$  Figura 5A). Quando plotados o CT e o PS por localidade, a similaridade dos coeficientes da equação da reta evidencia que a relação entre esses descritores das fêmeas pouco varia espacialmente (Pitanga  $F = 21.128,03$ ; g.l. = 1;535;  $r^2 = 0,98$ ;  $p < 0,01$ , Figura 5B; Catingosa  $F = 12.572,74$ ; g.l. = 1;529;  $r^2 = 0,96$ ,  $p < 0,01$ , Figura 5C; Garça  $F = 7.873,31$ ; g.l. = 1;596;  $r^2 = 0,93$ ;  $p < 0,01$ , Figura 5D).



**Figura 5.** Relação entre o tamanho e o peso seco somático de fêmeas de *Jenynsia multidentata* com valores brutos, considerando a totalidade das localidades (A) e com variáveis transformadas no Canal Pitanga (B) e nas Lagoas Catingosa (C) e Garça (D), no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.

## Dinâmica reprodutiva das fêmeas de *Jenynsia multidentata*

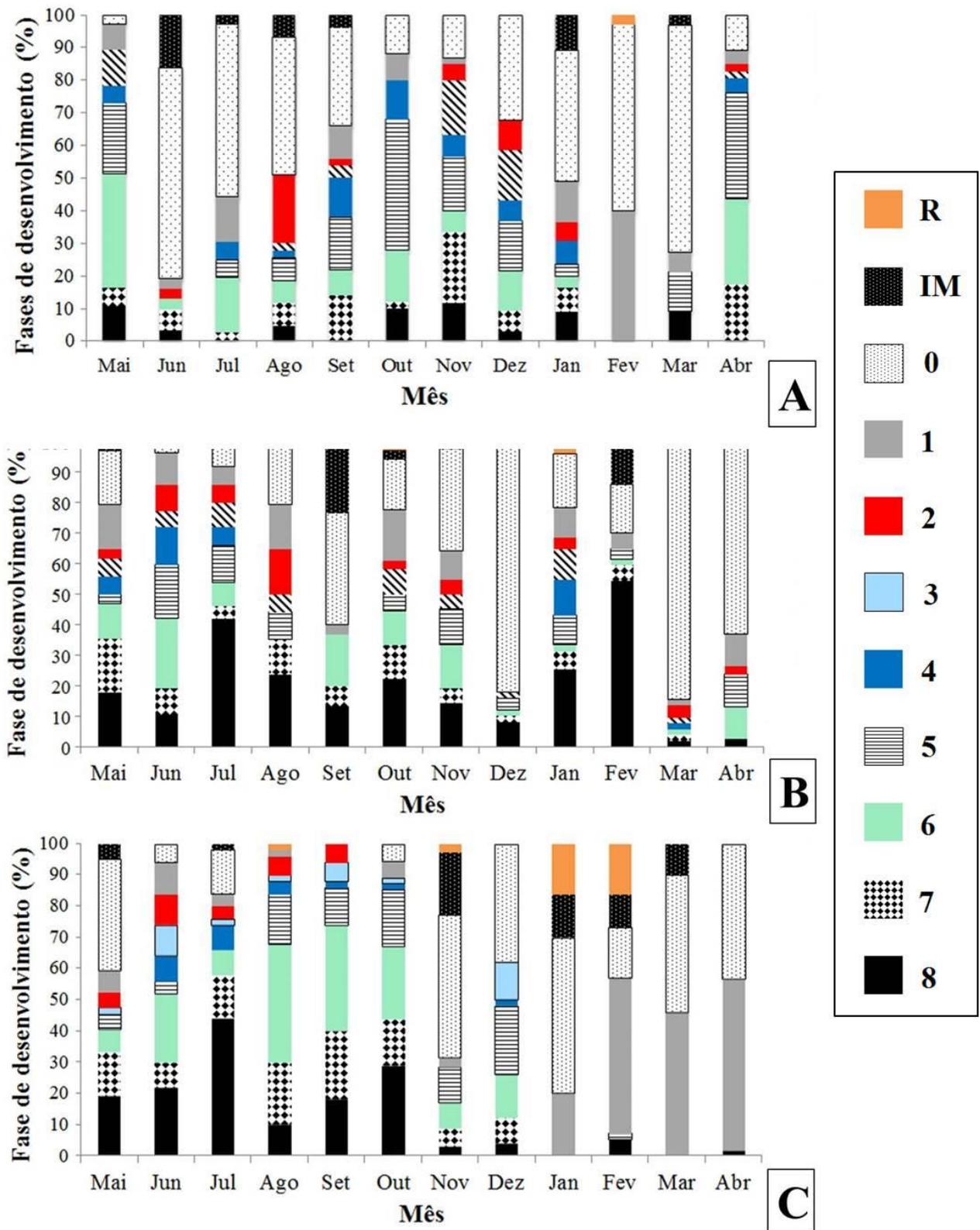
Para desenvolver este estudo, foi considerada a informação procedente de 1.666 fêmeas dissecadas, seus ovários e mais de 13.000 embriões. Do total de fêmeas dissecadas, 875 estavam grávidas, sendo 289 em Pitanga, 290 em Catingosa e 296 em Garça. As demais 791 fêmeas apresentaram ovos fecundados (25,06 %), em processo de ovogênese (63,04 %), imaturos (7,47 %) e em repouso (4,43 %). A dinâmica de cada ambiente foi diferente, em Pitanga se observam picos na frequência de fêmeas grávidas nos meses de maio, outubro, novembro e abril, com 0 % em fevereiro. Na Lagoa Catingosa a %FG não ultrapassou 80 %, mas também embriões em desenvolvimento foram detectados em fêmeas durante todo o período de estudo. Na Lagoa Garça os picos ocorreram entre os meses de agosto e outubro, com uma queda substancial em novembro e uma rápida recuperação na %FG em dezembro (~60 %), sendo que no início do ano a %FG foi a mais baixa dentre todos os locais, com ausência de embriões nas fêmeas nos meses de janeiro e março (Figura 6). Apesar dessa assincronia espacial e temporal, a média anual da %FG foi similar entre os três ambientes:  $48,07 \pm 31,05$  em Pitanga;  $50,53 \pm 23,06$  em Catingosa;  $47,74 \pm 38,15$  em Garça.



**Figura 6.** Variação temporal na frequência relativa de fêmeas grávidas de *Jenynsia multidentata* nas Lagoas Garça e Catingosa e no canal Pitanga, no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.

## Fecundidade e fases do desenvolvimento embrionário

A distribuição das frequências mensais dos estádios de desenvolvimento embrionário por ambiente demonstrou que as fases de ovogênese (Fase 0) e de ovos fecundados (Fase 1) ocorreram em praticamente todo o período de estudo, com maior frequência em março (Figura 7).



**Figura 7.** Variação temporal na frequência relativa nas fases de desenvolvimento embrionário (1 a 8) fase de ovogênese (0), ovários imaturos (IM) e ovários em repouso (R) de *Jenynsia multidentata* entre maio de 2013 e abril de 2014 em três ambientes costeiros do PARNA Restinga de Jurubatiba. A: Pitanga, B: Catingosa e C: Garça.

Em Pitanga as fases 0, 5 e 6 foram as mais representativas. As mudanças mais expressivas em intervalos curtos com relação à %FG são observadas neste ambiente entre maio e junho, quando a %FG passa de mais de 90 % a menos de 20 % e entre março e abril, que passa de 20 % a 90%. É claro o aumento gradual na %FG entre junho até outubro e a partir de novembro uma diminuição gradual até março (Figura 7A).

Na Lagoa Catingosa, a Fase 0 predominou nos meses de dezembro e março (>80 %) e abril (>60 %) e reflete a baixa %FG. Embriões prestes a nascer (Fase 8) foram observados desde maio até fevereiro, sendo que neste último mês mais de 50 % dos embriões se encontravam nesta fase, frequência máxima observada (Figura 7B).

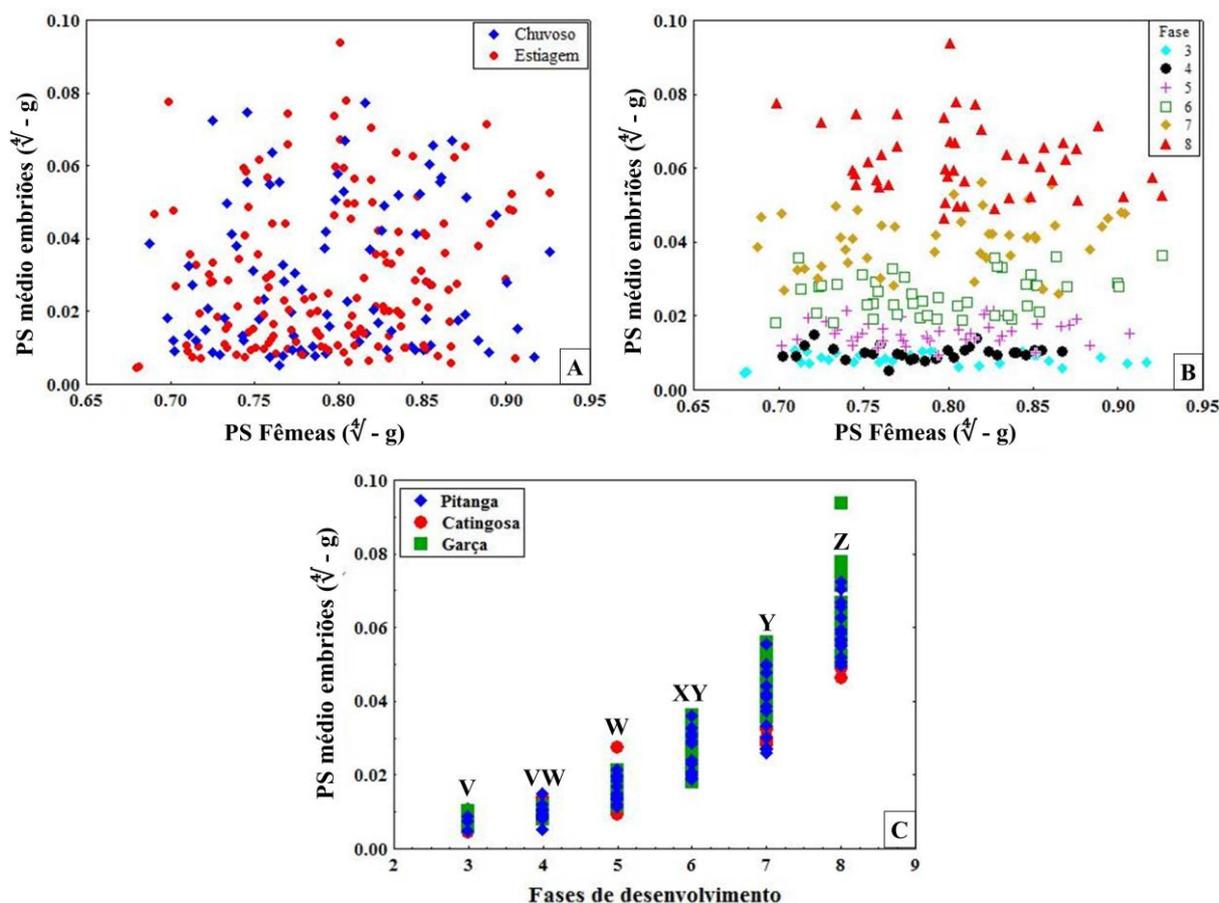
Em Garça, mais de 40 % dos embriões se encontravam nas fases mais avançadas (6, 7 e 8) entre maio e outubro, sendo mais prevalente a Fase 8 (> de 40 %) em julho e a Fase 6 (> 40 %) em agosto. A Fase 0 ultrapassou a frequência de 40 % entre novembro e abril, exceto em fevereiro, quando foi de 15 %. A Fase 1 (os ovos fecundados) representou mais de 40 % em março e mais de 50 % em fevereiro e abril, refletindo a baixa %FG. Embriões na Fase 8 foram observados em menos de 5 % das fêmeas grávidas durante o segundo semestre de amostragem (Figura 7C).

De forma geral, todos os embriões dentro de cada lote apresentaram dimensões similares. Em menos de 2 % dos ovários analisados se visualizaram um, dois, três e somente num caso quatro embriões (Pitanga) com tamanhos inferiores aos demais embriões dos respectivos lotes.

### **Variação do Peso seco somático dos embriões nas fases de desenvolvimento**

Através da ANCOVA verificou-se que não existe diferença no peso médio dos embriões entre os períodos de estiagem e chuvoso após controlar o efeito do peso materno ( $F = 1,991$ ; g.l. = 3;  $N = 236$ ;  $r^2 = 0,01$ ;  $p = 0,12$ ) (Figura 8A). A fase do desenvolvimento embrionário, que não foi considerada nesse delineamento, poderia ser um fonte de erro, pois quando o peso médio do embrião é plotado contra o peso somático materno, considerando as fases de desenvolvimento, um claro padrão na cronologia embrionária é evidenciado (Figura 8B). A ANCOVA que comparou o peso médio dos embriões entre as fases de desenvolvimento após controlar o efeito do peso materno confirmou diferenças significativas ( $F = 213,462$ ; g.l. = 11; 228;  $r^2 = 0,91$ ;  $p < 0,01$ ). Exceto entre as Fases iniciais 3 e 4, embriões de todas as demais fases apresentam um peso médio significativamente diferente das fases anteriores (Figura 8B). Caso o efeito do peso materno não seja incluído no

modelo, o peso médio dos embriões passa a ser comparado apenas entre as fases, com diferenças significativas (Kruskal-Wallis,  $H = 222,261$ ;  $N = 5;240$ ;  $p < 0,01$ ) apenas a partir da Fase 6 (Figura 8C). A ANOVA porém não detectou diferença significativa entre o peso médio dos embriões na Fase 8 entre as lagoas Garça (0,2510), Catingosa (0,2498) e Canal Pitanga (0,2417) ( $F = 1,180$ ; g.l. = 2;72;  $p = 0,3146$ ).



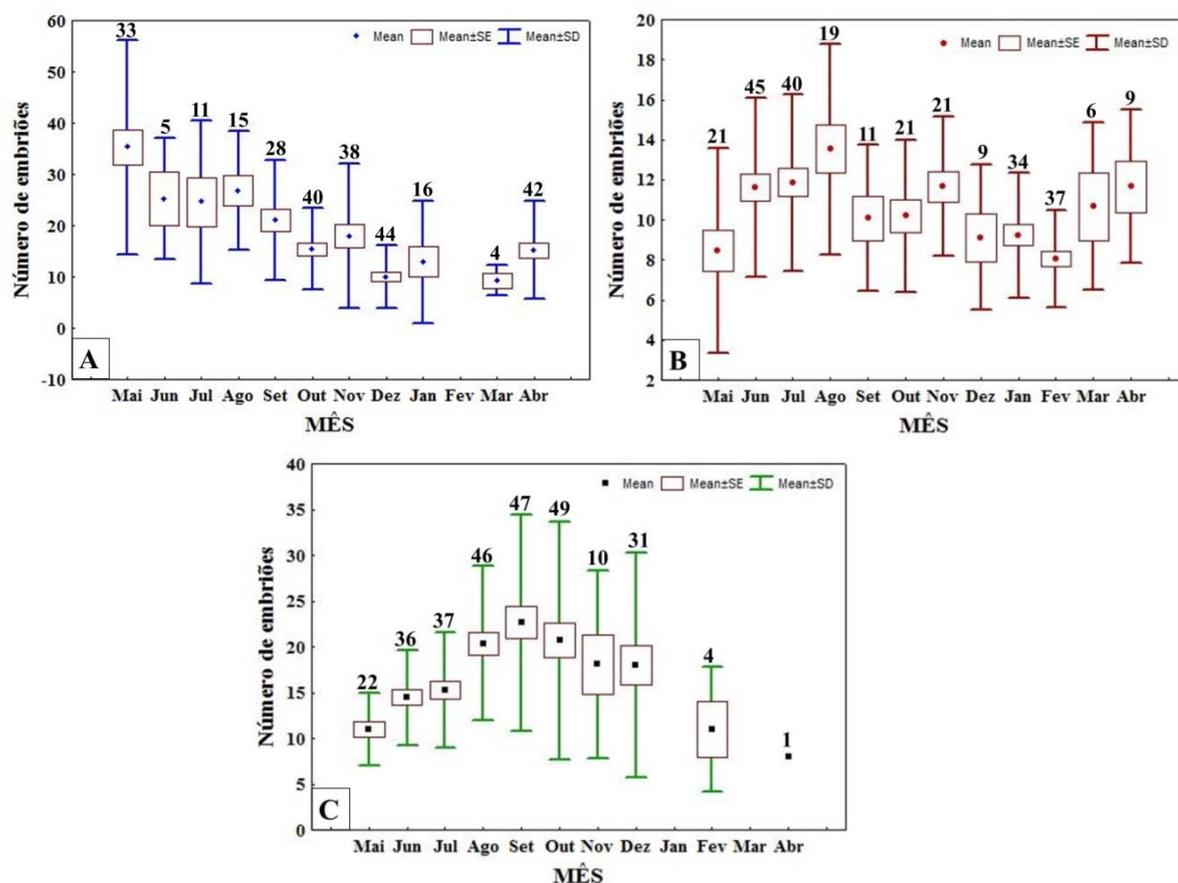
**Figura 8.** Resultados da análise da variação do PS médio dos lotes de embriões de *Jenynsia multidentata* nas seis fases de desenvolvimento (3, 4, 5, 6, 7 e 8). A: entre os períodos de estiagem e chuvoso. B: entre o PS somático das mães nas fases de desenvolvimento e C: entre as fases de desenvolvimento considerando a origem das amostras.

### Relação entre o comprimento e a fecundidade de *Jenynsia multidentata*

Todos os embriões foram contabilizados para estimar a fecundidade média, que variou entre os ambientes. As fêmeas de Pitanga foram as mais fecundas e também aquelas que apresentaram a maior variação intraanual no número de embriões ( $18,17 \pm 10,26$  embriões). Nesse ambiente foram dissecadas fêmeas com apenas um ou dois embriões, enquanto outras apresentaram um valor

máximo de 88 embriões em Fase 4, estes procedentes de uma fêmea com CT de 73,82 mm no mês de novembro. A fecundidade média intraanual foi baixa em Catingosa, se comparada aos demais ambientes. Porém, a fecundidade das fêmeas de Catingosa também foi a menos variável temporalmente, de acordo com o baixo valor do desvio-padrão ( $10,68 \pm 1,49$  embriões). A Lagoa Garça apresentou uma fecundidade média intraanual intermediária ( $13,53 \pm 7,57$  embriões) (Figura 9).

Uma queda nos valores de fecundidade média foi registrada no tempo em Pitanga, sendo que no início das amostragens o número médio de embriões passou de  $39,58 \pm 17,83$  embriões (maio de 2013) para ao final das amostragens alcançar apenas  $9,25 \pm 2,98$  embriões (março de 2014). As fêmeas de Catingosa apresentaram a fecundidade média máxima em agosto, com o registro médio de  $13,52 \pm 5,25$  embriões. Conforme já apresentado, a fecundidade das fêmeas nessa lagoa foi relativamente constante, sendo o único dos três ambientes a apresentar fêmeas grávidas durante todo os meses. As fêmeas da Lagoa Garça apresentaram um aumento na fecundidade média no tempo, atingindo a máxima em setembro com  $22,66 \pm 11,82$  embriões, e decaindo no segundo semestre de amostragens, sendo que não foram detectadas fêmeas com embriões em janeiro e março.



**Figura 9.** Variação temporal na fecundidade (média  $\pm$  erro e desvio-padrão) de *Jenynsia multidentata* entre maio de 2013 e abril de 2014, no Canal Pitanga (A) e nas Lagoas Catingosa (B) e

Garça (C), do PARNA Restinga de Jurubatiba, indicando o número de indivíduos sobre as barras do desvio-padrão em cada mês.

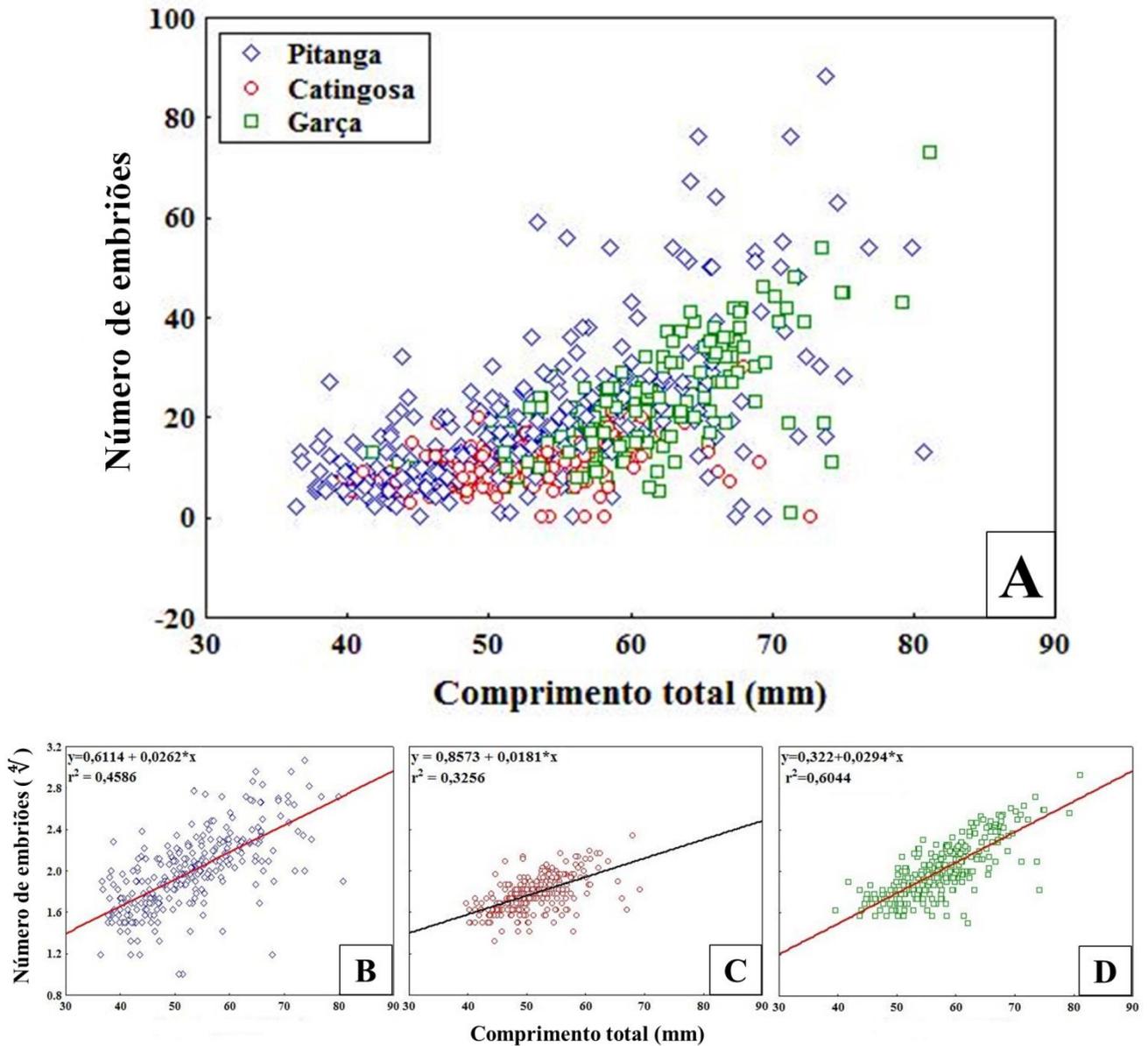
O tamanho das fêmeas foi um preditor fraco da fecundidade quando a totalidade das fêmeas dos três ambientes é considerada ( $F = 593,47$ , g.l. = 1;843;  $r^2 = 0,41$ ,  $p < 0,01$ ) (Figura 10A). De acordo com a Figura 10B, o NE em Pitanga é variável em fêmeas com tamanho superior a 65 mm, bem como a amplitude dos tamanhos mínimos e máximos de fêmeas reproduzindo.

Diferentemente do que foi observado para o peso somático, o comprimento total das fêmeas explicou uma proporção variável da fecundidade dentro dos ambientes (Pitanga  $F = 232,93$ ; g.l. = 1;275;  $r^2 = 0,46$ ;  $p < 0,01$ , Figura 10B; Catingosa  $F = 130,81$ ; g.l. = 1;271;  $r^2 = 0,32$ ;  $p < 0,01$ , Figura 10C; Garça  $F = 430,90$ ; g.l. = 1;282;  $r^2 = 0,60$ ;  $p < 0,01$ , Figura 10D).

As fêmeas da Lagoa Catingosa apresentaram a menor variação tanto do comprimento total quanto da fecundidade (Figura 10C). Fêmeas na Lagoa Garça se reproduzem com tamanhos maiores em relação às fêmeas de Pitanga (Figura 10D e B, respectivamente) e Catingosa, além de fêmeas com comprimento superior a 70 mm apresentarem variação na fecundidade.

Não foram registradas fêmeas grávidas com comprimento total inferior a 36 mm. A menor fêmea grávida possuía 36,39 mm e foi amostrada em Pitanga, em abril, apresentando apenas dois embriões em Fase 6. Foi este o ambiente onde se registrou o menor CT médio mensal com registro de embrião a partir da Fase 3 ( $40,83 \pm 5,76$  mm).

As fêmeas de Catingosa apresentaram um comprimento médio mínimo intermediário ( $42,69 \pm 3,11$  mm) e as fêmeas de Garça o comprimento médio mínimo no qual foram registrados embriões foi de  $47,34 \pm 5,31$  mm. De acordo com a Tabela 3, é possível verificar uma distribuição diferenciada da abundância nas classes de tamanho entre os três ambientes investigados. Se considerado um intervalo de 1 cm onde se concentra o maior número de fêmeas grávidas em cada ambiente, para as fêmeas de Pitanga e Catingosa este seria entre 46 e 55mm, enquanto em Garça seria entre 51 a 60 mm. Um maior intervalo de comprimento é registrado para as fêmeas do Canal Pitanga, enquanto as fêmeas de Catingosa se concentram em quatro classes de tamanho (entre 41 a 60 mm). As fêmeas na Lagoa Garça são maiores, e mais representativas nas classes acima de 46 mm.



**Figura 10.** Relação entre o comprimento e a fecundidade de *Jenynsia multidentata* com valores brutos, considerando a totalidade das localidades (A) e com variáveis transformadas no Canal Pitanga (B) e nas Lagoas Catingosa (C) e Garça (D), no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.

Apesar das diferenças entre os tamanhos máximos e mínimos do CT e de que o tamanho da fêmea explique em diferente grau a fecundidade para cada ambiente, quando os valores médios da fecundidade são organizados por classes de tamanho das fêmeas, se verifica que eles aumentam conforme aumenta o tamanho corporal das mães (Tabela 3).

**Tabela 3.** Abundância dos indivíduos de *Jenynsia multidentata* nas nove classes de tamanho e a respectiva fecundidade (média  $\pm$  desvio-padrão) avaliada pelo número de embriões visíveis em cada classe, nos três ambientes amostrados no PARNA Restinga de Jurubatiba, entre maio de 2013 e abril de 2014.

Comprimento total (mm)	FECUNDIDADE					
	n	PITANGA	n	CATINGOSA	n	GARÇA
36-40	27	8,89 $\pm$ 5,06	4	6,25 $\pm$ 1,5	1	7
41-45	52	9,37 $\pm$ 6,02	38	7,08 $\pm$ 2,12	10	9,3 $\pm$ 2,21
46-50	48	13,60 $\pm$ 6,31	99	9,51 $\pm$ 2,88	40	9,93 $\pm$ 3,12
51-55	57	18,39 $\pm$ 10,29	87	11,60 $\pm$ 3,53	73	13,41 $\pm$ 4,30
56-60	38	24,34 $\pm$ 9,60	40	12,85 $\pm$ 5,47	78	17 $\pm$ 5,41
61-65	31	32,03 $\pm$ 15,51	5	18,60 $\pm$ 3,78	47	23,32 $\pm$ 9
66-70	13	35,62 $\pm$ 19,22	4	14,25 $\pm$ 10,63	25	33,52 $\pm$ 6,63
71-75	9	44,11 $\pm$ 26,22			10	32,30 $\pm$ 18,15
76-80	3	40,33 $\pm$ 23,67			1	43

Fêmeas com comprimento total menor de 45 mm no caso de Pitanga e menor de 50 mm no caso de Catingosa e Garça produziram em média menos de 10 embriões por gestação. Proles mais numerosas foram registradas nas fêmeas de Pitanga e Garça a partir de 70 mm e em Catingosa a partir de 61 mm.

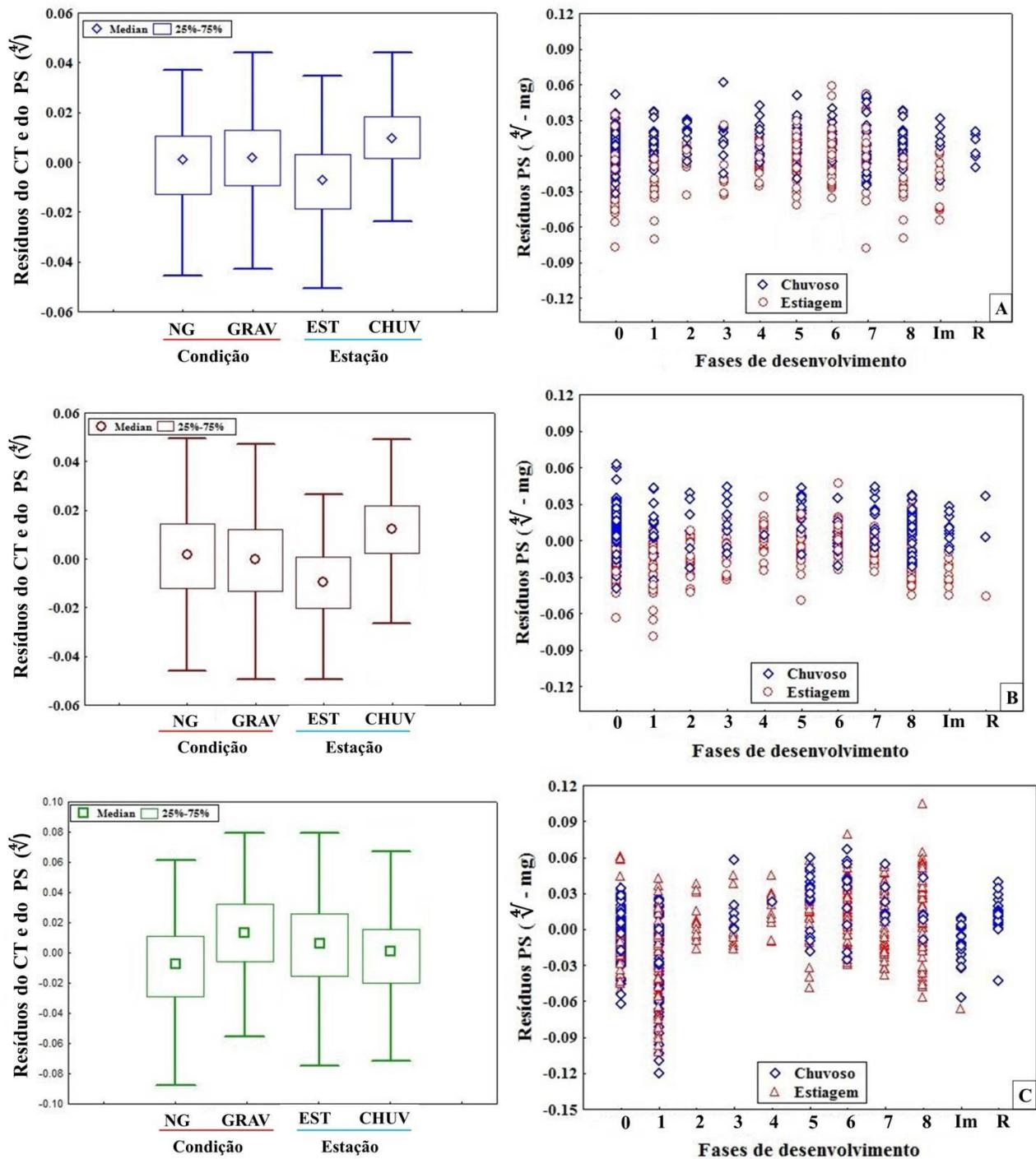
#### Efeito da sazonalidade na condição e fecundidade das fêmeas de *Jenynsia multidentata*

Após controlar o efeito do tamanho, não são verificadas diferenças pronunciadas no PS de fêmeas grávidas e não grávidas. Na Lagoa Garça, porém, observou-se só um valor mais extremo de peso somático para as fêmeas grávidas é durante a estiagem.

O peso somático das fêmeas não parece diferir entre as fases de desenvolvimento de seus embriões. Fêmeas no período chuvoso foram em geral perceptivelmente mais pesadas em Pitanga e em Catingosa (Figura 11). Os resíduos da regressão entre o comprimento e o peso não foram significativamente diferentes entre os períodos seco e chuvoso (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resultado do teste Mann-Whitney que comparou os resíduos da regressão entre o comprimento total e o peso somático seco de fêmeas de *Jenynsia multidentata* entre os períodos chuvoso e de estiagem (C e E, respectivamente) e entre grávidas e não grávidas (FG e NG, respectivamente).

	CONDIÇÃO				PERÍODO			
	U	p	N (NG)	N (FG)	U	p	N (E)	N (C)
Pitanga	32,662	0,077	248	289	15,707	<0,01	297	240
Catingosa	34,896	0,978	241	290	11,550	<0,01	286	245
Garça	24,638	<0,01	302	296	37,490	0,008	357	241



**Figura 11.** Análise da variação dos resíduos das fêmeas grávidas (GRAV) e não grávidas (NG) de *Jenynsia multidentata* nos períodos de estiagem e chuvoso entre maio de 2013 e abril de 2014 em A: canal Pitanga, B: Lagoa Catingosa e C: Lagoa Garça.

**Tabela 5.** Comparação da média e desvio padrão do comprimento total, peso seco somático e fecundidade das fêmeas grávidas de *Jenynsia multidentata* para cada ambiente nas épocas de estiagem e de chuva entre maio de 2013 e abril de 2014.

Local	Estiagem (média ± d.p)	Chuvoso (média ± d.p)
<b>Comprimento total (mm)</b>		
Pitanga	50,59 ± 11,69	45,93 ± 8,48
Catingosa	49,08 ± 8,81	48,69 ± 7,32
Garça	57,17 ± 8,76	54,08 ± 12,75
<b>Peso seco somático (mg)</b>		
Pitanga	0,36117 ± 0,26	0,27184 ± 0,20
Catingosa	0,31382 ± 0,15	0,33657 ± 0,16
Garça	0,53360 ± 0,24	0,48028 ± 0,32
<b>Fecundidade (NEV)</b>		
Pitanga	22,70 ± 5,08	13,37 ± 11,14
Catingosa	11,48 ± 4,03	9,37 ± 3,29
Garça	18,29 ± 10,02	17,62 ± 11,27

Exceto para a fecundidade média em Catingosa, não foi verificada associação entre os descritores da variabilidade ambiental (escores de ACP1 e ACP2 e precipitação mensal acumulada) e a frequência de fêmeas grávidas e a fecundidade, nem com o fator de condição corporal das fêmeas grávidas e não grávidas.

**Tabela 6.** Correlação dos valores da precipitação mensal acumulada, do Eixo 1 e do Eixo 2 da ACP com a frequência de fêmeas de *Jenynsia multidentata* grávidas, fecundidade mensal, resíduos da relação entre o CT e PS das fêmeas grávidas e os resíduos da relação entre o CT e PS das fêmeas não grávidas. Valor em destaque indica a única correlação significativa detectada.

		PITANGA			CATINGOSA			GARÇA		
		N	r	p	N	r	p	N	r	p
<b>Chuvvas</b>	%FG	11	0,158	0,643	12	-0,634	0,027	10	-0,118	0,745
	FM	11	-0,434	0,182	12	0,122	0,705	10	0,184	0,724
	Res Grav	11	0,268	0,426	12	0,288	0,363	10	-0,113	0,756
	Res N/G	12	0,397	0,199	12	0,304	0,336	11	0,311	0,352
<b>ACP 1</b>	%FG	11	0,124	0,716	12	-0,327	0,3	10	0,073	0,842
	FM	11	0,138	0,685	12	0,392	0,208	10	0,177	0,625
	Res Grav	11	-0,345	0,298	12	-0,069	0,831	10	0,5004	0,141
	Res N/G	12	-0,33	0,295	12	0,04	0,902	11	0,466	0,149
<b>ACP 2</b>	%FG	11	-0,383	0,245	12	-0,103	0,75	10	0,074	0,839
	FM	11	0,322	0,334	12	0,611	<b>0,035</b>	10	-0,409	0,24
	Res Grav	11	-0,497	0,12	12	-0,556	0,061	10	0,021	0,954
	Res N/G	12	-0,565	0,056	12	-0,564	0,056	11	0,236	0,486

## DISCUSSÃO

Pelo menos no limite norte de sua distribuição natural, as variações interpopulacionais de *J. multidentata* parecem ter sido mais fortes que as esperadas variações intraanuais. A variação dos parâmetros ambientais evidenciou que existem diferenças entre os ambientes (espacial) e entre as épocas do ano (temporal). Mesmo com as diferenças entre os ambientes, nem o início do período de chuvas nem as variações na salinidade foram determinantes para explicar as diferenças observadas nos parâmetros reprodutivos das fêmeas de *J. multidentata* em termos de frequência de fêmeas grávidas, fecundidade média e peso somático.

É possível que condições ambientais (físicas, químicas, de alimentação e composição da ictiofauna) dos três ambientes amostrados estejam associadas aos padrões na dinâmica reprodutiva de *J. multidentata*, pois foram ambientes heterogêneos em relação à superfície, profundidade, cobertura de vegetação e ictiofauna acompanhante. Estes aspectos, porém, não foram avaliados neste trabalho. O Canal Pitanga é um ambiente restrito com sinais de maior interferência humana, menos vegetado. Neste ambiente foi registrada a maior variação no tamanho das fêmeas, fecundidade média mensal e proporção de fêmeas e machos. Em função de sua pequena área, a competição por recursos poderia explicar a maior intensidade da variação nos descritores da dinâmica reprodutiva. A região litorânea da Lagoa Catingosa apresentou a maior extensão entre os três ambientes estudados e a maior cobertura por espécies vegetais aquáticas submersas, o que potencialmente facilitou o escape e/ou resguardo dos indivíduos no momento de passar a rede de arrasto, e explicaria os maiores esforços de pesca. Nesta lagoa foram registrados os menores tamanhos de fêmeas adultas e a fecundidade média mensal mais baixa, porém a mais constante. Na Lagoa Garça, a maior em área, o local de amostragem se limitou a uma estreita enseada, com menor cobertura vegetal, onde *J. multidentata* se concentra juntamente com *P. vivipara* e *Atherinella brasiliensis*, esta última foi observada predando indivíduos de *J. multidentata* no mês de setembro.

### **Proporção dos sexos e importância das fêmeas para estudos da dinâmica reprodutiva**

Apesar de que em espécies de reprodução sexual (não só de peixes), os machos desenvolvem um papel importante, especialmente naquelas que se observa algum tipo de cuidado parental que envolve tanto a macho como fêmeas (tipicamente nas aves), é frequente que estudos enfatizem as

informações das fêmeas. No caso de estudos relacionados à fecundidade, esta ênfase nas fêmeas é ainda maior (Stearns, 1992).

Embora um detalhamento da dinâmica dos machos não tivesse sido contemplada neste estudo, foi possível estimar a proporção desses nas 12 coletas. A proporção obtida em Catingosa ( $3,7\text{♀}:1\text{♂}$ ) e em Garça ( $3,5\text{♀}:1\text{♂}$ ) é similar a que observaram Andreatta & Novaes (1996) para *Jenynsia lineata* na Lagoa Rodrigo de Freitas e Aranha & Caramaschi (1999) no Rio Ubatiba, ambos também no Estado do Rio de Janeiro, apesar das grandes diferenças na salinidade da água e conexões com outros corpos d'água desses ambientes em relação a aqueles do PARNA Restinga de Jurubatiba.

Inicialmente, poderia se pensar que o equipamento de coleta poderia ter influenciado essa maior tendência de fêmeas, de corpo maior que os machos nas coletas. Porém a malha de rede empregada foi efetiva em selecionar os adultos, sendo que fêmeas de tamanho inferior a 30 mm de CT foram comumente registradas. A baixa variação nas proporções sexuais mensais e os resultados dos autores anteriormente citados confirmam que efetivamente os machos se encontram em menor proporção. Uma das hipóteses sugeridas para explicar o alto percentual de fêmeas na população é aquela relacionada ao sistema de acasalamento do grupo, em que o acasalamento ocorre sem o consentimento das fêmeas, sendo necessário um alto investimento do tempo de exposição dos machos para essa atividade. Esse comportamento provavelmente torna os machos mais vulneráveis aos predadores, resultando em maior número de fêmeas na população (Magurran & Nowak, 1991).

### **Relação entre o tamanho da fêmea e a fecundidade**

Foi na Lagoa Garça que se observou a relação mais forte entre o tamanho da fêmea e sua fecundidade, o que sugere que para os outros dois locais o CT seja um preditor menos eficiente do número de embriões. Outros fatores, como pressões seletivas poderiam estar determinando as variações interpopulacionais nessa relação. Além de revelarem um aumento da fecundidade com o aumento do tamanho, as frequências de fêmeas nas classes de comprimento demonstram a ocorrência de diferenças na estrutura de tamanho de corpo entre os três ambientes investigados.

Os resultados permitem inferir que em Pitanga, com representantes em todas as classes de tamanho, as fêmeas começam a reproduzir com um menor CT (precocidade). É possível que este ambiente, considerado o mais restrito, determine uma maior pressão ambiental às fêmeas que reproduzem a qualquer preço, investindo mais na prole em relação às demais populações. Este ambiente apresenta similaridade com as classes de tamanho e a fecundidade média que encontraram

Andreatta & Novaes (1996) na Lagoa Rodrigo de Freitas. Infelizmente, comparações com esse estudo são limitadas pela ausência da frequência por intervalo de comprimento e uma medida de variação. A fecundidade média reportada para as fêmeas de *J. multidentata* na Lagoa Rodrigo de Freitas para o intervalo entre 70 a 75 mm é maior (53) do que o valor determinado para Pitanga (44).

Em Catingosa foram registradas as menores fêmeas e também a menor fecundidade média mensal. Porém, este é o ambiente onde embriões foram registrados durante todo o ano e em número similar. É possível que em Catingosa, onde foi verificada a menor proporção de machos, as fêmeas não apresentem ninhadas numerosas, como um reflexo de uma maior estabilidade ambiental e condições mais favoráveis para os juvenis. Assim, mesmo apresentando uma fecundidade menor, a produção de recrutas em Catingosa pode se equiparar aos demais ambientes em função da constância na reprodução.

Apesar de terem encontrado tendência sazonal na reprodução de *J. multidentata* no ambiente lótico que investigaram, Aranha & Caramaschi (1999) não conseguiram determinar a estação reprodutiva pelo baixo número de fêmeas grávidas encontrado. Segundo esses autores, os tamanhos variaram entre 11 e 70 mm, sendo que 75 % das observações se concentrou entre 15 e 35 mm, tamanhos esses diminutos se comparados ao ambientes do norte fluminense, que registraram a maior frequência de fêmeas no intervalo entre 46 e 50 mm e as menores fêmeas com embriões no intervalo entre 36 e 40 mm. Dessa forma, o baixo número de fêmeas grávidas encontrado por Aranha & Caramaschi (1999) é explicado pela estrutura de tamanho das fêmeas de *J. multidentata* no Rio Ubatiba.

Em relação à oscilação mensal da %FG, no canal Pitanga e na Lagoa Catingosa, a frequência temporal das fases de desenvolvimento reflete a assincronia das fêmeas dentro de cada ambiente. O recrutamento não parece limitado a uma época do ano como foi reportado para a espécie no sul do Brasil (Garcia *et al.*, 2004), o que pode sugerir que no limite norte de sua distribuição, os estímulos ambientais sejam constantes e/ou suficientes para a ocorrência de vários ciclos reprodutivos ao ano.

Na Lagoa Garça se observaram dois aspectos interessantes; o primeiro em relação os maiores tamanhos de corpo e o segundo em relação ao período de latência na reprodução entre janeiro e abril. A partir dos cortes histológicos foi possível identificar atividade ovogênica nesse período, e com auxílio do microscópio estereoscópico, a migração de ovos fecundados ao longo do ovário. Este estado fisiológico não pode ser associado às variações dos parâmetros físicos e químicos da lagoa durante o período chuvoso (Tabela 6), além disso, não foram tão diferentes dos registrados durante o

período de estiagem, no qual as fêmeas apresentaram uma maior atividade reprodutiva relacionada com %FG e fecundidade média.

### **Relação entre o tamanho da fêmea e a fecundidade**

O tamanho foi um excelente preditor do peso somático dos ambientes estudados. Exceto para as fêmeas da Lagoa Garça, a condição corporal das fêmeas pareceu melhor durante o período chuvoso, independentemente da sua condição de grávida ou não grávida. Nesta lagoa, durante os meses chuvosos (especialmente de janeiro a abril), detectou-se uma latência das fêmeas, apesar de apresentarem os maiores comprimentos totais, estavam muito delgadas, o que se refletiu em valores negativos dos resíduos da relação entre o tamanho do corpo e o peso.

Em espécies vivíparas matrotóxicas como *J. multidentata*, após esgotar a reserva de vitelo o embrião continua se desenvolvendo através de estruturas ou conexões maternas. Isto implicaria em um comprometimento adicional das reservas energéticas maternas com a manutenção dos embriões além do que foi investido durante o processo de ovogênese. Porém, as análises que compararam o peso somático das fêmeas nas diferentes fases de desenvolvimento embrionário falharam em detectar diferenças entre grávidas e não grávidas, apesar de um evidente incremento de peso durante o desenvolvimento embrionário. De acordo com Thibault & Schultztz (1978), para serem consideradas vivíparas, as fêmeas devem suplementar um mínimo de 50 % da nutrição de seus embriões. No entanto, contribuições com a espécie *Poecilia vivipara* indicam que a perda de peso da mãe não seria um critério suficiente para estimar a contribuição relativa de suplementação materna, tendo em conta que a eficiência da transferência de nutrientes de origem materna poderia ser diferente daquela do vitelo (Trexler, 1985). No caso da matrotófica *J. multidentata*, estudos que avaliem os mecanismos de transferência de energia poderiam elucidar as causas para a aparente manutenção do peso das fêmeas nas fases finais da gestação, nas quais as estruturas de conexão materna se desenvolvem para manter a nutrição dos embriões que esgotaram suas reservas de vitelo (para maiores detalhes, ver Capítulo 1 desta dissertação).

### **Táticas reprodutivas**

Considerando que os ambientes contemplados neste estudo representam as menores latitudes da ocorrência natural de *J. multidentata*, o regime pluviométrico seria o determinante da esperada

sazonalidade reprodutiva. Porém, uma variação no número de fêmeas grávidas e na condição corporal foi evidenciada somente na Lagoa Garça. Um questionamento que surge dessa constatação é: -Dada a proximidade entre os ambientes investigados e o fato de que estarem sujeitos aos mesmos fatores em escala regional, por que somente uma população pareceu responder à sazonalidade das chuvas? Infelizmente, existem apenas hipóteses candidatas. A primeira, relacionada a uma possível queda na produtividade da Lagoa Garça com a redução da salinidade no período chuvoso, determinando a manutenção da atividade ovogênica e bloqueio da fertilização, como uma tática de espera para que as condições do sistema fossem mais favoráveis para os juvenis. A segunda, questiona se os níveis de pluviosidade verificados no ano investigado não estariam seguindo uma tendência dos últimos cinco anos, marcados por estiagem prolongada e determinando uma variação nos fatores ambientais que apesar de capturada pelas análises, não foi perceptível aos indivíduos. A falha em detectar uma associação entre os descritores da dinâmica reprodutiva de *J. multidentata* e os parâmetros ambientais considerados neste estudo não implica necessariamente em negar um efeito entre essas variáveis em outros níveis individuais. Para afirmar ausência de sazonalidade na reprodução de *J. multidentata* no limite setentrional de sua distribuição, a replicação deste estudo em sistemas independentes e em períodos climáticos marcados por uma maior estacionalidade na precipitação se faz necessária.

## REFERÊNCIAS

- Amano, M., T. Yamanome., H. Yamada., K. Okuzawa & K. Yamamori. 2004. Effects of photoperiod on gonadotropin-releasing hormone levels in the brain and pituitary of underyearling male barfin flounder. *Fisheries Science*, 70: 812-818.
- Andreatta, V & J.L.C. Novaes. 1996. Aspectos reprodutivos de *Jenynsia lineata* Jenyns, 1842 (Osteichthyes, Anablepidae) da Lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro. *Acta Biologica Leopoldensia*, 18 (2): 129 – 139.
- Aranha, J.M.R. & E.P. Caramaschi. 1999. Estrutura populacional, aspectos da reprodução e alimentação dos Cyprinodontiformes (Osteichthyes) de um riacho do sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 16 (1): 637-651.
- Bove, C.P & J. Paz. 2009. Guia de campo das plantas aquáticas do Parque Nacional Restinga de Jurubatiba, Pp. 176. Rio de Janeiro: Museu Nacional.
- Brooks, D.R. 1985. Historical ecology: A new approach to studying the evolution of ecological associations. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 72: 660-680.

- Caliman, A., L.S. Carneiro, L.S., J.M. Santangelo, R.D. Guariento., A.F.P. Pires., A.L. Suhett, L.B. Quesado., V. Scofield., E.S. Fonte., P.M. Lopes., L.F. Sanches., F.D. Azevedo., C.C. Marinho., R.L. Bozelli., F.A. Esteves & V.F. Farjalla. 2010. Temporal coherence among tropical coastal lagoons: A search for patterns and mechanisms. *Brazilian Journal of Biology*, 70 (3): 803-814.
- Di Dario, F., A.C. Petry., M.S.P. Maia., M.M. Mincarone., L.A. Soares., E.M. Camara., E.P. Caramaschi & M.R. de Britto. 2013. An update on the fish composition (Teleostei) of the coastal lagoons of the Restinga de Jurubatiba National Park and the Imboassica Lagoon, northern Rio de Janeiro State. *Acta Limnológica Brasiliensia*, 25(3): 257-278.
- Garcia, A.M., J.P. Vieira., K.O. Winemiller & M.B. Raseira. 2004. Reproductive cycle and spatiotemporal variation in abundance of the one-sided livebearer *Jenynsia multidentata*, in Patos Lagoon, Brazil. *Hydrobiologia*, 515: 39-48.
- Ghedotti, M.J & S.H. Weitzman. 1996. A new species of *Jenynsia* (Cyprinodontiformes: Anablepidae) from Brazil with comments on the composition and taxonomy of the genus. *Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas*, 179: 1-25.
- Goulding, M. 1980. The fishes and the forest. Explorations in Amazonian Natural History. University of California Press. Berkeley, USA. Pp. 280.
- Goyenola, G., C. Iglesias., N. Mazzeo & E. Jeppesen. 2011. Analysis of the reproductive strategy of *Jenynsia multidentata* (Cyprinodontiformes, Anablepidae) with focus on sexual differences in growth, size and abundance. *Hydrobiologia*, 673: 245–257.
- Hollanda-Carvalho, P., J.I. Sánchez-Botero., E.P. Caramaschi & R.L. Bozelli. 2003. Temporal variation of fish community richness in coastal lagoons of the Restinga de Jurubatiba Park, Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Limnológica Brasiliensia*, 5: 31-40
- Helfman, G.S., B.B. Collette & D.E. Facey. 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science.
- Hubbs, C. 1985. Darter reproductive seasons. *Copeia*: 56-68.
- Kjerfve, B. 1986. Comparative oceanography of coastal lagoons. Pp. 63-81. In: Wolfe, D.A. Estuarine variability. Academic Press, New York.
- McCune, B. & J. Mefford. 1999. *Multivariate Analysis of Ecological Data*. Version 4.10. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Magurran, A.E. & M.A. 1991. Another battle of the sexes: The consequences of sexual asymmetry in mating costs and predation risk in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society*, 246: 1315.
- Martin, S.B., A.T. Hitch, K.M. Purcell., P.L. Klerks & P.L. Leberg. 2009. Life history variation along a salinity gradient in coastal marshes. *Aquatic Biology*, 8: 15-28
- Nusch, E.A. & G. Palmer. 1975. Biologische Methoden für die Praxis der Gewässeruntersuchung. *GWF – Wasser, Abwasser*, 116: 562 – 565.
- Reznick, D.N. & J.A. Endler. 1982. The impact of predation on life history evolution in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Evolution*, 36: 160–177.
- StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (Data Analysis Software System), version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

- Stearns, S.C. 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford: Oxford University Press.
- Thibault, R.E & R.J. Schultz. 1978. Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution*, 32: 320–333.
- Trexler, J.C. 1985. Variation in the Degree of Viviparity in the Sailfin Molly, *Poecilia latipinna*. Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH). *Copeia*, 4: 999-1004.
- Winemiller, K.O. 2005. Life history strategies, population regulation, and implications for fisheries management. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62: 872–885.
- Winemiller K.O. & Rose K.A. 1992. Patterns of life-history diversification in North American Fishes: implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49: 2196–2218.

### CAPÍTULO 3. VARIAÇÃO DA FECUNDIDADE DE *JENYNSIA MULTIDENTATA* (JENYNS, 1842) NO GRADIENTE LATITUDINAL DE SUA DISTRIBUIÇÃO

#### INTRODUÇÃO

A teoria das histórias de vida tenta explicar a evolução das características dos organismos como resposta adaptativa à variação do ambiente, sendo que fatores relacionados à sazonalidade de ambientes tropicais e temperados poderiam exercer uma importante força seletiva na intensidade dessa resposta (Partridge & McCune, 1997; Winemiller, 2005). Para diversos táxons, as características da história de vida tais como as taxas de crescimento e mortalidade, período da maturação gonadal, investimento reprodutivo e grau de cuidado parental podem variar ao longo do gradiente latitudinal tanto em uma mesma espécie quanto entre espécies (Lonsdale & Levinton, 1958; Winemiller & Rose, 1992). Essa variação nas características da história de vida pode resultar de uma diferenciação genética de populações locais e/ou da plasticidade fenotípica de indivíduos que vivem em sistemas que variam na intensidade e no fator determinante da sazonalidade ambiental (Merilä & Hendry, 2013).

Apesar dos ambientes tropicais modernos serem relativamente mais quentes e menos sazonais que os temperados, pelo menos em relação à temperatura e a duração do fotoperíodo (Blanck & Lamoroux, 2007), estão sujeitos a mudanças em curto prazo. Assim, grande parte das espécies que os habitam possuem a capacidade de se adaptar ajustando algumas das características da sua história de vida, o que pode levar a um aumento do fitness / ou condição a médio prazo. Os peixes são conhecidos pela grande plasticidade fenotípica com que respondem às características do meio, o que lhes permite aumentar as chances de sucesso frente a variações ambientais.

Há cerca de duas décadas, Kirk Winemiller propôs três extremos nas estratégias da história de vida nos peixes, que estariam associados às dinâmicas ambientais em sistemas tropicais (Winemiller, 1989, 1992; Winemiller & Rose, 1992). A **estratégia sazonal**, que caracteriza os peixes de maturidade tardia, geralmente de maior porte, alta fecundidade e baixa sobrevivência dos juvenis estaria associada com ambientes estacionais; a de **equilíbrio**, que caracteriza espécies com uma baixa fecundidade e alta sobrevivência dos juvenis, muitas das quais desempenhando cuidado parental, estaria associada a ambientes relativamente estáveis e a **oportunista**, que caracteriza espécies de maturação precoce, geralmente de pequeno tamanho de corpo, baixa fecundidade e baixa sobrevivência dos juvenis associada a ambientes com variações estocásticas.

As diferenças associadas ao gradiente latitudinal têm sido amplamente avaliadas e utilizadas para explicar em algum grau as adaptações locais de algumas populações de peixes (Blanck & Lamoroux, 2007). A plasticidade das táticas reprodutivas das espécies de peixes vivíparos tem sido investigada principalmente na família Poeciliidae (Reznick & Yang, 1993). No entanto, ainda pouco se conhece acerca dos ciclos/períodos reprodutivos e fecundidade de outras famílias de teleósteos vivíparos, incluindo espécies nativas de ampla distribuição sob diferentes pressões ambientais, como é caso de *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842).

Dentro de seu gênero, *J. multidentata* é a que apresenta a distribuição geográfica mais ampla e habita preferencialmente ambientes costeiros (Ghedotti & Weitzman, 1996; Garcia *et al.*, 2004). Estuários e lagoas costeiras são ecossistemas de grande importância biológica e ecológica para a reprodução e para as fases larvais e juvenis de muitas espécies de peixes marinhos e de água doce e em uma escala local estão expostos a múltiplas variações físicas como salinidade da água e disponibilidade de recursos e biológicas como pressão de predação e competição, que podem induzir adaptações particulares da ictiofauna, afetando a distribuição dos organismos nesses habitats (Elliot & Hemingway, 2002).

Aspectos da reprodução de *J. multidentata* são conhecidos para sistemas costeiros subtropicais, como na Lagoa dos Patos, onde dois picos reprodutivos de diferente extensão ocorrem durante os meses mais quentes do ano (Garcia *et al.*, 2004). Para sistemas no limite setentrional da distribuição da espécie, os estudos sugerem ausência de uma marcada variação intraanual na atividade reprodutiva (Andreatta & Novaes, 1996; Capítulo 2 desta dissertação). Esses resultados sugerem que a dinâmica reprodutiva de *J. multidentata* esteja associada com a amplitude de variação de gatilhos ambientais para a reprodução de peixes como a temperatura e o fotoperíodo, que aumenta com a latitude.

Considerando que o recrutamento anual em uma população depende além da frequência dos eventos reprodutivos também do número de indivíduos produzidos, é possível que os múltiplos eventos reprodutivos de *J. multidentata* nas menores latitudes sejam caracterizados por um menor esforço na produção de indivíduos produzidos em cada lote. Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar se a fecundidade deste peixe vivíparo de pequeno porte varia no gradiente latitudinal de sua distribuição.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de estudo

Com a finalidade de comparar a fecundidade de *J. multidentata*, sete ambientes costeiros foram selecionados no gradiente da sua distribuição. Os ambientes que funcionaram como fontes de *J. multidentata* para este estudo foram o Canal Pitanga e a Lagoa Garça no PARNA Restinga de Jurubatiba (PNRJ), Rio de Janeiro; Prainha e Torotama no estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul; a Laguna de Garzón e a Laguna de Rocha, Uruguai e o canal Juan y Juan, na Lagoa Mar Chiquita, Argentina (Tabela 1).

**Tabela 1.** Localização geográfica e características dos ambientes aquáticos costeiros incluídos nesse estudo.

	Rio de Janeiro		Rio Grande do Sul		Uruguai		Argentina
	Pitanga	Garça	Torotama	Prainha	Rocha	Garzón	Mar Chiquita
Localização	41°18'W -22°09'S	41°29'W -22°12'S	52°08'W -31°55'S	52°06'W -32°08'S	54°15'W -34°37'S	54°34'W -34°46'S	57°15'W -37°33'S
Área (km <sup>2</sup> )	0,001	0,21 <sup>(1)</sup>	971 <sup>(2)</sup>		72 <sup>(4)</sup>	18 <sup>(4)</sup>	60 <sup>(5)</sup>
Distância à costa (km)	0,08	0,10	22,80	0,5	0,1	0,1	1,14
Profundidade média (m)	0,40	0,82 <sup>(1)</sup>	5 <sup>(2)</sup>	2 <sup>(3)</sup>	0,6 <sup>(4)</sup>	0,5 <sup>(4)</sup>	1 <sup>(5)</sup>

Fonte: (1) Caliman *et al.* (2010); (2) Seeliger *et al.* (1998); (3) Weschenfelder *et al.* (2008); (4) Santana & Fabiano (1999); (5) Marcovecchio *et al.* (2005).

Uma breve descrição desses ambientes é apresentada abaixo, no sentido ascendente do gradiente latitudinal.

No Estado do Rio de Janeiro, o PNRJ é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral no bioma da Mata Atlântica. Localiza-se na região norte do Estado, estendendo-se pelos municípios de Macaé, Carapebus e Quissamã. Possui uma área de 14.860 ha, com uma extensão de 44 km paralela à praia. O clima da região é tropical quente-úmido, com verão quente chuvoso e inverno ameno seco. A temperatura média anual varia entre 22 ° e 24 °C, sendo a máxima em janeiro (29,7 °C) e a mínima em julho (20 °C) e a precipitação anual varia entre 1.000 e 1.350 mm. Nessa porção do litoral fluminense, uma grande planície arenosa se desenvolve com altitude máxima de aproximadamente 12 m, com baixa inclinação na costa e zonas inundáveis entre as antigas cristas praias. No PNRJ encontra-se um magnífico complexo lacustre/lagunar costeiro, abrangendo lagoas que podem apresentar conexão temporária com o mar áreas de inundação e brejos permanentes e

temporários. As 18 lagoas costeiras diferem entre si em relação à área, profundidade e composição química da água que tem origem variável (aporte marinho, afloramento do lençol freático, rede de drenagem) (Enrich-Prast *et al.*, 2004; Esteves, 1998), na composição florística (Bove & Paz, 2009) e também ictiofaunística (Di Dario *et al.*, 2013).

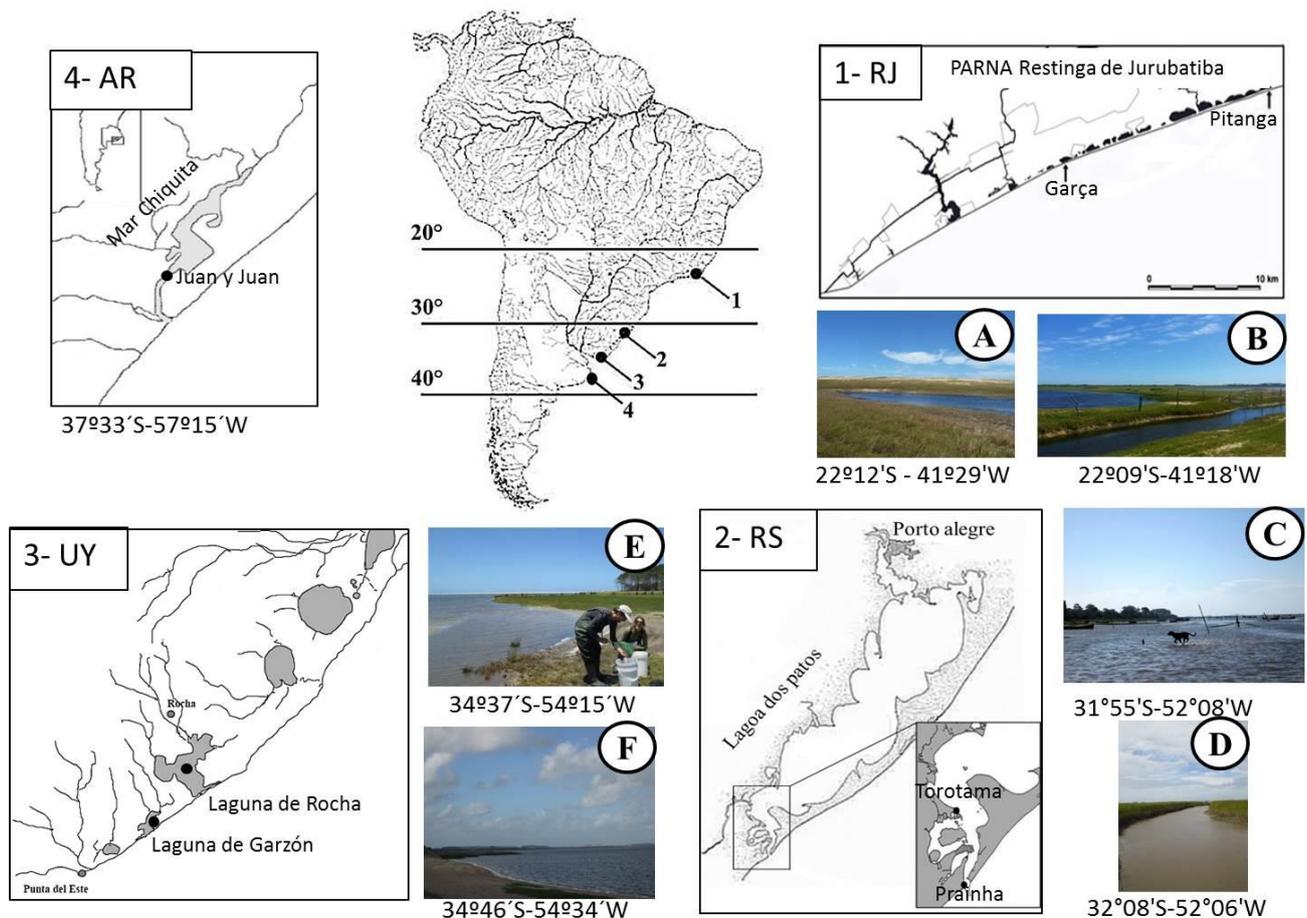
O canal Pitanga adjacente à Lagoa Ubatuba, representa uma parte dessa lagoa que foi separada pela elevação de um dique. Desde 2011 representa uma porção dessa lagoa que ainda não dessecou por completo. É um corpo d'água estreito e raso no limite norte da área de conservação. A Lagoa Garça, representa um dos principais corpos d'água do conjunto de 18 lagoas do PNRJ. Foi formada a partir de processos geomorfológicos que isolaram antigas baías marinhas formadas nas depressões entre as faixas de areia que constituem as restingas e estende-se paralelamente à costa e está desconectada do oceano (Figura 1A).

No Estado do Rio Grande do Sul, foram amostradas duas localidades no Estuário da Lagoa dos Patos, uma na Ilha de Torotama e outra na barra (Prainha). Estas se distanciam aproximadamente 20 km uma da outra (Figura 1B). A região onde se situam essas localidades representa cerca de 10 % da superfície total da Lagoa dos Patos. Prainha localiza-se mais ao sul, próximo do canal de 4 km de comprimento e 740 m de largura que conecta permanentemente a lagoa com o mar (Garcia *et al.*, 2004). O estuário da Lagoa dos Patos envolve baías costeiras rasas (chamadas localmente de “sacos”), com profundidade inferior a 5 m e fundos em geral arenosos, o corpo central do estuário, ilhas arenosas e terrenos baixos, de idade holocênica na orla da Lagoa dos Patos. As marés e a salinidade são regidas principalmente pelo vento e pela descarga de água doce continental. Extensas pradarias de *Ruppia maritima* e massas flutuantes de algas se desenvolvem nos sacos (Prainha), enquanto marismas recobrem áreas entremarés de margens como em Torotama, além de banhados de água doce que ocorrem em áreas adjacentes (Seeliger *et al.*, 1998).

No Uruguai, as lagoas amostradas foram a Laguna Garzón, no limite dos departamentos de Maldonado e Rocha, e a Laguna de Rocha no departamento de Rocha (Figura 1C). Essas são lagoas com conexão intermitente com o mar, sendo que em Rocha a barra arenosa é rompida sempre que sua profundidade atinge aproximadamente 1,4 m na calha central, e com menor frequência em Garzón. Uma característica desses sistemas são os altos valores de oxigênio dissolvido na água, devido a mistura quase contínua da coluna da água pela ação do vento. Em termos de biomassa, as espécies geralmente mais representativas são *Ruppia maritima*, *Zannichellia palustris*, *Myriophyllum quitense*, *Potamogeton pectinactus* e as charofíceas *Chara* sp. e *Nitella* sp. Entre as espécies de peixes que frequentemente são registradas nessas lagoas uruguaias com conexão ao oceano

destacam-se: *Pogonias cromis*, *Micropogonias furnieri*, *Odontesthes argentiniensis*, *Brevoortia aurea*, *Lycengraulis grossidens*, *Mugil liza*, *Paralichthys orbignyanus* e *Rhamdia quelen* (Menafrá *et al.*, 2006).

Na Argentina, a Lagoa costeira Mar Chiquita está localizada na província de Buenos Aires, a 32 km ao nordeste da cidade de Mar de Plata (Figura 1D). Divide-se em dois ambientes, um corpo lagunar, onde a influência da maré é mínima e um setor de características estuarinas, localizado na conexão da lagoa com o mar, onde é percebida a ação da maré. É conectada permanentemente ao mar por um canal de 6 km de comprimento e 200 m de largura (Marcovecchio *et al.*, 2005). A área da bacia hidrográfica que esta lagoa se insere apresenta cerca de 10.000 km<sup>2</sup>. Por representar a porção mais baixa e próxima ao oceano de uma complexa rede hidrográfica, Mar Chiquita apresenta maior influência de água doce em relação à influência marinha. A área de Mar Chiquita recebe uma precipitação média de 900 mm.ano<sup>-1</sup>. A forma da lagoa é irregular, e sua topografia de fundo plano alcança uma profundidade máxima de 1,50 m (Lanfredi *et al.*, 1981), sem estratificação vertical da coluna de água. A *Ruppia maritima* é a espécie vegetal mais comum; a ictiofauna está representada por *Rhamdia sapo*, *Jenynsia multidentata*, *Astyanax eigenmaniorum*, *Platanichthys platana*, *Cheirodon interruptus*, *Gobisoma parri*, *Bryconamericus iheringi*, *Hyphessobrycon anisitsi*, *Oligosarcus jenynsi*, *Odontesthes argentinensi*, *Micropogonias furnieri*, *Mugil platanus* e *Ramnogaster arcuata* (Cousseau *et al.*, 2001).



**Figura 1.** Localização dos pontos de amostragem nos Estados do Rio de Janeiro-1 (Pitanga-A e Garça-B) e Rio Grande do Sul-2 (Torotama-C e Prainha-D), além de Uruguai-3 (Rocha-E e Garzón-F) e Argentina-4 (Juan y Juan) (Modificada de: Garcia *et al.*, 2004; Santana & Fabiano, 1999; Marcovecchio *et al.*, 2005).

### Amostragens

O período de amostragem, entre 06 e 22 de dezembro de 2013, foi propositadamente determinado de forma a minimizar o intervalo de tempo entre a obtenção das amostras nas diferentes localidades e contemplar um dos meses em que picos reprodutivos são descritos para a espécie, pelo menos no sul do Brasil (Garcia *et al.*, 2004). As amostragens foram realizadas com arrastos marginais empregando redes de malha padronizada (0,5 cm de entrenós adjacentes) para a coleta de um mínimo de 50 fêmeas em cada um dos ambientes incluídos nesse estudo (Figura 1). A proponente deste estudo realizou as amostragens em colaboração com pesquisadores da UDELAR e FURG, sendo que em Mar Chiquita as amostragens de *J. multidentata* foram realizadas com o mesmo esforço (rede de mesma malha) por pesquisadores argentinos, que gentilmente enviaram os exemplares para o desenvolvimento deste estudo.

Considerando que este estudo teve como foco principal a avaliação da fecundidade, em campo os indivíduos foram pré-selecionados utilizando como critério a ocorrência de abdômen proeminente, um possível indicador do estado de gravidez.

Por ocasião das amostragens, foram registrados fatores físicos e químicos da água [salinidade, condutividade elétrica ( $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ ) e oxigênio dissolvido (OD,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )], e amostras de água foram coletadas, mantidas congeladas e conduzidas ao Laboratório Integrado de Ecologia Aquática do NUPEM/UFRJ, onde foram processadas para determinação das concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), nitrogênio (N-total,  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e fósforo total (P-total,  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e clorofila *a* ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) sendo esta determinada pelo método de Nusch & Palmer (1975). Este procedimento não foi realizado em Mar Chiquita, sendo que para esta localidade apenas os valores de salinidade e temperatura foram registrados.

Os procedimentos de biometria e evisceração e obtenção do peso somático seco das fêmeas e embriões seguiram a metodologia descrita no Capítulo 2 desta dissertação. Lotes com exemplares de todas as localidades foram enviados para a Universidade Federal do Tocantins (UFT, Dr. P. Lucinda) para confirmação da espécie e estão em processo de tombamento na coleção de Peixes da UFT e do NUPEM/UFRJ (NPM).

### **Análise dos dados**

Considerando a amplitude de variação e as diferentes escalas de mensuração dos fatores físicos e químicos da água entre os sete ambientes, a magnitude de sua variação foi inspecionada a partir do cálculo do coeficiente de variação (CV). As relações entre o comprimento total da fêmea (CT, mm) e seu peso somático seco (PS, g) e a fecundidade expressa pelo número de embriões visíveis (aqueles a partir da Fase 3) foram exploradas utilizando regressões lineares após a transformação radicial ( $\sqrt[4]{}$ ) do PS e da fecundidade. Em relação à fecundidade, sua possível relação de dependência com o tamanho da fêmea foi testada considerando a totalidade das amostras e através de um ANCOVA. Este procedimento teve por objetivo verificar a variação na fecundidade predita pelo tamanho difere entre as regiões, controlando um possível efeito do comprimento do corpo materno para esta característica reprodutiva.

Os valores medianos de fecundidade foram comparados entre as regiões considerando a totalidade das fêmeas e também apenas aquelas pertencentes à classe de tamanho mais frequente (46 a 55 mm) através do teste Kruskal-Wallis. Os embriões de cada ambiente foram classificados com

base na proposta no Capítulo 1 desta dissertação. Todas as análises foram realizadas com o uso do programa Statistica (Statsoft, 2007) e o nível de significância adotado em todos os testes foi  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Parâmetros físicos e químicos

Dentre variáveis limnológicas avaliadas, os maiores valores de salinidade, COD e clorofila *a* foram registrados nas lagoas do Rio de Janeiro, sendo esses os parâmetros que apresentaram os maiores CVs. Contudo, nessas lagoas os teores de oxigênio dissolvido foram os menores, apesar de não indicarem estado de hipóxia. Foram as lagoas uruguaias que apresentaram elevados valores de oxigênio dissolvido, em concentrações próximas à saturação. Em Rocha, a concentração de P-total foi a mais elevada dentre os sistemas investigados. A salinidade da água e a concentração de Clorofila-*a*, principalmente, e o COD, secundariamente, foram as variáveis ambientais que mais diferiram entre os ambientes. Em geral, as localidades na Lagoa dos Patos e Mar Chiquita se caracterizaram por valores relativamente baixos de salinidade da água e indicadores de menor produção primária (Tabela 2).

**Tabela 2.** Caracterização física e química dos sete ambientes costeiros investigados nos Estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, no Uruguai e na Argentina, em dezembro de 2013.

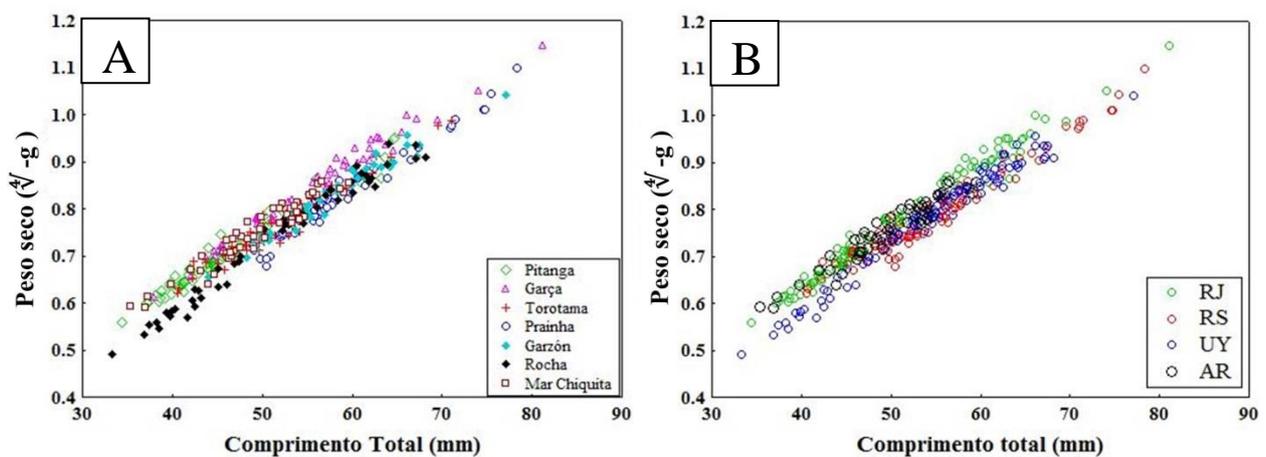
	RJ		RS		UY		AR	CV
	Pitanga	Garça	Torotama	Prainha	Rocha	Garzón	Mar Chiquita	
Salinidade	27	20,2	1,4	4,3	17,05	12,34	3,3	79,35
pH	8,61	7,76	7,82	7,78	8,17	8,31	*	10,42
Temperatura (°C)	26,2	29,5	28,5	26,3	26,1	23,77	24	7,34
Condutividade Elétrica (mS.cm <sup>-1</sup> )	43,17	35,19	2,72	7,78	27,32	20,14	*	68,89
Oxigênio Dissolvido (mg.L <sup>-1</sup> )	5,21	5,95	8,69	9,5	9,5	10,58	*	26,19
COD (mg.L <sup>-1</sup> )	19,43	38,49	4,86	4,01	4,99	3,56	*	112,077
N-Total (mg.L <sup>-1</sup> )	2,75	3,39	1,65	1,02	0,83	0,52	*	67,71
P-Total (µg.L <sup>-1</sup> )	127,03	162,6	79,05	112,34	194,90	52,51	*	43,2
Clorofila- <i>α</i> (µg.L <sup>-1</sup> )	4770,80	7003,80	9,44	1,20	1,04	7,82	*	158,66

\* Dados não disponíveis.

### Tamanho e peso somático seco

Um total de 365 fêmeas foi dissecado, 50 em cada ambiente, exceto Pitanga, onde 65 fêmeas foram evisceradas. Considerando as sete localidades, o CT das fêmeas variou entre um mínimo de

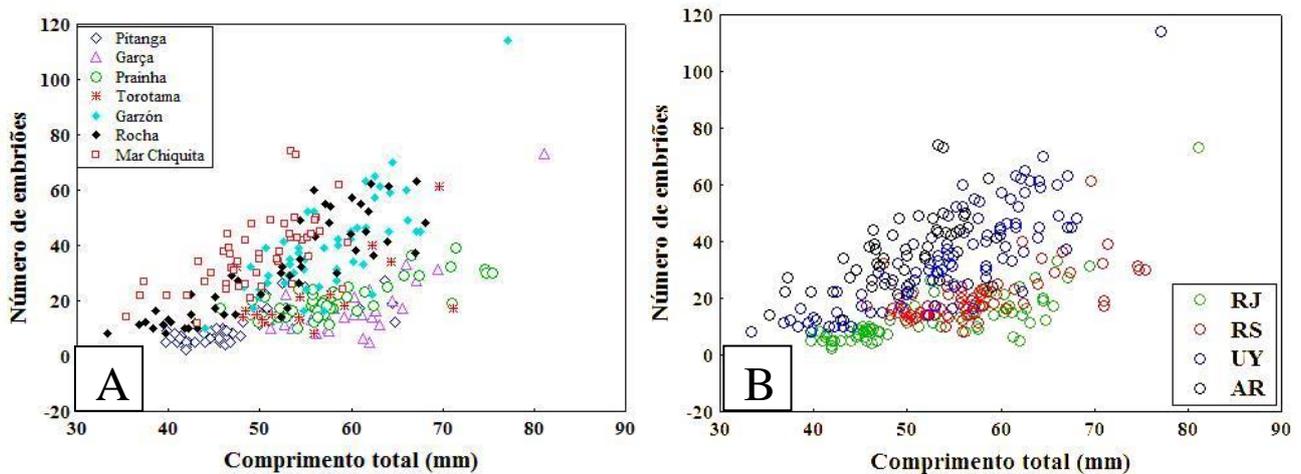
33,43 (Rocha) e um máximo de 81,15 mm (Garça). O maior CT médio foi registrado em Prainha 58,64 mm ( $\pm 7,69$ ) e o menor em Pitanga 46,04 mm ( $\pm 6,83$ ). Dentro de cada região, foi no Rio de Janeiro onde se observou a maior diferença ( $>10$  mm) entre o CT médio das fêmeas. As fêmeas com maior peso somático foram registradas em Garça (média  $0,57933 \pm 0,29$  g), seguidas pelas de Prainha, enquanto que as fêmeas de Pitanga apresentaram os menores valores médios do PS  $0,26824$  g ( $\pm 0,14922$ ) (Figura 2, Tabela 2). De acordo com o resultado da análise de regressão linear, o comprimento total explicou mais de 90 % da variação do peso somático seco das fêmeas de *J. multidentata* (Tabela 3).



**Figura 2.** Relação do tamanho da fêmea e o peso somático seco de *Jenynsia multidentata* nos ambientes (A) e Estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, no Uruguai e na Argentina, nas amostragens realizadas em dezembro de 2013.

### Tamanho e fecundidade

Das 365 fêmeas evisceradas, 303 apresentaram embriões a partir da Fase 3 (83,56 %). Esta frequência relativa, no entanto, não foi similar entre os ambientes. Torotama apresentou o menor número de fêmeas com embrião (19,38 % do total para Torotama), enquanto nas lagoas uruguaias e em Mar Chiquita a totalidade das fêmeas apresentou embriões. As lagoas fluminenses apresentaram os menores valores médios do número de embriões e a maior variação entre os ambientes, sendo Pitanga a localidade onde a fecundidade média foi a mais baixa ( $9,98 \pm 6,17$ ). O maior número de embriões (114 em Fase 3) foi observado em uma fêmea medindo 77,13 mm de CT na Lagoa Garzón. Neste ambiente também foi observado o maior valor médio da fecundidade (Figura 3, Tabela 2).



**Figura 3.** Relação entre o comprimento da fêmea e o número de embriões de *Jenynsia multidentata* nos sete ambientes (A) e estes agrupados por regiões, representadas pelos Estados do Rio de Janeiro (RJ) e Rio Grande do Sul (RS), Uruguai (UY) e Argentina (AR) (B), nas amostragens realizadas em dezembro de 2013.

Assim como para o peso somático seco das fêmeas, a relação entre o comprimento total e o número de embriões também foi significativamente positiva, porém o coeficiente de determinação desta relação foi menor e apresentou uma maior variação entre as localidades (entre 25 e 79 %) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Caracterização das amostras de *Jenynsia multidentata* em ambientes costeiros do Brasil RJ e RS), Uruguai (UY) e Argentina (AR) em dezembro de 2013, detalhando o número de fêmeas dissecadas (FD), e valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) do comprimento total (CT), do peso somático seco (PS), a frequência relativa de fêmeas com embriões (%FG) e o número de embriões (Fecundidade).

Região	Lagoa	FD	CT (mm)	PS (mg)	%FG	Fecundidade
RJ	Pitanga	65	43,04 $\pm$ 6,83	0,26824 $\pm$ 0,15	68	9,98 $\pm$ 6,17
RJ	Garça	50	56,56 $\pm$ 8,57	0,57933 $\pm$ 0,29	62	18 $\pm$ 12,26
RS	Torotama	50	51,53 $\pm$ 6,57	0,35531 $\pm$ 0,17	38	20,10 $\pm$ 13,45
RS	Prainha	50	58,64 $\pm$ 7,69	0,50092 $\pm$ 0,27	98	20,02 $\pm$ 6,60
UY	Rocha	50	51,48 $\pm$ 9,42	0,34327 $\pm$ 0,21	100	30,38 $\pm$ 17,58
UY	Garzón	50	57,53 $\pm$ 6,20	0,48931 $\pm$ 0,18	100	39,20 $\pm$ 17,55
AR	Mar Chiquita	50	49,73 $\pm$ 5,70	0,33533 $\pm$ 0,11	100	36,80 $\pm$ 12,82

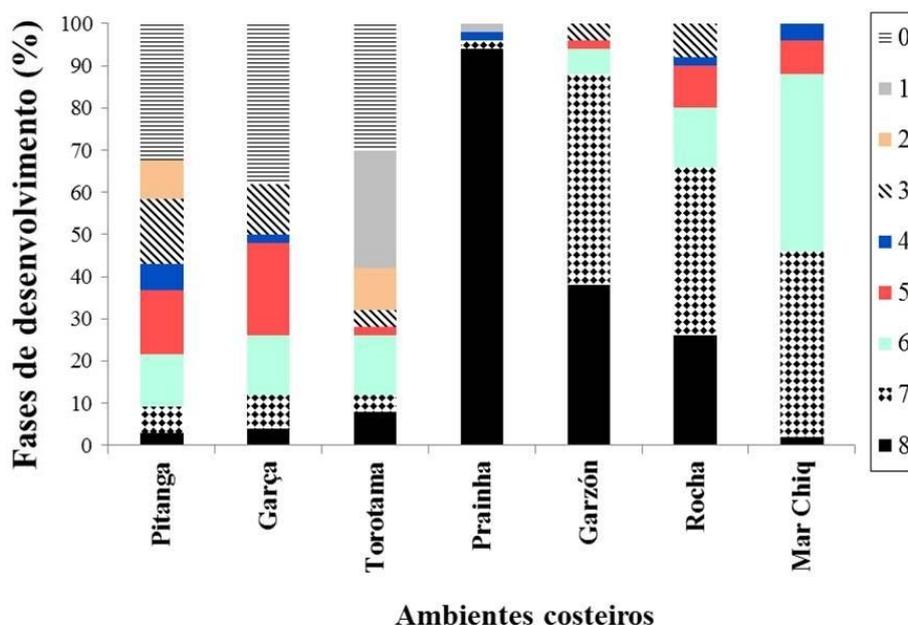
**Tabela 4.** Resultados das regressões lineares aplicadas aos valores de comprimento total (CT, mm) e o peso somático seco (PS, g) e a fecundidade (FEC, número de embriões visíveis) das fêmeas de *Jenynsia multidentata* amostradas em ambientes costeiros do Brasil, Uruguai e Argentina em dezembro de 2013.

Local	Relação CT x $\sqrt[4]{PS}$				Relação CT x $\sqrt[4]{NE}$			
	F	df	p	r <sup>2</sup>	F	df	p	r <sup>2</sup>
Pitanga	1618,766	1	<0,0001	0,96	53,816	1	<0,0001	0,55
Garça	2567,518	1	<0,0001	0,98	23,442	1	0,0001	0,43
Torotama	858,989	1	<0,0001	0,95	7,108	1	0,0162	0,25
Prainha	1305,822	1	<0,0001	0,96	54,438	1	<0,0001	0,53
Rocha	1886,805	1	<0,0001	0,98	186,725	1	<0,0001	0,79
Garzón	1078,714	1	<0,0001	0,96	61,327	1	<0,0001	0,55
Mar Chiquita	572,269	1	<0,0001	0,92	34,439	1	<0,0001	0,41

A partir da classificação das fases de desenvolvimento embrionário de cada localidade, observou-se uma relativa sincronia entre os pares e ambientes dentro de cada região, como entre os dois ambientes fluminenses e também entre as duas lagoas uruguaias. Em dezembro de 2013 houve uma predominância de embriões nas fases 3 e 5 (~40 %) e de ovários em processos de ovogênese (~40 %) nas lagoas do norte fluminense, enquanto mais de 60 % das fêmeas nas lagoas uruguaias apresentaram embriões em fases finais (7 e 8).

Apesar de geograficamente mais próximas entre si e pertencerem ao mesmo sistema, as duas localidades no Rio Grande do Sul não apresentaram semelhanças nem quanto a frequência de fêmeas grávidas, nem quanto a fase de desenvolvimento dos seus embriões.

Em Prainha, mais de 90 % dos embriões se encontravam na última fase de desenvolvimento, prontos para o nascimento, enquanto que em Torotama registrou-se a predominância de embriões na fase 1 (~30 %) e atividade ovogênica (~30 %). Já em Mar chiquita, praticamente a totalidade dos embriões foi encontrada nas Fases 6 e 7 (Figura 4).

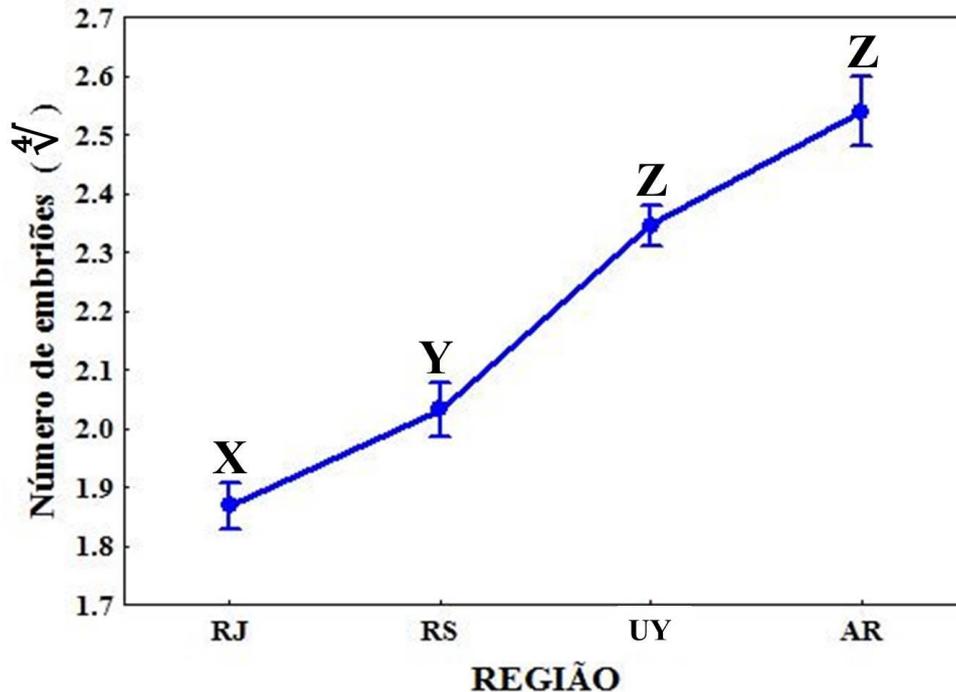


**Figura 4.** Frequência das oito fases de desenvolvimento embrionário e ovogênese (0), nos ovários de 365 fêmeas de *Jenynsia multidentata* nos sete ambientes costeiros amostrados no Brasil (Pitanga, Garça, Torotama, Prainha), Uruguai (Garzón e Rocha) e Argentina (Mar Chiquita) em dezembro de 2013.

A comparação da fecundidade após controlar o efeito do comprimento total das fêmeas revelou que os dois ambientes amostrados nos Estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul e Uruguai foram similares entre si. Um termo de interação significativo foi encontrado na análise de covariância que avaliou a relação entre a fecundidade e o comprimento da fêmea entre as quatro regiões (Tabela 4). De acordo com esta análise, após controlar o efeito devido ao tamanho do corpo da materno, a fecundidade é significativamente diferente entre todas as regiões, exceto entre UY e AR (Figura 4).

**Tabela 5.** Resultado da ANCOVA que testou a relação entre a fecundidade e o tamanho das fêmeas de *Jenynsia multidentata* entre os sete ambientes costeiros amostrados, agrupados pelas regiões Rio de Janeiro (Pitanga, Garça), Rio Grande do Sul (Torotama, Prainha), Uruguai (Garzón e Rocha) e Argentina (Mar Chiquita) em dezembro de 2013.

	SQ	g.l.	QM	F	p
Intercepto	3,219	1	3,219	110,939	<0,0001
Região	0,476	3	0,159	5,468	0,0012
CT	8,325	1	8,325	286,951	<0,0001
Região*CT	0,627	3	0,209	7,202	<0,0001
Erro	8,239	284	0,029		

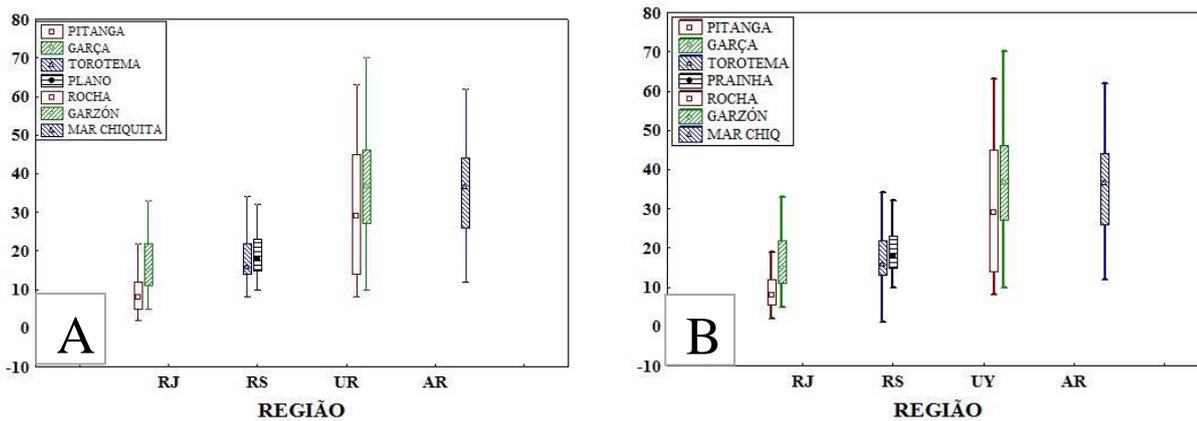


**Figura 5.** Variação na fecundidade (média da  $\sqrt[4]{}$  da fecundidade  $\pm$  0,95IC) após controlar o efeito do comprimento total em fêmeas de *Jenynsia multidentata* amostradas em ambientes costeiros agrupados por região no Brasil (RJ e RS), Uruguai (UY) e Argentina (AR). Letras diferentes indicam médias que diferem significativamente entre si.

Considerando a mediana do número de embriões para todas as fêmeas grávidas de cada lagoa (Figura 6), verifica-se relativa ausência de diferenças pronunciadas entre as regiões menos distantes geograficamente, exceto Pitanga, que apresenta diferenças significativas inclusive com Garça.

Ao controlar um possível efeito do tamanho da fêmea, comparando a fecundidade entre as lagoas considerando a classe de tamanho que foi mais representativa para o conjunto de amostras (49,67 % das fêmeas apresentaram CT entre 46 e 55 mm), essas diferenças na mediana da fecundidade foram mantidas (Figura 6 AB), indicando uma tendência de aumento na fecundidade com a latitude.

O teste de comparação de medianas evidencia estas tendências ao detectar diferenças significativas entre pares de medianas para o total (Kruskal-Wallis,  $H = 137,59$ ;  $N = 6;289$ ;  $p < 0,01$ ), e para o intervalo de CT entre 46 e 55 mm (Kruskal-Wallis,  $H = 82,20$ ;  $N = 6, 126$ ;  $p < 0,01$ ), sendo que não houve diferenças significativas na fecundidade dentro de cada região nem entre as lagoas do Uruguai e Mar Chiquita e entre a Lagoa Garça e os ambientes do Rio Grande do Sul.



**Figura 6.** Variação latitudinal da mediana ( $\pm 1$  quartil, A) da fecundidade de fêmeas de *Jenynsia multidentata* amostradas em sete ambientes do gradiente latitudinal em dezembro de 2013, agrupadas por região A: Mediana do NE de todas as fêmeas. B: Mediana do NE de fêmeas com CT entre 46 e 55 mm.

## DISCUSSÃO

A fecundidade é um dos aspectos mais importantes na história de vida de um indivíduo, pois determina em grande parte sua capacidade reprodutiva. De acordo com os resultados do presente estudo, a pressão seletiva dos fatores ambientais associados ao gradiente latitudinal parece ter sido determinante na variação do número de filhotes produzidos por *J. multidentata*.

Em função de sua abundância nas áreas litorâneas vegetadas de lagoas costeiras, *J. multidentata* foi alvo de alguns estudos especialmente em sistemas subtropicais, que tentaram explorar sua dinâmica reprodutiva e a variação na fecundidade. Ao reunir num curto intervalo de coletas as amostras de ambientes que contemplam o gradiente latitudinal de distribuição de *J. multidentata*, este estudo suporta e permite comparar os resultados desses esforços locais para compreender a autoecologia da espécie (Tabela 5).

De forma geral, de acordo com os resultados do presente estudo, os ambientes do Rio de Janeiro apresentaram as menores fecundidades médias quando comparados àqueles das maiores latitudes. Na Lagoa dos Patos, apesar de Torotama apresentar uma diferença superior a 50 % na frequência de fêmeas grávidas em relação à Prainha, as fecundidades médias entre esses ambientes foram similares. Aspectos reprodutivos, como estação reprodutiva, período de maturação gonadal, proporção sexual e suas correlações com três fatores abióticos, salinidade, temperatura e transparência d'água foram investigados por Mai *et al.* (2007) encontrando que a temperatura é o

fator que melhor explica a variação da relação gonadosomática, sendo o único dentre os três que é previsível ao longo do ano.

**Tabela 6.** Compilação das informações sobre tamanho (CT, mm) e Fecundidade (Fec.) de *Jenynsia multidentata* extraídas de estudos publicados.

Ambiente	Região	Fecundidade (média ± d.p.)	CT (média ± d.p.)	CT min	CT máx	Fec. min	Fec. máx	Fonte
Experimental					95		102	Turner, 1957
La Salada	AR	43 ± 21,28	48,96 ± 6,59	32	68	*	110	Ferriz <i>et al.</i> , 1999
Pampas	AR	*	*	35	66,67	*	*	Bruno <i>et al.</i> , 2013
Mar Chiquita	AR	36,80 ± 12,82	49,73 ± 5,70	35,4	59,65	14	73	Presente estudo
Laguna Blanca		*	*	12	86	*	*	Goyenola <i>et al.</i> , 2011
Garzón	UY	39,20 ± 17,56	57,53 ± 6,20	44,02	77,13	10	114	Presente estudo
Rocha	UY	30,38 ± 17,59	51,48 ± 9,42	33,43	68,18	8	63	Presente estudo
Fortaleza	RS			30**	70**	2	60	Fontoura <i>et al.</i> , 1994.
		50	*	20	97	25	209	Betito, 2006
Estuário Lagoa dos Patos	RS	*	49,1	*	91	*	*	Garcia <i>et al.</i> , 2004
		30	*	42,5	75	9	74	Mai <i>et al.</i> , 2007
Prainha	RS	20,02 ± 6,61	58,64 ± 7,69	45,72	78,39	10	39	Presente estudo
Torotama	RS	20,11 ± 13,46	51,54 ± 6,57	40,66	71,16	1	61	Presente estudo
Rodrigo de Freitas	RJ	25	*	32	75	*	108	Andreatta & Novaes, 1996
Rio Ubatiba	RJ	*	*	11	70	*	*	Aranha & Caramaschi, 1999
Garça	RJ	18 ± 12,26	56,56 ± 8,57	37,98	81,15	5	73	Presente estudo
Pitanga	RJ	9,98 ± 6,17	46,04 ± 6,83	34,52	64,80	2	27	Presente estudo

\* Informação não disponível. \*\* Comprimento padrão.

Fontoura *et al.* (1994), estudaram a dinâmica reprodutiva de *J. lineata* na Lagoa Fortaleza (água doce) e encontraram dois picos reprodutivos: um entre setembro e maio e outro entre fevereiro e março, sendo que no primeiro pico encontraram um menor número de fêmeas embrionadas. Esta tendência foi atribuída a uma maior mortalidade durante o inverno, indicando que os animais nascidos na primavera atingiriam rapidamente a maturidade sexual, iniciando a reprodução em janeiro mas com maior intensidade em fevereiro e março, resultados similares aos obtidos por Betito (2006). Estes autores mencionam que em águas mixohalinas como da Lagoa Tramandaí, próxima a foz do rio com o mar *J. lineata* atinge tamanhos significativamente maiores, e supõem que águas salobras além de influenciar positivamente o crescimento, também poderiam influenciar a

fecundidade. Os resultados do presente estudo sugerem que, pelo menos para região norte do Rio de Janeiro, a salinidade não seria um fator determinante da fecundidade.

Experimentalmente, com exemplares de *J. lineata* provenientes de Buenos Aires, transferidos para o hemisfério norte, Turner (1957) manipulou (a luz) o fotoperíodo em dois grupos, mantendo temperatura, salinidade e alimentação constantes. Esse autor conseguiu determinar que animais adultos e sua prole responderam positivamente quando submetidos repentinamente a condições diferentes de sua origem, demonstrando em certa medida o grau da flexibilidade do seu mecanismo reprodutivo. Quando as capacidades inerentes se ajustam à variações de temperatura e duração do dia, como acontecem no ambiente natural, esse considerável intervalo de tolerância permitiria a sobrevivência a condições ambientais dentro dos limites da plasticidade da sua tática reprodutiva. Seria interessante testar esta resposta em exemplares de climas tropicais, pois *Jenynsia* de maiores latitudes como da Argentina estão submetidas a variações marcadas de temperatura e fotoperíodo em condições naturais. É possível, portanto, que elas tenham conseguido modular a sua resposta ao se reproduzirem sob condições de cultivo fora do intervalo registrado no ambiente natural.

De maneira geral, a elevada abundância de *J. multidentata* nos ambientes contemplados por este estudo facilitou a obtenção de dezenas de indivíduos num esforço de tempo relativamente baixo de coleta. A exceção foi Torotama, a localidade mais distante da costa, onde além da baixa densidade em relação à Prainha, as fêmeas não apresentavam evidência de gravidez. Este fato foi curioso, pois apesar dos 20 km que distanciam as duas localidades no mesmo sistema límnic, estas não diferiram pronunciadamente nos fatores físicos e químicos no momento da coleta. Dessa forma, é razoável supor que não sejam as características ambientais tais como a salinidade da água, que foi baixa em ambas as localidades, os fatores determinantes nas diferenças na frequência de fêmeas grávidas dentro da Lagoa dos Patos.

Apesar de variar no número de indivíduos, populações de *J. multidentata* habitam a extensa região litorânea do enorme corpo lântico representado pelo estuário da Lagoa dos Patos. A movimentação de indivíduos entre as populações de *J. multidentata* nesse sistema não deve ser intensa nem frequente, considerando o pequeno porte e curto ciclo de vida. Na Lagoa dos Patos, o deslocamento em massa de indivíduos de *J. multidentata* deve ser mais intenso quando da ocorrência de eventos climáticos extremos, como ciclos de El Niño documentados por Garcia *et al.* (2001). Durante esses ciclos, massas de água continental se deslocam para a região da foz do estuário carreando espécies de peixes de água doce para jusante. Dessa forma, apesar de coexistirem num

único corpo lêntico, a distância geográfica entre as populações de *J. multidentata* de Torotama e Prainha deve ser suficiente para determinar dinâmicas populacionais independentes e diferenciadas como a frequência de fêmeas grávidas detectada neste estudo. Estudos envolvendo a movimentação de indivíduos numa ampla escala espacial na Lagoa dos Patos, sob o enfoque da teoria de metapopulações, poderiam elucidar questões interessantes como a similaridade na fecundidade média mesmo depois de controlar o efeito do tamanho do corpo.

Ao detectar diferenças significativas na fecundidade entre regiões, mesmo após controlar o efeito do comprimento do corpo, o presente estudo confirmou um aumento substancial da fecundidade com a latitude. A latitude, nesse caso, serviu de *proxy* para fatores climáticos de larga escala, como a amplitude de variação da temperatura e do fotoperíodo. É amplamente reconhecido o papel que esses fatores ambientais desempenham no ciclo reprodutivo dos organismos, em especial dos peixes (Garcia *et al.*, 2004; Panfili *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2009). As regiões situadas em maiores latitudes se caracterizam por apresentarem as estações do ano mais marcadas, sendo que outros fatores além dos acima mencionados como a produção primária, precipitação e regime de ventos seguem ciclos sazonais. São ainda poucos os estudos que testaram o efeito de parâmetros ambientais sobre os ciclos reprodutivos de *J. multidentata*. Um deles é o estudo de Garcia *et al.* (2004), que associa respostas no tamanho da ninhada e frequência de gestações à temperatura da água na Lagoa dos Patos. Porém, a magnitude do efeito de um fator ambiental pode ser variável, caso este esteja sujeito ao efeito latitudinal, como a temperatura, por exemplo.

A temperatura é um dos fatores que mais incidem na variação dos ciclos reprodutivos, como é documentado no hemisfério norte. Gotelli & Piron (1991) examinaram a relação da latitude e da filogenia na variação interespecífica de características da história de vida de 21 espécies de *Notropis* (Cyprinidae). De acordo com esses autores, somente a época da desova apresentou uma relação com o aumento da latitude (negativa). De acordo com Hubbs (1985), o fotoperíodo exerceria maior influência no início da reprodução, possivelmente atuando na estimulação do sistema neuroendócrino, enquanto a temperatura atuaria na determinação da finalização do período reprodutivo. Um trabalho interessante realizado com anfíbios na Suécia concluiu que apesar das variações no crescimento larval e no desenvolvimento de *Rana temporaria* não serem explicadas pelo gradiente latitudinal no comprimento da estação, existem adaptações à variação latitudinal da temperatura que tem efeitos marcados na sobrevivência embrionária, no tempo do desenvolvimento e tamanho à eclosão (Laugen *et al.*, 2003). O efeito da temperatura está bem documentado no desenvolvimento embrionário de peixes ovulíparos, em especial para fins comerciais (Jonsson & Jonsson, 2014), assim como na determinação do sexo em répteis (Shine, 1999; Howard *et al.*, 2014).

Assim, seria interessante delinear trabalhos que contemplassem a combinação de fatores ambientais em pequena e larga escala, como sistemas próximos geograficamente, mas que variassem na amplitude de temperatura ou salinidade e dos efeitos sinérgicos ou aditivos de parâmetros ambientais.

Um aspecto interessante encontrado durante o levantamento bibliográfico, é o fato de *J. multidentata* ser considerada uma espécie de água doce em Mar Chiquita (Bruno *et al.*, 2013), enquanto no norte fluminense esta espécie não é registrada em ambientes hiposalinos. Estudos contemplando o gradiente de salinidade em Poeciliidae concluem que as fêmeas de *Poecilia latipinna*, *Gambusia affinis* e *Heterandria formosa* que habitam ambientes hipersalinos exibem um maior investimento reprodutivo e uma maior fecundidade que aquelas que habitam locais com baixa salinidade (Martin *et al.*, 2009). Com exceção do estudo de Mai *et al.* (2005), que detectou efeito da salinidade no crescimento e sobrevivência e juvenis de *J. multidentata*, não foram encontrados registros de trabalhos experimentais que evidenciem respostas na fecundidade para espécies de Anablepidae.

No presente estudo, foram os ambientes do norte fluminense aqueles que apresentaram a maior salinidade dentre os sete estudados, nos quais a fecundidade foi a mais baixa. Assim, caberia levantar questões se (1) *Jenynsia multidentata* no limite norte da sua distribuição é uma espécie eurihalina, (2) sua baixa fecundidade em sistemas onde a salinidade está próxima à salinidade da água do mar reflete a influência de outros parâmetros ambientais ou interações bióticas, (3) os altos níveis de salinidade são tolerados sem comprometimento fisiológico, de forma que a salinidade da água não exerça influência nos aspectos reprodutivos da espécie. Outro ponto relevante seria incorporar outros aspectos relacionados a outras táticas reprodutivas além da fecundidade para assim entender integralmente como as populações respondem à variação/flutuação do ambiente que habitam e que lhes permite exibir plasticidade fenotípica, como parece ser o caso de *Jenynsia multidentata*.

## REFERÊNCIAS

- Andreato, V & J.L.C. Novaes. 1996. Aspectos reprodutivos de *Jenynsia lineata* Jenyns, 1842 (Osteichthyes, Anablepidae) da Lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro. *Acta Biologica Leopoldensia*, 18 (2): 129–139.
- Aranha J.M.R. & E.P. Caramaschi. 1999. Estrutura populacional, aspectos da reprodução e alimentação dos Cyprinodontiformes (Osteichthyes) de um riacho do sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(1): 637-651.
- Blanck, A. & N. Lamoroux. 2007. Large-scale intraspecific variation in life-history traits of European freshwaterfish. *Journal of Biogeography*, 34: 862-875.
- Bove, C.P & J. Paz. 2009. Guia de campo das plantas aquáticas do Parque Nacional Restinga de Jurubatiba. Pp. 176. Rio de Janeiro: Museu Nacional.
- Bruno, D.O., S.S. Barbini., J.M. Diaz de Astarloa & P. Martos. 2013. Fish abundance and distribution patterns related to environmental factors in a choked temperate coastal lagoon (Argentina). *Brazilian Journal of Oceanography*, 61(1): 43 – 53.
- Caliman, A., L.S. Carneiro, L.S., J.M. Santangelo., R.D. Guariento., A.F.P. Pires., A.L. Suhett, L.B. Quesado., V. Scofield., E.S. Fonte., P.M. Lopes., L.F. Sanches., F.D. Azevedo., C.C. Marinho., R.L. Bozelli., F.A. Esteves & V.F. Farjalla. 2010. Temporal coherence among tropical coastal lagoons: A search for patterns and mechanisms. *Brazilian Journal of Biology*, 70(3): 803-814.
- Cousseau, M.B., M.C. Marchesi., D.E. Figueroa., J.M. Díaz & M. González. 2011. Relación íctica entre la laguna costera mar chiquita y el mar adyacente. *Historia Natural*, 1(2): 85-100.
- Di Dario, F., A.C. Petry., M.S.P. Maia., M.M. Mincarone., L.A. Soares., E.M. Camara., E.P. Caramaschi & M.R. de Britto. 2013. An update on the fish composition (Teleostei) of the coastal lagoons of the Restinga de Jurubatiba National Park and the Imboassica Lagoon, northern Rio de Janeiro State. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 25(3): 257-278.
- Elliott. M. & K. Hemingway. 2002. Habitat Use by Fishes in Estuaries and Other Brackish Areas. Pp. 636. In: *Fishes in estuaries*. 2nd. ed. Oxford: Blackwell Science.
- Enrich-Prast, A., R.L. Bozelli, F.A. Esteves & F.P. Mirelles. 2004. Lagoas costeiras da Restinga de Jurubatiba: Descrição de suas variáveis limnológicas. Pp. 245-253. In: Rochas, C.F.D.; F.A. Esteves & F. Scarano, *Pesquisa de Longa duração na Restinga de Jurubatiba: Ecologia, História Natural e Conservação*. São Carlos.
- Esteves, F.A. 1998. Lagoas costeiras: origem, funcionamento e possibilidade de manejo. Pp. 63-87. In: Esteves, F.A (Ed). *Ecologia das Lagoas costeiras do Parque Nacional Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé*, Rio de Janeiro. UFRJ.
- Ferriz, R.A., C.A. Bentos & S.E. Gómez. 1999. Fecundidad en *Jenynsia lineata* y *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Cyprinodontiformes) de la pampasia argentina. *Acta Biologica Venezuelana*, 19(4): 33-39.
- Fontoura, N., A.S. Braun, D.D.S. Levis & G.D.B. Souza. 1994. Dinâmica populacional da ictiofauna da lagoa Fortaleza, Cidreira, Rio Grande do Sul. II *Jenynsia lineata* (Jenyns, 1842)

- Teleostei, Anablepidae. *Biociências*, 2(1): 79-93.
- Garcia, A.M., J.P. Vieira & K. Winemiller. 2001. Dynamics of the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil) during cold and warm ENSO episodes. *Journal of Fish Biology*, 59: 1218-1238
- Garcia, A.M., J.P. Vieira., K.O. Winemiller & M.B. Raseira. 2004. Reproductive cycle and spatiotemporal variation in abundance of the one-sided livebearer *Jenynsia multidentata*, in Patos Lagoon, Brazil. *Hydrobiologia*, 515: 39-48.
- Ghedotti, M.J & S.H. Weitzman. 1996. A new species of *Jenynsia* (Cyprinodontiformes: Anablepidae) from Brazil with comments on the composition and taxonomy of the genus. *Occasional Papers of the Museum of Natural History University of Kansas*, 179: 1-25.
- Gotelli, N.J. & M. Piron. 1991. Life History Variation in North American Freshwater Minnows: Effects of Latitude and Phylogeny. *Oikos*, 62 (1): 30-40.
- Goyenola, G., C. Iglesias., N. Mazzeo & E. Jeppesen. 2011. Analysis of the reproductive strategy of *Jenynsia multidentata* (Cyprinodontiformes, Anablepidae) with focus on sexual differences in growth, size and abundance, *Hydrobiologia*, 673: 245–257
- Howard, R., I. Bell, I & D.A. Pike. 2014. Thermal tolerances of sea turtle embryos: current understanding and future directions. *Endangered Species Research*, 26: 75-86.
- Hubbs, C. 1985. Darter Reproductive Seasons. *American Society of Ichthyologists and Herpetologist (ASIH). Copeia*, 1: 56-68.
- Jonsson, B. & N. Jonsson. 2014. Early environment influences later performance in fishes. *Journal of Fish Biology*, 85: 151-188.
- Laugen, A.T., A. Laurila & J. Merilä. 2003. Latitudinal and temperature-dependent variation in embryonic development and growth in *Rana temporaria*. *Oecologia*, 135: 548-554.
- Lanfredi N.W., C.F. Balestrini., C.A. Mazio & S.A. Schmidt. 1981. Tidal sandbanks in Mar Chiquita Coastal Lagoon, Argentina. *Journal of Coastal Research* 3(4): 515–520.
- Lonsdale, D. J. & J.S. Levinton. 1985. Latitudinal differentiation in embryonic duration, egg size, and newborn survival in a harpacticoid copepod. *Biological Bulletin*, 168: 419-431.
- Mai, A.C.G., A.M. Garcia & J.P. Vieira. 2005. Influência da salinidade no crescimento de juvenis de *Jenynsia multidentata* Jenyns (Pisces). *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(3): 780-783.
- Mai, A.C.G., A.M. Garcia & J.P. Vieira. 2007. Reproductive aspects of the one-sided livebearer *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842) (Cyprinodontiformes) in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 2(1): 40-46.
- Marcovecchio, J., H. Freije., S., de Marco., A. Gavio., L. Ferrer., S. Andrade., O. Beltrame & R. Asteasuaini. 2005. Seasonality of hydrographic variables in a coastal lagoon: Mar Chiquita, Argentina. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*, 15. Published on line in Wiley InterScience.
- Martin, S., A.T. Hitch, K.M. Purcell., Klerks P.L & P.L Leberg. 2009. Life history variation along a salinity gradient in coastal marshes. *Aquatic Biology*, 8: 15-28.

- Menafra, R., L. Rodríguez-Gallego., F. Scarabino & D. Conde. 2006. Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya. Vida Silvestre. Uruguay, Montevideo.
- Merilä, J. & A.P. Hendry. 2013. Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evolutionary Applications*, 7: 1-14.
- Nusch, E.A. & G. Palmer. 1975. Biologische Methoden für die Praxis der Gewässeruntersuchung. *GWF – Wasser, Abwasser* 116: 562–565.
- Panfili, J., D. Thior, J.M. Ecoutin & P. Ndiaye. 2006. Influence of salinity on the size at maturity of fish species reproducing in contrasting West African estuaries. *Journal of Fish of Biology*, 69: 95-113.
- Partridge, L & J. McCane. 1997. An Interaction Between Environmental Temperature and Genetic Variation for Body Size for the Fitness of Adult Female *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 51(4): 1164-1174.
- Reznick, D. & A.P. Yang. 1993. The influence of fluctuating resources on Life history: patterns of allocation and plasticity in female guppies. *Ecology*, 74 (7): 2011-2019.
- Santana, O & G. Fabiano. 1999. Medidas y mecanismos de administración de los recursos de las lagunas costeras del litoral atlántico del Uruguay. (Lagunas José Ignacio, Garzón, de Rocha y del Castillo). Plan de Gestión pesquera. Instituto de Pesca (INAPE). Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). Montevideo.
- Seeliger, U., C. Odebrecht & J.P. Castello. 1998. Os ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscientia. 341. Pp.
- Shine, R. 1999. Why is the sex determined by nest temperature in many reptiles? Review. *Trends in Ecology and Evolution*, 14: 186 – 188.
- StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Turner, C.L. 1957. The Breeding Cycle of the South American Fish, *Jenynsia lineata*, in the Northern Hemisphere. *Copeia*, 3: 195-203.
- Weschenfelder, J., I.C.S. Corrêa, E.E. Toldo & R. Baitelli. 2008. Paleocanais como indicativos de eventos regressivos quaternários do nível do mar no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Geofísica* 26(3): 367-375.
- Winemiller, K.O. 1989. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. *Oecologia*, 81: 225-241.
- Winemiller K.O. & K.A. Rose. 1992. Patterns of life-history diversification in North American Fishes: implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49: 2196–2218
- Winemiller, K.O. 2005. Life history strategies, population regulation, and implications for fisheries management. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62: 872–885.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo em micro, meso e macroescala representam uma contribuição no conhecimento da história de vida de *Jenynsia multidentata*, pois foram contemplados diversos aspectos com a finalidade de compreender a dinâmica reprodutiva desta espécie vivípara e como esta modula suas respostas reprodutivas nos diferentes ambientes que habita.

- Os estudos morfológicos se mostraram uma importante ferramenta para caracterizar as fases de desenvolvimento embrionário de *Jenynsia multidentata*, revelando a importância da escala microscópica para corroborar as observações na escala macroscópica.
- Estudos com marcadores moleculares (histoquímica) esclareceriam os processos envolvidos na transferência de energia (nutrientes) dessa espécie matrotífica, uma vez que o peso seco das fêmeas e seu fator de condição somático pareceram limitados nas maiores classes de tamanho.
- Trabalhos experimentais para detectar a influência de fatores ambientais nos ciclos reprodutivos deveriam ser delineados de forma a incluir a avaliação das oscilações hormonais.
- Além das condições ambientais associadas ao gradiente latitudinal como a temperatura e a luz (fotoperíodo), que parecem de fato exercer um efeito pronunciado na fecundidade de *J. multidentata*, o efeito da salinidade deveria ser melhor investigado, além da inclusão de outras características de vida a serem investigadas e documentadas.