

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

ELIS MARINA DA SILVA CABRAL

EFEITO DO CONTATO MACHO-FÊMEA NO DESENVOLVIMENTO
TESTICULAR E MORTALIDADE DE *Astyanax altiparanae*
(CHARACIFORMES, CHARACIDAE)

Ilha Solteira
2018

ELIS MARINA DA SILVA CABRAL

**EFEITO DO CONTATO MACHO-FÊMEA NO DESENVOLVIMENTO
TESTICULAR E MORTALIDADE DE *Astyanax altiparanae*
(CHARACIFORMES, CHARACIDAE)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia – UNESP, Campus de Ilha Solteira como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Prof^a Dr^a Rosicleire Veríssimo Silveira
Orientadora

Ilha Solteira
2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

C117e Cabral, Elis Marina da Silva.
Efeito do contato macho-fêmea no desenvolvimento testicular e mortalidade de *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae) / Elis Marina da Silva Cabral. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2018
54 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Animal, 2018

Orientador: Rosicleire Veríssimo Silveira
Inclui bibliografia

1. Agressividade. 2. Desenvolvimento gonadal. 3. Lambari-do-rabo-amarelo. 4. Proporção sexual.


Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CIBS - 9999

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeito do contato macho-fêmea no desenvolvimento testicular e mortalidade de *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae)

AUTORA: ELIS MARINA DA SILVA CABRAL

ORIENTADORA: ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: PRODUÇÃO ANIMAL pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ROSICLEIRE VERISSIMO SILVEIRA

Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Profa. Dra. CRISTIELE DA SILVA RIBEIRO

Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Prof. Dr. EDUARDO ANTÔNIO SANCHES

Engenharia de Pesca / UNESP - Câmpus Experimental de Registro

Ilha Solteira, 07 de março de 2018

DEDICO

A minha mãe Marina, pelo seu amor incondicional e os seus cuidados, sempre estando presente no papel de mãe e pai ao longo da minha vida. Ao meu irmão Rogério e ao meu companheiro Victor Hugo pela paciência, amor e dedicação, sempre me incentivando e ajudando nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida, por todas as oportunidades, muitas que jamais imaginei vivenciar, e por sempre colocar pessoas boas no meu caminho.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela minha formação desde a graduação e por oferecer todo o espaço e infraestrutura para a realização deste trabalho.

A Prof^a Dr^a Rosicleire Veríssimo Silveira, por sempre me tratar tão bem, por me acolher desde o início, pela orientação, amizade, carinho e paciência ao longo desses dois anos. Agradeço muito por acreditar e confiar em mim. Por ser exigente, e assim nos desafiarmos a ser melhores sempre. Ao Prof^o Dr^o Alexandre Ninhaus Silveira, pela amizade, convivência, risadas e momentos de aprendizagem compartilhados.

Ao Laboratório de Ictiologia Neotropical (Lineo), que proporcionou condições para que este trabalho fosse realizado. Mais do que isso, por todos os momentos vividos ao longo do mestrado. Local onde aprendi muito como profissional e como pessoa, e levarei isso para o resto da vida. Agradeço a todos que fazem parte dessa equipe maravilhosa que foram como uma família para mim.

Um agradecimento especial a Patrícia, Amanda e Cristiane que me receberam tão bem, me ajudaram e estiveram presentes em todos os momentos, vocês são muito especiais! A Renata e o Ricardo que sempre com paciência e boa vontade se dispuseram a ajudar.

A Luciane, Laícia, Maria Angélica, Laís, Maria Luiza, Cristiane Benevente, Marcelo, Fabrício, Naiara, Évillyn, Caio, João e Ana Carolina, por todos os momentos compartilhados. E também aos ex-membros Raphael, Geovanna e em especial Silvia, por toda ajuda, amizade e pela sua alegria contagiante.

A minha amiga de pós-graduação Jéssica, que será sempre a estagiária (rs).

Aos membros da banca de qualificação, Prof^o Dr^o Eduardo Antônio Sanches e Prof^o Dr^o Marcos Chiquitelli Neto, por todas as contribuições para este trabalho.

Aos membros desta banca, Prof^o Dr^o Eduardo Antônio Sanches, Prof^a Dr^a Cristiéle da Silva Ribeiro, Prof^o Dr^o Sergio Ricardo Batlouni e Prof^o Dr^o Edson Guilherme Vieira, pela disponibilidade e por terem aceito o convite.

A Prof^a Dr^a Rosimeire Filardi pela amizade, conversas e ensinamentos.

Ao Wilder, Sidval, Elisangêla, Vera, Meire e Júnior, do Departamento de Biologia e Zootecnia, por sempre estarem dispostos a ajudar.

A minha mãe Marina por seu amor, não medindo esforços para me ajudar em todos os momentos, obrigada por toda educação, formação e preocupações, por criar eu e meu irmão sozinha, sendo sempre essa mulher batalhadora.

Ao meu companheiro Victor por todo amor dedicado a mim, por me incentivar a fazer pós-graduação e continuar estudando. Obrigada por estar presente em todos os momentos, por cuidar tão bem de mim, pensando sempre em cada detalhe, e por ser essa pessoa que agrega na minha vida e me desafia a ser melhor a cada dia.

Ao meu irmão Rogério, minha cunhada Simone, meu amado sobrinho Davi, tia Matilde, tia Cida, tio Mauro, e todos os primos, por sempre torcerem pela minha felicidade.

As minhas amigas de infância e as amigas de graduação, que mesmo distantes, se fazem presentes, tornando a vida mais leve.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram na realização deste trabalho.

E as pessoas que passaram pela minha vida e de alguma forma contribuíram para a pessoa que sou hoje.

RESUMO

Peixes competem entre si em condições de escassez de recursos e por status em uma hierarquia de dominância. Os machos têm que superar potenciais rivais e o comportamento agressivo é a forma de alcançar esse objetivo, entretanto, isso introduz o risco de injúrias e pode levar a morte do animal. Diante disso, objetivou-se avaliar a influência da quantidade de fêmeas no desenvolvimento testicular e mortalidade dos machos de *Astyanax altiparanae*. Exemplares adultos, 248 machos e 72 fêmeas, foram submetidos a uma biometria inicial e final após 34 dias de experimento. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições, os tratamentos foram as proporções de: 0, 10, 30 e 50% fêmeas/machos. Foram analisados os dados biométricos, a mortalidade, o índice gonadossomático e as fases de maturação gonadal através da análise histológica em microscopia de luz. Os dados foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA) a 5% de significância e as variáveis que sofreram efeito dos tratamentos foram submetidas ao teste t (LSD). O aumento na porcentagem de fêmeas nos tratamentos, levou a um aumento da mortalidade dos machos, como demonstrado em T0, T10 e T30, entretanto a relação de 1:1 macho/fêmea, influenciou na redução da agressividade e consequentemente na mortalidade dos peixes. Verificou-se que diferentes proporções de fêmeas não diferiram o IGS dos machos, e no tratamento com 50% de fêmeas foi possível ver uma continuidade da maturação testicular, mostrando que não houve alterações no desenvolvimento dos testículos. Conclui-se que, o cultivo em grupos mistos, na proporção de 1:1, é, benéfico para esta espécie.

Palavras-chave: Agressividade. Desenvolvimento gonadal. Lambari-do-rabo-amarelo. Proporção sexual.

ABSTRACT

Fish compete with each other in conditions of scarcity of resources and for status in a hierarchy of dominance. Males have to overcome potential rivals and aggressive behavior is the way to achieve this goal; however, this introduces the risk of injury and can lead to the death of the animal. The objective of this study was to evaluate the influence of the number of females on the testicular development and mortality of the males of *Astyanax altiparanae*. Adults, being 248 males and 72 females were submitted to an initial and final biometry after 34 days of experiment. The experimental design was completely randomized with four treatments and four replications, the treatments being the proportions of: 0, 10, 30 and 50% females/males. Biometric data, mortality, gonadosomatic index and gonadal maturation phases were analyzed through histological analysis under light microscopy. Data were submitted to the analysis of variance (ANOVA) at 5% of significance and the variables that underwent treatment effects were submitted to the t test (LSD). The increase in the percentage of females in the treatments led to an increase in the mortality of males, as demonstrated in T0, T10 and T30; however the ratio 1:1 male/female, influenced the reduction of aggressiveness and consequently mortality. It was verified that different proportions of females did not differ the IGS, and in the treatment with 50% of females it was possible to see a continuity of testicular maturation, showing that there were no alterations in the development of testicles. In conclusion, the cultivation in mixed groups in the proportion of 1:1 is beneficial for this species.

Keywords: Aggressiveness. Gonadal development. Yellowtail tetra. Sexual ratio.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição dos sistemas de peixes na estufa do LINEO.	19
Figura 2 - Ilustração do sistema de filtragem mecânica e biológica utilizada no sistema de recirculação de água.	20
Figura 3 - Ilustração da área do experimento. F = fêmea e M = macho de <i>Astyanax altiparanae</i>	22
Figura 4 - Coleta de material biológico..	24
Figura 5 - Distribuição da mortalidade de machos de <i>Astyanax altiparanae</i> ao longo dos 34 dias de experimento.	30
Figura 6 - Mortalidade acumulada de machos por período..	31
Figura 7 - Porcentagem de mortalidade dos machos de <i>Astyanax altiparanae</i> nas diferentes proporções de fêmeas.	32
Figura 8 - Tipos de lesões presentes em machos mortos de <i>Astyanax altiparanae</i>	33
Figura 9 - Lesões corporais frequentes em machos de <i>Astyanax altiparanae</i>	34
Figura 10 - Lesões corporais frequentes em machos de <i>Astyanax altiparanae</i>	35
Figura 11 - Testículo de <i>Astyanax altiparanae</i> (cortes transversais)	37
Figura 12 - Fases do ciclo testicular de <i>Astyanax altiparanae</i>	39
Figura 13 - Fases do ciclo testicular de <i>Astyanax altiparanae</i>	40
Figura 14 - Fases de desenvolvimento testicular de machos encontradas nos tratamentos.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros da água avaliados durante os 34 dias de experimento.	23
Tabela 2 - Valores médios da biometria inicial e final dos machos de <i>Astyanax altiparanae</i>	27
Tabela 3 - Sobrevivência de machos, fêmeas e total ao final do experimento.	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	CICLO REPRODUTIVO E ESPERMATOGÊNESE EM PEIXES.....	14
1.2	ESPÉCIE DE ESTUDO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1	OBTENÇÃO DOS PEIXES E ACLIMATAÇÃO	19
3.2	SISTEMAS DE RECIRCULAÇÃO UTILIZADOS	19
3.3	BIOMETRIA INICIAL.....	21
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	21
3.5	CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	22
3.6	BIOMETRIA FINAL E COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	23
3.7	PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ	25
3.8	ANÁLISE DE DADOS	25
4	RESULTADOS	27
4.1	BIOMETRIA	27
4.2	SOBREVIVÊNCIA.....	28
4.3	LESÕES CORPORAIS	32
4.4	ÍNDICE GONADOSSOMÁTICO (IGS).....	36
4.5	DESENVOLVIMENTO TESTICULAR.....	36
5	DISCUSSÃO.....	42
6	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Em ambientes naturais os animais competem por recursos ambientais que se encontram limitados, como alimentos, companheiros ou habitats preferíveis e essas competições ocorrem por meio de disputas, que são frequentes em condições de escassez de recursos ou na competição por status em uma hierarquia de dominância (RIDLEY, 1995; CREEL et al., 2012).

Em função disso, a agressão faz parte do comportamento normal e tem distintas funções (LILEY; STACEY, 1983; GOMEZ-LAPLAZA; MORGAN, 1993). Burchards e colaboradores (1985), observaram que no *Astyanax mexicanus* (Characiformes) a agressividade aumentou logo que o espaço e a oferta alimentar diminuíram. Entretanto na Tilápia-do-Nilo, a presença de um recurso (enriquecimento ambiental) aumentou as atividades agressivas (BARRETO et al., 2011) evidenciando o valor significativo que o espaço territorial tem, por causa dos recursos que ele contém (KAUFMANN, 1983).

Nos confrontos agressivos, os vencedores serão os dominantes e isso geralmente é estabelecido pelo tamanho relativo do corpo, ou sinais de habilidade de luta. Esses indivíduos têm prioridade de acesso aos recursos enquanto os subordinados têm acesso limitado. Dessa forma, dominantes excluem pelo menos alguns de seus rivais do acesso a companheiros, dentre outros recursos (RIDLEY, 1995; QVARNSTRÖM; FORSGREN 1998; JOHNSON et al 2001).

Após o estabelecimento da hierarquia, as interações são reduzidas (JOHNSON et al., 1997; HUTINGFORD; CHELLAPPA, 2006) e os indivíduos vivem em um sistema social mais ou menos estável com reconhecidas relações dominantes-subordinados com seus familiares associados (em um grupo) ou vizinhos (em territórios próximos), esses relacionamentos mais ou menos estáveis são mantidos por lutas ou exibições ocasionais (KAUFMANN, 1983).

Assim, Giaquinto e Volpato (1997) analisaram a frequência e o tempo gasto em padrões agonísticos e a latência para começar a lutar em juvenis da Tilápia-do-Nilo, em condições com e sem troca de água, e concluíram que a comunicação química diminui a agressão induzindo uma reação de alarme e aumentando o reconhecimento co-específico, estabilizando assim a hierarquia de dominância.

Sendo então vantajoso que ambos os indivíduos reconheçam e respeitem um relacionamento estabelecido subordinado dominante. Isso economiza o tempo dos dois indivíduos, energia e risco de lesão (KAUFMANN, 1983).

Já em *Oreochromis mossambicus* hierarquias de dominância foram estudadas durante oito semanas em grupos heterossexuais no início da maturidade sexual. As estruturas de dominância foram instáveis de semana para semana e que os indivíduos dominantes foram menos prováveis de mudar de classificação do que os subordinados (OLIVEIRA; ALMADA, 1996).

Além disso, diferenças na história de vida e a especialização morfológica se traduzem no comportamento diferente entre os sexos, afetando a agressividade. Muitas vezes, os machos têm que superar potenciais rivais e o comportamento agressivo é um meio pelo qual eles podem alcançar esse objetivo. É esperado que machos e fêmeas difiram em sua agressividade, sendo os machos mais agressivos e por isso tendem a ser o animal dominante em um grupo. As diferenças comportamentais entre estes podem surgir como uma consequência indireta do sistema de acasalamento (MAGURRAN; GARCIA, 2000; ANDERSSON, 1994).

Pinho-Neto (2011) testou o efeito do gênero na expressão do comportamento agressivo em *Oreochromis niloticus* e os confrontos macho-macho tiveram uma maior frequência de exibições frontais. Outro exemplo da influência do sexo no comportamento foi em *Xiphophorus helleri* em que ocorreu o aumento da agressão entre os machos, na presença de fêmeas e alimento (MAGELLAN; KAISER, 2010). Ademais, o tamanho das gônadas e o peso, também podem ser influenciados pelo sexo dos animais. Em machos, no período de desenvolvimento o testículo apresenta uma pequena variação desses parâmetros, comparada aos ovários (CASTILHO-ALMEIDA, 2007).

Os machos maiores, em geral os dominantes, são favorecidos na competição com machos e na escolha da fêmea (REICHARD et al., 2005). Deste modo, o dominante possuirá acesso a um maior número de fêmeas e terá maior sucesso reprodutivo (GONÇALVES-DE-FREITAS; NISHIDA, 1998; ANG; MANICA, 2010).

No caso das fêmeas, para aumentar a eficácia reprodutiva, elas tentam melhorar a qualidade de seus companheiros promovendo maior escolha de machos. Assim, características corporais e comportamentais dos machos, como tamanho corporal, coloração, ornamentos, território, tamanho do ninho e corte, baseiam a escolha da fêmea, comprovando a preferência feminina por machos dominantes,

devido ao acesso mais facilmente aos recursos necessários e também pelos seus bons genes (GONÇALVES-DE-FREITAS, 2009; QVARNSTRÖM; FORSGREN, 1998).

Neste sentido, machos e fêmeas do híbrido Tilápia vermelha (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) foram observados em condições de laboratório durante sua fase reprodutiva, para verificar o comportamento relacionado à dominância, durante as interações agonísticas, construção de ninhos, corte, seleção de companheiros, acasalamento e cuidados parentais. A agressão e a dominância exibida pelos machos foram influenciadas pelo tamanho corporal. O índice gonadosossomático dos machos mostraram correlações positivas com o nível de dominância. Machos grandes e agressivos na posse de locais de desova foram preferidos pelas fêmeas durante a seleção do parceiro (CHELLAPPA et al., 2012).

Dessa forma, é sabido que fatores comportamentais de dominância social dentro de uma população, afetam todo o organismo animal e podem comprometer o crescimento, a reprodução e o sistema imune (WEDEMEYER, 1969), devido ao estresse gerado nos indivíduos (VOLPATO; FRIOLI; CARRIERI, 1989; CORRÊA et al., 2003). Como em *Oreochromis niloticus*, que apresentou os dominantes mais estressados que os subordinados (BARRETO; BOSCOLO; GONÇALVES-DE-FREITAS, 2015) e a reprodução foi acelerada ou inibida, dependendo do estágio maturacional quando um determinado estressor é experimentado (SCHRECK; CONTRERAS-SANCHEZ; FITZPATRICK, 2001).

Assim, essas interações entre indivíduos podem afetar desde os níveis hormonais até o desenvolvimento gonadal e consequentemente o comportamento reprodutivo dentro da espécie (LILEY; STACEY, 1983). Um exemplo disso são os machos de Tilápia-do-Nilo que tiveram contato visual com as fêmeas e apresentaram uma melhor condição gonadal (maior índice gonadosossomático - IGS), porém esse contato não afetou a disputa hierárquica entre os machos (CASTRO, 2008). A mesma espécie é capaz de usar sinais químicos para avaliar aspectos dos oponentes, complementando assim informações visuais do indivíduo (PINHO-NETO et al., 2014).

Em *Haplochromis burtoni* ocorreu diferenças profundas nos tamanhos das gônadas, com machos territoriais significativamente maiores, evidenciando que o ambiente social está relacionado ao status de um animal e/ou estado reprodutivo interno (FOX et al., 1997). Entretanto em *Astatotilapia burtoni* um oponente de tamanho grande não inibiu a reprodução (CHEN; FERNALD, 2011)

No caracídeo *Astyanax scabripinnis*, o desenvolvimento reprodutivo foi influenciado na presença de outros animais em condições de cativeiro. Houve influência do sexo na morfometria e no IGS sendo que os machos cultivados na presença das fêmeas apresentaram melhor desempenho reprodutivo (NAVARRO et al., 2006).

Diante do exposto, é visível que períodos de instabilidade social, combinam comportamentos agressivos e reprodutivos (ALMEIDA et al., 2014) e as interações entre os sexos podem modular a reprodução e o comportamento agressivo dos peixes.

1.1 CICLO REPRODUTIVO E ESPERMATOGÊNESE EM PEIXES

Com relação a reprodução, os peixes apresentam um desenvolvimento gonadal cíclico, denominado ciclo reprodutivo, que está associado a alterações morfológicas dos tecidos gonadais. Em machos essas alterações podem ser observadas macroscopicamente, por um aumento do diâmetro e coloração dos testículos (VAZZOLER, 1981) ou microscopicamente por alterações do estágio das células germinativas e do epitélio germinativo (GRIER; TAYLOR, 1998; BROWN-PETERSON et al., 2011).

Nos peixes os testículos órgão pares, localizados na cavidade celomática, são envolvidos por um tecido conjuntivo, a túnica albugínea, que emite projeções para o interior do órgão, delimitando os lóbulos ou túbulos seminíferos que revestem e sustentam o tecido epitelial germinativo (GRIER, 1981). O testículo do tipo tubular anastomosado, possui os compartimentos germinativos conectados e estão presentes em teleósteos mais basais, já o tipo lobular, ocorre quando os compartimentos germinativos terminam em fundo cego na periferia testicular, presente nos mais derivados (GRIER, 1993; PARENTI; GRIER, 2004).

Os testículos são formados por dois compartimentos, o germinativo e o intersticial, que são apoiados pela membrana basal (GRIER, 1992; GRIER 1993). No interstício há células mióides, fibroblastos, células de Leydig, capilares sanguíneos, fibras de colágenos e nervos. No epitélio germinativo, local que ocorre a formação dos gametas masculinos, existem as células somáticas e as germinativas (GRIER, 1981; SCHULZ et al, 2010).

O epitélio germinativo pode ser classificado em contínuo ou descontínuo. No contínuo, as células germinativas e as células de Sertoli estão presentes se estendendo ao longo de todo o lóbulo ou túbulo. No descontínuo não ocorre a continuidade dos dois tipos de células, porque há ausência de algumas células germinativas, devido o processo espermiogênese (GRIER, 1993; GRIER; TAYLOR, 1998; SIQUEIRA-SILVA et al., 2013).

As células germinativas presentes no epitélio estão dispostas em três fases. Inicialmente a fase proliferativa (divisões mitóticas - espermatogônias); seguindo com a meiótica com os espermatócitos primários e secundários; e finalizando com a espermiogênica onde ocorre as espermátides haplóides emergentes da meiose e diferenciação em espermatozóides (GRIER, 2002; GRIER, 1981; SCHULZ et al, 2010).

Rodrigues et al. (2015) trabalhando com *Astyanax altiparanae*, encontrou quatro tipos de espermatogônias nas divisões mitóticas. Na fase seguinte, a meiótica, as espermatogônias foram diferenciadas em espermatócitos. E no final da divisão meiótica, foi possível identificar as espermátides, sendo elas de três diferentes tipos: iniciais, intermediárias e finais, iniciando a fase espermiogênica. Ao final de todo o processo, os espermatozoides foram formados e encontraram-se na luz do túbulo ou lúmen.

A espermatogênese pode ser considerada cística, quando os espermatozoides são eliminados na luz, ou semi-cística quando os espermatócitos e as espermátides são liberados no lúmen onde será finalizada a espermiogênese (BARBIERI; BARBIERI, 1984), estes cistos são formados por células de Sertoli associadas à espermatogônias primárias (VILELA et al., 2003).

As células de Sertoli são responsáveis por fornecer suporte à sobrevivência das células germinais. Elas auxiliam no desenvolvimento e funcionamento fisiológico, também fagocitam células apoptóticas, corpos residuais descartados por espermátides durante a espermiogênese e esperma residual, além disso segrega o fluido que gera o lúmen tubular (SCHULZ et al., 2010). As células de Sertoli em peixes não são totalmente diferenciadas, entrando em um novo ciclo de células mitóticas sempre que são recrutadas (NÓBREGA; BATLOUNI; FRANÇA, 2009; SCHULZ et al., 2005).

Conhecendo os estágios das células germinativas e as características do epitélio germinativo, contínuo ou descontínuo, Brown-Peterson; Grier e Overstreet,

(2002) caracterizaram as fases do ciclo reprodutivo, e definiu cinco fases do ciclo testicular, sendo Regredida, Maturação inicial, Maturação intermediária, Maturação final e Regressão. Tal classificação facilitou a compreensão do desenvolvimento testicular e o reconhecimento das fases reprodutivas, sendo adotadas por vários autores, a exemplo de Veríssimo-Silveira (2003) no qual o ciclo reprodutivo de *Salminus maxillosus* foi classificado em: preparatório, maturação inicial, maturação intermediária, maturação final e regressão, sendo o mesmo observado em *A. altiparanae* (COSTA, 2011). Em machos de *Devario aequipinnatus* Chagas et al. (2016) observou somente três fases de maturação (inicial, intermediária e final) e a regressão.

Posteriormente, Brown-Peterson e colaboradores (2011), utilizando esses mesmos parâmetros, desenvolveram uma terminologia mais simples, propondo facilitar e padronizar as fases do ciclo reprodutivo, sendo em desenvolvimento, Apto a reprodução, Regressão e Regeneração, sendo esta, corroborada por Quagio-Grassiotto; Wildner e Ishiba (2013), associando espécies Neotropicais.

Neste contexto, estudos recentes realizados com machos de *A. altiparanae* foram realizados com o intuito de descrever as características morfológicas ao longo do ciclo reprodutivo, como as características das células germinativas espermatogoniais (RODRIGUES et al., 2015), análise estereológicas (RODRIGUES et al., 2017) e a influência da temperatura na espermatogênese (POSTINGEL-QUIRINO, 2017).

1.2 ESPÉCIE DE ESTUDO

Considerado um modelo experimental, a exemplo do zebra-fish (COSSINS; CRAWFORD, 2005; LEAL et al., 2009), o lambari-do-rabo-amarelo, pertencente ao gênero *Astyanax*, subfamília Tetragonopterinae, família Characidae, ordem Characiformes, é uma espécie rústica, com ciclo de vida rápido, alimentação onívora e vive em diversos ambientes, com grande potencial para aquicultura, devido a características como, fácil manejo, aceitação de alimentação artificial e alta prolificidade (BRITSKI et al., 1984; GARUTTI, 2003; GONÇALVES et al., 2014).

O lambari tem boa aceitação como alimento, no consumo *in natura*, principalmente como tira-gosto e como isca, na pesca profissional ou de lazer, sendo um peixe que atrai inúmeros carnívoros, como o tucunaré. É utilizado como peixe

ornamental, na aquariofilia, e tem um papel essencial na cadeia alimentar dos ecossistemas de águas interiores (GARUTTI, 2003). É encontrado nos rios dos estados do Paraná, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Goiás (CASTRO, et al., 2003).

São gonocorísticos, sexo feminino e masculinos em indivíduos separados e a reprodução ocorre por ovuliparidade (eliminação dos gametas na água), com fecundação e desenvolvimento externos (VAZZOLER, 1996). Têm fácil reprodução, e também boa taxa de sobrevivência das larvas e alevinos (CASTILHO-ALMEIDA, 2007).

Com relação as gônadas, em *Astyanax altiparanae* são alongadas e foliáceas, sofrendo modificações na espessura, volume e coloração durante as diferentes fases do ciclo reprodutivo (MELO et al., 2005). O testículo é do tipo tubular anastomosado e está localizado nos dois lados da cavidade abdominal, da porção cefálica até a caudal, onde se conecta ao poro genital (COSTA, 2011).

Além disso, são pequenos, mas com crescimento rápido, possuem média de 10 a 15 cm de comprimento. Os machos são menores e no período reprodutivo apresentam a nadadeira anal com espículas, o que os difere das fêmeas (PORTO-FORESTI et al., 2005). Iniciam o ciclo reprodutivo com cerca de quatro meses de idade em condições de cultivo (SILVA, 1996) e apresentam desova parcelada, podendo viabilizar a obtenção de três a quatro desovas durante o ano (AGOSTINHO et al., 1984; CASTILHO-ALMEIDA, 2007).

Deste modo, considerando o exposto acima, acredita-se que a presença de fêmeas juntos aos machos criados em cativeiro, pode modular a agressão dos indivíduos, diminuindo a mortalidade causada por interações agressivas e o desenvolvimento gonadal. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi verificar a influência da presença da fêmea na mortalidade causada por interações agressivas, nos parâmetros biométricos e na maturação sexual dos machos de *A. altiparanae*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a influência da presença de fêmeas na mortalidade causada por interações agressivas, nos parâmetros biométricos e no desenvolvimento testicular dos machos de *A. altiparanae*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

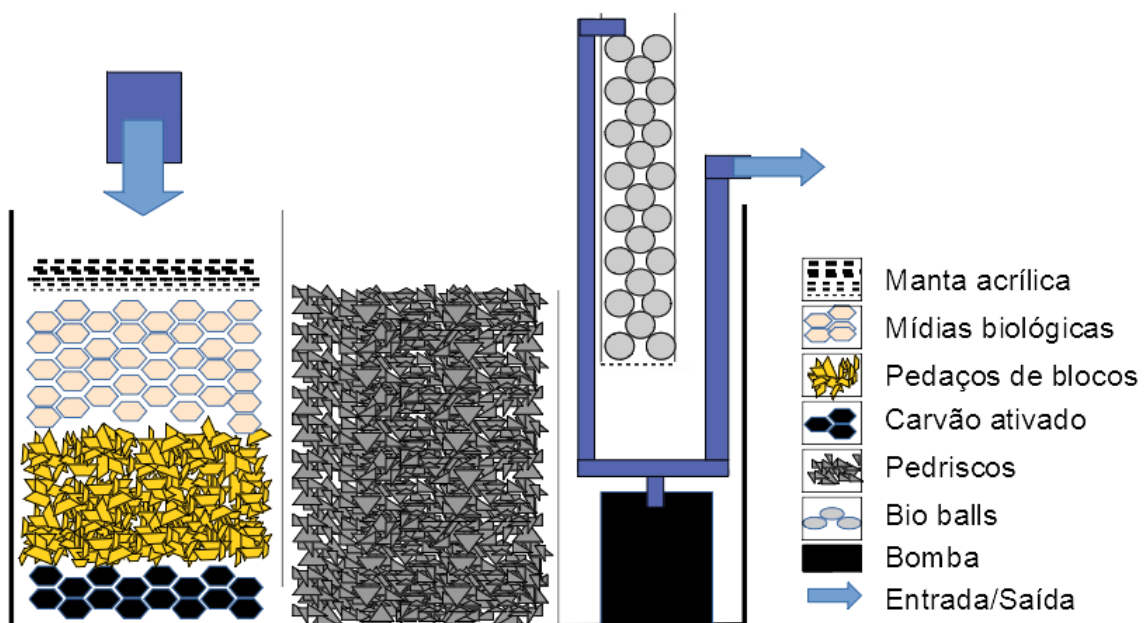
- Avaliar a taxa de sobrevivência e a distribuição da mortalidade causada pelas interações agressivas nos diferentes tratamentos.
- Avaliar os parâmetros biométricos.
- Descrever as fases da espermatogênese com base nas alterações do epitélio germinativo nos tratamentos testados.
- Avaliar o índice gonadossomático dos machos.

Cada sistema, possuiu um total de seis caixas de polipropileno, sendo uma delas utilizada como filtro mecânico e biológico. As caixas possuíam formato retangular (dimensões internas: 46 cm de altura x 50 cm de largura x 81 cm de comprimento) e capacidade de 180 litros.

A água do filtro foi bombeada através de uma tubulação única até as caixas, que a recebeu por via de torneiras individuais, ajustáveis para o controle da vazão (6L/min). Cada caixa tanque teve sua saída de água individual, as quais desaguavam em uma adutora para retornarem ao filtro por gravidade.

A filtragem da água ocorreu de duas maneiras: uma mecânica e outra biológica. A filtragem mecânica consistiu em passar a água proveniente das caixas primeiramente pela manta acrílica e na sequência por camadas de substratos contendo mídias biológicas, pedaços de blocos de construção, carvão ativado, pedriscos e depois, passar por um aerador contendo *bio balls*. A filtragem biológica consistiu em colonizar os materiais porosos presentes no filtro com bactérias nitrificantes, ou seja, bactérias capazes de degradar a amônia tóxica e nitritos provenientes das excretas dos peixes e transformá-la em nitratos, os filtros utilizados já estavam previamente maduros. Após a filtragem e aeração, uma bomba direcionou a água limpa e rica em oxigênio para as caixas tanque. Conforme Fig. 2.

Figura 2 - Ilustração do sistema de filtragem mecânica e biológica utilizada no sistema de recirculação de água.



Fonte: Próprio autor.

3.3 BIOMETRIA INICIAL

Após o período de aclimação dos animais, foi realizada a biometria inicial. Para realizar este procedimento, todos os peixes foram anestesiados com cloridrato de benzocaína (25 mg/L). A massa foi aferida, com auxílio de uma balança analítica (Marte® - modelo AY220), e os comprimentos padrão e total iniciais, utilizando um paquímetro ($\pm 0,01$ mm).

Em paralelo com a biometria, houve a confirmação do sexo através da sexagem, onde nos machos ocorrem a presença de espículas na nadadeira anal, que são ásperas ao toque no período reprodutivo, diferentemente das fêmeas (PORTO-FORESTI et al., 2005). Coletados os dados iniciais, os indivíduos foram colocados em suas respectivas caixas, de acordo com os tratamentos propostos.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Após a biometria os exemplares de ambos os sexos foram distribuídos e ao mesmo tempo para evitar efeitos da residência prévia (BARRETO; VOLPATO, 2006) em 16 caixas de polipropileno de 180 L cada (CEUA - Protocolo 08/2017).

Foram utilizados um total de 320 peixes, sendo machos e fêmeas, distribuídos em um delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais (Fig. 3). Considerou-se como uma unidade experimental uma caixa de 180 L contendo 20 peixes em diferentes proporções. As repetições de cada tratamento foram distribuídas no mesmo sistema de recirculação de água (na mesma linha) para evitar comunicação química entre os sexos de tratamentos distintos (Figura 3).

A distribuição dos peixes em cada caixa (unidade experimental) foi feita obedecendo as seguintes proporções:

Tratamento 1 (T0) = 20 machos + 0 fêmeas (0% fêmeas);

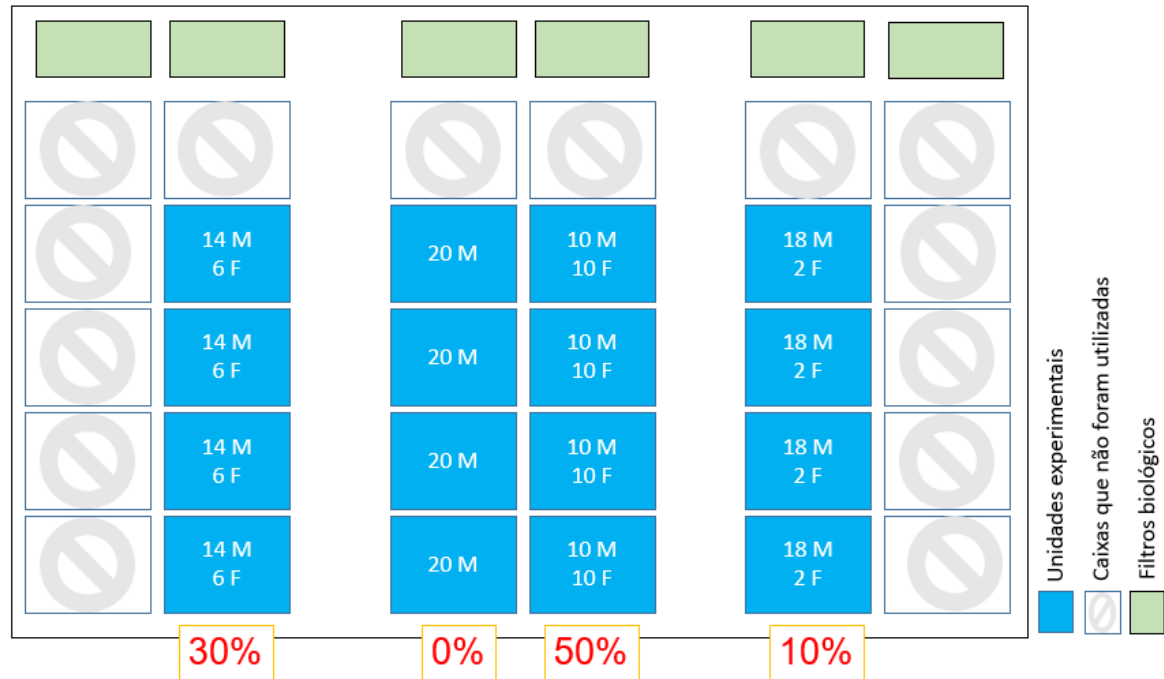
Tratamento 2 (T10) = 18 machos + 2 fêmeas (10% fêmeas);

Tratamento 3 (T30) = 14 machos + 6 fêmeas (30% fêmeas);

Tratamento 4 (T50) = 10 machos + 10 fêmeas (50% fêmeas).

A densidade utilizada foi 111 peixes/m³ (0,1 g/L), que está de acordo com a densidade de manutenção recomendada para a espécie, em instalações para pesquisa científica (CONCEA, 2016). Pois o desajuste do espaço físico, também pode levar a um aumento da competição entre os peixes (CASTILHO-ALMEIDA, 2007).

Figura 3 - Ilustração da área do experimento. F = fêmea e M = macho de *A. altiparanae*.



Fonte: Próprio autor.

3.5 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

Durante o experimento realizou-se diariamente o controle de mortalidade, o monitoramento da qualidade da água, a alimentação dos peixes e a limpeza dos tanques.

O controle de mortalidade foi realizado duas vezes ao dia (no período da manhã e a tarde). Ao verificar a presença de indivíduos mortos, os mesmos eram retirados das caixas com o auxílio de um puçá, fotografados e identificados com relação ao sexo e origem. Após esses procedimentos os peixes foram congelados e após o período de testes encaminhados para o setor de compostagem da Unesp de Ilha Solteira.

O monitoramento da qualidade da água foi feito diariamente, na água das caixas, às 9:00 horas, sendo medido a amônia tóxica (Labcon Test Amônia Tóxica 15ml - ALCON), o pH, o oxigênio dissolvido, a condutividade e a temperatura da água (medidor multiparâmetro AK88). Os valores medidos para cada tratamento foram processados e tiveram suas médias calculadas após o período de teste (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros da água avaliados durante os 34 dias de experimento.

Tratamento	pH	O ₂ dissolvido (mg/L)	Amônia (ppm)	Condutividade elétrica (µs/cm)	Temperatura (°C)
T0	8,31 ± 0,08	5,9 ± 0,4	0,002 ± 0,006	362 ± 5	25 ± 1
T10	8,39 ± 0,06	5,8 ± 0,4	0,002 ± 0,006	343 ± 4	25 ± 1
T30	8,17 ± 0,09	5,8 ± 0,4	0,001 ± 0,004	371 ± 6	25 ± 1
T50	8,33 ± 0,05	5,8 ± 0,4	0,004 ± 0,005	327 ± 7	25 ± 1

Fonte: Próprio autor.

Durante o período experimental a alimentação foi realizada duas vezes ao dia, às 10:00 e 16:00 horas, fracionando a quantidade diária de 1% do peso vivo presente em cada caixa. A ração utilizada foi a de granulometria 1,7mm (Guabi® com 36% de Proteína Bruta).

Além do monitoramento, os tanques foram sifonados a cada dois dias, com troca de aproximadamente 10% de água, com a finalidade de remoção de excretas e resíduos acumulados no fundo.

3.6 BIOMETRIA FINAL E COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

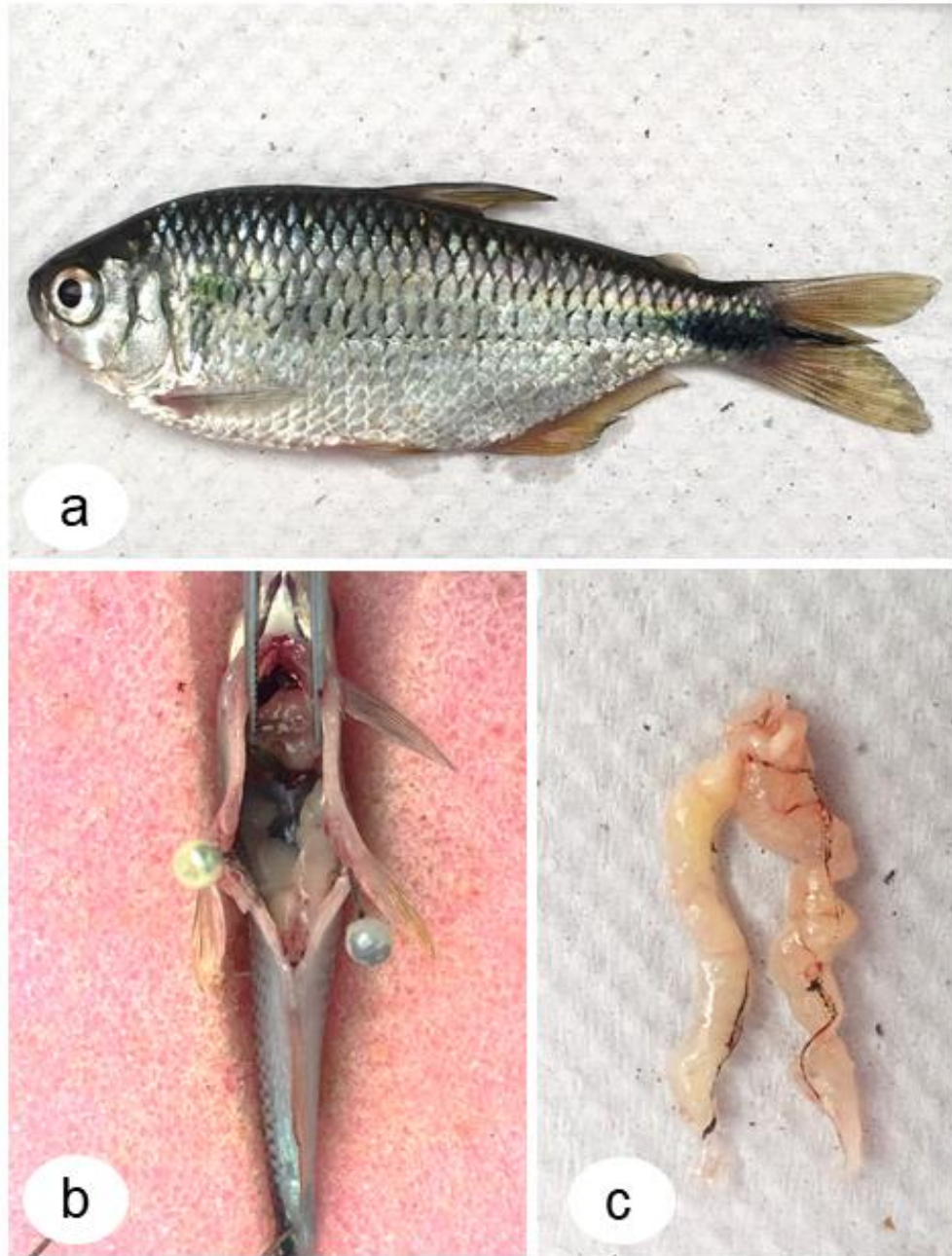
Decorrido os 34 dias de experimento (20 de abril a 24 de maio), os animais sobreviventes foram retirados das caixas tanque, por meio de um puçá, e na sequência, foram eutanasiados por overdose de anestésico (100 mg/L de benzocaína). Em seguida, foi realizada a biometria final, seguindo os mesmos procedimentos que a inicial.

Após a biometria final, iniciou-se o processo de coleta, que consiste na retirada da gônada de cada exemplar. Para isso, foi realizada uma incisão na região ventral, no sentido pôsterio - anterior com a ajuda de material cirúrgico (tesoura), expondo assim toda a cavidade abdominal (Fig. 4).

Após esse procedimento, as gônadas foram imediatamente pesadas em balança analítica, seccionados transversalmente nas regiões mediana e caudal e fixadas em solução de paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 2,5%, em tampão fosfato Sorensen 0,1M a pH 7,2.

O material biológico não utilizado foi congelado e posteriormente encaminhado para o setor de compostagem.

Figura 4 - Coleta de material biológico. a) Exemplar de *Astyanax altiparanae* eutanasiado; b) Incisão na região ventral do animal expondo a cavidade abdominal; c) Testículo de *Astyanax altiparanae*.



Fonte: Próprio autor.

3.7 PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ

Depois da fixação, os testículos foram desidratados em solução alcoólica, em série crescente de concentração e incluídos em glicol metacrilato (Technovit 7100/historesina). Após a inclusão foram seccionados a 3,0 µm de espessura em micrótomo equipado com navalha de vidro LEICA RM 2245. Os cortes provenientes do micrótomo foram dispostos em lâminas e corados com Hematoxilina e Eosina.

O fotoprocessamento do material analisado foi realizado sob microscópio de luz Zeiss equipado com câmera AXIOCAM-MRc5 e microscópio de luz Olympus acoplado com câmera Moticam 2500. E foi feito o estudo microscópico dos testículos (análise histológica), que permitiu caracterizar mais seguramente as fases de maturação em cada tratamento. Padronizou-se as análises em cortes transversais da região medial da gônada para a classificação e comparação das fases encontradas. Os testículos foram classificados por meio da análise das alterações do epitélio germinativo (BROWN-PETERSON; GRIER; OVERSTREET, 2002).

3.8 ANÁLISE DE DADOS

Com relação a biometria, os dados obtidos das medições foram tabulados e as médias calculadas comparadas estatisticamente. Utilizou-se o teste de normalidade Shapiro Wilk e a análise de variância (ANOVA) a nível de significância $p > 0,05$. As variáveis que sofreram efeito dos tratamentos foram submetidas ao teste t (LSD).

Através do índice gonadosomático (IGS) determinou-se a porcentagem da massa dos testículos em relação à massa corporal, sendo usado para inferir as fases reprodutivas do testículo. Segundo Vazzoler o índice (1996) pode ser expresso por:

$$\text{IGS} = (\text{massa das gônadas} / \text{massa corpórea}) \times 100$$

As médias do IGS em cada tratamento foram comparadas estatisticamente pelos mesmos testes utilizados para a biometria. Ainda para a análise das fases reprodutivas dos testículos, a quantidade de indivíduos, de cada tratamento, nas fases encontradas foram comparadas estatisticamente pelos mesmos testes utilizados nas análises anteriores.

Com relação a mortalidade, as porcentagens de indivíduos sobreviventes foram expressas em tabela. Foi feita a análise estatística (teste t e análise de regressão

quadrática da mortalidade), além disso, a distribuição da mortalidade ao longo dos dias de experimento foi exposta graficamente, e calculada a mortalidade acumulada dos machos por período, sendo os 34 dias de experimento divididos em três períodos: período 1: 1º ao 10º dia; período 2: 11º ao 20º dia e período 3: 20º ao 34º. Essa divisão por período foi feita com o intuito de analisar a distribuição da mortalidade, independente da possível influência causada pelo manuseio inicial dos indivíduos até a sua alocação nos devidos tratamentos.

4 RESULTADOS

4.1 BIOMETRIA

Após 34 dias do início do experimento, não houve diferenças estatísticas ($p>0,05$) no peso final dos indivíduos nos diferentes tratamentos, apresentando uma média de 6,28 g. Entretanto, quando comparados ao peso inicial, ocorreu uma redução significativa nos tratamentos T10 e T30, não sendo o mesmo observado em T0 e T50 (Tabela 2). Deste modo, o tratamento com 100% de machos (T0), apresentou o mesmo padrão quando comparado áqueles com 50% de fêmeas (Tabela 2).

Com relação ao comprimento padrão, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, tanto no início quanto ao término do experimento, com valores médios de 6,53 cm e 6,51 cm, respectivamente (Tabela 2).

Entretanto, com relação ao comprimento total, diferenças estatísticas foram observadas entre os tratamentos, tanto no início como ao término do experimento, porém, quando comparados ao longo do tempo, somente o T30 mostrou uma redução no comprimento final (Tabela 2). Tais diferenças, principalmente entre os tratamentos e ao término do experimento, se devem as lesões presentes na nadadeira caudal, como será relatado posteriormente.

Tabela 2 - Valores médios da biometria inicial e final dos machos de *Astyanax altiparanae*.

	Peso		Comprimento padrão		Comprimento total	
	inicial (g)	final (g)	Inicial (cm)	final (cm)	inicial (cm)	final (cm)
T0	6,87 ± 1,1	6,38 ± 1,3	6,50 ± 3,2	6,48 ± 3,9	7,94 ± 4,4 ^a	7,99 ± 4,7 ^{b c}
T10	6,94 ± 0,9 ^A	6,30 ± 0,9 ^B	6,53 ± 2,8	6,57 ± 2,6	8,09 ± 3,0 ^b	8,08 ± 2,8 ^c
T30	7,04 ± 0,9 ^A	6,18 ± 0,8 ^B	6,58 ± 2,6	6,52 ± 2,9	8,08 ± 3,0 ^{a b A}	7,86 ± 3,0 ^{a b B}
T50	6,81 ± 1,0	6,25 ± 0,8	6,51 ± 2,9	6,47 ± 3,5	8,02 ± 3,5 ^{a b}	7,83 ± 3,5 ^a
Média	6,91	6,28	6,53	6,51	8,03	7,94
CV %	5,10	4,86	2,03	1,30	1,23	1,08

Nota: Letras distintas indicam diferença significativa ($P<0,05$) pelo teste t. Letras minúsculas indicam coluna, letras maiúsculas linhas.

Fonte: Próprio autor.

4.2 SOBREVIVÊNCIA

Com exceção do T30 todos os tratamentos tiveram a taxa de sobrevivência dos machos acima de 50%, chegando a 80% no T50. Deste modo, com base nas análises estatísticas foi possível verificar que as taxas de sobrevivências dos machos e total no T50 foram maiores ($p < 0,05$) que no T30. Nesses mesmos parâmetros os demais tratamentos (T0 e T10) não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Com relação a sobrevivência de fêmeas, não houve diferenças estatísticas (Tabela 3).

Tabela 3 - Sobrevivência de machos, fêmeas e total ao final do experimento.

	Sobrevivência machos (%)	Sobrevivência fêmeas (%)	Sobrevivência total (%)
T0	63,8 ± 21 ^{a b}	-	63,8 ± 21 ^{a b}
T10	52,8 ± 12 ^{a b}	75,0 ± 26	55,0 ± 14 ^{a b}
T30	44,7 ± 20 ^a	58,3 ± 36	48,8 ± 17 ^a
T50	80,0 ± 21 ^b	82,5 ± 15	81,3 ± 22 ^b

Nota: Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$) pelo teste t.

Fonte: Próprio autor.

Uma avaliação da distribuição da mortalidade dos machos ao longo do experimento, demonstrou que esta foi mais prolongada nos tratamento T0 e T10 (Fig. 5 A-B).

Deste modo, no T0 foi possível ver oscilações nas quantidades diárias de óbito, com o último registro de mortalidade no 32º dia, sendo que os maiores valores diários de mortalidade ocorreram no 4º e no 5º dia com 5 e 6,2% de exemplares, respectivamente (Fig. 5 A). Já o T10 teve o seu pico de mortalidade entre o 2º, 4º e 5º dia com 7; 5,5 e 5,5% de exemplares respectivamente, sendo o último registro no 33º dia (Fig. 5 B).

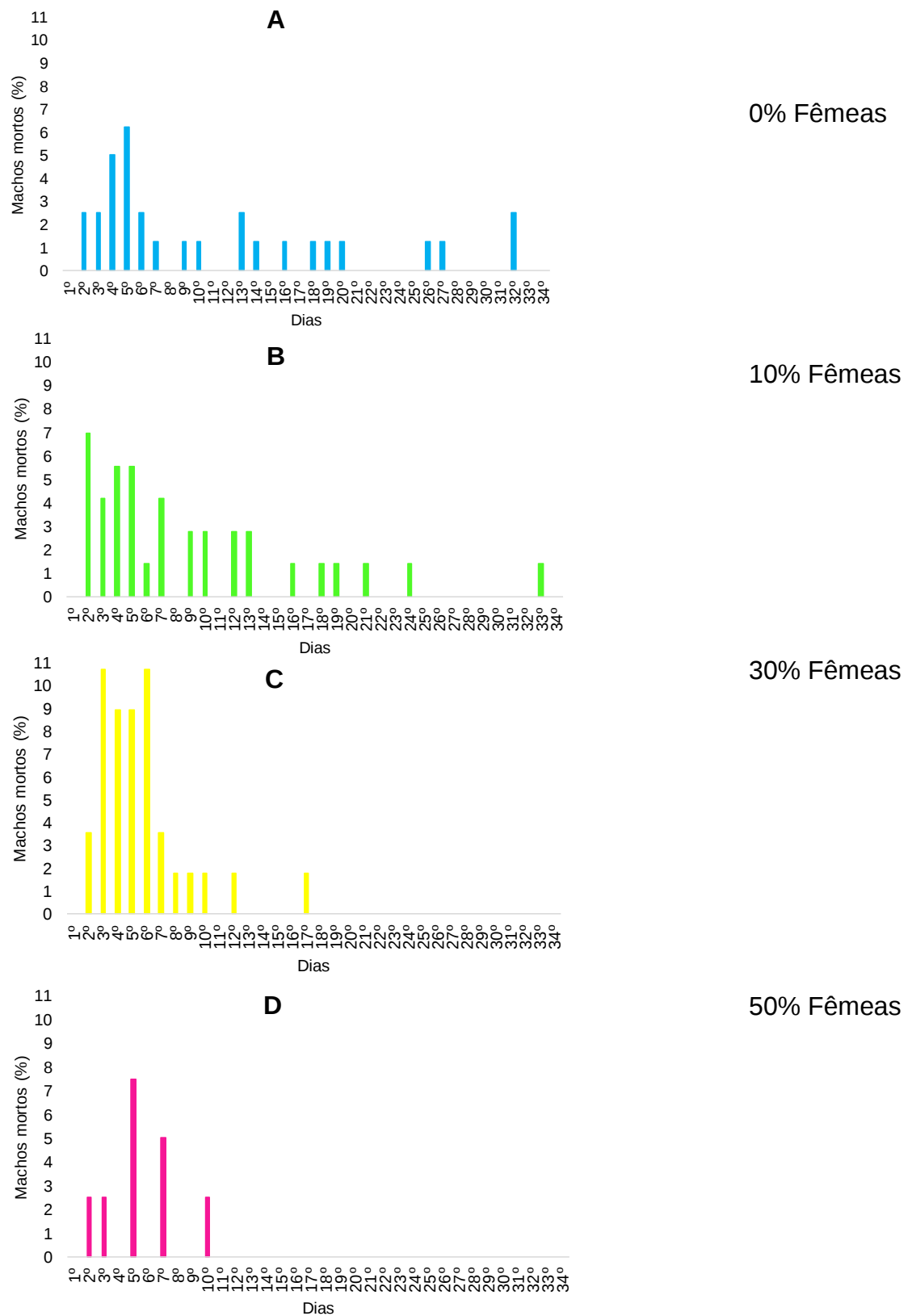
O T30 obteve a mortalidade mais concentrada nos primeiros dias, com picos entre o 3º e 6º dias, sendo o 3º e o 6º dia com 10,7% dos exemplares e os dias 4 e 5 com 9% dos exemplares em cada dia. (Fig. 5 C). O último registro de mortalidade foi

no 17º dia, exatamente na metade da duração do experimento. (Fig. 5 C). Logo a mortalidade nesse tratamento foi cessada bem antes do que no T0 e no T10.

Já o T50 além da menor mortalidade de peixes, como visto na tabela 3, teve o último registro no 10º dia de experimento, sendo o maior valor diário no 5º dia, com 7,5% indivíduos (Fig. 5 D).

Desse modo, ao término do 10º dia, a quantidade de machos que foram a óbito nos tratamentos T0, T10, T30 e T50 foram respectivamente, 18 (22,5%), 24 (33,3%), 29 (51,7%) e 8 (20%) (Fig. 5). Apesar de T0 e T50 apresentarem quase os mesmos valores percentuais neste período, ao término do experimento, foram registrados 63,8% de sobreviventes no T0 e 80% no T50 (Tabela 3).

Figura 5 - Distribuição da mortalidade de machos de *Astyanax altiparanae* ao longo dos 34 dias de experimento.



Fonte: Próprio autor.

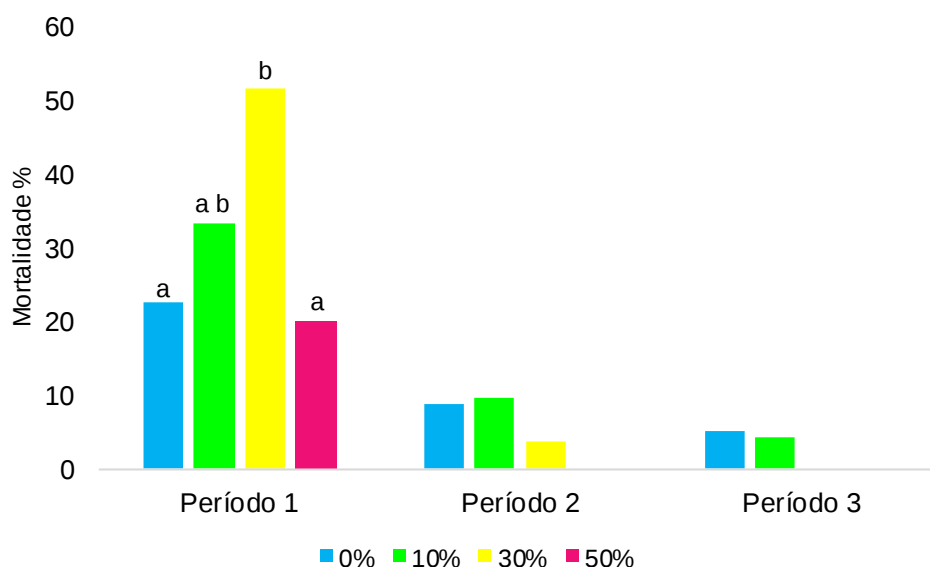
Ainda com relação a distribuição da mortalidade de machos ao longo dos dias de experimento nota-se que as maiores taxas de mortalidade foram obtidas nos primeiros 10 dias, sendo este o único período com registro de óbitos em T50. Para os demais tratamentos, a exemplo do T0 e T10, houve registro de mortalidade até próximo ao término do experimento (Fig. 5).

Diante disso, a duração total do experimento foi dividida em três períodos, sendo o primeiro e o segundo iguais com dez dias cada, e o terceiro com 14 dias.

No período 1, todos os tratamentos apresentaram as maiores taxas de mortalidade sendo em T30, 51,7%, diferindo estatisticamente do T0 e T50, com 21,5% e 20% respectivamente, da mortalidade acumulada nesse período (Fig. 6).

Já no período 2 apenas T0, T10 e T30 apresentaram mortalidade, com taxas inferiores a 10%. E no período 3, apenas T0 e T10 apresentaram óbitos, sendo inferiores a 5% (Fig. 6).

Figura 6 - Mortalidade acumulada de machos por período. Período 1: 1º ao 10º dia, período 2: 11º ao 20º dia, período 3: 20º ao 34º dia de experimento.

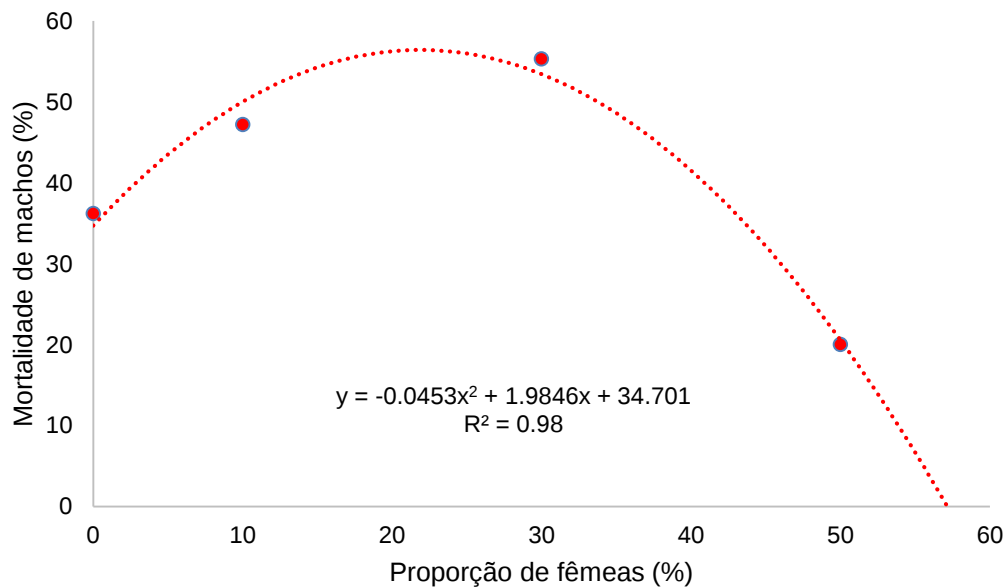


Fonte: Próprio autor.

Com a análise de regressão quadrática da mortalidade dos machos de *A. altiparanae* foi possível estimar a proporção de fêmeas em que, de acordo com o modelo, não haveria mortalidade dos machos. Esse valor seria de 57,1% fêmeas para 42,9% machos (Fig. 7).

Desse modo, o pico de mortalidade ocorre na proporção de cerca de 20% fêmeas e depois a tendência seria diminuir, como visto do T30 para o T50 (Fig. 7).

Figura 7 - Porcentagem de mortalidade dos machos de *Astyanax altiparanae* nas diferentes proporções de fêmeas.



Fonte: Próprio autor.

4.3 LESÕES CORPORAIS

No início do experimento os peixes selecionados não apresentavam lesões corporais aparentes, o mesmo observado naqueles sobreviventes, ao término do experimento.

Já com base nas observações realizadas nos peixes que vieram a óbito, foi possível classificar os diferentes padrões de lesões corporais (Figs. 8, 9 e 10), sendo as regiões lateral e caudal as mais afetadas (Figs. 9 e 10).

Figura 8 - Tipos de lesões presentes em machos mortos de *A. altiparanae*.

Tipos de lesões	T0	T10	T30	T50
Ausência parcial da nadadeira caudal	X			X
Ausência total da nadadeira caudal		X	X	
Descamação parcial		X		
Lesão tegumentar lateral por mordedura	X		X	
Laceração dorsal por mordedura			X	
Laceração lateral por mordedura		X		

Fonte: Próprio autor.

Houve frequência de lesões caudais em todos os tratamentos, variando os tipos de lesões nessa região, podendo ser parcial ou total. Entretanto, entre todos os tratamentos, o T50 apresentou somente um tipo de lesão (Fig. 8).

Figura 9 - Lesões corporais frequentes em machos de *Astyanax altiparanae*. a-b) Ausência parcial da nadadeira caudal; c-d) Ausência total da nadadeira caudal e descamação parcial; e-f) Lesão tegumentar lateral por mordedura.



Fonte: Próprio autor.

Figura 10 - Lesões corporais frequentes em machos de *A. altiparanae*. a-b) Ausência parcial da nadadeira caudal e lesão tegumentar lateral por mordedura; c-d) Ausência total da nadadeira caudal com laceração dorsal por mordedura; e) laceração lateral por mordedura.



Fonte: Próprio autor.

4.4 ÍNDICE GONADOSSOMÁTICO (IGS)

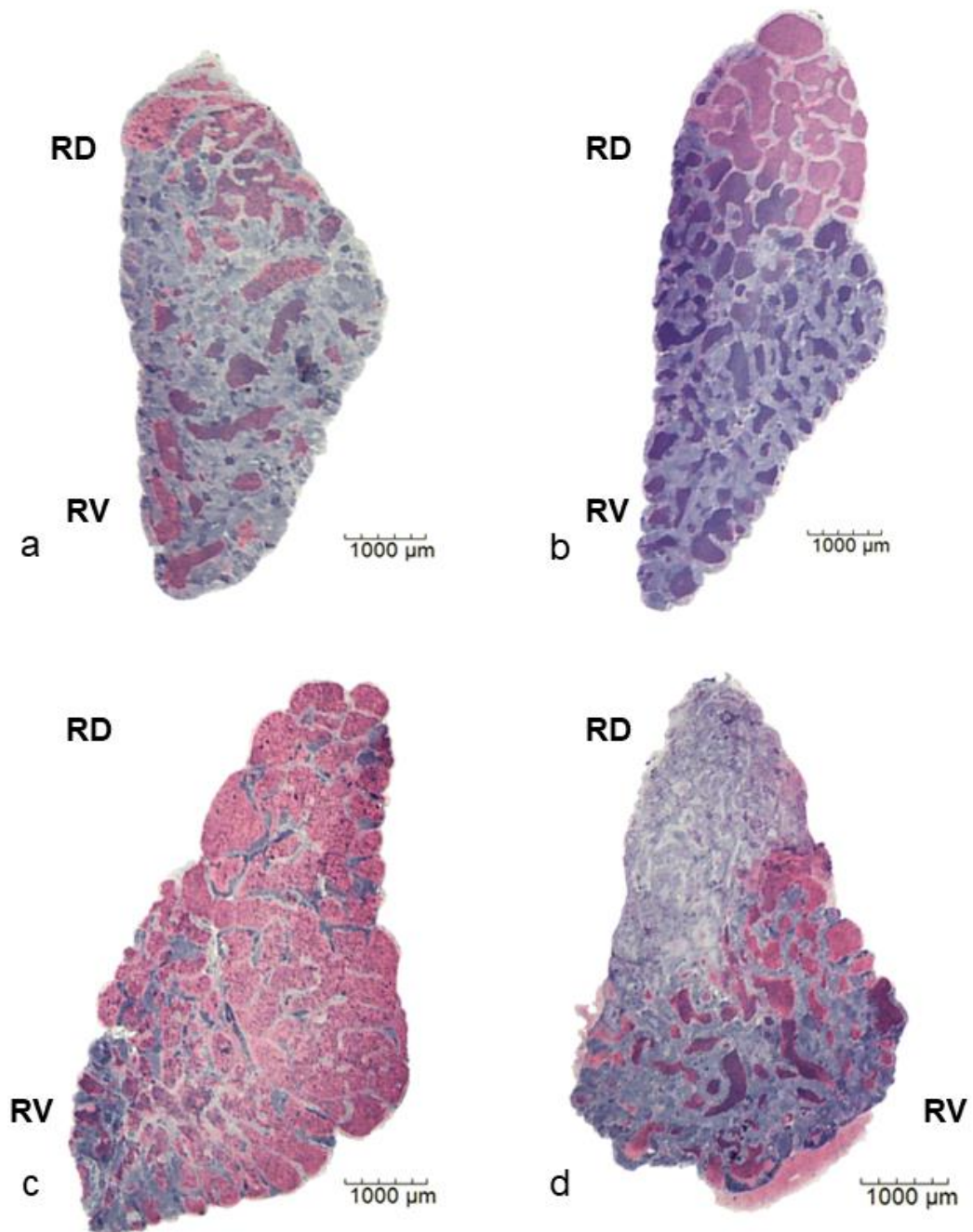
Ao final do período de experimentação, os valores do IGS dos machos, nos tratamentos T0, T10, T30 e T50 foram de 2,51; 3,03; 2,57; e 2,91, respectivamente, não diferindo estatisticamente ($p>0,05$) entre os tratamentos. Desse modo, foi possível identificar as fases do ciclo reprodutivo somente com a avaliação histológica do desenvolvimento testicular

4.5 DESENVOLVIMENTO TESTICULAR

A. altiparane possui o testículo do tipo tubular anastomosado e em todos os tratamentos analisados os exemplares apresentaram fases de desenvolvimento testicular avançadas, sendo maturação intermediária (Fig.11 a), maturação final (Fig. 11 b-c) e regressão (Fig. 11 d). Não foram encontrados indivíduos nas fases de regredido e de maturação inicial.

A região dorsal do testículo foi identificada como a região de ducto, onde todos os exemplares apresentavam somente armazenamento de espermatozoides nessa região. Conforme a maturação progredia ela ia se estendendo, até o testículo todo ficar apenas como armazenamento de espermatozoides, como é visto na fase de maturação final (Fig. 11 c)

Figura 11 - Testículo de *A. altiparane* (cortes transversais). a) Maturação intermediária. b) Início de maturação final. c) Maturação final. d) Regressão. RD: região dorsal. RV: região ventral. Coloração: Hematoxilina/Eosina.



Fonte: Próprio autor.

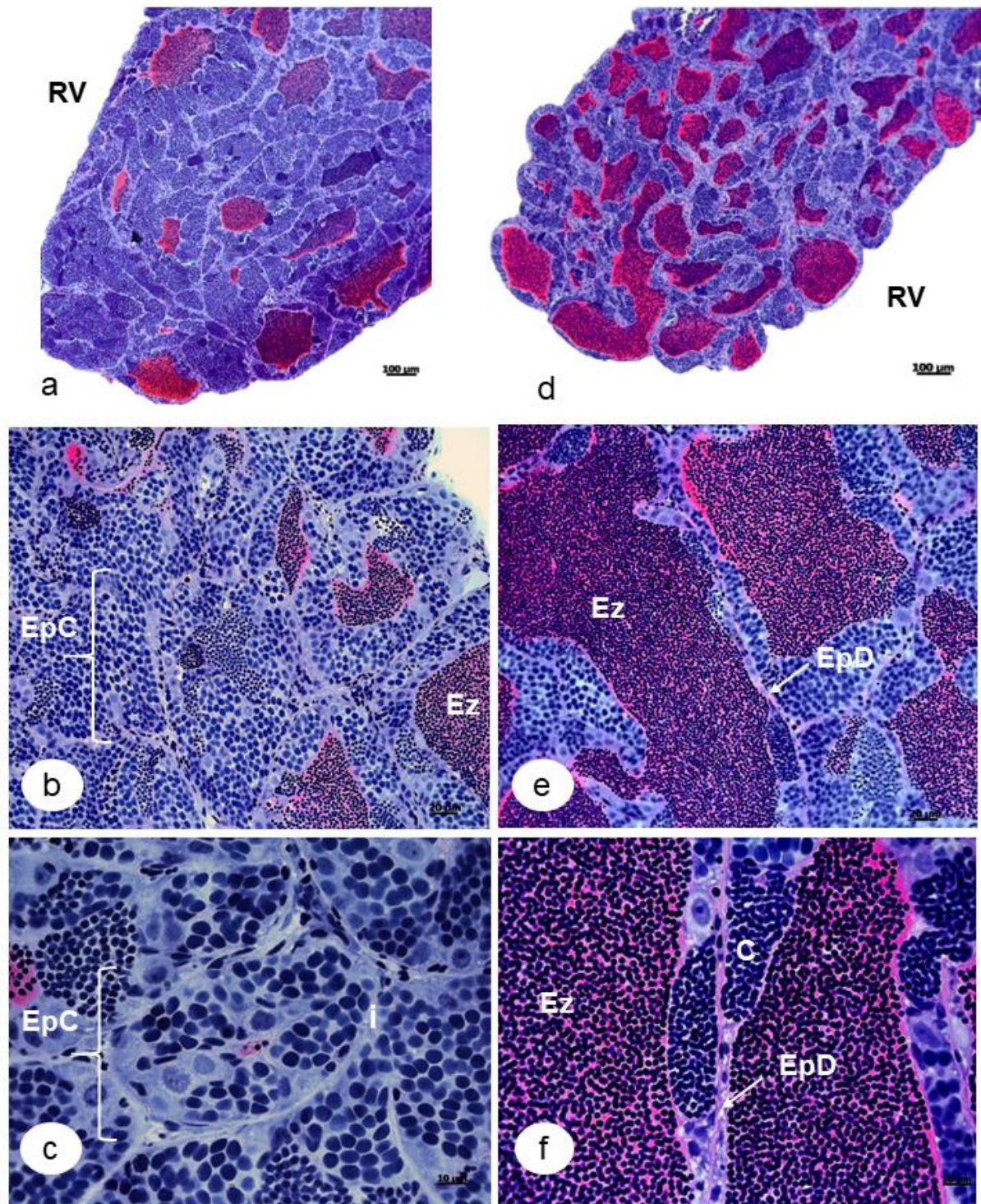
Na fase de maturação intermediária o epitélio germinativo estava descontínuo próximo a região de ducto, que seria a região de armazenamento de espermatozoides, mas a região distal, se encontrava contínua (Fig. 12 a, b e c).

Na maturação final, todo o epitélio germinativo estava descontínuo ao longo dos túbulos, e com o avanço dessa fase, foram escassos os cistos de células germinativas, e o testículo se tornou somente armazenamento de espermatozoides (estoque) com o lúmen repleto de espermatozoides .

A fase de maturação final foi dividida, devido a presença de vários indivíduos ilustrando a progressão dessa fase, assim foi identificado o início da maturação final, onde ocorria bastante descontinuidade do epitélio, e havia vários cistos (Fig. 12 d, e e f) e a maturação final, nesta última a periferia do testículo já estava toda descontínua e a gônada era praticamente estoque de espermatozoides (Fig. 13 a, b e c).

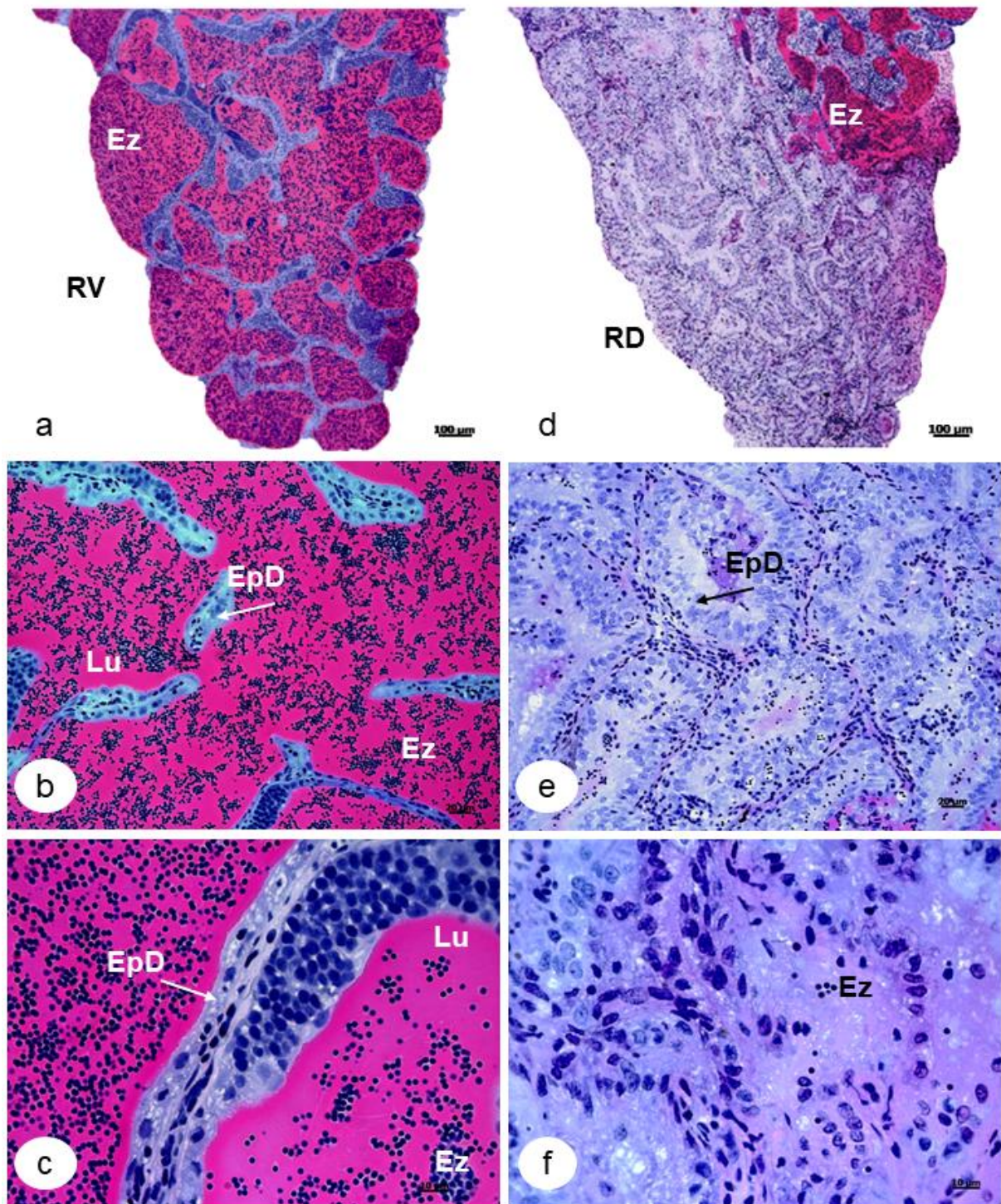
Já na fase de regressão o epitélio estava descontínuo nos túbulos, era visível uma espermatogênese muito reduzida com espermatócistos dispersos e proliferação espermatogonial em alguns pontos do testículo (Fig. 13 d, e e f), o que não havia na maturação final. Nessa fase ainda há armazenamento de espermatozóides, o epitélio tem um aspecto flácido e há presença de espermatozoides residuais.

Figura 12 - Fases do ciclo testicular de *Astyanax altiparanae*. a) Maturação intermediária. b) Porção distal do testículo contínua. c) Túbulos contínuos. d) Início de maturação final e) Descontinuidade na região distal do testículo. f) Descontinuidade nos túbulos da região distal do testículo. RV: região ventral. EpC: epitélio contínuo. Ez: espermatozoides. EpD: epitélio descontínuo. i: interstício. C: cisto. Coloração: Hematoxilina/Eosina.



Fonte: Próprio autor.

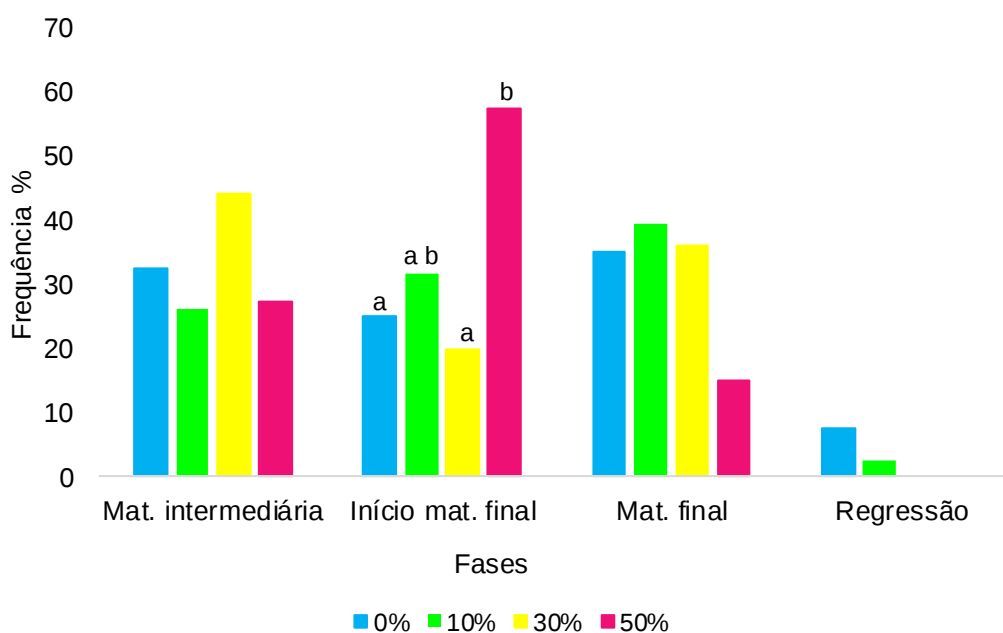
Figura 13 - Fases do ciclo testicular de *Astyanax altiparanae*. a) Maturação final. b) Descontinuidade ao longo de todo o testículo. c) Descontinuidade do túbulo. d) Regressão e) Descontinuidade e aspecto flácido dos túbulos. f) Presença de espermatozoide residual e ausência de cistos. RV: região ventral. RD: região dorsal. Ez: espermatozoides. Lu: lúmen. EpD: epitélio descontínuo. Coloração: Hematoxilina/Eosina.



Fonte: Próprio autor.

Com relação ao número de indivíduos em cada fase de desenvolvimento testicular, só houve diferença estatística em Início de maturação final, no qual T50 apresentou um maior número de indivíduos nesta fase que em T0 e T30. Entretanto essa diferença não persistiu com o avanço da Maturação final (Fig. 14).

Figura 14 - Fases de desenvolvimento testicular de machos encontradas nos tratamentos.



Fonte: Próprio autor.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo todos os tratamentos tiveram o peso e o comprimento padrão iguais no início do experimento, isso foi importante para evitar assimetrias em relação ao tamanho do corpo e possíveis desvantagens entre os indivíduos, já que machos maiores têm vantagens na disputa em uma hierarquia de dominância (REICHARD et al., 2005). Estes são atributos morfométricos importantes, pois junto com atributos reprodutivos (maturidade gonadal) e alimentares, explicam a influência das variações do ambiente nos diferentes organismos (WOOTON, 1999).

Com relação ao comprimento total o tratamento com 30% de fêmeas foi o único que diferiu ao final do experimento, ocorrendo um decréscimo. Isso ocorreu devido ao comprimento total expressar o tamanho corporal da ponta do focinho até a nadadeira caudal, podendo provocar alterações em relação ao tamanho, já que a nadadeira pode nem sempre estar inteira. Sendo mais preciso para avaliações o comprimento padrão, que considera o comprimento até o pedúnculo caudal.

O tamanho corporal, dentre outras características como a experiência prévia e a residência prévia, é importante na determinação da dominância, em disputas entre machos (BEACHAM, 1987; GONÇALVES-DE-FREITAS, 2002). Animais de tamanho similar têm a mesma capacidade de luta adiando a estabilidade social, e isso aumenta as interações agressivas causando lesões e maiores chances de mortalidade (TURNBULL et al., 1998; BARRETO; BOSCOLO; GONÇALVES-DE-FREITAS, 2015).

Após 34 dias de experimento não houve diferença no comprimento padrão dos animais. Os machos coletados possuíam o mesmo tamanho dos machos mortos ao longo do experimento, assim não foi verificada influência do tamanho corporal na agressão e dominância, diferente do verificado no híbrido Tilápia vermelha (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) onde os peixes maiores foram os dominantes (CHELLAPPA et al., 2012).

Ao final do experimento ocorreu um decréscimo no peso dos animais coletados nos tratamentos T10 e T30, coincidentemente esses mesmos tiveram as menores taxas de sobrevivência, respectivamente 52,8 e 44,7%, mas não diferiu estatisticamente do T0, com 63,8%. Essa diminuição de peso possivelmente pode estar relacionada ao estresse causado pelas interações agressivas, que pode inibir o crescimento (CARNEIRO; URBINATI, 1999), afetar o peso dos animais (MAZEUD; MAZEUD; DONELSON, 1977) e causar mortalidade (CONTE, 2004).

Nos mesmos tratamentos também ocorreram mais de um tipo de lesão corporal nos indivíduos mortos. Sendo possível inferir uma maior quantidade de disputas agressivas entre os indivíduos. Para Cox e Leboeuf (1977) a presença da fêmea pode induzir uma maior competição dos machos, o que pode ter ocorrido. O mesmo não foi verificado na proporção 1:1 fêmea/macho. Assim, proporções menores de fêmeas podem aumentar a competição dos machos, estimulando os conflitos e retardando o estabelecimento da hierarquia (GILMOUR et al., 2005).

Neste sentido, o tratamento com a maior proporção de fêmeas (1:1, T50) teve a hierarquia estabelecida mais rapidamente, fato comprovado pela distribuição da mortalidade que se estendeu somente até o décimo dia (Período 1), e também pela maior sobrevivência (acima de 80%), apresentando um ou nenhum tipo de lesão nos indivíduos mortos. Quando presentes eram apenas a ausência parcial da nadadeira caudal, comprovando a menor agressividade nas disputas nessa proporção.

Machos em geral são mais agressivos e territoriais que as fêmeas (MAGURRAN; GARCIA, 2000), por isso com a maior quantidade de fêmeas que os demais, a hierarquia de dominância nesse tratamento foi estabelecida em menor tempo evitando ataques agressivos e aumentando a sobrevivência. Diferente do T0, onde havia apenas machos, e a mortalidade se estendeu até o 32º dia.

O mesmo foi observado em ciclídeos, pois houve uma maior interação entre as disputas macho-macho do que macho-fêmea (YAMAMOTO et al., 1999). Deste modo, era esperado uma menor sobrevivência em grupos monossexo de machos, mas o tratamento com 30% de fêmeas teve a menor sobrevivência, porém não diferiu estatisticamente do T10 e do T0.

Rocha (2011), em grupos mistos (machos e fêmeas) de juvenis de truta arco-íris, verificou a diminuição dos comportamentos agressivos de investida e de mordedura entre os indivíduos quando comparados a grupos monossexo. Portanto, o cultivo em grupos mistos foi benéfico também para esta espécie. Entretanto, Pinho-Neto e colaboradores (2014) avaliando o comportamento agressivo da tilápia do Nilo, em pares de fêmeas, machos e de machos e fêmeas concluiu que o sexo não influenciou a frequência das atividades agressivas, e também os tipos de agressão.

Foi verificado que mesmo variando as quantidades, no período 1 houve mortalidade em todos os tratamentos. Isso indica que as taxas de sobrevivência nesse período podem ter sido influenciadas pelo período de ajuste pós manuseio dos indivíduos. Já que o manejo inicial (biometria) pode causar estresse nos animais,

comprometendo o bem-estar (BARCELLOS et al., 2000). E mesmo após esse período de ajuste os tratamentos com maiores quantidades de machos – T0 e T10 – apresentaram mortalidade até o período 3, diferente da proporção de fêmeas 50%. Demonstrando novamente que a proporção 1:1 estabeleceu a hierarquia mais rapidamente.

Animais dominantes crescem mais do que os animais submissos no grupo (VOLPATO; FERNANDES, 1994), como não houve crescimento dos animais entre nenhum tratamento, e houve uma demora em estabilizar a população nos tratamentos T0, T10 e T30, o estabelecimento da hierarquia pode ter ocorrido ao final do experimento, sendo o tempo de experimentação curto, para essa inferência. Essa demora em estabilizar a hierarquia, justifica as menores taxas de sobrevivência nesses tratamentos, que tiveram as interações agressivas mais prolongadas.

Ademais a interação macho-fêmea também pode modular o desenvolvimento gonadal dos machos, como exemplo no trabalho de Castro (2004) que o contato visual macho-fêmea por 5 dias aumentou o IGS dos machos em tilápia do Nilo. Em *Astyanax scabripinnis*, Navarro e colaboradores (2006), concluíram que machos na presença de fêmeas apresentam um maior IGS. Entretanto, em *A. altiparanae*, o contato macho-fêmea parece não influenciar nesse parâmetro, pois no presente trabalho, assim como naquele relatado por Chaves e colaboradores (2015), em que avaliaram diferentes proporções de machos e fêmeas (1/1; 1/2; 1/3; 2/1 e 3/1), não houve diferença significativa no IGS.

Tal fato, também pode ser suportado com o estudo de Postingel-Quirino (2017), no qual verificou que o tempo de duração da espermatogênese em *A. altiparane*, mantidos a temperatura da água em 27° C foi de aproximadamente 6 dias, entretanto quando elevou a temperatura para 32° C, houve uma redução do tempo para 26 horas. Deste modo, o tempo de duração deste experimento seria suficiente para verificar alterações no desenvolvimento testicular se houvesse a influência do contato macho-fêmea.

Na análise das fases de desenvolvimento testicular, indivíduos regredidos e em maturação inicial, não foram observados. Isso porque o lambari inicia o ciclo reprodutivo (atinge a maturidade sexual) muito cedo, com cerca de quatro meses de idade, em condições de cultivo (SILVA, 1996) e apresenta atividade reprodutiva contínua durante todo o ano, no rio do Carmo, estado de São Paulo (BARRETO et al., 1998).

Kumeda (2014) analisou os efeitos da interação entre peixes do mesmo sexo e do sexo oposto relacionados à qualidade e o desenvolvimento gonadal. A manutenção de machos e fêmeas de jundiá (*Rhamdia quellen*), criados em cativeiro, aumentou a concentração espermática em machos. Mas a qualidade dos gametas não foi alterada entre os tratamentos.

Como houve indivíduos tanto na fase de maturação intermediária como na final, no tratamento com 50% de fêmeas foi possível ver uma continuidade da maturação testicular. Desse modo, mesmo com a maior quantidade de machos em início de maturação final na proporção 1:1, percebe-se que não ocorreu alterações no decorrer desta fase e por consequência no desenvolvimento testicular. E mesmo esse tratamento não apresentando machos em regressão, a quantidade de indivíduos nessa fase não foi diferente estatisticamente dos demais. Estudos mostram que competição entre os machos, além de ser um processo de seleção sexual, pode influenciar o sucesso reprodutivo dos indivíduos (CHELLAPPA et al., 1999; CACHO et al., 2006), mas isto não foi verificado neste trabalho.

6 CONCLUSÃO

O cultivo de *A. altiparanae*, na proporção sexual de 1:1 proporciona uma redução na mortalidade dos machos, causadas por interações agressivas, quando comparada a menores proporções de fêmeas. Além disso, diferentes proporções não influenciam os parâmetros biométricos e o desenvolvimento testicular dos machos, indicando que o cultivo em grupos mistos, na proporção de 1:1, é benéfico para esta espécie.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, C. A.; MOLINARI, S. L.; AGOSTINHO, A. A.; VERANI, J. R. Ciclo reprodutivo e primeira maturação sexual de fêmeas de lambari, *Astyanax bimaculatus* (Osteichthyes - Characidae) do rio Ivaí, Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 44, p. 31-36, 1984.
- ALMEIDA, O.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; LOPES, J. S.; OLIVEIRA, R. F. Social instability promotes hormone-behavior associated patterns in a cichlid fish. **Hormones and Behavior**, New York, v. 66, p. 369-382, 2014.
- ANDERSSON, M. **Sexual selection**. Princeton: Princeton University, 1994. 599 p.
- ANG, T. Z.; MANICA, A. Benefits and costs of dominance in the angelfish *Centropyge bicolor*. **Ethology**, Berlin, v. 116, p. 855-865, 2010.
- BARBIERI, M. C.; BARBIERI, G. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de testículo: variação sazonal (Pisces, Gymnotidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 2, p. 141-148, 1984.
- BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S. M. G. de; WOEHL, V. M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências (revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 26, p. 99-111, 2000.
- BARRETO, B. P.; RATTON, T. F.; RICARDO, M. C. P.; ALVES, C. B. M.; VONO, V.; VIEIRA, F.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Biologia reprodutiva do lambari *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Characidae) no rio do Carmo, bacia do rio Grande, São Paulo. **Bios**, Belo Horizonte, v. 6, n. 6, p. 121-130, 1998.
- BARRETO, T. N.; BOSCOLO, C. N. P.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Homogeneously sized groups increase aggressive interaction and affect social stress in thai strain Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Marine and freshwater behaviour and physiology**, Cambridge, v. 48, n. 5, p. 309-318, 2015.
- BARRETO, R. E.; CARVALHO, G. A.; VOLPATO, G. L. The aggressive behavior of Nile tilapia introduced into novel environments with variation in enrichment. **Zoology**, Uppsala, v. 114, p. 53-57, 2011.
- BARRETO, R. E.; VOLPATO, G. L. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 39, p. 1605 - 1612, 2006.
- BEACHAM, J. L.; NEWMAN, J. A. Social experience and the formation of dominance relationships in the pumpkinseed sunfish, *Lepomis gibbosus*. **Anim. Behav.**, London, v. 35, p. 1560-1563, 1987.
- BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias**: com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco. 3 ed. Brasília: Câmara dos Deputados/CODEVASF, 1984. 143p.

BROWN-PETERSON, N. J.; GRIER H. J.; OVERSTREET, R. M. Annual changes in germinal epithelium determine male reproductive classes of the cobia. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 60, p. 178-202, 2002.

BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B.J.; LOWERRE-BARBIERI, S.K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Mar Coast Fish**, [S. l.], v. 3, p. 52-70, 2011.

BURCHARDS, H.; DULLE, A.; PARZEFALL, J. Aggressive behaviour an epigeal population *Astyanax mexicanus* (Characidae, Pisces) and some observations of three subterranean populations. **Behavioural Processes**, Amsterdam, v. 11, p. 225-235, 1985.

CACHO, M. S. R. F.; CHELLAPPA, S.; YAMAMOTO, M. E. Reproductive success and female preference in the Amazonian cichlid angel fish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 4, n. 1, p. 87- 91, 2006.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E. C. Stress e crescimento de peixes em piscicultura intensiva. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 3., 1999, Campinas. **Anais...** [Campinas: s. n.], 1999. p. 25-40.

CASTILHO-ALMEIDA, R.B. ***Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação.** 2007. 119 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu, 2007.

CASTRO, A. L. da S. **Efeito do contato macho-fêmea na preferência da fêmea e na competição entre machos na Tilápia-do-Nilo.** 2008. 61 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, 2008.

CASTO, A. L. da S. **Efeito de estímulos visuais e químicos do sexo oposto na reprodução da Tilápia do Nilo.** 2004. 40 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, 2004.

CASTRO, R. M. C.; CASATTI, L.; SANTOS, H. F.; FERREIRA, K.M.; RIBEIRO, A. C.; BENINE, R. C.; DARDIS, G. Z. P.; MELO, A. L. A.; STOPIGLIA, R; ABREU, T. X.; BOCKMANN, F. A.; CARVALHO, M.; GIBRAN, F. Z.; LIMA, F. C. T. Estrutura e composição da ictiofauna de riachos do Rio Paranapanema, sudeste e sul do Brasil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 3, n. 1, 2003.

CARVALHO, T. B.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Sex group composition, social interaction, and metabolism in the fish Nile tilapia. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 68, n. 4, p. 807-812. 2008.

CARVALHO, P.A., PASCHOALINI, A.L., SANTOS, G.B., RIZZO, E., BAZZOLI, N. Reproductive biology of *Astyanax fasciatus* (Pisces: Characiformes) in reservoir in southeastern Brazil. **J. Appl. Ichthyol.**, Berlin, v. 25, p. 306-313, 2009.

CHAGAS, J. M. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Ciclo testicular de *Devario aequipinnatus* (Teleostei: Cyprinidae): um potencial modelo biológico em experimentação animal. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 766-780, 2016.

CHAVES, W. CARNEIRO; C. L. DA S.; SILVEIRA, M. M.; LADEIRA, A. L. F.; FERREIRA, P. DE M. F.; CAMPELO, D. A. V.; PONTES, M. D.; SALARO, A. L. Relação Macho e Fêmea na Reprodução de *Astyanax altiparanae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 25., 2015, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: [s. n.], 2015. p. 1-3.

CHELLAPPA, S.; MEDEIROS, A. P. T. DE; CACHO, M. DO S. R. F.; VOLPATO, G. L. Dynamics of territorial behaviour and gonad development in the hybrid Red Tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* (Osteichthyes: Cichlidae). **Animal Biology Journal**, Amsterdam, v. 3, n. 1, p. 5-19, 2012.

CHELLAPPA, S., YAMAMOTO, M.E. AND CACHO, M.S.R.F. Reproductive behaviour and ecology of two species of cichlid fishes. In: Vall A.L., Vall, V.M. (Eds.), **Biology of Tropical Fishes**. Manaus: INPA, 1999. p. 113-126.

CHEN, C. C.; FERNALD, R. D. Visual information alone changes behavior and physiology during social interactions in a cichlid fish (*Astatotilapia burtoni*). **Plos One**, Cambridge, v. 6, n. 5, 2011.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA. **Peixes mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica**. [S. l.: s. n.], 2016. Disponível em: <<http://www.cfbio.gov.br/artigos/Concea-abre-consulta-sobre-peixes-em-instalacoes-de-ensino-ou-pesquisa>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

CORRÊA, S. A.; FERNANDES, M. O.; ISEKI, K. K.; NEGRÃO, J. A. Effect of the establishment of dominance relationships on cortisol and other metabolic parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Biological Research**, Santiago, v. 36, p. 1725-1731, 2003.

COSSINS, A.; CRAWFORD, D. L. Fish as models for environmental genomics. **Nature**, Washington, v. 6, p. 324- 340, 2005.

COSTA, F.G. **Testículo de *Astyanax altiparanae* Garutti e Britski, 2000: estudo morfológico, ultraestrutural e imuno-histoquímico**. 2011. 85 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2011.

COX, C. R.; LÉBOUF, B. J. Female incitation of male competition: mechanism in sexual selection. **The American Naturalist**, Chicago, v. 111, n. 978, p. 317–335. 1977.

CREEL, S., DANTZER, B., GOYMANN, W., RUBENSTEIN, D. R. The ecology of stress: effects of the social environment. **Functional Ecology**, Londres, v. 27, n.1, p. 66-80, 2012.

FOX, H. E.; WHITE, S. A.; KAO, M. H. F.; FERNALD, R. D. Stress and Dominance in a Social Fish. **The Journal of Neuroscience**, Washington, v. 17, n. 16, p. 6463–6469, 1997.

GARUTTI, V. **Piscicultura ecológica**. São Paulo: Editora UNESP, 2003.

GIAQUINTO, P. C.; VOLPATO, G. L. Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. **Physiol. Behav.**, v. 62, n. 6, p. 1333-1338, 1997.

GILMOUR, K. M.; DI BATTISTA, J. D.; THOMAS, J. B. Physiological causes and consequences of social status in salmonid fish. **Integrative and Comparative Biology**. v. 45, n. 2, p. 263-273, 2005.

GOMÉZ-LAPLAZA, L.M.; MORGAN, E. Social isolation, aggression, and dominance in attacks in juvenile angelfish, *Pterophyllum scalare*. **Aggressive Behavior**, Chichester, v. 19, p. 213-222, 1993.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Confrontos assimétricos e hierarquias de dominância em ciclídeos. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 20., 2002, Natal. **Anais...** Natal: [s. n.], 2002. p. 137-139.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; CASTRO, A. L. da S.; CARVALHO, T. B.; MENDONÇA, F. Z. de. Sexual selection and social hierarchy in fishes. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 13, n.1, p.80-88, 2009.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; NISHIDA, S. M. Sneaking behavior of the Nile tilapia. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 11, p. 71-79, 1998.

GONÇALVES, L.U.; PARISI, G.; BONELLI, A.; SUSSEL, F.R.; VIEGAS, E.M.M. The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 195-203, 2014.

GRIER, H.J. Cellular Organization of the Testis and Spermatogenesis in Fishes. **Am. Zool.**, Oxford, v. 21, p. 345-357, 1981.

GRIER, H. J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cells barrier. In: RUSSELL, Id., GRISWORLD, M.D. **The Sertoli Cell**. Clearwater: Cache River Press, 1993. p. 704-739.

GRIER, H, J. The germinal epithelium: its dual role in establishing male reproductive classes and understanding the basis for indeterminate egg production in female fishes. **Institute of Marine Sciences**, Mississippi, v. 53, p. 537-552, 2002.

GRIER, H. J.; TAYLOR, R. G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, London, v. 53, n. 3, p. 521-542, 1998.

GRIER, H.J. Chordate testis: the extracellular matrix hypothesis. **J. Exp. Zool.** Muzaffarnagar, v. 261, n. 2, p. 151-160, 1992.

HUNTINGFORD, F. A.; CHELLAPPA, S. Agressão. In: YAMAMOTO, M. E.; VOLPATO, G.L. (Org.). **Comportamento animal**. Natal: Editora da UFRN, 2006.

JOHNSON, J. I. Individual recognition affects aggression and dominance relations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Ethology**, Berlin, v. 103, p. 267-282, 1997.

JOHNSON, J. I.; SERNLAND, E.; BLIXT, M. Sex-specific aggression and anti-predator behaviour in young brown trout. **Ethology**, Berlin, v. 107, n. 7, p. 587-599, 2001.

KAUFMANN, J. H. On the definitions and functions of dominance and territoriality. **Biol. Rev.**, Cambridge, v. 58, p.1- 20, 1983.

KUMEDA, H. H. **Efeito da interação sexual do jundiá (*Rhamdia quelen*) no desenvolvimento gonadal e qualidade dos gametas**. 2014. 50 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2014.

LEAL, M. C.; CARDOSO, E. R.; NÓBREGA, R. H.; BATLOUNI, S. R., BOGERD, J.; FRANÇA, L. R.; SCHLZ, R. W. Histological and Stereological Evaluation of Zebrafish (*Danio rerio*) Spermatogenesis with an Emphasis on Spermatogonial Generations. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 81, p. 177-187, 2009.

LILEY, N. R.; STACEY, N. E. Hormones, pheromones and reproductive behaviour. In: HOAR, W. S., RANDALL, D. J.; DONALDSON, E. M. (Eds.) **Fish physiology**. New York: Academic Press, 1983. v. 9B. p. 1-63.

MAGELLAN, K.; KAISER, H. The function of aggression in the swordtail, *Xiphophorus helleri*: resource defence. **Journal of Ethology**, Berlin, v. 28, n. 2, p. 239-244, 2009.

MAGURRAN, A. E.; GARCIA, M. Sex differences in behaviour as an indirect consequence of mating system. **Journal of Fish Biology**, Chichester, v. 57, p. 839-857, 2000.

MARQUES, L. L.; SANTOS, T. G. dos; GOULART, A. V.; CATARDO, L. da S.. Interações agonísticas em peixes *Betta splendens* (Osphronemidae), Universidade Federal do Pampa. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2013, Bagé. **Anais...** Bagé: Universidade Federal do Pampa, 2013. p. 1.

MAZEAUD, M. M.; MAZEUD, F.; DONELSON, E. M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p. 201-212, 1977.

- MELO, F. C. S. A.; MALDONADO, I. R. S. C.; BENJAMIN, L. A.; MATTA, S. L. P. Biologia reprodutiva de fêmeas de lambari-prata *Astyanax scabripinnis* (Characidae: Tetragonopterinae) em tanques de piscicultura. **Rev. Ceres**, Viçosa, MG, v. 52, n. 304, p. 811-829, 2005.
- NAVARRO R. D.; SILVA R. F.; RIBEIRO FILHO O. P.; CALADO L.L.; REZENDE F.P.; SILVA C.S.; SANTOS L.C. Comparação morfométrica e Índices somáticos de machos e fêmeas do lambari prata (*Astyanax scabripinnis* Jerenyns, 1842) em diferente sistema de cultivo. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 24, n. 2, p. 165-176. 2006.
- NOBREGA, R. H.; BATLOUNI, S. R.; FRANÇA, L. R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. **Fish Physiology and Biochemical**, Chicago, v. 35, p. 197-206, 2009.
- OLIVEIRA, R.F., ALMADA, V.C. On the (In)stability of dominance hierarchies in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. **Aggress. Behav.**, Chichester, 1996, v. 22, p. 37–45, 1996.
- PARENTI, L. R.; GRIER, H. J. Evolution and Phylogeny of Gonad. Morphology in Bony Fishes. **Integr. Comp. Biol.**, Oxford, v. 44, p. 33–348, 2004.
- PINHO NETO. C. F. **Influência do gênero nas disputas agressivas em juvenis de tilápia-do-Nilo**. 2011. 16 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Relatório de Pesquisa) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, 2011.
- PINHO-NETO, C. F.; MIYAI, C. A.; SANCHES, F. H.; GIAQUINTO, P. C.; DELICIO, H. C.; BARCELLOS, L. J.; VOLPATO, G. L.; BARRETO, R.E. Does sex influence intraspecific aggression and dominance in Nile tilapia juveniles? **Behavioural Processes**, Amsterdam, v. 105, p. 15-18, 2014.
- PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; FORESTI, F. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO. B.; GOMES, L.C. (Eds.). **Espécies nativas para piscicultura**. Santa Maria: UFSM; 2005. p. 105-120.
- PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B. Cultivo do Lambari: uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. **Panor. Aquic.**, Laranjeiras, n. 67, p. 15-19. 2001.
- POSTIGEL-QUIRINO, P. As implicações da elevação da temperatura na duração da espermatogênese em *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). 2017. 62 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, 2017.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 181-191, 2013.

QVARNSTROM, A.; FORSGREN, E. Should females prefer dominant males? **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 13, p. 498–501, 1998.

REICHARD, M.; BRYJA, J.; ONDRACKOVÁ, M.; DAVIDOVÁ, M.; KANIEWSKA, P.; SMITH, C. Sexual selection for male dominance reduces opportunities for female mate choice in the European bitterling (*Rhodeus sericeus*). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, p. 1533-1542, 2005.

RIDLEY, M. **Animal Behaviour**: an introduction to behavioral mechanisms, development and ecology. 2. ed. Atlanta: Blackwell Science, 1995. 288 p.

ROCHA, H. C. **Estudo do comportamento agonístico em juvenis de truta**. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

RODRIGUES, M. da S.; SIQUEIRA-SILVA, D. H. de; POSTINGEL-QUIRINO, P.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Spermatogenesis in the Yellowtail Tetra *Astyanax altiparanae*: a histological analyses with emphasis to spermatogonial and spermatid types. **Bol. Inst. Pesca.**, São Paulo, v. 41, (p. 697-705, 2015.

RODRIGUES, M. da S.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.de; QUIRINO, P. P.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The efficiency of spermatogenesis and the support capacity of Sertoli cells in Characiformes. **Theriogenology**, Stoneham, v. 103, p. 149-152, 2017.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; VICENTINI, C. A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; NINHAUS-SILVEIRA, A. Reproductive cycle of the Neotropical cichlid yellow peacock bass *Cichla kelberi*: A novel pattern of testicular development. **Neotropical Ichthyology**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 587-596, 2013.

SCHRECK, C. B.; CONTRERAS-SANCHEZ, W.; AND FITZPATRICK, M. S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, p. 3–24, 2001.

SCHULZ, R. W.; FRANÇA, L. R.; LAREYRE, J. J.; LE GAC, F. CHIARINI-GARCIA, H.; NOBREGA, R. H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinology**, Maryland Heights, v. 165, p. 390-411, 2010.

SCHULZ, R.W.; MENTING, S.; BOGERD, J.; FRANÇA, L. R.; VILELA, D. A. R.; GODINHO, H. P. Sertoli cell proliferation in the adult testis-evidence from two fish species belonging to diferente orders. **Biol Reprod**, Oxford, v. 73, p. 891-898, 2005.

SILVA, J.V.; ANDRADE, D.V.; OKANO, W.Y. Desenvolvimento sexual e crescimento de lambaris – tambiú, *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 submetidos a diferentes tipos de alimentação. **Arquivo de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, p. 47-54,1996.

TURNBULL, J. F.; ADAMS, C. E.; RICHARDS, R. H.; ROBERTSON, D. A. Attack site and resultant damage during aggressive encounters in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 159, p. 345–353, 1998.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Ed da UEM, 1996.

VAZZOLER, A. E. A. de M. **Manual de métodos para estudos biológicos de populações de peixes; reprodução e crescimento**. Brasília, DF: CNPq, 1981. 108 p.

VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. **Ciclo reprodutivo e cinética da espermatogênese do Dourado (*Salminus maxillosus* Valenciennes, 1849)**. 2003. 60 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, 2003.

VILELA, D. A. R.; SILVA, S. G. B.; PEIXOTO, M. T. D.; GODINHO, H. P.; FRANÇA, L. R. Spermatogenesis in teleost: insights from the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) model. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 28, p. 187-190, 2003.

VOLPATO, G. L.; FERNANDES, M. O. Social control of growth in fish. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 27, p. 797-810, 1994.

VOLPATO, G. L.; FRIOLI, P. M. A.; CARRIERI, M. P. Heterogeneous growth in fishes: some new data in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and a general view about the cusal mechanisms. **Boletim of Physiology Animal**, [S. l.], v. 13, p. 7-22, 1989.

WEDEMEYER, G. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 29, n. 3, p. 1247–1251, 1969.

WOOTTON, R. J. **Ecology of teleost fish**. London: Chapman and Hall, 1999. 404 p.

YAMAMOTO, M. E.; CHELLAPPA, S.; CACHO, M. S. R. F.; HUNTINGFORD, F. A. Mate guarding in a Amazonicum cichlid, *Pterophyllum scalare*. **Journal Fish Biology**, [S. l.], v. 55, n. 4, p. 888-891, 1999.