



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA (CAUNESP)

São Paulo State University - Aquaculture Center



EFEITO DO CONTATO MACHO-FÊMEA NA PREFERÊNCIA DA FÊMEA E NA COMPETIÇÃO ENTRE MACHOS DE TILÁPIA-DO-NILO

ANDRÉ LUIS DA SILVA CASTRO

**JABOTICABAL – SP
2008**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA (CAUNESP)

São Paulo State University - Aquaculture Center



EFEITO DO CONTATO MACHO-FÊMEA NA PREFERÊNCIA DA FÊMEA E NA COMPETIÇÃO ENTRE MACHOS DE TILÁPIA-DO-NILO

ANDRÉ LUIS DA SILVA CASTRO

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Gonçalves de Freitas

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação do Centro de Aquicultura da UNESP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

**JABOTICABAL – SP
2008**

Castro, André Luis da Silva
C355e Efeito do contato macho-fêmea na preferência da fêmea e na
competição entre machos na tilápia-do-Nilo / André Luis da Silva
Castro. -- Jaboticabal, 2008
viii, 61 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2008
Orientador: Eliane Gonçalves de Freitas
Banca examinadora: Sílvia Maria Guimarães de Souza, Mateus
José Rodrigues Paranhos da Costa, Sílvia Mitiko Nishida, Rodrigo
Egydio Barreto
Bibliografia

1. Peixe. 2. Preferência sexual. 3. Seleção sexual. I. Título. II.
Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.03

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Dedico este trabalho às
minhas queridas avós: Maria
Fernandes (*in memoriam*) e
Maria Olivari de Castro. Vocês
são exemplo de vida, garra,
luta e bondade infinita.

AGRADECIMENTOS

Querida família: Raul, Eloisa, Patricia, Jussara, Luan, avô Raul. A vocês a minha profunda gratidão, não apenas pelo apoio durante a elaboração deste trabalho, mas pelo apoio constante e incondicional. Vocês são parte de mim e meu porto seguro. Esta conquista não é minha, é nossa.

Cybele: essa caminhada teria sido muito mais árdua sem a alegria da sua presença. Minha gratidão ao seu amor, carinho e dedicação como minha companheira.

Eliane: a orientação técnico-científica foi apenas parte do seu trabalho. Tão importante quanto isto foram os exemplos de respeito, ética e compromisso com a Ciência, a educação e os animais.

Colegas de laboratório: Fabrício, Thaís, Fernanda, Francine, Ângelo, Cris e Wagner. As discussões, o empréstimo de material, a divisão de tarefas foram essenciais para a conclusão deste trabalho. Agradecimento especial à Tatiana pela contribuição na coleta e análise dos dados. Muito obrigado.

Carlos e Rose: obrigado pela prontidão em ajudar nos afazeres do laboratório.

Edson e Lúcia: obrigado pela agradável presença, várias vezes na casa da praia, proporcionando momentos de alegria, descanso, reflexão e crescimento.

Elísio: Levo parte do seu profissionalismo e a gratidão pela sua contribuição para o meu ingresso no mercado de trabalho.

Aos amigos e amigas que contribuíram direta ou indiretamente para a execução do trabalho.

“Necessitamos sempre de
ambicionar alguma coisa que,
alcançada, não nos torna sem
ambição”.

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

O comportamento reprodutivo dos teleósteos envolve a seleção de parceiros para acasalamento por meio de escolha da fêmea e da disputa entre machos. A disputa pode levar à formação de hierarquia de dominância, na qual os machos dominantes têm vantagem no acasalamento por impedir que outros machos se aproximem da fêmea. Por outro lado, é possível que a fêmea prefira machos com maior habilidade competitiva, antes da formação da hierarquia. Assim, para compreender os fatores que afetam a preferência da fêmea e se a presença da fêmea durante as competições fornece vantagem na luta dos machos, realizamos dois estudos com a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). O primeiro estudo testou a preferência das fêmeas em relação à características indicadoras da habilidade competitiva dos machos, sem a interferência da competição entre eles. Para isso, uma fêmea foi submetida ao contato visual com dois machos isolados e a preferência por um deles foi testada. Posteriormente os mesmos machos interagiram e estabeleceram a dominância. O macho preferido não se tornou dominante. Assim, não houve associação entre a preferência da fêmea e características indicadoras da habilidade competitiva dos machos. No segundo estudo testamos o efeito do contato visual de um macho com uma fêmea sobre a disputa hierárquica entre machos, uma vez que as interações macho-fêmea podem modular a reprodução e agressão dos peixes. Para isso, um macho em contato visual prévio com uma fêmea interagiu com um macho previamente isolado até o estabelecimento hierárquico. Porém, o macho em contato visual com a fêmea não se tornou dominante nem emitiu maior frequência de ataques ao oponente. A presença da fêmea causou aumento do Índice Gonadossomático do macho, mas isto não afetou a hierarquia de dominância. Concluimos que: i) as fêmeas apresentam preferência sexual; ii) a preferência das fêmeas não está associada à habilidade competitiva dos machos; iii) os machos estimulados visualmente pelas fêmeas, e com melhor condição gonadal, não são favorecidos no estabelecimento hierárquico.

Palavras-chave: competição; escolha da fêmea; habilidade competitiva; hierarquia de dominância; seleção sexual; reprodução.

ABSTRACT

Reproductive behavior of many fish species is performed by sexual selection and mate choice based on male-male contests. In such situation, selection is related to individual male competitive ability. Competition causes a social hierarchy, and dominant fish takes advantages for mating by avoid subordinate approach of females. Thus, it is possible that female prefer highest competitive ability males. To understand factors affecting female preference and, whether female presence can affect reproductive male ability, we performed two studies with Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to understand the factors involved in dominance and female choice. In the first study we tested the female preference for highest competitive ability male. For this purpose, a female was kept in a visual contact with two males and the preference was tested by recording time female spent near to them. After that, both males were put together to fight, and we analyzed the chosen male was the winner. There was no association between female choice and male competitive ability. In the second study, we tested the effect of male visual contact with female and we supposed this could guarantee victories in a contest. Thus, a male was kept seeing a female during 6 days, and after that it was paired with a 6-days isolated male until hierarchical settlement. Female presence causes gonadosomatic index rise, but did not enhance chances for male victory in the social contest. This means that males that have more developed gonads do not take advantage in social interactions. Finally, we concluded that: i) females showed preference for one male; ii) female preference is not associated to male competitive ability; iii) visual stimulated males by female (with better gonadal condition) have not advantage in the hierarchy settlement.

Key-words: competition; competitive ability; female choice; social hierarchy; sexual selection; reproduction.

SUMÁRIO

Introdução Geral.....	9
Referências.....	13
ESTUDO 1 – RELAÇÃO ENTRE A PREFERÊNCIA SEXUAL DAS FÊMEAS E A HABILIDADE COMPETITIVA DOS MACHOS DE TILÁPIA-DO-NILO	
Introdução.....	16
Material e métodos.....	17
Resultados.....	28
Discussão.....	33
Referências.....	37
ESTUDO 2 – EFEITO DA INTERAÇÃO COM A FÊMEA NA HIERARQUIA DE DOMINÂNCIA EM MACHOS DE TILÁPIA-DO-NILO	
Introdução.....	42
Material e métodos.....	45
Resultados.....	50
Discussão.....	53
Referências.....	57
Considerações finais.....	61
ANEXO 1.....	62

INTRODUÇÃO GERAL

Os peixes exibem uma variedade de comportamentos reprodutivos que compreendem desde a simples liberação de gametas na água até padrões mais elaborados, que podem envolver migração, defesa territorial, construção de ninho, corte e cuidado parental (Liley & Stacey, 1983). O comportamento sexual é regulado pelo eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, o qual pode ser modulado por diversos fatores, entre eles, por interações intra-específicas (Francis et al., 1993; Oliveira et al., 1996; Borges et al., 1998; Crews, 1998).

As interações entre indivíduos da mesma espécie, quer sejam intra ou inter-sexuais, desempenham funções importantes nos peixes, podendo modular o estado interno dos animais, os níveis hormonais, o desenvolvimento gonadal e o comportamento reprodutivo (Liley & Stacey, 1983). As interações inter-sexuais, além de modular o comportamento reprodutivo (Silverman, 1978; Castro, 2004), são importantes para o reconhecimento específico (Knight & Turner, 1998), para sinalizar a condição reprodutiva (Thompson et al., 2004), para avaliação e seleção sexual (Andersson, 1994), e para a sincronização da reprodução (Stacey et al., 2001). Essas interações também influenciam comportamentos agonísticos, pois a presença da fêmea pode estimular a competição entre machos (Cox & Leboeuf, 1977), causar aumento dos níveis de andrógenos, hormônios moduladores da agressividade em teleósteos e acentuação dos caracteres sexuais secundários (Borges et al., 1996; Oliveira et al., 1996).

A família Cichlidae é característica por apresentar interações sociais, tanto na disputa entre machos por território, alimento, parceira reprodutiva, quanto nas interações macho-fêmea (Baerends & Baerends van Roon, 1950). As disputas entre machos podem levar ao estabelecimento de hierarquia de dominância, na qual o animal dominante defende um território e tem acesso preferencial às fêmeas (Baerends & Baerends van Roon, 1950).

Ser dominante, para os ciclídeos, implica em vantagens em relação aos submissos, como maior taxa de crescimento (Volpato et al., 1989), construir ninhos em melhores locais (McKaye et al., 1990), ter acesso preferencial aos alimentos (Baerends & Baerends van Roon, 1950), apresentar melhor condição gonadal (Gonçalves-de-Freitas, 1993), maior frequência de acasalamento (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998) e maior sucesso reprodutivo (Wong & Candolin, 2005). Isso pode ocorrer em função de dois mecanismos importantes: a disputa entre machos, denominada seleção intra-sexual e a escolha da fêmea, denominada seleção inter-sexual (Andersson, 1994).

Na disputa entre machos vários fatores podem interferir no resultado da hierarquia de dominância, como o tamanho dos combatentes, a experiência prévia e a residência prévia (Gonçalves-de-Freitas, 2002). Independente de qual fator está influenciando a hierarquia de dominância, o macho dominante apresenta melhor habilidade competitiva em relação ao submisso, uma vez que pode excluir o dominante do acesso a alguns recursos (Wong & Candolin, 2005). Em muitas espécies há uma relação íntima entre a dominância e a preferência das fêmeas (Wong & Candolin, 2005).

Em geral, as fêmeas preferem acasalar com machos dominantes, o que pode favorecer o acesso tanto a recursos ambientais como ao material genético potencialmente superior desses machos (Hamilton & Zuk, 1982; Qvarnström, & Forsgren, 1998). Isso indica que a seleção sexual intra e inter-sexual podem operar mutuamente, reforçando as mesmas características fenotípicas e comportamentais dos machos. Porém, não significa que isso seja uma regra. Por exemplo, no peixe esgana-gato de três espinhos, *Gastorosteus aculeatus*, as fêmeas preferem machos submissos, uma vez que são melhores pais em relação aos dominantes (Qvarnström & Forsgren, 1998).

Para a escolha sexual ocorrer está implícita a exibição de características sexuais pelos machos e a avaliação dessas características pelas fêmeas (Andersson, 1994). A maioria dos sinais emitidos pelos machos indica honestamente sua qualidade (Sargent et al., 1998). Dessa forma, ao acasalar com o animal escolhido, a fêmea pode obter benefícios diretos e

indiretos (Irschick et al., 2007). Porém, há pontos incompreendidos tanto na disputa entre machos como na escolha pela fêmea.

Na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), um ciclídeo africano, os machos estabelecem hierarquia de dominância, constroem ninho e atraem as fêmeas para acasalar (Lowe-McConnell, 1958). Gonçalves-de-Freitas & Ferreira (2004), observaram que as fêmeas acasalam com os animais dominantes. A princípio, isso pode indicar que as fêmeas reconhecem a habilidade competitiva dos machos. Porém, é possível que os machos dominantes monopolizem as fêmeas, como Cotton et al. (2006) discutem. Portanto, o presente trabalho aborda dois aspectos relacionados à dominância: a relação entre a dominância e a preferência da fêmea e o efeito do contato visual com a fêmea na hierarquia de dominância dos machos. Escolhemos a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) porque, nessa espécie, os machos disputam intensamente os territórios e o acesso às fêmeas e têm prioridade na reprodução (Baerends & Baerends van Roon, 1950; Lowe-McConnell, 1958; Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998; Wong, 2004).

Nosso primeiro estudo investigou a relação entre a preferência das fêmeas e a habilidade competitiva dos machos, baseada em avaliação de características indicativas de tal habilidade. Nossa hipótese é que as fêmeas preferem machos com melhor habilidade competitiva e, portanto, escolhem machos que se tornarão dominantes. Para testar esta hipótese, avaliamos a preferência da fêmea em contato visual com dois machos. Posteriormente os machos interagiram fisicamente, até o estabelecimento hierárquico, mas sem que a fêmea assistisse à interação. Assim, testamos a relação entre a seleção inter-sexual e a seleção intra-sexual na tilápia-do-Nilo.

No segundo estudo testamos o efeito do contato visual com uma fêmea no estabelecimento hierárquico entre machos, também com a tilápia-do-Nilo. Castro (2004) verificou que machos de tilápia-do-Nilo que permaneceram em contato visual com fêmeas durante 5 dias apresentaram gônadas mais desenvolvidas. O desenvolvimento gonadal depende de hormônios andrógenos, como a testosterona (Liley & Stacey, 1983), que, quando aumentados, podem aumentar a agressividade em machos (Munro & Pitcher, 1983; Crews, 1998). Portanto, testamos a hipótese de que o contato visual com uma fêmea aumenta as chances de o macho tornar-se dominante

em um confronto subsequente. Para testar esta hipótese um macho previamente estimulado visualmente por uma fêmea interagiu com outro macho, previamente isolado, até o estabelecimento hierárquico. Assim, testamos se o contato visual com a fêmea aumenta as chances de o macho ser dominante.

REFERÊNCIAS

- Andersson, M. B. (1994) *Sexual Selection*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Baerends, G.P. & Baerends van Roon, J.M. (1950) An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behavior Supply*, 1: 1-243.
- Borges, A.R.; Oliveira, R.F.; Almada, V.C. & Canario, V.M. (1998) Short term modulation of 11-ketotestosterone levels in males of the cichlid fish *Oreochromis mossambicus* during male-female interactions. *Acta ethologica*, 1(1-2):43-48.
- Castro, A.L.S. (2004) Efeito de estímulos visuais e químicos do sexo oposto na reprodução da tilápia-do-Nilo. *Dissertação de Mestrado*. Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, UNESP, SP. 40 p.
- Cotton, S.; Small, J. & Pomiankowski, A. (2006) Sexual selection and condition-dependent mate preferences. *Current Biology*, 16: 755-765.
- Cox, C.R. & LeBoeuf, B.J. (1977) Female incitation of male competition: a mechanism in sexual selection. *American Naturalist*, 111: 317-335.
- Crews, D. (1998) The evolutionary antecedents to love. *Psychoneuroendocrinology*, 23(8): 751-764.
- Francis, R.C.; Soma, K; Fernald, R.D. (1993) Social regulation of the brain-pituitary-gonadal axis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 7794-7798.
- Gonçalves, E. (1993) Estratégias territoriais e reprodutivas da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, SP. 147 p.
- Gonçalves-de-Freitas, E. (2002) Confrontos assimétricos e hierarquia de dominância em ciclídeos. *Anais do XX Encontro Anual de Etologia*. Natal-RN. pp. 137-139.
- Gonçalves-de-Freitas, E. & Ferreira, A.C. (2004) Female social dominance does not establish mating priority in Nile tilapia. *Revista de Etologia*, 6(1): 33-37.
- Gonçalves-de-Freitas, E. & Nishida, S.M. (1998) Sneaking behaviour of the Nile tilapia. *Boletim Técnico do CEPTA*, 11: 71-79.
- Hamilton, W.D. & Zuk, M. (1982) Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science*, 218: 384-387.

- Irschick, D.; Herrel, A.; Bieke, V. & Van Damme, R. (2007) A functional approach to sexual selection. *Functional Ecology*, 21: 621-626.
- Knight, M.E. & Turner, G.F. (1998) Reproductive isolation among closely related Lake Malawi cichlids: can males recognize conspecific females by visual cues? *Animal Behaviour*, 58: 761-768.
- Liley, N.R. & Stacey, N.E. (1983) Hormones, pheromones and reproductive behavior in fish. In *Fish Physiology*, Volume IXB, Behavior and Fertility Control. (W. S. Hoar; D. J. Randall & E. M. Donaldson, eds). Academic Press, New York. pp. 1-63.
- Lowe-McConnell, M. (1958) Breeding behaviour patterns and ecological differences between tilapia species and their significance for evolution within the genus *Tilapia* (Pisces; Cichlidae). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 132: 1-31.
- McKaye, K.R.; Louda, S.M. & Stauffer-Jr., J.R. (1990) Bower size and male reproductive success in a cichlid fish lek. *The American Naturalist*, 135(5): 597-613.
- Munro, A.D. & Pitcher, T.J. (1983) Hormones and agonistic behavior in teleosts. In *Control Processes in Fish Physiology* (J.C. Rankin; T.J. Pitcher & R.T. Duggan, eds.). pp. 155-175. Croom Helm, London.
- Oliveira, R.F.; Almada, V.C. & Canário, A.V.M. (1996) Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Hormones and Behavior*, 30: 2-12.
- Qvarnström, A. & Forsgren, E. (1998) Should females prefer dominant males? *Tree*, 13(12): 498-501.
- Sargent, R.C.; Rush, V.N. Wisenden, B.D. & Yan, H.Y. (1998) Courtship and mate choice in fishes: integrating behavioral and sensory ecology. *American Zoologist*, 38: 82-96.
- Silverman (1978) Effects of different levels of sensory contact upon reproductive activity of adult male and female *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus* (Peters); Pisces: Cichlidae. *Animal Behaviour*, 26: 1081-1090.
- Stacey, N.; Fraser, E.J.; Sorensen, P. & Van Der Kraak, G. (2001) Milt production in goldfish: regulation by multiple social stimuli. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 130: 467-476.
- Thompson, R.R.; George, K.; Dempsey, J. & Walton, J.C. (2004) Visual sex discrimination in goldfish: seasonal, sexual, and androgenic influences. *Hormones and Behavior*, 46: 646-654.

Volpato, G.L. Frioli, P.M.A. & Carrieri, M.P. (1989) Heterogenous growth in fishes; some new data in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and a general view about the causal mechanisms. *Boletim de Fisiologia Animal*, 13: 7-22.

Wong, B.B.M. (2004) Superior fighters make mediocre fathers in the Pacific blue-eye fish. *Animal Behaviour*, 67: 583-590.

Wong, B.B.M. & Candolin, U. (2005) How is female mate choice affected by male competition? *Biological Reviews*, 80: 559-571.

ESTUDO 1- RELAÇÃO ENTRE A PREFERÊNCIA SEXUAL DAS FÊMEAS E A HABILIDADE COMPETITIVA DOS MACHOS DE TILÁPIA-DO-NILO

INTRODUÇÃO

Na maioria das espécies animais há alguns machos que obtêm vantagem reprodutiva em relação a outros e essa vantagem é resultante de dois mecanismos importantes: a competição entre machos e a escolha da fêmea (Andersson, 1994). Tanto a competição entre machos (seleção intra-sexual) quanto a escolha da fêmea (seleção inter-sexual) fazem parte da seleção sexual. Os distintos papéis sexuais entre machos e fêmeas ocorrem em função de uma diferença de sucesso de fertilização e de acasalamento entre os sexos (Rios-Cardenas, 2005). Nos peixes o gasto energético reprodutivo é geralmente menor nos machos, os quais são sexualmente mais ativos em relação às fêmeas (Forsgren et al. 2004). Já as fêmeas apresentam um alto gasto energético na produção de gametas (Rios-Cardenas, 2005; Andersson & Simmons, 2006) e investem na seleção de parceiros para a reprodução (Andersson, 1994).

Ao discriminar e selecionar parceiros as fêmeas podem obter benefícios diretos, como sua proteção, aumento da taxa de fertilização e acesso a melhores recursos, ou benefícios indiretos, como o aumento do sucesso reprodutivo (Berglund, 1996; Barbosa & Magurran, 2006; Lailvaux & Irschick 2006). As fêmeas podem usar características fenotípicas e comportamentais dos machos para avaliar a qualidade e escolher o parceiro adequado (Andersson, 1994). As características sexuais e os displays de corte dos machos são alguns dos sinais utilizados pelas fêmeas como forma de acessar a qualidade dos machos (Barbosa & Magurran, 2006). As fêmeas

ainda podem utilizar outras características, como coloração nupcial, ornamentos, presentes nupciais, liberação de feromônios etc. (Andersson, 1994). Ao acasalar com o animal escolhido a fêmea pode aumentar seu sucesso reprodutivo (Barbosa & Magurran, 2006). No peixe esgana-gato (*Gasterosteus aculeatus*), por exemplo, a fêmea tem maior sucesso reprodutivo quando acasala com o animal escolhido (Kraak et al., 1999).

Os machos, por sua vez, exibem suas qualidades às fêmeas. A maioria dos sinais emitidos pelos machos indica honestamente suas qualidades (Sargent et al., 1998). Em *Oreochromis mossambicus*, por exemplo, os machos que cortejam mais as fêmeas são dominantes, constroem ninhos maiores, têm maiores níveis de andrógenos, Índice Gonadossomático (IGS= peso úmido das gônadas/peso úmido corporal. 10^2) e papila genital (Oliveira et al., 1996). Sheldon (1994) sugere, em um estudo com aves, que o nível de atividade sexual do macho pode servir como uma fonte potencial de informação sobre sua fertilidade. É possível que o mesmo seja válido para peixes, pois em *Poecilia reticulata* os machos que cortejam mais as fêmeas também liberam uma maior quantidade de esperma (Matthews et al., 1997). Dessa forma, a sinalização dos machos, quer seja a exibição de comportamento de corte, construção de ninho ou mudança de coloração, pode indicar suas habilidades para as fêmeas (Barbosa & Magurran, 2006).

Para os machos, uma forma de aumentar o sucesso reprodutivo é aumentar o número de parceiras reprodutivas, o que favorece a poliginia na maioria das espécies (Andersson, 1994). Para aumentar o número de parceiras, é preciso disputá-las com seus oponentes (Rios-Cardenas, 2005). Uma das formas de disputa é o estabelecimento de hierarquia de dominância, na qual os dominantes têm acesso prioritário aos recursos disputados (Sloman & Armsntrong, 2002). Implícita à hierarquia de dominância está a existência de variações individuais comportamentais e fenotípicas entre os machos (Anderson, 1994), denominadas por Sloman & Armstrong (2002) de habilidade competitiva.

A habilidade competitiva de um macho pode favorecê-lo tanto na disputa com outros machos quanto na escolha pela fêmea, uma vez que, em espécies que estabelecem hierarquia, o sucesso reprodutivo dos machos está associado à dominância (Weir et al., 2004). Assim, encontramos uma

discrepância na habilidade competitiva dos machos, com alguns animais apresentando melhor habilidade e sendo dominantes, mais atrativos, apresentando maior frequência de acasalamento, maior sucesso reprodutivo e acesso desproporcional às fêmeas, em relação aos submissos (Hoglund & Alatalo, 1995; Qvarnström & Forsgren, 1998; Reichard et al., 2005). No peixe esgana gato (*Gasterosteus aculeatus*), por exemplo, os machos dominantes estabelecem territórios maiores e em áreas mais abertas, o que aumenta sua visibilidade para as fêmeas, enquanto os submissos possuem territórios menores, com mais vegetais e menor visibilidade às fêmeas (Candolin & Voigt, 2001).

Na maioria das espécies, os animais selecionados na competição entre machos também são preferidos pelas fêmeas e apresentam maior sucesso reprodutivo (Qvarnström & Forsgren, 1998). Em *Gambusia holbrooki*, por exemplo, as fêmeas preferem acasalar com o macho dominante (Bisazza & Marin (1991). A preferência das fêmeas por vencedores de disputas hierárquicas pode ocorrer porque a dominância atua como um sinal confiável de alta qualidade e/ou porque os machos dominantes podem oferecer potenciais benefícios diretos e indiretos às fêmeas (Qvarnström & Forsgren, 1998). Assim, vários estudos mostram que a preferência da fêmea está baseada na dominância ou em características associadas ao *status* de dominante (Candolin 1999, 2000; Berglund & Rosenqvist, 2001). Dessa forma, a competição entre machos pode facilitar a escolha da fêmea quando esta prefere uma característica relacionada à dominância (Candolin, 1999; Wong, 2004). Para que isso ocorra, uma determinada característica do macho deve fornecer vantagem tanto na competição com outros machos quanto na escolha da fêmea. Em *Rhodeus sericeus*, por exemplo, os machos maiores são favorecidos tanto na escolha da fêmea quanto na competição com outro macho (Reichard et al., 2005).

Entretanto, o resultado da competição entre machos pode divergir da escolha da fêmea (Qvarnström & Forsgren, 1998; Östlund-Nilsson & Nilsson, 2000). As fêmeas de *Pseudomugil signifer* e *Pomatoschistus minutus* (Forsgren, 1997) não preferem os machos dominantes. Os machos de *P. signifer* realizam cuidado parental e os dominantes não são melhores pais em relação aos submissos. Nestas espécies, a fêmea escolhe os animais que

exibem maior frequência de corte, os quais também têm maior sucesso parental (Wong, 2004).

Embora a seleção sexual seja relativamente bem estudada em diferentes grupos animais, ainda não compreendemos a importância relativa da seleção intra e inter-sexual, responsáveis por grande discrepância no sucesso reprodutivo de machos dentro de um grupo (Hoglund & Alatalo, 1995).

De acordo com Gonçalves-de-Freitas & Nishida (1998), machos dominantes de tilápia-do-Nilo têm prioridade no acasalento. Porém, não sabemos se o maior sucesso de acasalamento dos dominantes é resultante da exclusão do macho submisso do território do dominante, ou se a fêmea escolhe alguma característica indicadora da habilidade competitiva dos machos. Portanto, nosso objetivo foi identificar os critérios de preferência sexual utilizados pelas fêmeas e investigar a associação entre a preferência e a habilidade competitiva dos machos de tilápia-do-Nilo. Nossa hipótese é que a fêmea prefere machos com melhor habilidade competitiva, mesmo sem assistir à interação agonística. Assim, esperamos que os machos preferidos se tornem dominantes em confrontos hierárquicos simétricos.

MATERIAL E MÉTODOS

A tilápia-do-Nilo - Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1759)

A tilápia pertence à família Cichlidae, característica por apresentar interações competitivas entre machos (Baerends & Baerends van Roon, 1950) e escolha sexual das fêmeas (Kidd et al., 2006; Couldrige & Alexander, 2001). É uma das espécies mais importantes na aquicultura mundial (FAO, 2008) e apresenta sistema de acasalamento do tipo poligínico, com machos disputando intensamente os territórios e o acesso às fêmeas (Lowe-McConnell, 1958; Wong, 2004). Os machos estabelecem hierarquia de dominância por meio de interações agressivas, defendem um território e constroem ninho no substrato, o qual é utilizado como sítio para acasalamento (Lowe-McConnell, 1958). Após a desova, a fêmea recolhe os ovos na boca e afasta-se do ninho, cuidando da prole até a fase larval (Lowe-McConnell, 1958).

A hierarquia de dominância na tilápia-do-Nilo está intimamente relacionada à sua estratégia reprodutiva, na qual o dominante tem acesso prioritário às fêmeas (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998). Assim, consideramos que os machos dominantes apresentam melhor habilidade competitiva em relação aos submissos. O padrão de coloração dos machos varia de acordo com seu contexto social e/ou estágio reprodutivo (Falter, 1987; Volpato et al., 2003). Porém, não há dimorfismo sexual evidente nessa espécie (Afonso & Lebouté, 1993).

Procedimentos Gerais

O experimento foi realizado no Laboratório de Comportamento Animal do Departamento de Zoologia e Botânica, da UNESP de São José do Rio Preto, entre os meses de maio e julho de 2007. Foram utilizados exemplares adultos de tilápia-do-Nilo, criados na mini-estação de piscicultura da UNESP de São José do Rio Preto. Os peixes foram previamente aclimatados em laboratório, em caixas d'água de cimento amianto (1 peixe. 5L⁻¹), por um período mínimo de 15 dias antecedendo os experimentos. Os animais foram

alimentados com ração para peixes tropicais (28% de proteína bruta), fornecida duas vezes ao dia (até a saciação aparente). O fotoperíodo foi controlado para luz das 07:00 às 19:00 h e a temperatura foi mantida por aquecedores em $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Desenho Experimental

O experimento consistiu em testar a preferência da fêmea em relação à habilidade competitiva dos machos. Para isso, uma fêmea foi submetida ao contato visual com dois machos, localizados em aquários individuais (Figura 1), e a preferência por um deles foi testada. Posteriormente, os dois machos foram pareados para o estabelecimento da hierarquia de dominância, sem que a fêmea assistisse à interação. Avaliamos a associação entre a preferência da fêmea e a habilidade competitiva dos machos (dominante ou submisso). Assim, este experimento foi dividido em duas etapas: 1) teste de preferência sexual; 2) teste de dominância.

1) teste de preferência sexual: consistiu em avaliar a preferência da fêmea a partir do contato visual com dois machos de mesmo tamanho. O aquário da fêmea foi pareado com dois aquários, contendo um macho em cada um (Figura 1). Foram colocados anteparos entre os aquários dos machos e entre os aquários da fêmea e dos machos. Uma fêmea foi introduzida no 2º dia de experimento e no 3º dia seu comportamento foi filmado por 15 minutos para avaliar a preferência da fêmea por um dos lados do aquário. Todo tipo de contato entre os machos foi evitado. O intervalo de um dia entre a introdução da fêmea (2º dia) e a sua filmagem (3º dia) teve a função de aclimatá-las ao aquário e reduzir a influência de experiências sociais prévias no experimento. No quarto dia, o anteparo entre o aquário da fêmea e dos machos foi retirado e o contato visual inter-sexual foi permitido por 15 minutos para avaliar a preferência da fêmea (Figura 2), que foi inferida pelo tempo que a fêmea permaneceu dentro da zona de preferência, direcionada para um dos machos.

2) teste de dominância: no 5º dia de experimento os machos utilizados no teste de preferência sexual foram retirados de seus respectivos aquários e introduzidos simultaneamente em um aquário neutro para o estabelecimento hierárquico. A interação dos machos foi filmada por 43 minutos. As filmagens ocorreram no período da tarde, entre as 14:00 e 17:00h, pois, de acordo com Gonçalves-de-Freitas & Nishida (1998), esse é o período em que esta espécie reproduz em laboratório. Nessa fase, nenhum contato entre a fêmea e os machos foi permitido.

Analizamos a associação entre a preferência da fêmea (teste de preferência sexual) com habilidade competitiva dos machos (teste de dominância). Caso a fêmea escolhesse o animal que se tornou dominante, poderíamos afirmar que há associação entre preferência das fêmeas e habilidade competitiva dos machos.

Aquários e condições do experimento

Todos os animais foram previamente anestesiados com benzocaína (160 mg L⁻¹) para a biometria e sexados visualmente pelo método de coloração da papila genital, descrito por Afonso & Lebouté (1993). Para o teste de preferência sexual, os machos foram introduzidos em aquários individuais (40x 30x 40 cm; 42 L) pareados e mantidos nessas condições por 5 dias. As fêmeas foram mantidas por 3 dias em aquários de (60x60x40 cm; 126 L). Os machos foram individualmente reconhecidos por cortes nas nadadeiras caudais, como descrito em Fernandes & Volpato (1993).

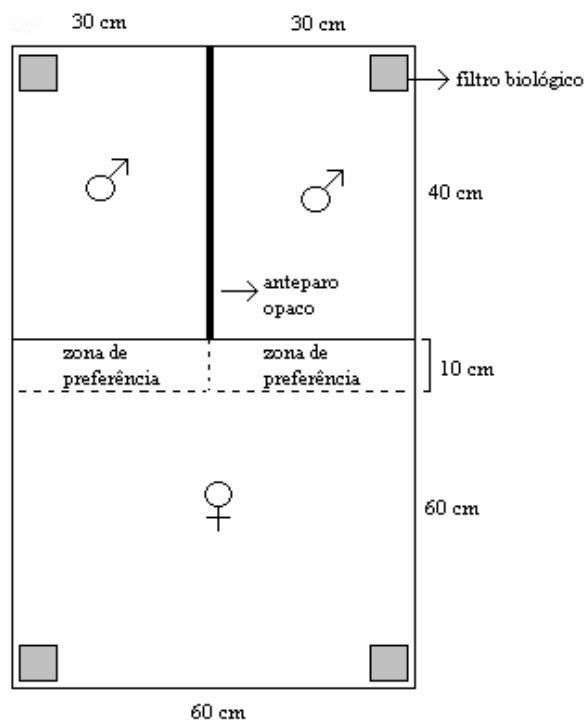


Figura 1. Esquema dos aquários utilizados no teste de preferência sexual. O anteparo opaco impediu qualquer contato entre os machos.

As paredes laterais e posteriores dos aquários dos machos e as paredes laterais dos aquários das fêmeas foram cobertas por plástico azul, pois, conforme Volpato & Barreto (2001) a cor azul reduz o estresse na tilápia-do-Nilo. Todos os aquários foram equipados com um filtro biológico, para oxigenação e manutenção da qualidade da água, e uma camada de 2 cm de cascalho de rio. A quantidade de alimento foi calculada para cada peixe e fornecida duas vezes ao dia, sendo 1% do peso corpóreo fornecido no período da manhã e 1% no período da tarde.

Foram utilizadas 13 réplicas, cada uma composta por dois machos de mesmo tamanho e uma fêmea. O tamanho dos machos em cada réplica foi controlado para não interferir no resultado da hierarquia de dominância (Volpato & Fernandes, 1994). O peso e comprimento padrão dos machos utilizados foram, respectivamente, $46,72 \pm 1,43$ g e $11,06 \pm 0,1$ cm (média $\pm$ erro padrão). As diferenças máximas de peso e comprimento entre os machos de cada réplica foram, respectivamente, de 7 g e 0,2 cm. Para as fêmeas, as médias e erro padrão de peso e comprimento foram, respectivamente, $35,0 \pm 1,3$ g e $10,1 \pm 0,009$ cm.

Os filtros biológicos, os termostatos e o substrato foram dispostos igualmente em todos os aquários para evitar qualquer interferência do ambiente na preferência da fêmea.

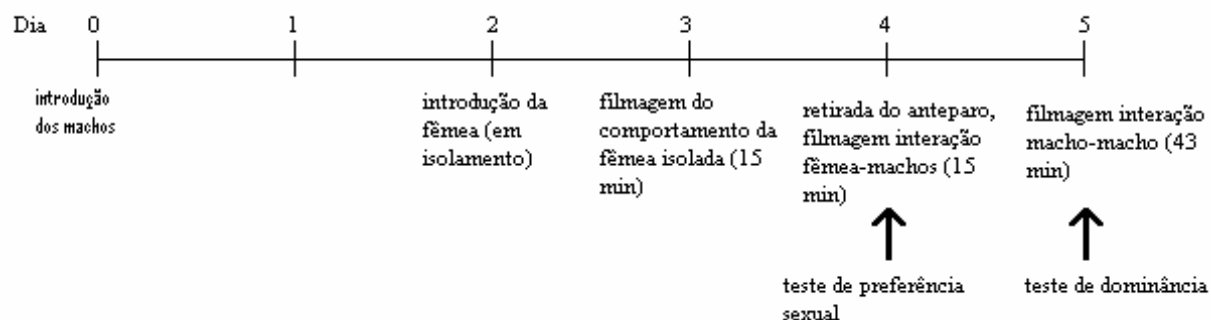


Figura 2. Cronograma do experimento.

Ao término do experimento todos os peixes foram mortos em solução letal de benzocaína (1000 mg L^{-1}) e dissecados para confirmação do sexo, extração das gônadas e cálculo do Índice Gonadossomático.

Indicador de preferência sexual

O teste de preferência consistiu em avaliar o tempo de interação da fêmea com um dos machos. Porém, é possível que haja preferência da fêmea por um dos compartimentos dos machos. Assim, realizamos um teste controle, antes de permitir o contato visual com os machos. No 3º dia, comparamos o tempo gasto pela fêmea em cada lado do aquário. Na parede anterior dos aquários das fêmeas uma marca longitudinal dividiu o aquário em duas metades, correspondentes ao tamanho dos aquários dos machos. Esta marca permitiu visualizar e quantificar o tempo que a fêmea passou nos lados direito e esquerdo.

Para inferir a preferência da fêmea quantificamos o tempo de orientação da fêmea para cada um dos machos, no 4º dia de experimento. Este tempo foi computado quando a cabeça da fêmea estava dentro da zona de preferência (Figura 1) e voltada para um dos machos. A zona de preferência foi uma área imaginária, escolhida arbitrariamente

(correspondeu a 12 % da área total do aquário), assim como fizeram Couldridge & Alexander (2001). Este parâmetro é uma medida indireta de escolha, utilizada em outras pesquisas sobre seleção sexual em peixes (Forsgren, 1997; Wong, 2004). Kidd et al. (2006) constatou que, nos ciclídeos *Metriaclima zebra* e *M. benetos*, as medidas indiretas de escolha sexual, como a orientação da fêmea para os machos, correspondem a medidas diretas, como a desova com o macho escolhido.

Em cada réplica separamos o macho que a fêmea interagiu mais tempo, considerado “preferido”, e o que a fêmea interagiu menos, considerado “não preferido”. Em seguida, agrupamos os machos “preferidos” para comparar os parâmetros fisiológicos e/ou comportamentais com os não “preferidos”.

Características preferidas pelas fêmeas

Algumas características fisiológicas e/ou comportamentais dos machos, como coloração, frequência de ondulação, de construção de ninho e condição gonadal foram avaliadas para identificar quais critérios de preferência as fêmeas utilizam. Assim, comparamos as características dos machos preferidos e não preferidos.

Coloração dos machos

Os machos dominantes e submissos apresentam coloração corporal diferente (Falter, 1987; Volpato et al., 2003). Assim, é possível que a exibição de coloração de dominância ou submissão sirva como um indicador da habilidade competitiva dos machos. Por isso, a coloração dos machos (durante a interação visual com a fêmea) foi avaliada e classificada em uma escala de 1 a 3, sendo 1 a coloração neutra (tonalidade escura, com todas as faixas longitudinais presentes; típica de animais submissos); 2 a coloração intermediária (tonalidade clara, poucas faixas longitudinais presentes); 3 coloração clara (corpo totalmente claro, sem nenhuma faixa longitudinal e íris totalmente clara; típica de animais dominantes). Durante os 15 minutos de interação visual macho-fêmea, a cor dos machos foi avaliada em intervalos de 3 minutos (1º, 4º, 7º, 10º e 13º minutos). Os 5 escores de cada animal foram somados e divididos por 5. Assim, cada animal teve um valor

numérico para sua coloração, a qual foi comparada entre os machos preferidos e não preferidos. Esta classificação da coloração dos animais em escores foi utilizada em estudos prévios de seleção sexual em peixes (Wong, 2004; Forsgren, 1997).

Ninhos

Gonçalves-de-Freitas (1999) observou que, em espaços confinados, como em condições de laboratório, apenas os machos dominantes da tilápia-do-Nilo constroem ninhos. O ninho está associado à defesa de território e à reprodução (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1999). Além disso, há correlação positiva entre o investimento em ninho dos machos e a visitação de fêmeas (Mendonça, 2006). Por isso, avaliamos a relação entre a construção de ninho e a escolha da fêmea, comparando a frequência de construção de ninhos entre machos preferidos e não preferidos.

Comportamento de corte

Na tilápia-do-Nilo o comportamento ondulatório faz parte da corte e é descrito por Gonçalves-de-Freitas (1999) como uma ondulação vigorosa do corpo do animal no sentido ântero-posterior. A frequência de comportamento ondulatório emitido pelos machos foi quantificada e comparada entre animais preferidos e não preferidos. Cada ondulação foi registrada quando o peixe começava e terminava o comportamento, independente da duração ou intensidade dos movimentos.

Gônadas

Segundo Bozynski & Liley (2003), em *Poecilia reticulata*, os machos com maior quantidade de espermatozóides cortejam mais as fêmeas. Este estudo sugere que o comportamento sexual do macho reflete sua condição reprodutiva, uma vez que um maior número de espermatozóides pode aumentar o sucesso de fertilização. Assim, avaliamos a condição reprodutiva dos machos pelo cálculo do Índice Gonadosomático e comparamos entre machos preferidos e não preferidos. Na tilápia-do-Nilo o IGS é um bom indicador do estado funcional das gônadas (Babiker & Ibrahim, 1979).

Teste de Dominância

A habilidade competitiva dos machos foi inferida pelo resultado do estabelecimento hierárquico. Consideramos que o macho dominante possui melhores habilidades competitivas em relação ao submisso. Os animais dominantes foram identificados visualmente. É possível identificar o momento do estabelecimento hierárquico quando apenas um animal emite ataques, enquanto o oponente foge incessantemente (Volpato et al., 1989; Gonçalves-de-Freitas & Ferreira, 2004). Após o estabelecimento hierárquico o dominante apresenta coloração corporal clara, sem listras verticais (Volpato et al., 2003) e passa a ocupar a posição central no aquário, geralmente deslocando o submisso para camadas superiores (Gonçalves, 1993).

Associação entre preferência e habilidade competitiva dos machos

Para testar a associação entre preferência sexual das fêmeas e habilidade competitiva dos machos, comparamos a porcentagem de animais preferidos que se tornou dominante.

Análise estatística

Os dados discrepantes (*outliers*) foram extraídos e substituídos pelas médias (Zar, 1999; Volpato, 2007). Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e então procedidos os testes paramétricos ou não paramétricos, de acordo com Zar (1999).

O teste qui-quadrado foi utilizado para comparar o tempo gasto pela fêmea dentro e fora da zona de preferência, a porcentagem de machos preferidos e não preferidos que se tornou dominante e o efeito da marcação na nadadeira caudal sobre a dominância (Zar, 1999). O teste exato de Fisher foi utilizado para comparar a frequência de construção de ninho por machos preferidos e não preferidos. O teste t para amostras independentes foi usado para comparar a frequência de ondulação, a coloração e o IGS entre machos preferidos e não preferidos. O teste t para amostras dependentes foi utilizado para comparar o tempo gasto pela fêmea em cada lado do aquário e a

interação da fêmea com os machos (Zar, 1999). Para se atribuir qualquer diferença estatística o nível de significância utilizado foi de 0,05.

Nota ética

Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA – www.cobea.org.br).

RESULTADOS

Teste de preferência sexual

No teste controle não houve diferença no tempo gasto pela fêmea nos lados direito e esquerdo do aquário, quando esta estava em isolamento (test t para amostras dependentes, $t = -1,73$; $p = 0,10$; Figura 3).

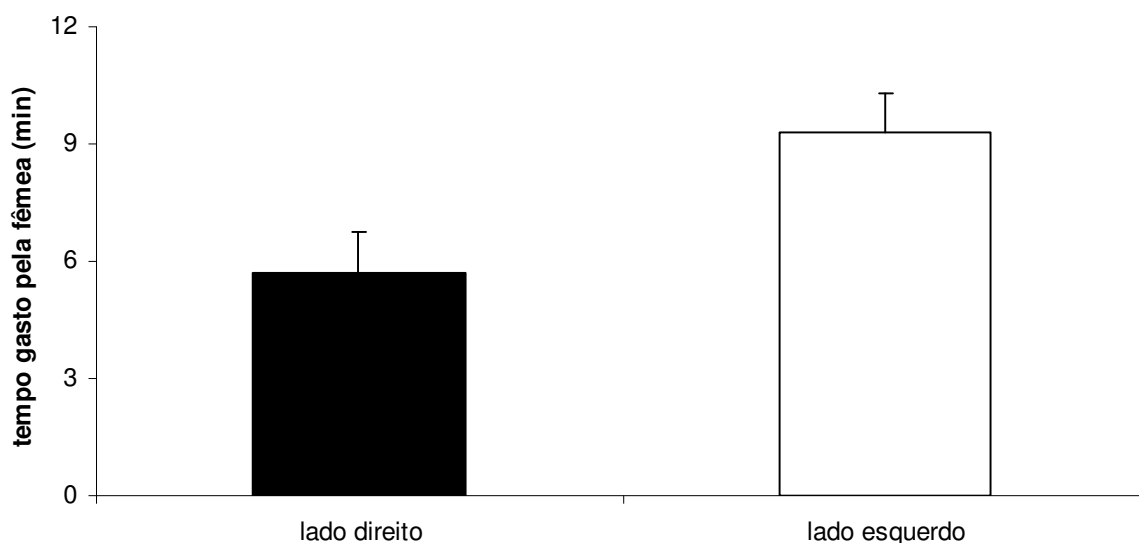


Figura 3. Média $\pm$ erro padrão do tempo gasto pela fêmea em cada lado do aquário (test t para amostras dependentes, $p = 0,10$; $n = 13$).

A área da zona de preferência correspondeu a apenas 12% da área total do aquário e as fêmeas permaneceram mais tempo dentro da zona de preferência do que fora dela (média $\pm$ erro padrão do tempo gasto pela fêmea: dentro da zona de preferência $9 \pm 0,89$ min; fora da zona de preferência $6 \pm 0,89$ minutos; qui-quadrado, $\chi^2 = 11,34$, $p = 0,0008$).

O tempo de interação da fêmea com os machos preferidos foi maior que o tempo com os machos não preferidos (test t para amostras dependentes, $t = 0,45$; $p < 0,0007$; Figura 4).

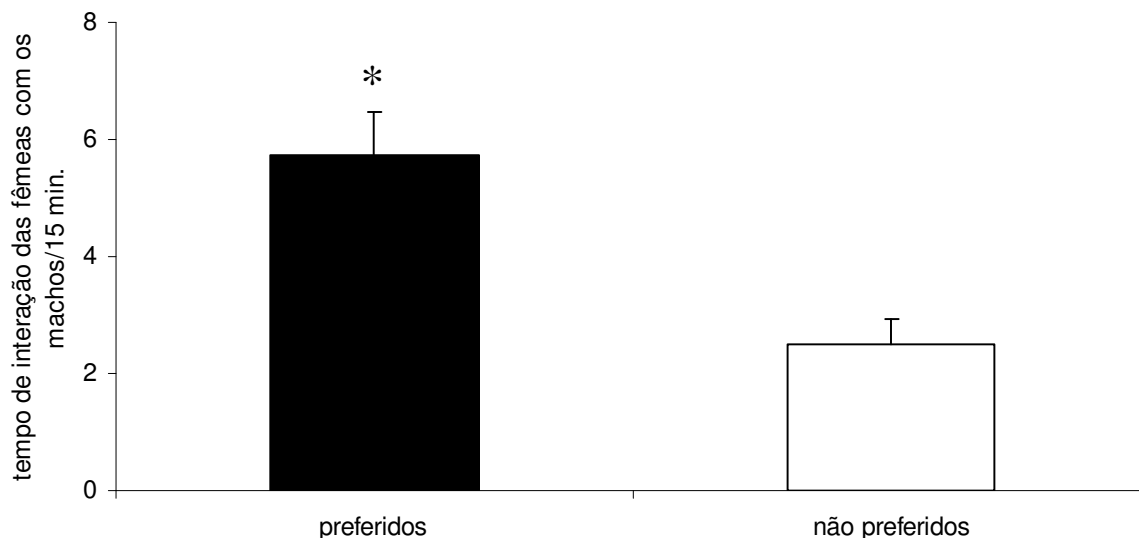


Figura 4. Média $\pm$ erro padrão do tempo de interação das fêmeas com os machos preferidos e não preferidos (test t para amostras dependentes, * $p=0,0007$; $n=13$).

Os machos preferidos e não preferidos ondularam igualmente para as fêmeas (test t para amostras independentes; $t= 1,24$; $p= 0,22$; Figura 5).

Coloração dos machos

Não houve diferença de coloração entre os machos preferidos e não preferidos (teste t para amostras independentes, $t= -0,08$; $p= 0,93$; $n=13$). A média $\pm$ erro padrão dos escores de coloração dos machos preferidos foi $1,54 \pm 0,11$ e dos não preferidos, $1,55 \pm 0,13$.

Gônadas e ninhos

Não houve diferença no IGS dos machos preferidos e não preferidos (teste t para amostras independentes, $t= 0,30$; $p= 0,76$; Figura 6). Também não houve diferença na frequência de construção de ninho entre os machos preferidos e não preferidos. Dos animais preferidos, 46% construíram ninho e, dos não preferidos, 62% construíram (teste exato de Fisher, $p= 0,69$; $n=13$).

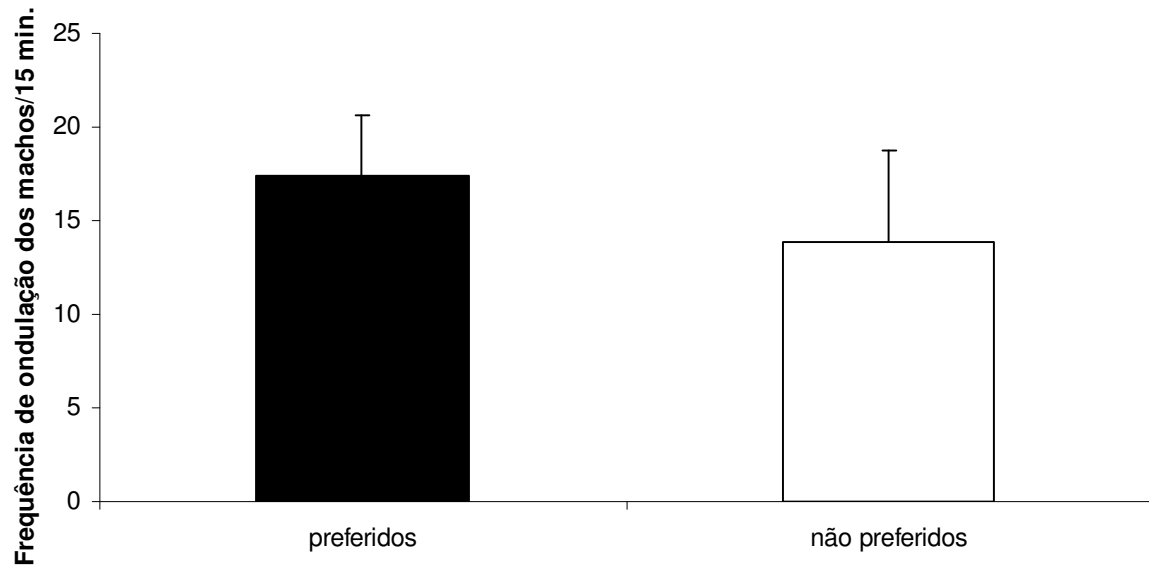


Figura 5. Média $\pm$ erro padrão da frequência de ondulação emitida pelos machos preferidos e não preferidos (teste t para amostras independentes, $p=0,22$; $n=13$).

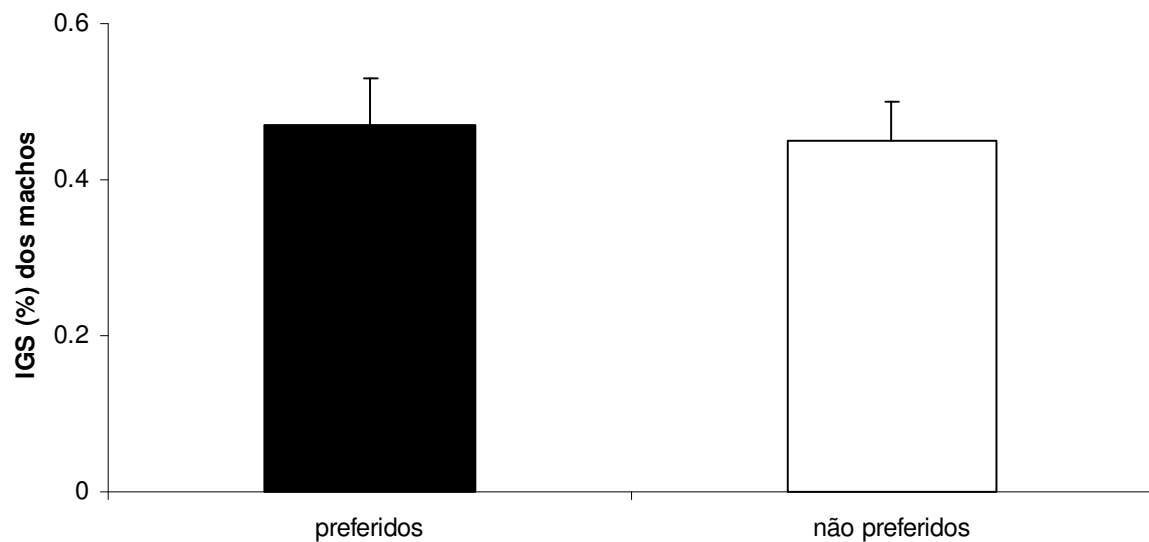


Figura 6. Média $\pm$ erro padrão do Índice Gonadosomático dos machos preferidos e não preferidos pelas fêmeas (teste t para amostras independentes, $p=0,76$; $n=13$).

Teste de dominância

Os cortes nas nadadeiras caudais, utilizados para a marcação individual, não afetaram o resultado da hierarquia de dominância. Dos machos dominantes, 54% tiveram o corte superior na nadadeira caudal e 46%, o corte inferior (qui-quadrado, $\chi^2 = 0,07$; $p = 0,78$; $n = 13$). O tempo médio para o estabelecimento hierárquico foi de $25,7 \pm 14,3$ minutos.

Associação entre preferência e habilidade competitiva dos machos

Não houve associação entre a preferência da fêmea e a habilidade competitiva dos machos. O macho preferido se tornou dominante em 31% dos casos e, o submisso, em 69% (qui-quadrado; $\chi^2 = 1,9$; $p = 0,16$; $n = 13$).

DISCUSSÃO

Este estudo constatou que as fêmeas da tilápia-do-Nilo apresentam preferência sexual, mas que a preferência, sem assistir à interação agonística, não está associada à habilidade competitiva dos machos, uma vez que os machos preferidos não foram dominantes.

As fêmeas de ciclídeos apresentam preferência sexual (Taylor et al., 1998; Kidd et al., 2006; Couldridge & Alexander, 2001; Nelson, 1995) e o contato visual com os machos é suficiente para a avaliação e escolha do parceiro (Couldridge & Alexander, 2001; Forsgren, 1997; Kodrie-Brown, 1993; Wong, 2004). Castro (2004) verificou que, na tilápia-do-Nilo, o contato visual macho-fêmea estimula respostas reprodutivas em ambos os sexos (Castro, 2004), indicando ser uma via sensorial importante na reprodução dessa espécie.

Embora tenhamos utilizado uma medida indireta de escolha sexual (o tempo de interação com os machos), Kidd et al. (2006) e Couldridge & Alexander (2001) validaram esta metodologia e Seehausen et al. (1998) fazem uma analogia do tempo gasto pela fêmea próximo a um macho ao comportamento natural de visita de fêmeas aos ninhos dos machos. Assim, concluímos que este indicador de escolha sexual também seja válido para a tilápia-do-Nilo.

As características dos machos avaliadas no experimento, como frequência de ondulação, coloração, construção de ninho e IGS, embora sejam válidas para outras espécies (Forsgren, 1997; Kodrie-Brown, 1993; Wong, 2004; Matthews et al., 1997), não foram utilizadas como critérios de preferência pelas fêmeas de tilápia-do-Nilo. Porém, não podemos descartar a possibilidade de um conjunto de características atuarem simultaneamente e afetarem a preferência das fêmeas. Cortejar uma fêmea, investir em gônada, ninho e na coloração corporal implica em alto gasto energético para os machos (Wootton, 1991), podendo até reduzir a taxa de crescimento e afetar as gerações futuras (Rangely & Godin, 1992; Munthali, 1996). Assim, como a maioria dos sinais emitidos pelos machos são honestos (Barbosa & Magurran, 2006), esperamos que sinalização dos machos da tilápia-do-Nilo

para as fêmeas seja um indicador honesto de qualidade. Portanto, é possível que as características dos machos que analisamos interfiram na escolha das fêmeas, mas estas podem basear a escolha em múltiplas características. Outras espécies de peixes utilizam múltiplas características dos machos na escolha sexual (Hankison & Morris, 2003; Künzler & Bakker, 2001). Künzler & Bakker (2001) identificaram os critérios de preferência da fêmea ao manipular várias características dos machos em uma animação computadorizada de animais executando comportamento de corte. Assim, a manipulação virtual das características dos machos permitiu identificar os critérios de preferência das fêmeas. Além disso, Lailvaux & Irschick (2006) sugerem que para compreender as características selecionadas pelas fêmeas é preciso analisar o estado fisiológico e a performance do indivíduo como um todo. Significa analisar outras características além das comumente utilizadas, como resistência, força da mordida, condição muscular, performance natatória, taxa metabólica, nível de glicose, de lipídeos etc. (Lailvaux & Irschick, 2006). Embora alguns parâmetros sejam facilmente mensurados, outros dificultam tais estudos.

No presente experimento não encontramos relação entre a preferência da fêmea e a construção de ninho pelos machos. Segundo Wong & Candolin (2005) a preferência das fêmeas pode estar relacionada com qualidade do território dos machos. Porém, mantivemos os machos em condições iguais, o que impede que a preferência por qualidade do território apareça. Contudo, o território dos machos, na tilápia-do-Nilo, não fornece nenhum recurso alimentar ou de outro tipo para as fêmeas (MacBay, 1961). No entanto, é possível que os melhores territórios aumentem a visibilidade às fêmeas, como acontece em *Cyrtocara eucinostomus*. Nessa espécie, os machos que constroem ninhos mais altos têm maior visitação das fêmeas e maior freq u ncia de acasalamento (McKaye et al., 1990). Dessa forma, informações sobre onde um território ou ninho foi construído e o seu tamanho podem ser importantes para as fêmeas (Wong & Candolin, 2005).

Wong & Candolin (2005) discutem que assistir às interações competitivas entre machos facilita a avaliação de estímulos e a escolha do parceiro adequado (Wong & Candolin, 2005). Assim, a competição entre machos pode facilitar a detecção de animais com melhor qualidade ou a

detecção das diferenças entre os machos, em função da honestidade dos displays e do número de estímulos usados na escolha sexual (Wong & Candolin, 2005). Todavia, no presente experimento a fêmea não assistiu à interação. Assim, é possível que, na condição de simetria imposta às fêmeas e sem assistir à interação, as fêmeas não reconheçam e, conseqüentemente, não prefiram machos com melhor habilidade competitiva. Além de assistir a interação, é razoável supor que a fêmea escolha o parceiro após o estabelecimento hierárquico e assim, os dominantes sinalizariam indubitavelmente suas qualidades.

Os ciclídeos são característicos pelas intensas disputas entre machos por acesso a territórios e a fêmeas (Wong, 2004). Segundo Beehler & Foster (1988) nos animais que reproduzem em sistema de leque, as diferenças de sucesso reprodutivo entre machos são resultados primariamente da competição dos e secundariamente da seleção por fêmeas. A dominância e a monopolização podem limitar as oportunidades das fêmeas exercerem suas preferências por parceiros (Cotton et al., 2006). Contudo, ainda que a fêmea de tilápia-do-Nilo prefira um parceiro, não há garantia de que a reprodução ocorrerá com ele, pois os machos dominantes podem monopolizar as fêmeas e impedir o acesso dos submissos. Em *G. aculeatus*, por exemplo, a fêmea acasala com o macho dominante quando há livre interação entre machos competidores (Östlund-Nilsson & Nilsson, 2000). Todavia, quando o contato físico entre os machos é impedido, o acasalamento nem sempre ocorre com o macho dominante, confirmando que a interação do dominante com seus rivais interfere no resultado do acasalamento (Östlund-Nilsson & Nilsson, 2000). O dominante pode interferir no resultado do acasalamento ao atrapalhar a corte de machos rivais, dificultar a atração de fêmeas e confundir sua escolha (Östlund-Nilsson & Nilsson, 2000).

Birkhead & Møller (1993) sugerem que as fêmeas podem ser agentes meramente passivos na decisão de quem será o pai da sua prole. Essa idéia pode ser válida para a tilápia-do-Nilo e é reforçada pela existência de múltiplos pais em proles de fêmeas desta espécie (Fessehayé et al., 2006). Além disso, Gonçalves-de-Freitas & Nishida (1998) relataram a ocorrência de comportamento oportunista na tilápia (*sneaking behaviour*). Contudo, ao acasalar com o dominante, ainda que seja compelida, a fêmea pode obter

vantagens, pois os dominantes podem excluir machos rivais e, como consequência para as fêmeas, reduzir os riscos de injúrias e aumentar as chances de sobrevivência (Qvarnström & Forsgren, 1998). Além disso, reproduzir com um macho com melhor habilidade competitiva pode aumentar o sucesso reprodutivo da fêmea (Berglund, 1996) e conferir viabilidade dos seus genes para a prole (Höjesjö et al., 2002).

A confirmação da seleção sexual em fêmeas de tilápia-do-Nilo abre possibilidades para testar a relação entre a escolha da fêmea e as vantagens diretas e indiretas decorrentes desta escolha. Não sabemos se, na tilápia-do-Nilo, o resultado da competição entre machos aumenta o sucesso reprodutivo das fêmeas. Porém, outros estudos são importantes para compreendermos quais os benefícios diretos e indiretos para as fêmeas ao reproduzir com um macho escolhido ou dominante e possivelmente implementar técnicas de reprodução de peixes na aquicultura.

REFERÊNCIAS

- Afonso, L.O. B. & Leboutte, E.M. (1993) Métodos para sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*. *Anais do IV Encontro Rio-Grandense de Técnicos em Aquicultura*. Porto Alegre. pp. 100-103.
- Andersson, M. B. (1994) *Sexual Selection*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Andersson, M. & Simmons, L.W. (2006) Sexual selection and mate choice. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(6): 296-302.
- Babiker, M.M. & Ibrahim, H. (1979) Studies on the biology of reproduction in the cichlid *Tilapia nilotica* (L.): gonadal maturation and fecundity. *Journal of Fish Biology*, 14: 437-448.
- Baerends, G.P. & Baerends van Roon, J.M. (1950) An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behavior Supply*, 1: 1-243.
- Barbosa, M. & Magurran, A.E. (2006) Female mating decisions: maximizing fitness? *Journal of Fish Biology*, 68: 1636-1661.
- Beehler, B.M. & Foster, M.S. (1988) Hotshots, hotspots, and female preference in the organization of lek mating systems. *American Naturalist*, 131: 203-219.
- Berglund, A. (1996) Armaments and ornaments: an evolutionary explanation of traits of dual utility. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58: 385-399.
- Berglund, A. & Rosenqvist, G. (2001) Male pipefish prefer dominant over attractive females. *Behavioral Ecology*, 12: 402-406.
- Birkhead, T. & Møller, A. (1993) Female control of paternity. *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 100-104.
- Bisazza, A. & Marin, G. (1991) Male size and female mate choice in the eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae). *Copeia*, 3: 730-735.
- Bozynski, C.C. & Liley, R. (2003) The effect of female presence on spermiation, and of male sexual activity on 'ready' sperm in the male guppy. *Animal Behaviour*, 65: 53-58.
- Candolin, U. (1999) Male-male competition facilitates female choice in sticklebacks. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 266: 785-789.

Candolin, U. (2000) Male-male competition ensures honest signaling of male parental ability in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 49: 57-61.

Candolin, U. & Voigt, H.R. (2001) Correlation between male size and territory quality: consequence of male competition or predation risk? *Oikos*, 95: 225-230.

Castro, A.L.S. (2004) Efeito de estímulos visuais e químicos do sexo oposto na reprodução da tilápia-do-Nilo. *Dissertação de Mestrado*. Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, UNESP, SP. 40 p.

Cotton, S.; Small, J. & Pomiankowski, A. (2006) Sexual selection and condition-dependent mate preferences. *Current Biology*, 16: 755-765.

Couldridge, V.C.K. & Alexander, G.J. (2001) Does the time spent near a male predict female mate choice in a Malawian cichlid? *Journal of Fish Biology*, 59: 667-672.

Falter, U. (1987) Description des patrons de coloration chez *Oreochromis niloticus* (L.) (Teleostei: Cichlidae). *Annales de la Société Royale de Zoologie Belge*, 117: 201-219.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em 24 mar. 2008.

Fernandes, M.O. & Volpato, G.L. (1993) Heterogeneous growth in the Nile tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. *Physiology and Behavior*, 54: 319-323.

Fessehaye, Y.; Elbialy, Z.; Rezk, M.A.; Crooijmans, R.; Bovenhuis, H. & Komen, H. (2006) Mating systems and male reproductive success in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in breeding hapas: a microsatellite analysis. *Aquaculture*, 256: 148-158.

Forsgren, E. (1997) Female sand gobies prefer good fathers over dominant males. *Proceedings of the Royal Society of London*, 264(1386): 1283-1286.

Forsgren, E.; Amundsen, T.; Borg, A.A. & Bjelvenmark, J. (2004) Unusually dynamic sex roles in a fish. *Nature*, 429: 551-554.

Gonçalves, E. (1993) Estratégias territoriais e reprodutivas da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, SP. 147 p.

Gonçalves-de-Freitas, E. (1999) Investimento reprodutivo e crescimento em machos de tilápia-do-Nilo. *Tese de doutorado*. Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, SP. 49p.

Gonçalves-de-Freitas, E. & Nishida, S.M. (1998) Sneaking behaviour of the Nile tilapia. *Boletim Técnico do CEPTA*, 11: 71-79.

Gonçalves-de-Freitas, E. & Ferreira, A.C. (2004) Female social dominance does not establish mating priority in Nile tilapia. *Revista de Etologia*, 6(1): 33-37.

Hankison, S.J. & Morris, M.R. (2003) Avoiding a compromise between sexual selection and species recognition: female Swordtail Fish assess multiple species-specific cues. *Behavioral Ecology*, 14: 282-287.

Hoglund, J. & Alatalo, R.V. (1995) *Leks*. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Höjesjö, J., Johnsson, J. I. & Bohlin, T. (2002) Can laboratory studies on dominance predict fitness of young brown trout in the wild? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52: 102-108.

Kidd, M.R.; Danley, P.D. & Kocher, T.D. (2006) A direct assay of female choice in cichlids: all the eggs in one basket. *Journal of Fish Biology*, 68: 373-384.

Kodrie-Brown, A. (1993) Female choice of multiple male criteria in guppies: interacting effects of dominance, coloration and courtship. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 32: 415-420.

Kraak, S.B.M.; Bakker, T.C.M. & Mundwiler, B. (1999) Sexual selection in sticklebacks in the field: correlates of reproductive, mating, and paternal success. *Behavioral Ecology*, 10(6): 696-706.

Künzler, R. & Bakker, T.C.M. (2001) Female preferences for single and combined traits in computer animated stickleback males. *Behavioral Ecology*, 12(6): 681-685.

Lailvaux, S.P. & Irschick, D.J. (2006) A functional perspective on sexual selection: insights and future prospects. *Animal Behaviour*, 72: 263-273.

Lowe-McConnell, M. (1958) Breeding behaviour patterns and ecological differences between tilapia species and their significance for evolution within the genus *Tilapia* (Pisces; Cichlidae). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 132: 1-31.

MacBay, L.E. (1961) The biology of *Tilapia nilotica* Linnaeus. *Proceedings of Annual Conference Southeastern Association of Game and Fish Commissioners*, 15: 208-218.

Matthews, I.M.; Evans, J.P. & Magurran, A.E. (1997) Male display rate reveals ejaculate characteristics in the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society of London*, 264: 695-700.

- McKaye, K.R.; Louda, S.M. & Stauffer-Jr., J.R. (1990) Bower size and male reproductive success in a cichlid fish lek. *The American Naturalist*, 135(5): 597-613.
- Mendonça, F.Z. (2006) Efeito da privação de ninho sobre a agressividade e o sucesso de acasalamento em machos de tilápia-do-Nilo. *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, UNESP, SP. 43 p.
- Nelson, C.M. (1995) Male size, spawning pit size and female mate choice in a lekking cichlid fish. *Animal Behaviour*, 50: 1587-1599.
- Oliveira, R.F.; Almada, V.C. & Canário, A.V.M. (1996) Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Hormones and Behavior*, 30: 2-12.
- Östlund-Nilsson, S. & Nilsson, G.E. (2000) Free choice by female sticklebacks : lack of preference for male dominance traits. *Canadian Journal of Zoology* 78: 1251-1258.
- Qvarnström, A. & Forsgren, E. (1998) Should females prefer dominant males? *Tree*, 13(12): 498-501.
- Rangely, R.W. & Godin, J.J. (1962) The effects of trade-off between foraging and brood defense on parental behaviour in the convict cichlid fish, *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Behaviour*, 120(1-2): 123-138.
- Reichard, M.; Bryja, J.; Ondracková, M.; Dávidová, M.; Kaniewska, P. & Smith, C. (2005) Sexual selection for male dominance reduces opportunities for female mate choice in the European bitterling (*Rhodeus sericeus*). *Molecular Ecology*, 14: 1533-1542.
- Rios-Cardenas, O. (2005) Patterns of parental investment and sexual selection in teleost fishes: do they support Bateman's Principles? *Integrative and Comparative Biology*, 45: 885-894.
- Sargent, R.C.; Rush, V.N. Wisenden, B.D. & Yan, H.Y. (1998) Courtship and mate choice in fishes: integrating behavioral and sensory ecology. *American Zoologist*, 38: 82-96.
- Seehausen, O.; Witte, F.; van Alphen, J.J.M. & Bouton, N. (1998) Direct mate choice maintains diversity among sympatric cichlids in Lake Victoria. *Journal of Fish Biology*, 53: 37-55.
- Sheldon, B.C. (1994) Male phenotype, fertility, and the pursuit of extra-pair copulations by female birds. *Proc. of the Royal Society of London*, 257: 25-30.
- Sloman, K.A. & Armstrong, J.D. (2002) Physiological effects of dominance hierarchies: laboratory artifacts or natural phenomena? *Journal of Fish Biology*, 61: 1-23.

- Taylor, M.I.; Turner, G.F.; Robinson, R.L. & Staufer Jr., J.R. (1998) Sexual selection, parasites and bower height skew in a bower-building cichlid fish. *Animal Behaviour*, 56: 379-384.
- Volpato, G.L. & Barreto, R.E. (2001) Environmental blue light prevents stress in the Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.
- Volpato, G.L. & Fernandes, M.O. (1994) Social control of growth in fish. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27: 797-810.
- Volpato, G.L. Frioli, P.M.A. & Carrieri, M.P. (1989) Heterogenous growth in fishes; some new data in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and a general view about the causal mechanisms. *Boletim de Fisiologia Animal*, 13: 7-22.
- Volpato, G.L.; Luchiari, A.C.; Duarte, C.R.A.; Barreto, R.E. & Ramanzini, G.C. (2003) Eye color as an indicator of social rank in the fish Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36: 1659-1663.
- Weir, L.K.; Hutchings, J.A.; Fleming, I.A. & Einum, S. (2004) Dominance relationships and behavioural correlates of individual spawning success in farmed and wild male Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Animal Ecology*, 73: 1069-1079
- Wong, B.B.M. (2004) Superior fighters make mediocre fathers in the Pacific blue-eye fish. *Animal Behaviour*, 67:583-590.
- Wong, B.B.M. & Candolin, U. (2005) How is female mate choice affected by male competition? *Biological Reviews*, 80: 559-571.
- Wootton, R.J. (ed) (1991) *Ecology of Teleost Fishes*. Chapman & Hall, London, 404 p.
- Zar, J. (1999) *Biostatistical Analysis*. 4 th edn. New Jersey: Prentice Hall.

ESTUDO 2 - EFEITO DA INTERAÇÃO COM A FÊMEA NA HIERARQUIA DE DOMINÂNCIA EM MACHOS DE TILÁPIA-DO-NILO

INTRODUÇÃO

A limitação de recursos no ambiente, como alimento, abrigo, sítio e parceiro reprodutivos pode levar os animais à competição intra-específica (Krebs & Davies, 1996). As interações sociais intra-específicas nas disputas por recursos pode resultar em hierarquia de dominância, na qual os machos lutam entre si e os vencedores (dominantes) têm acesso prioritário aos recursos (Huntingford & Turner, 1987).

A hierarquia de dominância pode beneficiar tanto o macho dominante quanto o submisso, pois reduz os custos de sérias injúrias aos animais em relação a sistemas sociais mais instáveis (Sloman & Armstrong, 2002). Porém, os machos dominantes obtêm outras vantagens em relação aos submissos, como o maior sucesso de acasalamento (Weir et al., 2004). Implícita à hierarquia de dominância está a existência de variações individuais comportamentais e fenotípicas entre os peixes (Anderson, 1994), denominadas por Sloman & Armstrong (2002) de habilidade competitiva e que interferem no estabelecimento hierárquico. Assim, a habilidade competitiva de um macho pode resultar em dominância e, conseqüentemente, em aumento do sucesso reprodutivo (Andersson, 1994).

Vários são os fatores que afetam a dominância em peixes, como a residência prévia (Huntingford & Garcia de Leaniz, 1997), o tamanho corporal (Chellappa et al., 1989) e a experiência de luta (Dugatkin, 1997). Chase et al. (1994) mostraram que a experiência de luta é influenciada pelo resultado do último confronto, conhecido como efeito ganhador e perdedor (*winner and loser effect*). Assim, o animal que teve uma experiência prévia de

dominância tem maiores chances de ganhar um confronto com um oponente.

O efeito ganhador e perdedor também ocorre em contexto reprodutivo. Machos com experiência prévia de dominância cortejam mais as fêmeas em relação aos machos com experiência de submissão (Amorim & Almada, 2005). Estes estudos evidenciam que tanto a corte quanto a hierarquia de dominância são influenciadas por interações sociais anteriores, mais especificamente por experiências de lutas. Assim, a interação social prévia pode influenciar o estabelecimento hierárquico e a reprodução dos peixes.

A interação com fêmeas é uma forma de interação social e pode induzir alterações fisiológicas e comportamentais em machos, tanto no contexto reprodutivo como no contexto agonístico. Em *Poecilia reticulata* (Bozynski & Liley, 2003), por exemplo, o contato visual com a fêmea causa aumento do volume de esperma no macho. Para Bozynski & Liley (2003), o aumento do volume de esperma do macho parece ser uma resposta à disponibilidade de fêmeas em condição de desova. Além disso, em *P. reticulata*, os machos com maior quantidade de espermatozóides cortejam mais as fêmeas (Bozynski & Liley, 2003). Esses fatores, em conjunto, permitem o acesso a um maior número de fêmeas e o aumento do sucesso reprodutivo do macho, em espécies poligínicas (Hoglund & Alatalo, 1995).

A presença da fêmea também pode induzir outras respostas em machos, como incitar a competição (Cox & LeBoeuf, 1977) e aumentar a motivação sexual (Gaudemar et al., 2000). Castro (2004) verificou que, na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) o contato visual com a fêmea durante 5 dias é suficiente para causar um aumento do Índice Gonadossomático (IGS = peso úmido das gônadas/peso úmido corporal. 10^2) dos machos. O desenvolvimento gonadal dos machos está correlacionado positivamente aos seus níveis de testosterona (Yaron et al., 1983), hormônio com papel primário no controle do comportamento agonístico e sexual em vertebrados, incluindo os peixes (Crews, 1998).

Oliveira et al. (1996) verificaram que, em *O. mossambicus*, os machos dominantes são mais eficientes em defender um território, apresentam maiores concentrações de hormônios esteróides e maior IGS. Assim, é possível que o aumento do IGS dos machos esteja associado a um aumento

da agressividade. Dessa forma, a interação visual com a fêmea, ao modular o desenvolvimento gonadal dos machos (via alteração dos níveis de andrógenos), poderia atuar como estímulo para os machos se tornarem dominantes. Portanto, nossa hipótese é que a interação com a fêmea aumenta as chances de um macho tornar-se dominante na tilápia-do-Nilo.

MATERIAL E MÉTODOS

A tilápia-do-Nilo (Oreochromis niloticus)

A tilápia pertence à família Cichlidae, apresenta sistema de acasalamento poligínico (*lek polygyny*) e interações intra-sexuais e inter-sexuais bastante evidentes (Baerends & Baerends van Roon, 1950; Amorim & Almada, 2005).

Os machos defendem um território, estabelecem hierarquia de dominância, constroem um ninho circular, escavando o substrato com a boca, e atraem fêmeas para acasalar (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998). A desova ocorre no ninho e, em seguida, a fêmea recolhe os ovos na boca e afasta-se para incubar e cuidar dos ovos (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998). A dominância está associada à reprodução, uma vez que os machos dominantes apresentam maior sucesso de acasalamento (Gonçalves-de-Freitas & Nishida, 1998; Gonçalves-de-Freitas, 1999). Nesta espécie é possível realizar a sexagem visualmente, há facilidade para manutenção e reprodução em laboratório, além de ser uma das espécies mais importantes na aquicultura mundial (FAO, 2008).

Procedimentos Gerais

O experimento foi realizado no Laboratório de Comportamento Animal do Departamento de Zoologia e Botânica, da UNESP de São José do Rio Preto, entre os meses de outubro de 2006 e janeiro de 2007. Os exemplares adultos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), utilizados foram criados na mini-estação de piscicultura da UNESP de São José do Rio Preto. Os peixes foram previamente aclimatados em laboratório, em caixas d'água de cimento amianto (1 peixe/5L), por um período mínimo de 15 dias anterior aos experimentos. O alimento foi fornecido duas vezes ao dia (até a saciação aparente), o fotoperíodo controlado para luz das 07:00 às 19:00 h, e a temperatura mantida em torno de 27° C, por meio de aquecedores .

Desenho Experimental

O experimento consistiu em testar o efeito do contato do macho com uma fêmea no estabelecimento hierárquico subsequente. Para isso, dois machos permaneceram em uma das condições: em contato visual (visual) com uma fêmea ou em isolamento (isolado), ambos por 6 dias (fase estímulo). Posteriormente, os dois machos utilizados na fase estímulo interagiram e estabeleceram a hierarquia de dominância (fase interação agonística).

Durante a fase estímulo dois aquários foram pareados, sendo que na condição visual um macho foi introduzido no aquário do lado esquerdo e uma fêmea no aquário do lado direito (Figura 1a). Na condição isolado um macho foi introduzido no aquário do lado esquerdo e o lado direito foi igual à condição visual, mas sem a fêmea (Figura 1b). Ao término deste período os machos foram transferidos para um aquário neutro e então teve início a fase de interação agonística (Figura 1c).

Na fase de interação agonística, um macho da condição visual e um da condição isolado foram transferidos para um aquário idêntico ao utilizado na fase estímulo. Eles permaneceram por 43 minutos (suficiente para o estabelecimento hierárquico - Carvalho, 2004) para estabelecerem a hierarquia de dominância e a interação agonística foi filmada. Após a interação dos machos todos os peixes foram mortos por solução letal de benzocaína (1000 mg L^{-1}) para a extração das gônadas, cálculo do IGS e biometria. Foram realizadas 14 réplicas para cada condição.

Aquários e condições do experimento

Todos os animais permaneceram em aquários (40x30x40 cm - 36 L) equipados com filtros biológicos individuais para a manutenção da qualidade da água e aeração constante. Os animais receberam diariamente 2% do peso corporal em ração (para peixes tropicais, proteína bruta 28%), divididos em dois momentos: início da manhã e final da tarde.

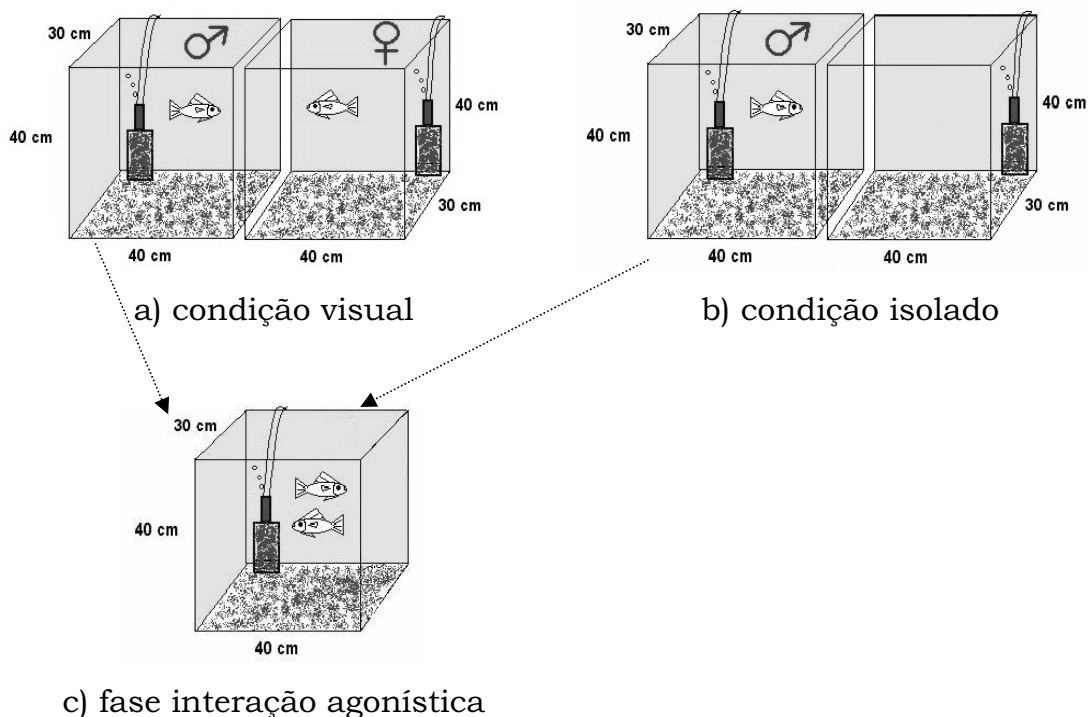


Figura 1. Esquema dos aquários utilizados na fase estímulo, nas condições visual (a) e isolado (b) e na fase interação agonística (c). Em ambas as condições um macho foi mantido no aquário do lado esquerdo. Na condição visual (a) o aquário do lado direito foi ocupado por uma fêmea e na condição isolado o mesmo aquário permaneceu nas mesmas condições, mas sem a fêmea. Após 6 dias, os machos foram agrupados para estabelecimento da hierarquia de dominância (c).

Para evitar o contato entre animais de réplicas ou condições diferentes, as laterais dos aquários foram revestidas por plástico azul opaco. Os aquários foram cobertos por uma tela de nylon azul (presa ao aquário) para evitar que os peixes saltassem do aquário. A cor azul foi escolhida por reduzir o estresse na tilápia-do-Nilo (Volpato & Barreto, 2001).

Hierarquia de dominância

Os machos foram individualmente reconhecidos por cortes feitos nas nadadeiras caudais, como descrito por Fernandes & Volpato (1993). Em cada dupla de machos foi feito um corte superior em um peixe e um corte inferior no oponente. Assim, das 14 réplicas, 7 machos da condição visual e

7 da condição isolado foram marcados com cortes superiores nas nadadeiras caudais e, o restante, marcados com cortes inferiores.

Para testar o efeito da interação com a fêmea na competição entre machos avaliamos a interação agonística e a porcentagem de machos das condições visual e isolado que se tornou dominante. Comparamos a frequência de comportamentos agonísticos emitidos por machos das condições visual e isolado, somando, para cada peixe, os confrontos paralelos, frontais e laterais, a ondulação e a perseguição emitidos. Os comportamentos analisados foram baseados nos etogramas descritos por Gonçalves (1993) e Alvarenga & Volpato (1995), sintetizados no anexo 1.

A interação agonística foi quantificada até o estabelecimento hierárquico. Caso haja efeito da condição no estabelecimento hierárquico, é possível identificá-lo até o momento em que a hierarquia é definida. Após o estabelecimento hierárquico o submisso pára de emitir ataques e foge incessantemente dos ataques do oponente (ver Neat et al., 1998). Assim, a frequência de ataques após o estabelecimento hierárquico é influenciada pelo resultado da luta e não reflete necessariamente o efeito da condição. O dominante também pode ser identificado por ocupar posição central no aquário e apresentar coloração mais clara e sem listras verticais, em relação ao submisso (Volpato et al., 2003).

Como o tamanho e peso dos combatentes influenciam no estabelecimento hierárquico (Beeching, 1992, Gonçalves-de-Freitas, 2002), esses parâmetros foram padronizados. Utilizamos machos de peso e tamanho semelhantes (diferenças máximas de 0,19cm e 11g em cada réplica) em cada réplica (Tabela 1). As médias de peso e comprimento padrão das fêmeas foram, respectivamente, $30,1 \pm 1,5g$ e $9,5 \pm 0,17cm$ (média $\pm$ erro padrão).

Outro fator que interfere na hierarquia de dominância é a residência prévia: o animal que habita um território previamente tem maiores chances de ser dominante (Deverill et al., 1999). Para evitar a interferência da residência prévia no estabelecimento hierárquico, os machos foram introduzidos ao mesmo tempo em um aquário igual ao utilizado na fase estímulo, mas desconhecido pelos dois machos.

Tabela 1. Peso e comprimento padrão (média $\pm$ erro padrão) dos machos utilizados no experimento (n=14).

Condição	Peso (g)	Comprimento padrão (cm)
Visual	31,22 $\pm$ 1,6	9,82 $\pm$ 0,16
Isolado	31,61 $\pm$ 1,5	9,88 $\pm$ 0,16
Valor de p*	0,54	0,14

* test t pareado

Análise das gônadas

O IGS é um indicador do estado funcional das gônadas (Babiker & Ibrahim, 1979) e, em machos de tilápia-do-Nilo há correlação positiva entre o IGS e os níveis de andrógenos, hormônios moduladores da agressividade em peixes (Munro & Pitcher, 1983; Yaron et al., 1983;). Por isso, comparamos o IGS entre machos da condição visual e isolado.

Análise estatística

Os dados discrepantes (*outliers*) foram extraídos das amostras e substituídos pelas médias (Zar, 1999; Volpato, 2007). Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e então procedidos os testes não paramétricos (Zar, 1999).

A porcentagem de dominância foi comparada entre as condições pelo teste do qui-quadrado. O IGS foi comparado por Mann-Whitney e a frequência de comportamentos agonísticos foi comparada por teste de Wilcoxon (Zar, 1999). Foi considerado $p \leq 0,05$ para atribuir diferença significativa.

RESULTADOS

Hierarquia de dominância

O tempo médio de interação até o estabelecimento hierárquico foi de $23,6 \pm 11,3$ minutos (média $\pm$ erro padrão). Os cortes nas nadadeiras caudais não interferiram no estabelecimento hierárquico, uma vez que, dos machos dominantes, 50% foram marcados com corte superior e 50% com corte inferior.

Os machos da condição visual não obtiveram vantagem na interação com os machos da condição isolado. Não houve diferença na porcentagem de dominância entre machos das condições visual e isolado (qui-quadrado, $\chi^2 = 1,96$; $p = 0,16$; Figura 2). Da mesma forma, não houve efeito da condição na frequência de comportamentos agonísticos emitidos pelos machos (Figura 3). A frequência de comportamentos agonísticos emitidos pelos animais das condições visual e isolado foi semelhante (teste de Wilcoxon, $t = -1,0$; $p = 0,31$).

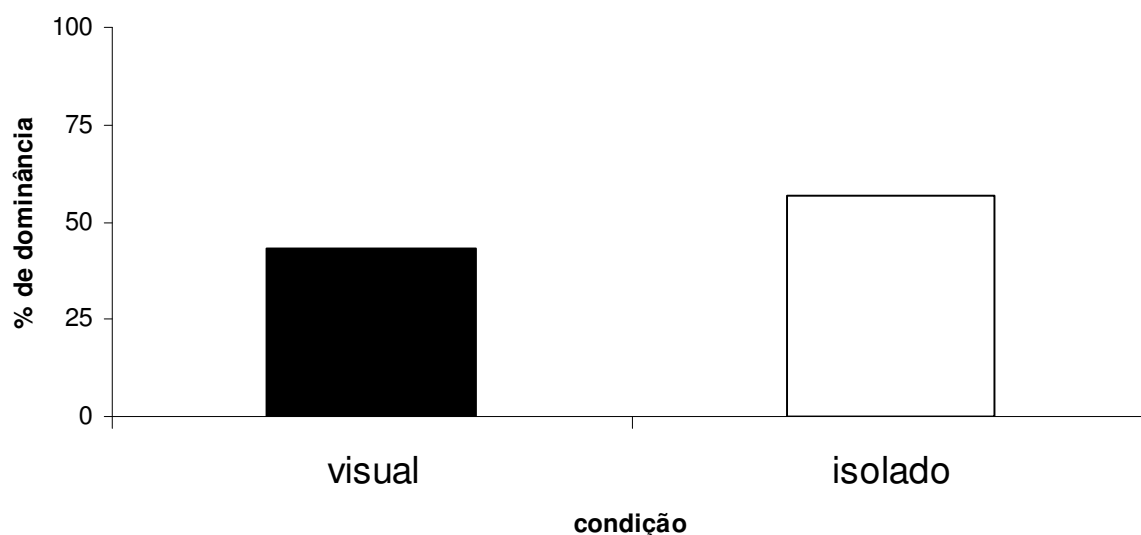


Figura 2. Porcentagem de machos dominantes nas condições visual e isolado (Qui-quadrado, $p = 0,16$; $n = 14$).

Não houve diferença entre o IGS dos peixes da condição visual e isolado (Mann-Whitney, $U = 97.5$, $p = 0.53$), conforme ilustra a figura 4. Porém, como encontramos uma grande discrepância nos valores do IGS (mínimo 0,13 e máximo 1,43), separamos apenas os animais IGS acima da mediana (ver Castro, 2004). Ao realizar esta análise verificamos que os machos da condição visual apresentaram maior IGS (Mann-Whitney, $U = 13,0$; $p = 0,04$), conforme ilustra a figura 5.

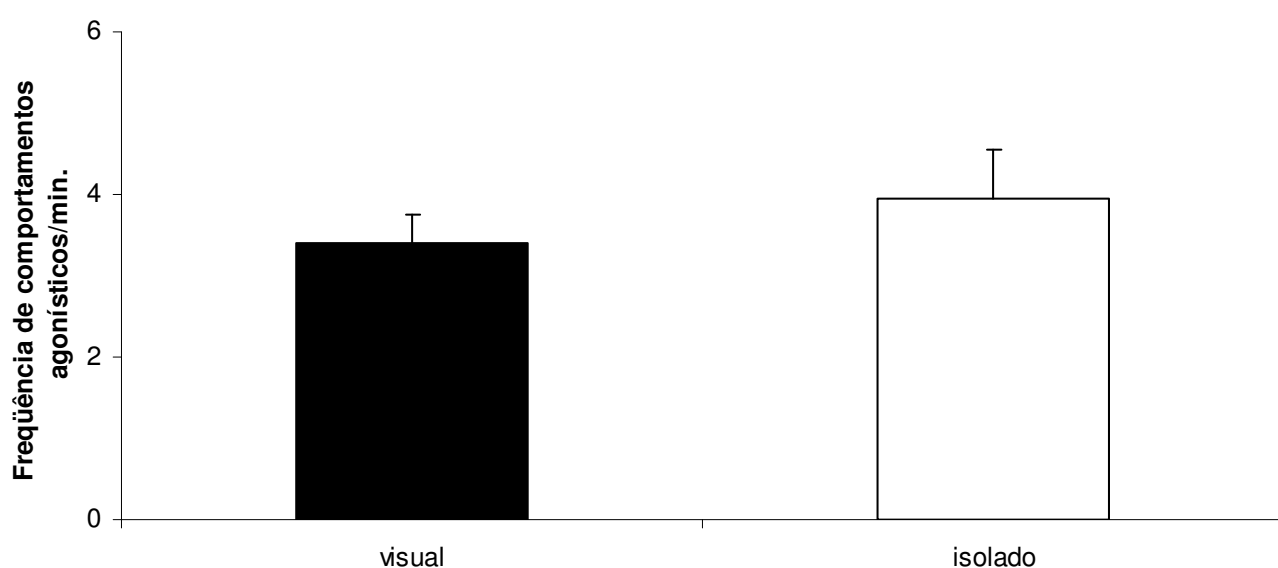


Figura 3. Frequência média ($\pm$ erro padrão) de comportamentos agonísticos totais emitidos pelos machos nas condições visual e isolado ($n = 14$; teste de Wilcoxon, $p = 0,31$).

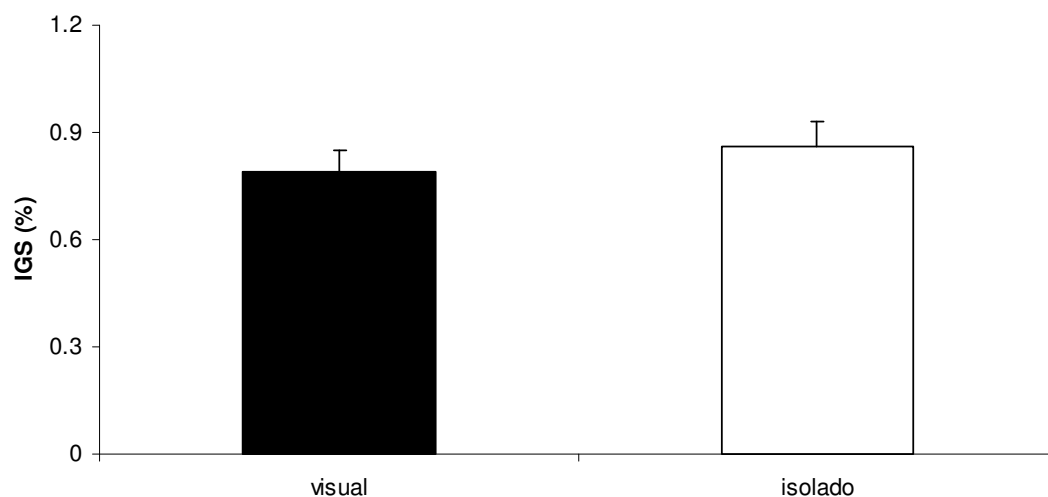


Figura 4. Média $\pm$ erro padrão do Índice Gonadosomático dos machos das condições visual e isolado (Mann-Whitney, $p = 0,53$; $n = 14$).

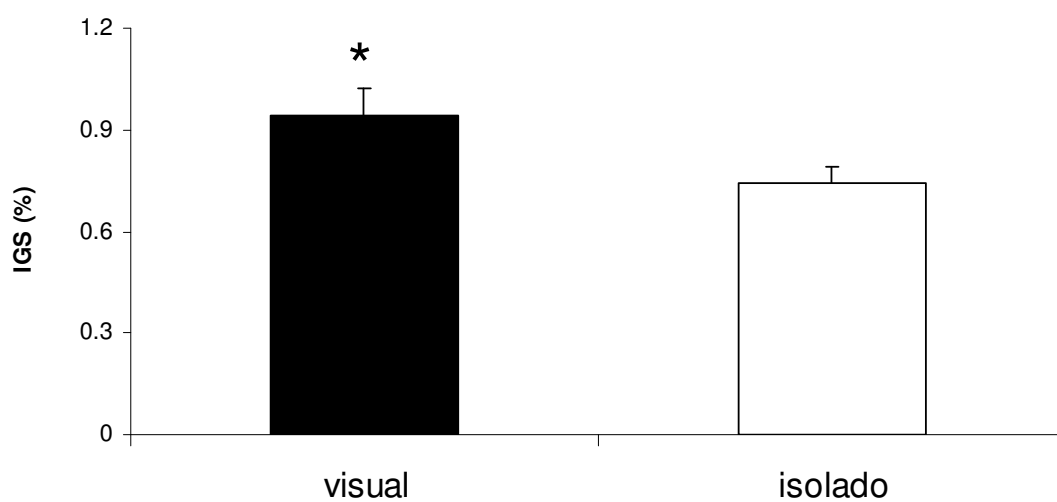


Figura 5. Média $\pm$ erro padrão dos Índices Gonadosomáticos acima da mediana, nas condições visual e isolado (Mann-Whitney, * $p = 0,04$; $n = 8$).

DISCUSSÃO

O presente estudo constatou que a interação entre macho e fêmea de tilápia-do-Nilo não aumenta as chances do macho tornar-se dominante. Os machos que tiveram contato visual prévio com uma fêmea não foram dominantes nem emitiram mais ataques aos machos da condição isolado.

Embora as múltiplas vias sensoriais possam estimular a reprodução dos peixes (Rowe, 1999), na tilápia-do-Nilo o contato visual é suficiente para estimular uma resposta reprodutiva no parceiro (Castro, 2004) e por isso essa via sensorial foi utilizada e testada como um estímulo para a defesa de território e estabelecimento hierárquico.

Como o tamanho corporal dos combatentes e a residência prévia interferem no estabelecimento da hierarquia de dominância em peixes (ver Sloman & Armstrong, 2002), os dois fatores foram neutralizados ao usar machos de mesmo tamanho interagindo em território neutro. A experiência prévia dos machos influencia a agressividade em lutas subseqüentes: os dominantes ou vitoriosos comportam-se mais agressivamente e os submissos ou derrotados exibem um menor grau de comportamentos agonísticos (Wallen & Wojciechowski-Metzlar, 1985; Hsu & Wolf, 1999; Karino & Someya, 2007). Esse efeito, conhecido como “ganhador e perdedor” (*winner and loser*), aumenta as chances de um macho dominante vencer um confronto subseqüente (Chase et al., 1994). No presente experimento não controlamos o efeito da experiência prévia dos machos na hierarquia de dominância. Uma forma de anular o efeito da residência prévia é isolar os animais antes de utilizá-los nos experimentos (Oliveira et al., 2005). Porém, os machos utilizados nas duas condições foram coletados aleatoriamente em uma caixa de água com machos e fêmeas (1 peixe. 5L⁻¹). A chance de utilizar um macho com experiência prévia de dominância é a mesma nas duas condições. Assim, a experiência prévia pode ter influenciado no resultado das lutas, mas a probabilidade de favorecer um animal da condição visual ou isolado é a mesma. Portanto, é pouco provável que a experiência prévia dos machos tenha interferido na frequência de dominância das condições visual e isolado. Essas considerações validam nosso experimento.

Embora tenhamos criado uma situação de confronto entre machos aparentemente simétrica, outros fatores podem interferir no estabelecimento hierárquico. Lailvaux & Irschick (2006) sugerem que fatores como o estado nutricional dos combatentes, a força da mordida, a resistência e a condição interna podem interferir no resultado de uma luta. A condição interna dos combatentes pode ser avaliada por meio de parâmetros fisiológicos como taxa metabólica, consumo de oxigênio, glicemia, níveis de hormônios de crescimento, cortisol, testosterona etc. (Sloman & Armstrong, 2002; Guderley & Couture, 2005). Contudo, os papéis decisivos em uma interação agonística podem ser o estado interno dos combatentes e/ou os custos potenciais para o combate, como as injúrias conseqüentes de perseverar em uma luta acirrada (Lailvaux & Irschick, 2006).

O isolamento pode aumentar a agressividade em ciclídeos (Figler et al., 1986; Gonçalves-de-Freitas & Mariguela, 2006). Na tilápia-do-Nilo não há registro deste efeito. Caso ocorra, os machos da condição isolado teriam maiores chances de tornar-se dominante ou emitiriam maior freqüência de ataques. Porém, no presente experimento os machos que permaneceram isolados não emitiram uma maior freqüência de comportamentos agonísticos aos oponentes, nem tornaram-se preferencialmente dominantes. Assim, é pouco provável que o isolamento tenha afetado a agressividade dos machos. Por outro lado, é possível que o isolamento tenha aumentado a motivação agressiva igualmente ao contato com a fêmea e, por isso, não observamos diferença significativa. No entanto, não encontramos uma forma mais adequada do que essa para servir de controle neste estudo.

Em concordância com o estudo de Castro (2004), os machos da condição visual apresentaram maior IGS, indicando um efeito do contato visual com a fêmea na condição gonadal do macho. Neat et al. (1998) constatou que, na *Tilapia zillii*, os machos com melhores condições gonadais vencem as disputas territoriais. Assim, para a *T. zillii* a condição gonadal parece ser a causa da dominância. No entanto, o mesmo não é válido para a tilápia-do-Nilo, uma vez que os machos com maior IGS não foram dominantes. Oliveira et al. (1996) verificaram que, em *Oreochromis mossambicus*, o maior IGS dos dominantes é conseqüência da dominância e não causa. Nessa espécie, a produção de andrógenos no macho dominante

aumenta após a definição da hierarquia de dominância (Oliveira et al., 1996). Assim, em *O. mosambicus* e *O. niloticus*, a condição gonadal dos machos não determina a dominância.

De acordo com Francis et al. (1993), o IGS, os níveis hormonais e os neurônios da área pré-óptica hipotalâmica aumentam após os animais tornarem-se dominantes, em estudos com o ciclídeo *Haplochromis burtoni*. Além disso, Oliveira et al. (2005) demonstraram que não é a luta que modula os níveis de andrógenos e sim o resultado dela. Quando um macho de *O. mossambicus* interage com sua imagem no espelho, sem que haja dominante e submisso, seus níveis de andrógenos não se alteram (Oliveira et al., 2005). Isso indica que a modulação dos andrógenos ocorre após o estabelecimento hierárquico (Oliveira et al., 2005). Por isso, no presente experimento os machos da condição visual, embora tivessem uma melhor condição gonadal, refletida pelo IGS, não foram dominantes na interação agonística.

Apesar de o contato visual com a fêmea não interferir na hierarquia de dominância dos machos, não podemos excluir qualquer benefício deste contato aos machos. É possível que a elevação do IGS aumente a taxa de fertilização dos ovos, uma vez que reflete o aumento do número de espermatozoides (Stockley et al., 1997). Segundo Stockley et al. (1997), tanto o IGS quanto o número e tamanho dos espermatozoides aumentam com o aumento da intensidade da competição de esperma. Assim, este maior investimento gonadal permite ao macho aumentar seu sucesso reprodutivo (Balshine et al., 2001). Porém, na tilápia-do-Nilo, um maior investimento em gônadas não garante aumento de sucesso reprodutivo, pois, como em outros ciclídeos poligínicos, os machos precisam disputar territórios e fêmeas com os oponentes para reproduzirem (Baerends & Baerends van Roon, 1950). Dessa forma, para essa espécie, machos com maiores IGS podem não ser favorecidos na reprodução, caso não sejam dominantes.

Uma situação em que uma melhor condição gonadal poderia permitir maior sucesso reprodutivo é na reprodução por *sneaking behaviour*, descrita na tilápia-do-Nilo por Gonçalves-de-Freitas & Nishida (1998). Adotando esta estratégia reprodutiva oportunista que não requer defesa de território nem atração às fêmeas. Dessa forma, uma melhor condição gonadal, entendida como um maior número e/ou motilidade de espermatozoides, poderia

aumentar as chances dos espermatozóides fecundarem os óvulos das fêmeas.

O presente estudo mostrou que o contato visual com a fêmea induz um aumento do IGS nos machos, mas não fornece vantagem na interação agonística. No entanto, é preciso testar o efeito da interação com a fêmea na hierarquia de dominância em confrontos assimétricos, com variações de tamanho ou residência prévia e com a participação de vários animais, pois pode haver interação entre os fatores que interferem na dominância (Gonçalves-de-Freitas, 2002). Assim, para uma compreensão mais ampla do papel que a fêmea exerce na motivação sexual e agonística do macho, novos estudos em diferentes contextos sociais devem ser realizados.

REFERÊNCIAS

- Alvarenga, C.M.D. & Volpato, G.L. (1995) Agonistic profile and metabolism in alevines of Nile tilapia. *Physiology and Behavior*, 57(1): 75-80.
- Amorim, M.C.P. & Almada, V.C. (2005) The outcome of male-male encounters affects subsequent sound production during courtship in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Animal Behaviour*, 69: 595-601.
- Andersson, M. B. (1994) *Sexual Selection*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Babiker, M.M. & Ibrahim, H. (1979) Studies on the biology of reproduction in the cichlid *Tilapia nilotica* (L.): gonadal maturation and fecundity. *Journal of Fish Biology*, 14: 437-448.
- Baerends, G.P. & Baerends van Roon, J.M. (1950) An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. *Behavior Supply*, 1: 1-243.
- Balshine, S.; Leach, B.J.; Neat, F.; Werner, N.Y. & Montgomerie, R. (2001) Sperm size of African cichlids in relation to sperm competition. *Behavioral Ecology*, 12: 726-731.
- Beeching, S.C. (1992) Visual assessment of relative body size in a cichlid fish, the Oscar, *Astronotus ocellatus*. *Ethology*, 90: 177-186.
- Bozynski, C.C. & Liley, R. (2003) The effect of female presence on spermiation, and of male sexual activity on 'ready' sperm in the male guppy. *Animal Behaviour*, 65: 53-58.
- Carvalho T.B. (2004) Efeito do sexo sobre a interação agonística e o gasto energético da tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.). Dissertação de Mestrado. Pós Graduação em Biologia Animal – UNESP, São José do Rio Preto, SP. 45p.
- Castro, A.L.S. (2004) Efeito de estímulos visuais e químicos do sexo oposto na reprodução da tilápia-do-Nilo. *Dissertação de Mestrado*. Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, UNESP, SP. 40 p.
- Chase, I.D.; Bartolomeo, C. & Dugatkin, L.A. (1994) Aggressive interactions and inter-contest interval: how long do winners keep winning? *Animal Behaviour*, 48: 393-400.
- Chellapa, S. & Huntingford, F. (1989) Depletion of energy reserves during reproductive aggression in male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Journal of Fish Biology*, 35: 315-316.

- Cox, C.R. & LeBoeuf, B.J. (1977) Female incitation of male competition: a mechanism in sexual selection. *American Naturalist*, 111: 317-335.
- Crews, D. (1998) The evolutionary antecedents to love. *Psychoneuroendocrinology*, 23(8): 751-764.
- Deverill, J.I.; Adams, C.E. & Bean, C.W. (1999) Prior residence, aggression and territory acquisition in hatchery-reared and wild brown trout. *Journal of Fish Biology*, 55: 868-875.
- Dugatkin, L.A. (1997) Winner effects, loser effects and the structure of dominance hierarchies. *Behavioral Ecology*, 8: 583-587.
- FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em 24 mar. 2008.
- Fernandes, M.O. & Volpato, G.L. (1993) Heterogeneous growth in the Nile tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. *Physiology and Behavior*, 54: 319-323.
- Figler, M.H.; Canoune, H.L. & Kitner-Triolo, M. (1986) The effects of duration of territorial residence on aggression in convict cichlids. *Bull. Psych. Soc.*, 24: 465-566.
- Francis, R.C.; Soma, K.; Fernald, R.D. (1993) Social regulation of the brain-pituitary-gonadal axis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90: 7794-7798.
- Gaudemar, B.; Bonzom, J.M. & Beall, E. (2000) Effects of courtship and relative mate size on sexual motivation in Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, 57: 502-515.
- Gonçalves, E. (1993) Estratégias territoriais e reprodutivas da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, SP. 147 p.
- Gonçalves-de-Freitas, E. (1999) Investimento reprodutivo e crescimento em machos de tilápia-do-Nilo. *Tese de doutorado*. Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, SP. 49p.
- Gonçalves-de-Freitas, E. (2002) Confrontos assimétricos e hierarquia de dominância em ciclídeos. *Anais do XX Encontro Anual de Etologia*. Natal-RN. pp. 137-139.
- Gonçalves-de-Freitas, E. & Nishida, S.M. (1998) Sneaking behaviour of the Nile tilapia. *Boletim Técnico do CEPTA*, 11: 71-79.
- Gonçalves-de-Freitas & Mariguela, T.C. (2006) Social isolation and aggressiveness in the amazonian juvenile fish *Astronotus ocellatus*. *Brazilian Journal of Biology*, 66(1b): 233-238.

- Guderley, H. & Couture, P. (2005) Stickleback fights: why do winners win? Influence of metabolic and morphometric parameters. *Physiological and Biochemical Zoology*, 78: 173-181.
- Hoglund, J. & Alatalo, R.V. (1995) *Leks*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Hsu, Y. & Wolf, L.L. (1999) The winner and loser effect: integrating multiple experiences. *Animal Behaviour*, 57: 903-910.
- Huntingford, F.A. & Garcia de Leaniz, C. (1997) Social dominance, prior residence and the acquisition of profitable feeding sites in juvenile Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, 51: 1009-1014.
- Huntingford, F.A. & Turner, A.K. (1987) *Animal Conflict*. London: Chapman & Hall.
- Karino, K. & Someya, C. (2007) The influence of sex, line, and fight experience on aggressiveness of the Siamese fighting fish in intrasexual competition. *Behavioural Processes*, 75: 283-289.
- Krebs, J.R. & Davies, N.B. (1996) *Introdução à Ecologia Comportamental*. São Paulo: Atheneu.
- Lailvaux, S.P. & Irschick, D.J. (2006) A functional perspective on sexual selection: insights and future prospects. *Animal Behaviour*, 72: 263-273.
- Munro, A.D. & Pitcher, T.J. (1983) Hormones and agonistic behavior in teleosts. In *Control Processes in Fish Physiology* (J.C. Rankin; T.J. Pitcher & R.T. Duggan, eds.). pp. 155-175. Croom Helm, London.
- Neat, F.C.; Huntingford, F.A. & Beveridge, M.M.C. (1998) Fighting and assessment in male cichlid fish: the effects of asymmetries in gonadal state and body size. *Animal Behaviour*, 55: 883-891.
- Oliveira, R.F.; Almada, V.C. & Canario, A.V.M. (1996) Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Hormones and Behavior*, 30: 2-12.
- Oliveira, R.F.; Carneiro, L.A. & Canário, A.V.M. (2005) No hormonal response in tied fights. *Nature*, 437: 207-208.
- Rowe, C. (1999) Receiver psychology and the evolution of multicomponent signals. *Animal Behaviour*, 58: 921-931.
- Sloman, K.A. & Armstrong, J.D. (2002) Physiological effects of dominance hierarchies: laboratory artifacts or natural phenomena? *Journal of Fish Biology*, 61: 1-23.

Stockley, M.J.G.; Gage, M.J.G.; Parker, G.A. & Moller, A.P. (1997) Sperm competition in fishes: the evolution of testis size and ejaculate characteristics. *The American Naturalist*, 149 (5): 933-954.

Volpato, G.L. (2007) *Ciência: da filosofia à publicação*. 5. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica.

Volpato, G.L. & Barreto, R.E. (2001) Environmental blue light prevents stress in the Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.

Volpato, G.L. & Fernandes, M.O. (1994) Social control of growth in fish. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27: 797-810.

Volpato, G.L.; Luchiari, A.C.; Duarte, C.R.A.; Barreto, R.E. & Ramanzini, G.C. (2003) Eye color as an indicator of social rank in the fish Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36: 1659-1663.

Wallen, K. & Wojciechowski-Metzlar, C.I. (1985) Social condition and dominance in male *Betta splendens*. *Behavioural Processes*, 11: 181-188.

Weir, L.K.; Hutchings, J.A.; Fleming, I.A. & Einum, S. (2004) Dominance relationships and behavioural correlates of individual spawning success in farmed and wild male Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Ecology*, 73: 1069-1079.

Yaron, Z.; Ilan, Z.; Bogolnaya, A. & Vermaak, J.F. (1983) Steroid hormones in two Tilapia species: *Oreochromis aureus* and *O. niloticus*. *Annals of International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Israel, pp. 41-42, 1983.

Zar, J. (1999) *Biostatistical Analysis*. 4 th edn. New Jersey: Prentice Hall.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou que as fêmeas de tilápia-do-Nilo apresentam preferência sexual, mas essa preferência não está associada às características indicadoras da habilidade competitiva dos machos. Assim, os machos preferidos não tornaram-se dominantes. Portanto, o maior sucesso reprodutivo dos machos dominantes pode estar relacionado mais à competição entre machos do que à preferência, ou as fêmeas precisam assistir às interações competitivas para avaliar e escolher o parceiro reprodutivo. Além disso, a interação com a fêmea, embora cause um aumento do IGS nos machos, não aumentou as chances de um macho tornar-se dominante. Para a tilápia-do-Nilo o IGS não é um bom preditor de dominância.

Para a compreensão mais detalhada dos efeitos das interações sociais na reprodução e interação agonística dos peixes, outros estudos devem ser desenvolvidos, simulando diferentes contextos sociais. O conhecimento das interações sociais poderá contribuir para a adequação de técnicas de manutenção e reprodução dos peixes, visando uma melhor produtividade e levando em conta o bem-estar animal.

ANEXO 1

Tabela 1. Etograma da interação agonística de *Oreochromis niloticus*, baseado em Gonçalves (1993) e Alvarenga & Volpato (1995).

Comportamento	Descrição
Confronto frontal	Dois animais se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo
Confronto paralelo	Dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam simultaneamente o corpo, sem que ocorra contato físico
Confronto lateral	Um animal se aproxima de outro e ataca a região lateral do oponente com mordidas ou golpes com a boca aberta
Ondulação	Um animal ondula vigorosamente o corpo no sentido antero-posterior. Este padrão é semelhante ao confronto paralelo, mas é emitido por apenas um indivíduo
Perseguição	Um animal nada em direção ao outro, acompanhando sua trajetória. Pode culminar em ataques ao perseguidor ou numa natação mais rápida do animal perseguido, distanciando-se do oponente