



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FUP-FACULDADE UnB DE PLANALTINA
TCC EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS NATURAIS

Tamanho não é documento: alometria no gonopódio do peixe *Phalloceros harpagos*

Autor: William da Ponte Meneses

Orientador: Dr. Prof. Eduardo Bessa Pereira da Silva

Brasília-DF

2019

Universidade de Brasília
FUP-Faculdade UnB de Planaltina
TCC em Licenciatura em Ciências Naturais

Tamanho não é documento: alometria no gonopódio do peixe *Phalloceros harpagos*

Orientador: Dr. Prof. Eduardo Bessa

Trabalho de Conclusão de Curso à Faculdade UnB de Planaltina como parte dos requisitos necessários para a conclusão do curso de Licenciatura em Ciências Naturais.

Brasília-DF

2019

“Acho que descobri (e isto é uma suposição!) um modo simples pelo qual as espécies se tornam perfeitamente adaptadas a diversas finalidades”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

São tantas pessoas que fizeram parte da minha vida e que me transformaram, que faltará espaço e palavras para descrever a minha gratidão pelos ensinamentos, oportunidades, e momentos inesquecíveis que vivi durante a minha formação.

Primeiramente quero agradecer a minha família que me ama, me dá forças e sempre esteve comigo nos momentos mais difíceis de minha vida. Agradeço a minha mãe Liduina Ferreira da Ponte Meneses e ao meu pai Francisco Evando Ximenes Meneses, que estiveram comigo todos os dias de minha vida me dando amor, segurança, me incentivando a estudar e me ensinando valores de honestidade e solidariedade. Quero agradecer a minha irmã Nyanne da Ponte Meneses que é a minha inspiração para os estudos, minha conselheira e amiga. Agradeço a minha irmã mais velha Nayara da Ponte Meneses Calixto que esteve comigo nos momentos mais difíceis, dando conselhos e sendo a minha confidente, demonstrando o tamanho amor que tem por mim. Agradeço a minha sobrinha Laura Meneses de Brito, filha da minha irmã mais velha Nayara, por ser uma garotinha tão alegre, inteligente e que todos da família amam muito!

Quero agradecer a toda equipe de saúde do Hospital Sarah Kubitschek e Hospital Universitário de Brasília que me ajudaram no tratamento da minha patologia de Osteogênese Imperfeita e por ter melhorado a minha qualidade de vida. Agradeço especialmente ao ortopedista do Hospital Sarah, Dr. Claudio Alberto Dorna Sartori, e ao endocrinologista do Hospital Universitário de Brasília, Dr. Luiz Claudio Gonçalves de Castro por terem feito parte do meu tratamento desde quando era criança.

Sou muito feliz por ter muitos amigos que formei da Universidade de Brasília e amigos de infância e adolescência que levo para toda vida. Fico agradecido por cada pessoa que se tornou a minha amiga ou meu amigo durante esses anos, que me ensinou, conversou, se divertiu e estudou junto comigo. Amigos especiais e que sempre estarão em minha vida, são: Bruno César Alves da Costa, Fernando Macena, Calienes Schlender, Felipe Lazio, Diego Roberto Bezerra, Maurício Vieira dos Santos, Paulo Henrique da Silva Pau Ferro, Leonardo Gomes, Andrezza Felisberto, Geovanna Videres, Daniele Rodrigues e tantos outros que poderia escrever um livro repleto de boas memórias.

Agradeço aos professores da Faculdade UnB de Planaltina, que fizeram parte da minha graduação e que estarão em minhas memórias todas as vezes que irei lecionar ou realizar qualquer tipo de pesquisa. O meu agradecimento em especial irá para o professor e doutor

Eduardo Bessa Pereira da Silva por ser o meu orientador, por ter me apresentado a uma área científica tão interessante, curiosa e até muitas vezes divertida: o Comportamento Animal.

Agradeço ao Pedro Aquino Uchoa de Podestà por ter coletado o material de estudo desta pesquisa e pelos materiais de pesquisa e pelos conhecimentos passados. Os meus profundos agradecimentos vão para as doutoras e professoras Julia Klaczko e Veronica Slobodian que foram excepcionais me apresentando o laboratório de anatomia comparada de vertebrados, de maneira que já sentia bem-vindo e totalmente integrante àquele grupo fabuloso de pesquisadores. Fornecendo referencial teórico, me ensinando sobre alometria, morfometria geométrica, fisiologia de vertebrados e principalmente o meu terror, a estatística.

Agradeço aos estudantes de biologia que fazem parte do laboratório de anatomia comparada de vertebrados, que já considero como meus novos amigos, e que me ajudaram todas as vezes que eu ia ao laboratório, quando eu tirava fotos de peixes ou fazia as análises estatísticas. Sou grato pelo Wellington Coelho e pelo Bruno Penã Corrêa que compartilharam de seus conhecimentos de biologia, morfometria geométrica e fotografia.

Tenho amor e fui feliz nos projetos de extensão que participei na Faculdade UnB de Planaltina e por isso os agradeço. Agradeço ao PET-Ciências e ao Escola nas Estrelas que me moldaram e fizeram parte na minha formação como professor e cidadão, no qual me permitiu levar as ciências para diferentes lugares e me fez chegar às regiões do país ainda não conhecidos por mim.

Por fim quero agradecer a Universidade de Brasília e a todos os profissionais e pessoas que nela estão inseridas, trabalhando ou estudando, porque a UnB me tornou diferente, me tornou uma pessoa crítica e ativa capaz de fazer a diferença na sociedade. A UnB sempre estará em minhas memórias e já considero a minha segunda casa, onde fui feliz, fiz novas amizades, me apaixonei e aprendi que a educação dá voz para aqueles que tantas vezes estão calados.

RESUMO

A família Poeciliidae, do grupo dos Cyprinodontiformes, consiste em peixes com dimorfismo sexual, fêmeas maiores do que os machos, e que realizam fecundação interna. Os machos deste grupo possuem uma nadadeira anal modificada, conhecida como gonopódio. Os Cyprinodontiformes habitam zonas tropicais, nos continentes americanos e na Oceania, e neste grupo estão 299 espécies que são onívoras. A espécie estudada nesta pesquisa é *Phalloceros harpagos*, cuja etimologia do nome é: (*Phallus* = falo; *Cerus* = chifres). A competição espermática, na qual os machos desta espécie disputam para garantir que o esperma fecunde o óvulo da fêmea, pode afetar o comprimento da genitália, que entregará esperma mais próximo ao óvulo. Este estudo pretende compreender como o comprimento do gonopódio de *Phalloceros harpagos*, um Poeciliidae do cerrado brasileiro, varia em função do comprimento do macho, procurando avaliar se ele cresce proporcionalmente ao corpo (isometria) ou se cresce desproporcionalmente (alometria). Foram realizadas estudo de morfometria com base em fotografias com os espécimes, das quais obtivemos medidas de comprimento padrão (CP), comprimento do gonopódio (CG) e comprimento da cabeça (CA). A regressão linear dessas medidas foi analisada para avaliar sua proporcionalidade e sua variação entre as diferentes bacias estudadas. O gonopódio teve crescimento alométrico negativo, com variações de tamanho consistentes com a proximidade geográfica. Esta é uma das primeiras evidências da ocorrência do fenômeno *one size fits all* em peixes, no qual um tamanho de genitália se adequa a qualquer tamanho de parceira, aumentando a chance de que um macho consiga acasalar com qualquer que seja a fêmea que o aceitar, evidenciando a atuação de seleção estabilizante no crescimento da genitália em vertebrados.

Palavras-chave: Genitália; Comportamento Sexual; Peixe barrigudinho; *Phalloceros harpagos* e Seleção Sexual.

INTRODUÇÃO

A genitália dos machos varia surpreendentemente em tamanho, forma e cor nas diferentes espécies (LANGERHANS et al., 2010). Dois possíveis resultados dessa diversidade são o isolamento reprodutivo e consequente especiação e o aumento do sucesso reprodutivo do indivíduo devido à competição espermática (EBERHARD, 1996). Com o avanço dos estudos de seleção sexual e comportamento reprodutivo, muitos autores investiram na compreensão deste órgão (BIRKHEAD; MØLLER, 1998; DEVIGILI et al., 2017; THORNHILL, 1983). As pesquisas sobre a morfologia do órgão sexual masculino são importantes para compreendermos as estratégias que os animais adotam para ter o sucesso reprodutivo, gerando mais herdeiros.

Uma estratégia adotada pelos machos para superar concorrentes em populações com fêmeas poliândricas, fêmeas que realizam cópulas com mais de um macho, é a competição espermática (BIRKHEAD; MØLLER, 1998). Ela é definida como o uso de agentes que coíbem a fecundação do esperma que já fora ejaculado por outro macho competidor (ALCOCK, 2009). Quando o esperma de dois ou mais machos já estão dentro do corpo da fêmea, esses competem para alcançar o óvulo para a fecundação (DEVIGILI et al., 2017). Alguns mecanismos possíveis na competição espermática envolvem sêmen tóxico (JOHNSTONE; KELLER, 2000), aumento do volume espermático (MAZZOLDI; PETERSEN; RASOTTO, 2005), mas também outros relacionados à genitália masculina, como genitálias ornamentadas que causam ferimentos na fêmea inibindo novas cópulas (CÓRDOBA-AGUILAR; UHÍA; RIVEIRA, 2003) ou retiram o esperma de parceiros anteriores (JOHNSTONE; KELLER, 2000), além de genitálias mais longas para entregar o esperma mais próximo ao óvulo (ARNQVIST, 1998).

Outra decorrência comumente estudada da variação morfológica em genitálias masculinas é o isolamento reprodutivo, que pode resultar na especiação mesmo em simpatria (LANGTON-MYERS; HOLWELL; BUCKLEY, 2019). As genitálias podem funcionar numa relação de chave-fechadura (LANGTON-MYERS; HOLWELL; BUCKLEY, 2019), impedindo a cópula entre indivíduos de espécies diferentes e evitando a hibridização e consequentemente na produção de descendentes estéreis. Essa especiação acontece de maneira simpátrica, quando não há um limite geográfico que isole os indivíduos, mas eles ficam tão diferentes que formam novas espécies por serem incapazes de copularem entre si, seja por consequência da seleção pós-cópula, seja pelo isolamento reprodutivo, essas alterações morfológicas na genitália têm grande importância evolutiva.

Uma das formas de se analisar alterações morfológicas é por meio da alometria estática, que é a comparação de tamanho de uma parte do corpo com o tamanho total do corpo entre

indivíduos em estágio semelhante de desenvolvimento (EGSET et al., 2012). Para animais que possuem dimorfismo sexual, a alometria pode indicar que a característica é preferida pelas fêmeas ou confere maior chance de sucesso em combates aos machos (THORNHILL, 1983). Um exemplo de alometria é o desenvolvimento das galhadas de alces e renas, que, quando são grandes têm função para aumentarem a chance de sucesso na seleção intrasexual (ALCOCK, 2009). Outro exemplo envolve o desenvolvimento de uma característica preferida pela fêmea, como é o caso da alometria estática detectada na nadadeira anal de peixes do gênero *Xiphophorus* Heckel, 1848 (MORRIS; WAGNER JR; RYAN, 1995) da família Poecillidae de Cyprinodontiformes. No entanto, a alometria estática tem limitações por analisar somente indivíduos adultos e com maturidade sexual, ao invés de realizar uma análise macroevolutiva ou ontogênica do caráter do organismo.

A relação alométrica é postulada por uma função exponencial $y = \alpha x^\beta$, cujo y e x são os valores dos tamanhos de traço e do corpo, respectivamente, α é a constante alométrica, e β é o coeficiente alométrico (EGSET. et al., 2012). Segundo Egset. et al. (2012) numa escala logarítmica a relação exponencial se torna linear: $\log(y) = \log(\alpha) + \beta \times \log(x)$ onde $\log(\alpha)$ é o intercepto e β o coeficiente angular. Esse coeficiente angular quando igualado à 1 ($\beta = 1$) determina que o órgão em análise, no caso a genitália masculina, cresce proporcional ao crescimento do corpo (GOULD, 1966). Isto indicaria que não há uma pressão seletiva para um investimento diferenciado no desenvolvimento da genitália. Contudo, o coeficiente angular pode ser diferente de 1. A alometria negativa ($\beta < 1$) sugere que o órgão cresce mais devagar que o corpo. Indivíduos pequenos têm o órgão reprodutor relativamente maior e indivíduos grandes têm genitália relativamente pequena. Já a alometria positiva ($\beta > 1$) indica que a genitália cresce aceleradamente, com indivíduos tendo uma genitália desproporcionalmente grande em relação a seus corpos (EBERHARD, 2017).

Estudos realizados até o momento focaram majoritariamente invertebrados, principalmente as aranhas e insetos, revelando que há uma alometria negativa nesses animais (EBERHARD, 2009). Estes estudos sugerem que esses animais passaram por uma seleção sexual estabilizadora do tamanho da genitália, chamada de *one size fits all* (uma forma que serve para todos), que restringe o tamanho do órgão copulador em proporção ao tamanho do canal genital feminino, com a vantagem de permitir a cópula com fêmeas de diferentes tamanhos (EBERHARD, 2009; EGSETT et al., 2012). Apesar de um estudo com o hemipênis de lagartos do gênero *Anolis* (KLACZKO; STUART, 2015), existem poucos estudos sobre alometria genital em vertebrados. Ainda não foram explorados estudos de morfometria

comparada da genitália em peixes e muitos outros vertebrados, porém a seleção críptica feminina e a competição espermática são assuntos de muitos trabalhos com a família Poeciliidae.

Os Cyprinodontiformes, da família Poeciliidae, conhecidos como poecilídeos, são peixes que realizam fecundação interna e possuem dimorfismo sexual, no qual as fêmeas são maiores do que os machos (LUCINDA, 2008). A cerca de 299 espécies desta família, popularmente conhecidos como barrigudinhos ou guarus (REIS; KULLANDER; FERRARIS, 2003), são encontradas em zonas tropicais, abundantes no continente americano e podem ser encontrados também na Austrália (RAFFERTY, 2008).

O gênero *Phalloceros* Eigenmann, 1907, pertencente à família Poeciliidae, é composto de peixes pequenos que se distribuem amplamente nas bacias hidrográficas do sul e sudeste da América do Sul (LUCINDA, 2008). Os barrigudinhos são onívoros, se alimentando de restos de organismos que caem nos sedimentos, algas e larvas de mosquito (MONACO et al., 2014). *Phalloceros* apresenta um prolongado período reprodutivo e são utilizados como indicadores para biomonitoramento, porque indicam ótimas condições no ecossistema em que se encontra (MONACO et al., 2014). No cerrado brasileiro, *Phalloceros harpagos* Lucinda, 2008, é endêmico tendo uma numerosa prole em corpos d'água de cabeceiras.

O modo de reprodução destes peixes difere dos demais porque ocorre cópula entre machos e fêmeas com o uso de um órgão derivado da nadadeira anal do peixe, o gonopódio, que é utilizado para colocar o espermatozoide no corpo da fêmea (LANGERHANS et al., 2010). Em *Phalloceros harpagos* o gonopódio, possui espinhos, daí o nome do gênero (*Phallus* = falo; *Cerus* = chifres), que podem ter alguma função na seleção pós cópula. As fêmeas da família Poeciliidae são poliândricas, realizando assim a seleção críptica (DEVIGIL et al., 2016; THORNHILL, 1983). Nesta espécie o formato e tamanho do gonopódio deve ter relação com a estratégia feminina de seleção críptica, porém poucos estudos foram feitos para analisar como as fêmeas escolhem os seus parceiros neste grupo (LANGERHANS et al., 2010).

Nossa pesquisa é pioneira ao analisar a existência de alometria do gonopódio em peixes da espécie *Phalloceros harpagos*. Pretendemos aqui identificar qual o padrão para o crescimento do gonopódio em relação ao comprimento do corpo (isométrico, alométrico positivo ou negativo), para espécimes de *P. harpagos* coletados em corpos d'água do Distrito Federal. Outro objetivo deste estudo é identificar se há variações dos coeficientes alométricos entre os peixes coletados em diferentes bacias hidrográficas e aqueles provenientes de rios da mesma bacia, para testar se existe uma variação biogeográfica na morfologia dos gonopódios e se ela apresenta correlação com a proximidade dos rios. A importância desta pesquisa é compreender como o ambiente, a predação, a seleção sexual e demais fatores ambientais

influenciam a evolução morfológica da genitália masculina, afetando o sucesso reprodutivo e modificando o comportamento dos machos.

METODOLOGIA

Material de Estudo

Esse estudo foi realizado com peixes pertencentes à coleção ictiológica da UnB, com os números de tombo dos materiais e suas seguintes especificações: CIUnB 108, nº:13, Córrego Vicente Pires (V6), Bacia do Alto Paraná, Brasília-DF coordenadas (-15,820694; -48,02075); CIUnB 116, nº:30, Córrego Cana do Reino (9), Bacia do Alto Paraná, Brasília-DF, coordenadas (-15,781; -48,013194); CIUnB 303, nº:41, Córrego Capetingo (FAL), Bacia do Alto Paraná, Brasília-DF, coordenadas (-15,946506; -47,937744); CIUnB 338, nº:42, Córrego Capetingo (foz,FAL), Bacia do Alto Paraná, Brasília-DF, coordenadas (-15,939386; -47,939436); CIUnB 442, nº:75, Córrego do Cocho/2, Bacia do Alto Paraná, Brasília-DF, coordenadas (-15,8676619; -47,881689); CIUnB 943, nº:21, Rio Pípiripau (trecho 21), Bacia do Alto Paraná, Brasília-DF, coordenadas (-15,58141; -4750549) e CIUnB 1410, nº:92, Rio Salinas, Morro da Pedreira, Bacia do Alto Tocantins, Brasília-DF, coordenadas (-15,738836;-47,586992).

Os peixes foram coletados por Pedro Aquino Uchôa de Podestà em diferentes datas de 2005 a 2015 em diversos corpos d'água do Distrito Federal, pertencentes à Bacia do Alto do Paraná e Bacia do Alto do Tocantins (AQUINO et al., 2009). O clima da região estudada é do tipo "Aw", segundo a classificação de Köppen, com temperaturas constantemente altas e precipitações concentradas no verão e período seco acentuado nos meses de agosto e setembro (PINTO, 1993).

Os espécimes foram coletados com uma peneira de mão com 30 cm de raio e 2 mm de malha para capturar os animais em seus habitats naturais (COUTO; AQUINO, 2011). Quando capturados, os peixes foram anestesiados numa solução 4,5 mg/ml cloridrato de lidocaína, para depois serem fixados em formalina 10% e, finalmente, transferido após 3 dias para uma solução de álcool a 70%. A lidocaína é um método de eutanásia eticamente aceitável pela Associação Médica Veterinária (AMV, 2013).

Coleta dos dados

Foram analisados 110 indivíduos machos de *Phalloceros harpagos* com mais de 14 mm de comprimento padrão. As fêmeas, filhotes e espécimes que estavam deteriorados eram retirados da análise. Como essa espécie fora descrita recentemente (LUCINDA, 2008), o

comprimento de primeira maturação sexual ainda é desconhecido. Fizemos uma estimativa conservadora de modo a buscar apenas indivíduos adultos. Essa estimativa fora feita medindo o comprimento padrão do menor peixe, repetidas vezes, elaborando um limite matemático com o valor de 14 mm, logo indivíduos com comprimento padrão menor do que este era considerado filhote e os demais maiores eram analisados.

Utilizamos uma câmera Canon® EOS 40D, 10 MP, digital SLR e com uma lente de 100 mm, mais um tripé e uma fonte luminosa para fotografar os espécimes de peixes do sexo masculino (Figura 1). Junto ao espécime fotografado era colocado um papel milimetrado como escala de 5 mm para servir de gabarito para as medidas. No programa ImageJ, foram tiradas as medidas lineares ortogonais de comprimento padrão (CP), comprimento do gonopódio (CG) e comprimento da cabeça (CA) de cada indivíduo, para as análises morfométricas.

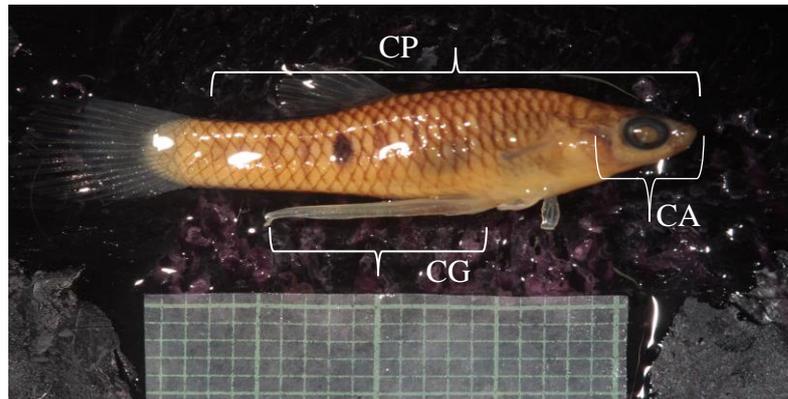


Figura 1. Imagem de um macho da espécie *Phalloceros harpagos*, do Córrego da Capetingo, Distrito Federal. (CP) comprimento padrão do corpo, (CG) comprimento do gonopódio e (CA) comprimento da cabeça. A escala da imagem é de 5 mm.

Análise estatística

As medidas log-transformadas foram plotadas num gráfico de dispersão apresentando uma análise de regressão linear, com o eixo y (ordenada) classificado como tamanho do gonopódio, variável resposta, e o eixo x (abscissa) como tamanho padrão do corpo, variável preditora (Figura 2), apresentando também a linha de regressão. O mesmo foi feito tendo como variável preditora o comprimento da cabeça. Nessas análises o coeficiente angular (o slope b) linha de regressão indica se o crescimento do gonopódio em relação ao CP e CG é isométrico ($b = 1$), apresenta alometria positiva ($b > 1$) ou alometria negativa ($b < 1$). O r^2 nos informa o coeficiente de correlação, ou determinação, entre os dados, numa correlação, e sua significância foi aferida por testes t e p .

A seguir, separamos os dados coletados dos espécimes de duas bacias hidrográficas localizadas no Distrito Federal (PINTO, 1993), Alto do Paraná e Alto Tocantins. Calculamos um índice de alometria do gonopódio para cada bacia, dividindo o comprimento do gonopódio pelo comprimento padrão. Então realizamos uma ANOVA (análise de variância) e comparando se existem diferenças no índice do gonopódio entre as diferentes bacias. Foram medidos 64 espécimes masculinos de diferentes trechos da Bacia do Paraná, e foram analisados 46 machos de *Phalloceros harpagos* do Rio Salinas, do Morro da Pedreira, Bacia Alto do Tocantins.

Por fim foi utilizada outra ANOVA para calcular as variações da taxa de alometria do gonopódio referente aos sete trechos de diferentes corpos d'água do Distrito Federal, utilizando do mesmo índice comprimento do gonopódio sobre comprimento padrão (CG/CP). Com essa análise foi possível analisar todos os elementos em vários grupos.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no Excel (MICROSOFT, 2019) e no r, versão 2.10.0 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010).

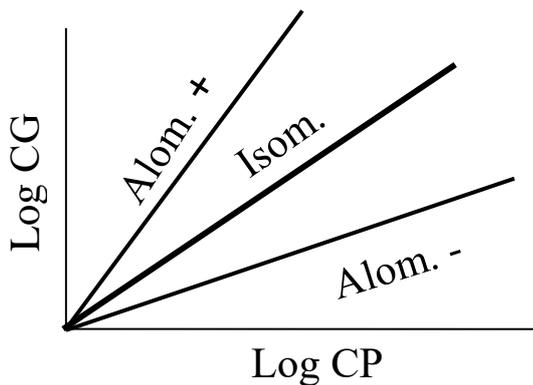


Figura 2. Gráfico log-log do comprimento do gonopódio (CG) em relação ao comprimento padrão (CP). Representação dos modelos lineares para a isometria ($\beta = 1$), alometria positiva ($\beta > 1$) e alometria negativa ($\beta < 1$).

RESULTADOS

A análise do comprimento do gonopódio (CG) em relação ao comprimento padrão (CP), indicou uma alometria negativa na Bacia Alto Paraná ($\beta < 1$; $r^2 = 0,6424$; $p = 1,78810 \cdot 10^{-15}$; Tabela 1). A alometria dos peixes da Bacia do Alto Tocantins foi ($\beta < 1$; $r^2 = 0.5464$; $p = 4,454 \cdot 10^{-09}$). Já em relação ao comprimento da cabeça na primeira bacia, foi verificado um crescimento alométrico negativo ($\beta < 1$; $r^2 = 0.5361$; $p = 4,454 \cdot 10^{-09}$). O comprimento da cabeça na segunda bacia não foi significativo para alometria negativa ($\beta < 1$; $r^2 = 0,03724$; $p = 0,1049$).

Tabela 1. Valores da regressão linear para alometria do comprimento do gonopódio versus comprimento padrão. (b) coeficiente angular; o erro da análise e os valores de t e p, demonstram a significância da análise.

Alometria	Coeficiente angular (b)	Erro	Valor de t	Valor de p
Genitália Alto do Paraná	0,99237	0,09404	10,553	$1,788.10^{-15}$
Genitália Alto do Tocantins	0,7750	0,1065	7,280	$4,45.10^{-09}$
Cabeça do Alto do Paraná	0,75926	0,08705	8,723	$2,23.10^{-12}$
Cabeça do Alto do Tocantins	0,2352	0,1421	1,656	0,1049

Fracionando esta alometria pelas diferentes bacias analisadas (Tabela 1), houve variações do coeficiente angular da regressão linear sendo que os espécimes do Alto Paraná têm maior coeficiente angular (Figura 3) e aqueles indivíduos da Bacia do Alto Tocantins têm menor coeficiente angular (Figura 4), quando foram testados na hipótese de regressão linear diferente ou igual a 1.

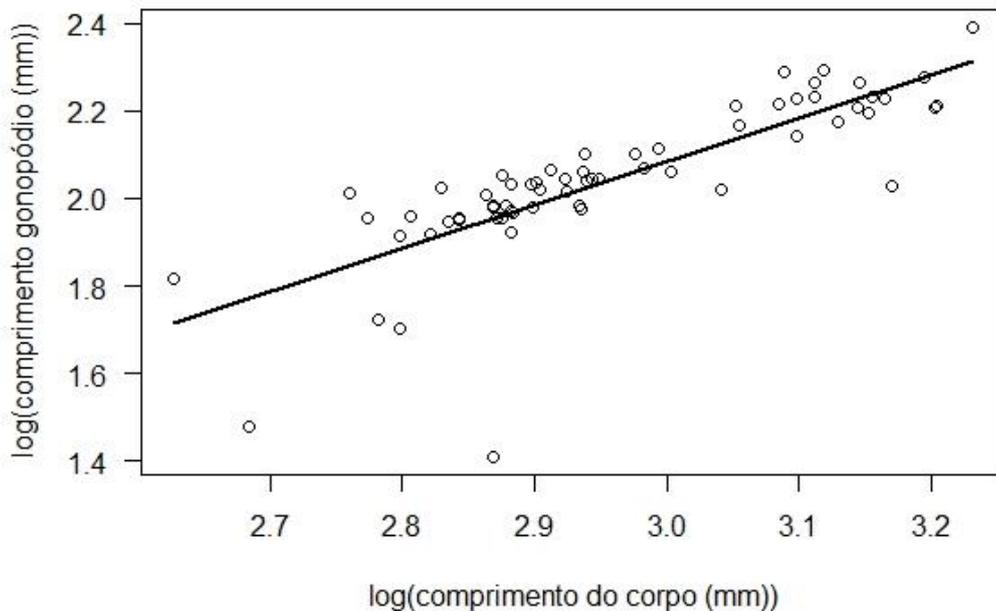


Figura 3. Regressão linear dos 64 espécimes machos da Bacia Alto do Paraná.

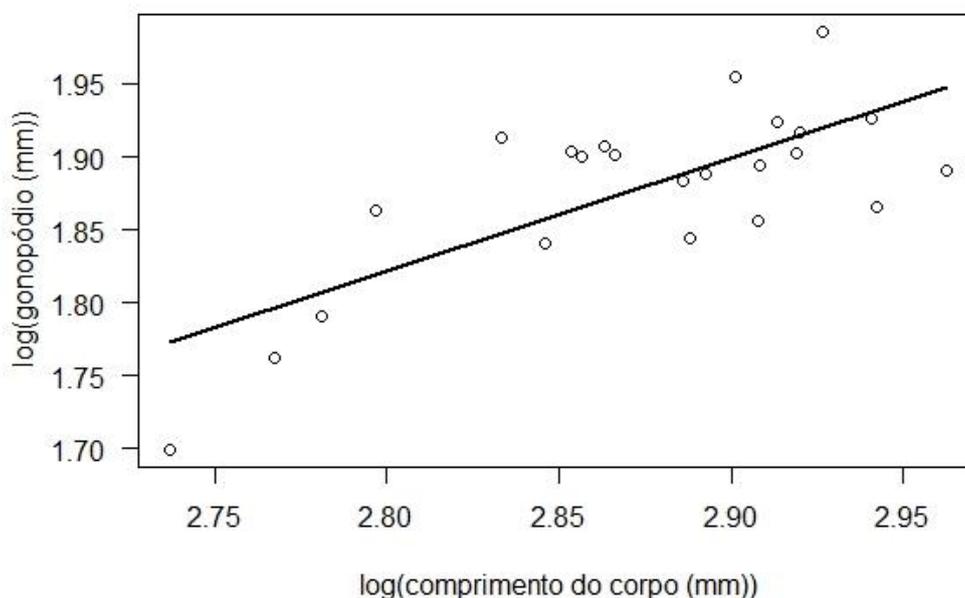


Figura 4. Regressão linear dos 46 espécimes machos da Bacia Alto do Tocantins.

O índice entre comprimento do gonopódio e comprimento padrão (CG/CP) foi diferente entre as duas bacias analisadas, Alto Paraná e Alto Tocantins ($F = 0,991$, $p = 0,322092$; Figura 5). O mesmo não aconteceu para o índice entre comprimento da cabeça e comprimento padrão (CA/CP, figura 6) com um variado valor de significância ($F = 13,549$; $p = 0,000386$). Os resíduos desta ANOVA foram analisados pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk resultando à um valor menor do que 1 ($W = 0,95996$) e com p significativo ($p < 0,05$).

Também comparamos o índice de comprimento do gonopódio por comprimento padrão nos sete córregos e trechos amostrados (Córrego do Vicente Pires, Rio Pipiripau, Córrego Cana do Reino, Córrego do Cocho, Alto Córrego Capetingo, Baixo Córrego Capetingo, Bacia do Alto Paraná; e Rio Salinas, na Bacia do Alto Tocantins). O índice foi mais próximo entre os riachos da mesma bacia. Foi feito o teste de normalidade de Shapiro-Wilk com valor abaixo de 1 ($W=0,82739$) comprovando a coesão dos dados analisados ($p < 0,05$).

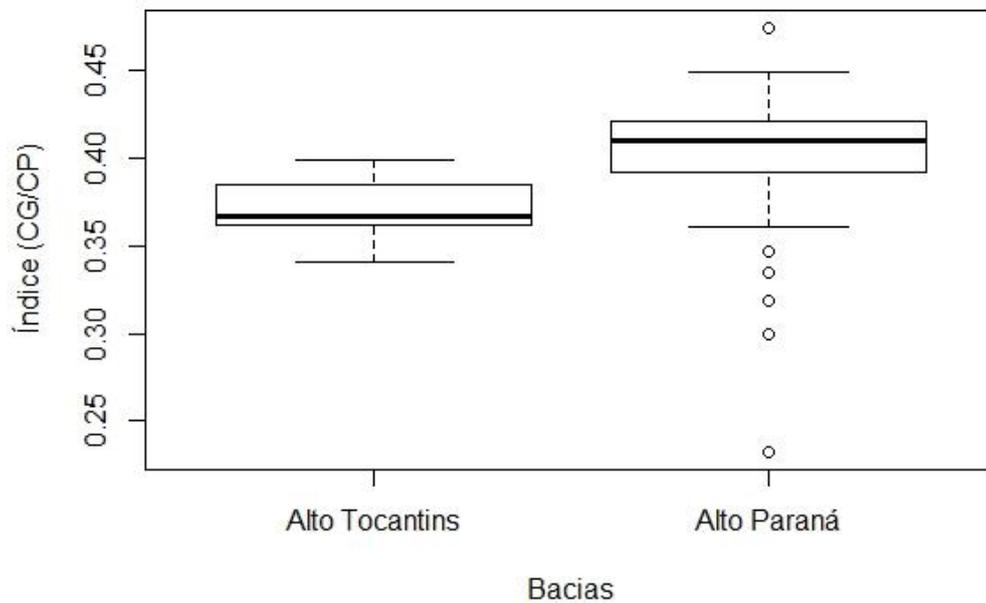


Figura 5. Boxplot do índice do comprimento do gonopódio em relação ao comprimento padrão. A linha horizontal larga representa a mediana, o box representa os quartis de 25% e 75%, as barras representam os valores mínimo e máximo e os círculos representam outliers.

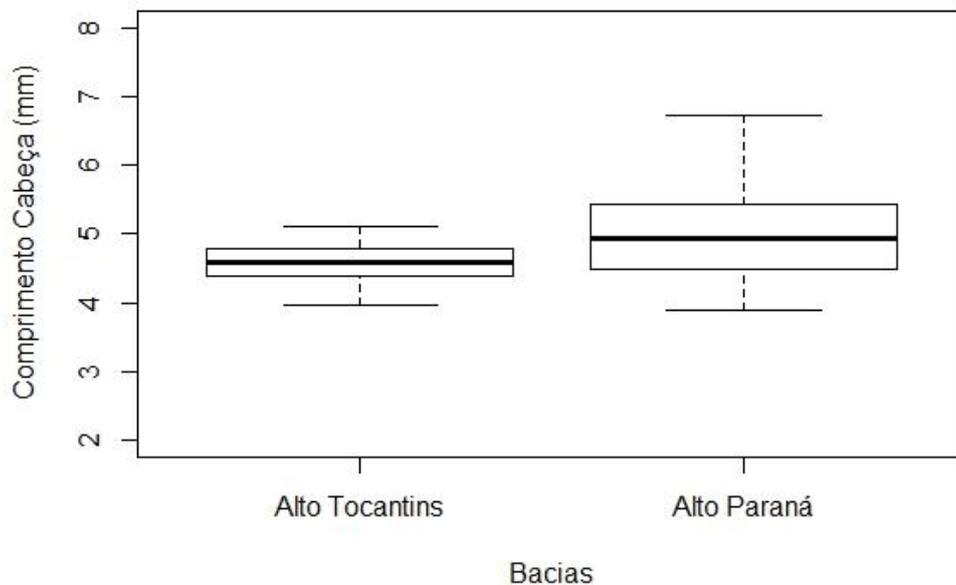


Figura 6. Boxplot do tamanho da cabeça nas duas bacias. Novamente a linha horizontal larga representa a mediana, o box representa os quartis de 25% e 75%, as barras representam os valores mínimo e máximo

DISCUSSÃO

Os resultados apontaram para alometria negativa da genitália masculina dos peixes barrigudinhos em relação ao CP. Esse padrão se repetiu em todos níveis analisados, nas diferentes bacias e córregos amostrados. O índice de comprimento do gonopódio pelo comprimento padrão (CG/CP) variou entre os córregos, sendo mais semelhantes nos riachos mais próximos, conforme a teoria biogeográfica prevê. A variação entre os gonopódios nos diferentes riachos pode decorrer de fatores ambientais, predação e seleção sexual (HEINEM-KAY et al., 2014).

O padrão alométrico negativo dos gonopódios destes peixes é explicado pela teoria de *one size fits all*, que sugere um tamanho de órgão sexual que serve para todas as fêmeas, pela ação de seleção sexual (EBERHARD, 2017). Consequentemente as cópulas podem acontecer entre animais cujas proporções de tamanhos de abertura genital sejam distintas. Sendo assim, a seleção sexual possibilita esta configuração de comprimentos do caractere de cópula como uma “batalha” intraespecífica entre machos e fêmeas, no qual o vencedor será aquele que passe os seus genes para prole (MAZZOLDI; PETERSEN; RASOTTO, 2005).

O sucesso reprodutivo do macho, que está relacionado ao número de parceiras com quem acasala, tem relação com o comprimento do órgão sexual, já que se ele não se adapta ao tamanho do canal sexual feminino impossibilitando a cópula (JOHNSTONE; KELLER, 2000). Outras estratégias para a competição espermática nessa espécie podem incluir cerdas e ganchos para prender a fêmea durante o acasalamento, impedir a estratégia de seleção críptica feminina e competir com os espermatozoides de outros machos (LANGERHANS et al., 2010), seja na maneira do esperma chegar mais rápido no gameta feminino ou eliminando o material genético do competidor (ARNQVIST, 1998).

Esse tipo de alometria negativa já foi documentado no grupo dos Artrópodes, como nos insetos, exemplos: mosquitos, besouros, libélulas e percevejos, e nos aracnídeos, como em algumas aranhas e escorpiões (EBERHARD, 2017). A teoria de *one size fits all* não aparecer somente em invertebrados, há também estudos com o hemipênis de lagartos do gênero *Anolis* (KLACZKO; STUART, 2015), existem poucos trabalhos com alometria negativa para vertebrados, sendo mais comum, contudo, a alometria positiva. Assim como nos estudos do hemipênis dos lagartos, ocorre uma seleção sexual estabilizante (SIMPSON, 1953) sobre o comprimento do gonopódio dos machos (CHENOWETH et al., 2007). Outro critério possível de seleção em *P.harpagos* que não foi testado em nosso estudo é a ornamentação do gonopódio.

Em *Xiphophorus hellerii* da família Poeciliidae, as fêmeas escolhem os machos com gonopódios mais ornamentados como fator de bons genes (LANGERHANS et al., 2010).

Os barrigudinhos retirados nos sete trechos demonstraram variação no índice CG/CP classificando que há variações na morfologia e tamanho deles. Quando comparados os indivíduos nas duas bacias, Bacia do Alto do Paraná e Bacia do Alto do Tocantins, houve pequenas variações nos comprimentos padrão e no gonopódio. Fatores ambientais como: correntezas, predação e propriedades físico-químicas da água são determinantes em modificar a morfologia, comportamento e tamanho do animal (HEINEM-KAY et al., 2014).

Os córregos onde os peixes barrigudinhos habitam apresentam pouco volume de água e os cursos d'água são irregulares (AQUINO, 2008) com trechos com maior e menor correnteza alternando-se. Embora não tenhamos dados sobre isso, trechos de maior correnteza podem selecionar gonopódios menores devido ao arrasto da água, como foi observado em diferentes medidas corporais em salmões e trutas de cativeiro (PAKKASMAA; PIIRONEN, 2000).

As espécies de peixes que habitam estes ambientes são pequenas, e por conta disso, não conseguem se deslocar por longos caminhos, tornando as populações isoladas e especializando aqueles que ficam agrupados num ponto, por conseguinte, os indivíduos modificados tornam-se endêmicos daquela região (AQUINO, 2008).

Também não temos dados sobre abundância de predadores nos diferentes trechos amostrados, mas outro fator que pode afetar o crescimento do gonopódio é a predação, com peixes dotados de maior gonopódio sendo alvos mais constantes (DEVIGILI et al., 2017), seja pela performance natatória, seja pela facilidade de visualização ou captura.

Supomos que a disponibilidade do íon de cálcio (Ca^{+2}) na água possa determinar o aumento do gonopódio, pois esse elemento é limitante no ambiente e constituinte estrutural do gonopódio. Havendo diferença na presença de cálcio nos diferentes trechos de coleta, proporcional ao pH desses rios – poderíamos esperar variação no tamanho do gonopódio (SCHEUHAMMER, 1991). Como não tivemos evidências concretas para que essas hipóteses fossem avaliadas, elas permanecem por serem testadas, embora no Cerrado, os mananciais e riachos possuem águas com pH um pouco abaixo do neutro, sendo consideradas ácidas (AGOSTINHO et al., 2004), no qual os organismos se adaptaram nessas condições.

Esse estudo sobre alometria e variação geográfica do gonopódio dos barrigudinhos possui limitações porque foi impossível observar o comportamento sexual e predileção das fêmeas pelos machos, enquanto também há estudos críticos da análise morfométrica e da hipótese do *one size fits all* como indicadores da evolução da morfologia genital (EBERHARD, 2017). A morfometria geométrica poderia trazer dados mais precisos e diversos em futuros estudos,

dando um panorama geral de como a morfologia, a forma da estrutura da genitália, influenciada pela preferência e anatomia feminina afeta o sucesso reprodutivo do macho. A hipótese de chave e fechadura (BERTIN; FAIRBAIRN, 2007), que consiste no encaixe dos órgãos genitais para especiação e sucesso reprodutivo, no estudo de genitálias está inserida neste contexto de morfometria e ressalta ainda mais a importância inicial de se estudar a forma para a evolução e seleção sexual, especialmente se estudos comportamentais futuros puderem se somar a essas análises.

As implicações evolutivas no comprimento da genitália dos peixes barrigudinhos estão totalmente relacionadas com o equilíbrio entre seleção sexual com a seleção natural atuando sobre a espécie. Para Darwin (1871), a seleção sexual é: a vantagem que certos indivíduos têm sobre outros do mesmo sexo e espécie, exclusivamente para a reprodução. A definição de Darwin (1871), sobre seleção sexual, se refere às características custosas e que reduzem as chances de sobrevivência para os indivíduos que as têm. Então, existe custos para o desenvolvimento da característica, incluindo o tempo e energia do animal requeridas para a produção das características escolhidas pelas fêmeas, o tornando vulnerável ao predador e limitando o desenvolvimento do animal (ALCOCK, 2009). Consequentemente, é necessário que haja um equilíbrio no número de atributos favoráveis para conquista de parceiros com outros que irão dar longevidade e sobrevivência àquele animal (DARWIN, 1859).

Como para a seleção natural e para a seleção sexual o objetivo é o sucesso reprodutivo, fenótipo de uma espécie é uma mescla de fatores chamativos para a corte de um parceiro como também fatores que favoreçam sua sobrevivência. Nesse estudo foi percebido esse equilíbrio pela observação do fenômeno de alometria negativa que tendia a escolha das fêmeas por machos maiores, mas com genitália pequena, ou machos menores com a genitália maior, tendendo para uma média de genitália decorrente deste equilíbrio.

CONCLUSÃO

Portanto esse estudo foi importante para compreender se o tamanho da genitália dos peixes barrigudinhos pode ser um critério de seleção sexual. Pudemos observar a variação dos comprimentos padrão e do gonopódio em diferentes trechos e essa variação pode ter ocorrido por conta de fatores ambientais de níveis de pH, força de correnteza da água, volume da água, predação e abundância de recursos. O CG apresenta alometria negativa em relação ao CP, fortalecendo a teoria do *one size fits all* e a variação de CG é significativa entre populações de diferentes bacias, mostrando que houve uma especiação decorrente do isolamento geográfico

entre estas populações, possibilitando até a formação de espécies crípticas. Neste estudo vimos que não houve relação significativa entre CG e CA, mas isso pode ter acontecido por termos analisados indivíduos maduros e não sabemos como um caractere estrutural atuou em alometria com a genitália. Com estes conhecimentos é possível observar que a capacidade de obter mais parceiras atua de forma estabilizadora, padronizando o comprimento do órgão genital dos machos, ao contrário do que poderia ser previsto pela escolha da fêmea por caracteres exagerados nos machos.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A; GOMES, L. C; SUZUKI, H.I; JÚLIO JR., H. F. *Migratory fishes of the upper Paraná river basin. In: CAROLSFELD, J.; HARVEY, B; ROSS, C; BAER, A. (eds.). Migratory fishes of South American: biology, fisheries and consevation status.* World Fisheries Trust, Word Bank, IDRC, 380p, 2004.

ALCOCK, J. *Comportamento Animal: Uma abordagem evolutiva. Título original: Aniamal Behavior: an evolutionary approach.* Editora Artmed. 9ª Edição. Porto Alegre, 2009.

AQUINO, P.U.P. *Distribuição da taxocenose íctica em córregos de cabeceiras da bacia do Alto rio Paraná, DF. Dissertação de mestrado em Ecologia.* Instituto de Biologia Universidade de Brasília. Brasília, 2008.

AQUINO, P.U.P; SCHNEIDER, M; SILVA, M.J.M; FONSECA, C.P; ARAKAWA, H.B; CAVALCANTI, D.R. *Ictiofauna dos córregos do Parque Nacional de Brasília, Bacia do Alto Rio Paraná, Distrito Federal, Brasil Central. Biota Neotrop, 217-230. São Paulo, 2009.*

ARNQVIST, G. *Comparative evidence for the Evolution of genitália by sexual selection.* Nature v.393, p.784-786, 1998.

AVMA. *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013.* Edition: American Journal of Veterinary Research. 68:921-924. Schaumburg, 2013.

BERTIN, A; FAIRBAIRN, D. J. *The form of sexual selection on male genitalia cannot be inferred from within - population variance and allometry—a case study in *Aquarius remigis*.* Evolution: International Journal of Organic Evolution, v. 61, n. 4, p. 825-837, 2007.

CHENOWETH, S. F. et al. *Male choice generates stabilizing sexual selection on a female fecundity correlate.* Journal of evolutionary biology, v. 20, n. 5, p. 1745-1750, 2007.

COUTO, T.B.A; AQUINO, P.U.P. *Structure and integrity of fish assemblages in streams associated to conservation units in Central Brazil.* p.445-454. Neotropical Ichthyology, 2011.

CÓRDOBA-AGUILAR, A; UHÍA, E.; RIVEIRA, A.C. *Sperm competition in Odonata (Insecta): the evolution of female sperm storage and rivals' sperm displacement.* The Zoological Society of London, v 261, p.381-398. United Kingdon, 2003.

DARWIN, C.R. *Origem das Espécies: a origem das espécies por meio da seleção natural ou a preservação das raças favorecidas na luta pela vida*. Título em inglês *On the Origin of Species*. 1859.4ª edição. Editora: Companhia das Letras, São Paulo, 2003.

DARWIN, C.R. *A Descendência do Homem e Seleção em Relação ao Sexo*. Título em inglês: *The descent of man, and selection in relation to sex*. Editora: HEMUS. 1871.

DEVIGILI, A; FITZPATRICK, J. L; GASPARINI, C; RAMNARINE, I.W; PILASTRO, A; EVANS, J.P. *Possible glimpses into early speciation: the effect of ovarian fluid on sperm velocity accords with post-copulatory isolation between two guppy population*. European Society for Evolutionary Biology, v.31, p.66-74. *Journal of Evolutionary Biology*, 2017.

EBERHARD, W. G. *Female control: sexual selection by cryptic female choice*. Princeton Univ, 1996.

EBERHARD, W.G. *Static allometry and animal genitalia*. *Evolution* v.63, p.48–66, 2009.

EBERHARD, W.G; HUBER, B.A; RODRIGUEZ, R.L.S; BRICEÑO, R.D; SALAS, I; RODRIGUEZ, V. *One size fits all? Relationships Between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders*. *Evolution International Journal of Organic Evolution*, SSE-Society for the Study Evolution, 2017.

EGSETT, C.K; HANSEN, T.F; LE ROUZIC, A; BOLSTAD, G.H; ROSENQVIST, G; PÉLABON, C. *Artificial selection on allometry: change in elevation but not slope*. *Journal of Evolution Biology*, v.25, p. 938-948. ESEB, 2012.

GOULD, S.J. *Allometry and Size in Ontogeny and Phylogeny*. *Biological Reviews*, v. 41, p.587-640, Issue 4. Cambridge Philosophical Society. Cambridge, 1966.

HEINEM-KAY, J.L; RYAN, N; MORRIS, K.E; BYERLEY, S.L. *A trade-off between natural and sexual selection underlies diversification of a sexual signal*. *Behavioral Ecology*, v. 26, p. 533-542, 2014.

JOHNSTONE, R.A; KELLER, L. *How Males Can Gain by Harming Their Mates: Sexual Conflict, Seminal Toxins, and the Cost of Mating*. *The American Naturalist*, v.156, p.368-377 2000.

KLACZKO, J; STUART, Y. *Hemipenial Allometry in Anolis grahami* Bio One, Journal of Herpetology, v. 49, No. 3, 462–467, 2015.

LANGERHANS, R. B; EVANS J.P; PILASTRO, A; SCHLUPP, I. *Genital evolution, Ecology and evolution of poeciliid fishes*, Chicago University of Chicago Press, 2010.

LANGTON-MYERS, S.S; HOLWELL, G.I; BUCKLEY, T.R. *Weak premating isolation between Clitarchus stick insect species despite divergent male and female genital morphology*. Journal of Evolutionary Biology, 2019.

LUCINDA, P.H.F. *Systematics and biogeography of the genus Phalloceros Eigenmann, 1907 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Poeciliinae), with the description of twenty-one new species*. Neotrop. ichthyol. vol.6 no.2 Porto Alegre, 2008.

MAZZOLDI, C; PETERSEN, C. W; RASOTTO, M.B. *The influence of mating system on seminal vesicle variability among gobies (Teleostei, Gobiidae)*. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 2005.

MONACO, I.A; SUAREZ, Y.R; LIMA-JUNIOR, S.E. *Influence of environmental integrity on feeding, condition and reproduction of Phalloceros harpagos Lucinda, 2008 in the Tarumã stream micro-basin*. Acta Scientiarum. Biological Sciences, v. 36, n. 2, p. 181-188. Maringá, 2014.

MORRIS, M.R; WAGNER JR.W. E; RYAN. M.J. *A negative correlation between trait and mate preference in Xiphophorus pygmaeus*. Animal Behaviour, 1193–1203. 1996.

PAKKASMAA, S; PIIRONEN, J. *Water velocity shapes juvenile salmonids*. Evolutionary Ecology, v. 14, n. 8, p. 721-730, 2000.

PINTO, M.N. Caracterização geomorfológica do Distrito Federal. In Cerrado: caracterização, ocupação e perspectiva (M.N. Pinto, coord.). Editora Universidade de Brasília, Brasília, 1993.

THORNHILL, R. *Cryptic female choice and its implications in the scorpionfly Harpobittacus nigriceps*. The American Naturalist v.122 ,p.765–788, 1983.

RAFFERTY. Guppy. Disponível no site: <https://academic-eb.britannica.ez54.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/live-bearer/48575>. 2008. Acessado no dia: 10/06/2018.

REIS, R.E; KULLANDER, S.O; FERRARIS, C.J. *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. EDIPUCRS, Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul Porto Alegre, 2003.

SIMPSON, G.G. *The major features of evolution*. Columbia Univ. Press, Garden City, New York, 1953.

SCHEUHAMMER, A. M. *Effects of acidification on the availability of toxic metals and calcium to wild birds and mammals*. *Environmental Pollution*, v. 71, n. 2-4, p. 329-375, 1991.