HIGO VINICIUS GOMES LIMA

ECOMORFOLOGIA E EFEITOS DOS PROCEDIMENTOS DE PRESERVAÇÃO EM *Astyanax lacustris* (LÜTKEN, 1875) (TELEOSTEI: CHARACIFORMES)

SERRA TALHADA, 2019

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

ECOMORFOLOGIA E EFEITOS DOS PROCEDIMENTOS DE PRESERVAÇÃO EM *Astyanax lacustris* (LÜTKEN, 1875) (TELEOSTEI: CHARACIFORMES)

Higo Vinicius Gomes Lima

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Ecologia, Conservação e uso da Biodiversidade de Ambientes Aquáticos.

Prof.(a) Dr.(a) RENATA AKEMI SHINOZAKI-MENDES
Orientadora

SERRA TALHADA,

2019

Dados internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada-PE, Brasil

L732e Lima, Higo Vinicius Gomes

Ecomorfologia e efeitos dos procedimentos de preservação em Astyanax lacustris (Lütken, 1875) (Teleostei: characiformes) / Higo Vinicius Gomes Lima. - Serra Talhada, 2019.

47 f. : il.

Orientadora: Renata Akemi Shinozaki Mendes

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, PE, 2019.

Inclui referências.

1. Ecomorfologia. 2. Peixe. 3. Semiárido brasileiro. I. Mendes, Renata Akemi Shinozaki, orient. II. Título.

CDD631

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

ECOMORFOLOGIA E EFEITOS DOS PROCEDIMENTOS DE PRESERVAÇÃO EM *Astyanax lacustris* (LÜTKEN, 1875) (TELEOSTEI: CHARACIFORMES)

Higo Vinicius Gomes Lima

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Biodiversidade e Conservação. Defendida e aprovada em 11/07/2019 pela seguinte Banca Examinadora.

_____

Prof[a]. Dr[a]. Renata Akemi Shinozaki-Mendes – Orientadora
[Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada]

_____

Prof. Dr. Diogo Martins Nunes – Membro Interno
[Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada]

_____

Prof. Dr. Dráusio Pinheiro Veras – Membro Externo
[Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada]

Aos meus pais, minha família, meus amigos, minha esposa e a todos aqueles que contribuíram ao longo dessa jornada.

“Quem tem um sonho não cansa!”

Agradecimentos

À Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) na pessoa da diretora geral Katya Sousa pela dedicação na gestão dessa instituição.

Ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação (PPGBC) da UFRPE/UAST nas pessoas do atual coordenador Airton Torres pela dedicação e empenho na resolução de questões institucionais; aos demais docentes que fazem parte do programa, em especial a André Laurênio, André Lima, Edgar Silva, Renata Akemi e Rogério Saraiva pelas ótimas aulas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

À Profª. Renata Akemi Shinozaki-Mendes, por todo ensinamento, apoio, compreensão, disponibilidade e por sempre estar presente. Sua orientação foi de muita importância para a finalização dessa obra.

Ao Prof. Elton França pela ajuda nas coletas, identificação da espécie alvo desde trabalho e demais contribuições.

Aos meus pais, minha maior fonte de inspiração, pelo amor que sempre me foi dado e por não medirem esforços para que eu chegasse até aqui. A importância de vocês é algo inexplicável. Mainha e Painho, eu não conseguiria chegar até aqui sem o apoio de vocês. MUITO OBRIGADO!

Aos meus irmãos, Micaelly e Yuri, por todo apoio e por todo amor que nos envolve desde pequenos. Obrigado por estarem comigo nos momentos bons e ruins.

À Sílvia Letícia, por ser luz em meio à escuridão. Sou eternamente grato por todo apoio que meu deu.

Aos meus amigos Paulo Eduardo e Mateus Bezerra que me acompanham desde o ensino médio.

À turma 2017.2 do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da UAST (Jayne, Joécio e Phillipe).

.

Resumo

Objetivou-se com o presente estudo caracterizar as variações morfológicas entre três populações de *Astyanax lacustris* provenientes da bacia hidrográfica do Pajeú, semiárido do Nordeste brasileiro, antes e após o processo de preservação em álcool, formol e congelamento. As capturas foram realizadas entre março e junho de 2018 com auxílio de tarrafas, puça e armadilhas artesanais. Um total de 380 indivíduos foram capturados, sendo 114 da barragem de Brejinho, 145 da barragem do Jazigo e 121 do riacho do Brejo. Para análise de morfometria geométrica os espécimes foram fotografados individualmente com auxílio de uma câmera digital acoplada a um tripé com distância focal de 50mm. Para determinação da forma corporal foram selecionados 13 marcos anatômicos. Através da Análise de Componentes Principais e Análise de Variável Canônica foi possível verificar que as populações da barragem de Brejinho e riacho do Brejo foram as que apresentaram maiores diferenças em relação à forma. A diversidade morfológica encontrada entre as populações de *A. lacustris* do presente estudo sugere uma forte influência abiótica no fenótipo dos espécimes. O congelamento a -14ºC é o método que mais altera a forma dos animais, seja a curto ou longo prazo. O formol a 10% alterou significativamente a forma dos animais ao decorrer dos seis meses, porém a curto prazo foi o que menos modificou a forma dos indivíduos. O etanol a 70% foi o método que menos modificou a forma dos espécimes ao final do experimento, sendo, portanto, o mais indicado para preservação a longo prazo. As regiões do corpo onde ocorreram as variações mais significativas foram nas regiões dorsal e ventral, além do pedúnculo caudal. O efeito mais comum é o encolhimento que ocorre quando a água corporal dos animais é perdida ou substituída por algum conservante. Esta pesquisa gerou informações detalhadas sobre a variação morfológica de *A. lacustris* provenientes de ambientes lóticos e lênticos, bem como as principais variações ocorridas na forma do corpo após o procedimento de preservação. Espera-se que as observações aqui relatadas sejam importantes, tanto do ponto de vista científico/acadêmico, contribuindo para o conhecimento da biologia da espécie, quanto para o seu manejo e conservação.

Palavras-chave: lambari, fixação, preservação, morfometria geométrica

Abstract

The objective of this study was to characterize the morphological variations between three populations of *Astyanax lacustris* from the Pajeú watershed, semi-arid Northeast Brazil, before and after the preservation process in alcohol, formaldehyde and freezing. Catches were taken between March and June 2018 with the aid of net, handles and handicraft traps. A total of 380 individuals were captured, of which 114 were from the Brejinho dam, 145 from the Jazigo dam and 121 from the Brejo stream. For analysis of geometric morphometry the specimens were photographed individually with the aid of a digital camera attached to a tripod with a focal length of 50mm. To determine body shape, 13 anatomical landmarks were selected. Through Principal Component Analysis and Canonical Variable Analysis it was possible to verify that the populations of the Brejinho dam and Brejo stream were the ones that presented the biggest differences in relation to the shape. The morphological diversity found among *A. lacustris* populations in the present study suggests a strong abiotic influence on the phenotype of the specimens. Freezing at -14ºC is the method that most changes the shape of animals, whether in the short or long term. This is because individuals lose a lot of water and there is no replacement of lost water. 10% formaldehyde significantly changed the shape of the animals over six months, but in the short term it was the one that least changed the shape of the individuals. 70% ethanol was the method that least changed the shape of the specimens at the end of the experiment and was therefore the most suitable for long term preservation. At regions of the body where the most significant variations occurred were in the dorsal and ventral, besides the caudal peduncle. The most common effect is the shrinkage that occurs when animal body water is lost or replaced with some preservative. This research generated detailed information about the morphological variation of *A. lacustris* from lotic and lentic environments, as well as the main variations in body shape after the preservation procedure. The observations presented here are expected to be important, both from a scientific / academic point of view, contributing to the knowledge of the biology of the species, as well as to its management and conservation.

Keywords: lambari, fixation, preservation, morphometric geometric.

Lista de figuras

Página

Introdução

Figura 1- Vista lateral de espécime de *A. lacustris* coletado no riacho do Brejo - Canaã-PE. 13

Artigo científico I

Figura 1- Localização dos pontos de coleta de *A. lacustris* na Bacia hidrográfica do Pajeú. A- barragem do Jazigo, B- barragem de Brejinho e C- riacho do Brejo. 25

Figura 2- Desenho ilustrativo de um exemplar de *A. lacustris* com identificação dos marcos anatômicos: 1- Centro do olho; 2- Porção anterior da mandíbula superior (ponta do focinho); 3- Região dorsal da cabeça; 4- Limite inferior da abertura opercular; 5- base do primeiro raio da nadadeira dorsal; 6- Base posterior do último raio da nadadeira dorsal; 7- Base anterior da nadadeira adiposa; 8- Base posterior da nadadeira adiposa; 9- Base antero dorsal da nadadeira caudal; 10- Base antero ventral da nadadeira caudal; 11- Base posterior da nadadeira anal; 12- Base anterior do primeiro raio da nadadeira anal; 13- Base anterior da nadadeira pélvica. 26

Figura 3- Distribuição de frequência do comprimento padrão (CP) de *A. lacustris* coletados na barragem de Brejinho, barragem de jazigo e riacho do Brejo. 27

Figura 4- *Scores* da análise de componentes principais (PC) para as populações de *A. lacustris*. Gráficos do tipo *wireframe* estão representando as deformações no PC1 e PC2. 28

Figura 5- Posição dos *scores* das três populações de *A. lacustris*, mostrando as diferenças na forma dos indivíduos de ambientes lênticos (barragem de Brejinho e barragem do Jazigo) e lótico (riacho do Brejo). Linha clara mostra a deformação de cada Variável Canônica em relação a configuração de referência (linha escura). 29

Artigo científico II

Figura 1- Localização dos 13 marcos anatômicos usados nas análises morfológicas, numeração e descrição. 1- Centro do olho; 2- Porção anterior da mandíbula superior (ponta do focinho); 3- Região dorsal da cabeça; 4- Limite inferior da abertura opercular; 5- base do primeiro raio da nadadeira dorsal; 6- Base posterior do último raio da nadadeira dorsal; 7-

Base anterior da nadadeira adiposa; 8- Base posterior da nadadeira adiposa; 9- Base antero dorsal da nadadeira caudal; 10- Base antero ventral da nadadeira caudal; 11- Base posterior da nadadeira anal; 12- Base anterior do primeiro raio da nadadeira anal; 13- Base anterior da nadadeira pélvica. 40

Figura 2- Gráfico do tipo *Wireframe* mostrando as principais mudanças ocorridas nos indivíduos de *A. lacustris* preservados em álcool, formol e congelamento durante 6 meses. Linhas em tom claro representa a configuração de referência e linhas em tom mais escuro representa a mudança ocorrida após o tempo de preservação. 41

Figura 3- Resultados da Análise de Variável Canônica (CVA) comparando CV1 e CV2 de indivíduos de *A. lacustris* fresco, após 24 horas, 1 mês e 6 meses em formol, álcool e congelamento. 42

Sumário

Página

Dedicatória 5

Agradecimento 6

Resumo 7

Abstract 8

Lista de Figuras 9

1- Introdução 12

2- Referências bibliográficas 16

3- Artigo científico 21

3.1- Artigo científico I 21

3.2- Artigo científico II 36

.

1- Introdução

A família Characidae compreende cerca de 165 gêneros e mais de 1.150 espécies, englobando a maior parte dos peixes brasileiros de água doce. Estão distribuídas ao longo dos sistemas fluviais entre o sudoeste do Texas, México e Patagônia, e em uma ampla variedade de ambientes que refletem suas grandes diversidades ecológicas e morfológicas (NELSON et al., 2016; ESCHMEYER et al., 2007). A maioria dos Characidae são peixes de pequeno porte (< 8 cm), de comprimento padrão podendo alcançar 20 cm no máximo em alguns gêneros predadores. Existem também espécies miniaturas, que podem atingir 26 mm de comprimento padrão, às vezes até menos (WEITZMAN e VARI, 1988).

Astyanax (Baird & Girard, 1854) possui 146 espécies, representando o gênero com maior riqueza dentre os Characiformes (FROESE e PAULY, 2018). Distribuem-se por praticamente toda a região Neotropical, onde habitam os mais diversos ambientes, como regiões montanhosas, trechos lóticos e leitos de rios, porções lênticas ou lagunares e nascentes (KAVALKO et al., 2008). As piabas ou lambaris, como são popularmente conhecidos, são caracterizados por alta plasticidade fenotípica e capacidade de adaptação a vários habitats (ORNELAS-GARCIA et al., 2008). Geralmente possuem período reprodutivo longo com desova múltipla, fertilização externa e sem cuidado parental (CARVALHO et al., 2009; ABILHOA, 2007).

Este gênero possui importância ecológica, comercial e evolutiva, destacando-se que várias espécies de *Astyanax* são fonte de renda e alimentação para pescadores artesanais e comunidades ribeirinhas (CARVALHO et al., 2009; PRADO et al., 2011). Este táxon possui também diversas espécies que são forrageiras para vários predadores, como por exemplo, traíra e tucunaré (ESTEVES, 1996). Além disso, muitas delas contribuem de forma considerável para a conservação da mata ciliar, atuando como dispersores de sementes (ORNELAS-GARCIA et al., 2008).

Astyanax é considerado um "complexo de espécies" que serve de modelo para estudos de evolução devido à sua variabilidade morfológica e cromossômica, assim como sua abrangente distribuição geográfica (MOREIRA-FILHO e BERTOLLO, 1991). O lambari-do-rabo-amarelo foi por muito tempo classificado como *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758). Entretanto, em revisões sistemáticas e filogenéticas feitas no gênero *Astyanax*, foi visto que *A. bimaculatus* não correspondia como uma só espécie. A mais recente revisão taxonômica de *Astyanax* das bacias do Paraná, São Francisco e Amazônia, gerou modificações da nomenclatura das espécies desse gênero. O lambari-do-rabo-amarelo passou a ser denominado

de *Astyanax altiparanae* Garutti e Britski (2000) (GARUTTI, 1995). Porém, em 2016, *A. altiparanae* foi considerada como espécie sinônimo júnior de *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) que passa a ser o nome válido (sinônimo sênior) desta espécie (LUCENA, 2016).

A. lacustris é caracterizado pela presença de nadadeiras pélvica, caudal e anal amareladas, sendo as demais nadadeiras levemente amareladas ou transparentes (LANGEANI e RÊGO, 2014). Atinge 10 a 15 cm de comprimento e 60 gramas de peso (Figura 1). É facilmente encontrado em córregos e rios da América do Sul. Possui dimorfismo sexual aparente, fêmeas maiores e machos com espinhos ásperos na nadadeira anal (PORTO-FORESTI et al., 2005). É uma espécie que possui hábito alimentar onívoro com tendência insetívora, mas se alimenta também de pequenos moluscos e microcrustáceos (SILVA et al., 2012).

Figura 1. Indivíduo de *Astyanax lacustris* coletado no riacho do Brejo – Canaã-PE

Algumas das características que têm tornado *A. lacustris* uma espécie modelo para diversas áreas de estudo (GARUTTI, 2003) é a facilidade de reprodução, ciclo de vida curto,

tamanho e fácil manuseio sob condições experimentais (ALMEIDA, 2007; VICENTE, 2014; OSTRENSKY et al., 2015).

A Ecomorfologia é o ramo da Ecologia que busca as relações existentes entre a morfologia (i.e. fenótipo) e os aspectos ecológicos (i.e. variação no uso dos recursos), investigando suas ligações ecológicas e evolutivas em níveis múltiplos, tais como indivíduos, populações, grupos filogenéticos e assembleias (MOTTA et al., 1995; PERES-NETO, 1999). Baseia-se ao conceito de adaptação, pois se aplica às estruturas que concedem desempenho ao indivíduo e no conceito de papel biológico, ou seja, como as estruturas são utilizadas ao longo da vida do organismo (BOCK VON WAHLERT, 1965). Estudos nessa área partem da estimativa de que a variação morfológica leva a diferenças funcionais e de desempenho que acarretam em diferenças de uso de recursos (MOTTA et al., 1995).

Alguns estudos Ecomorfológicos buscam responder algumas questões como a utilização dos recursos alimentares no ambiente (GATZ JR., 1979; WIKRAMANAYAKE, 1990; ADITE e WINEMILLER, 1997; HUGUENY e POUILLY, 1999; POUILLY et al., 2003; OLIVEIRA, 2005; OLIVEIRA et al., 2010; PAGOTTO et al., 2011) ocupação do nicho pela taxocenose (GATZ JR., 1979; WATSON e BALON, 1984) além do uso do hábitat (GATZ JR., 1979; WATSON e BALON, 1984; BREDA, 2005; CASSATTI e CASTRO, 2006).

A alta diversidade de espécies de animais, associada à variedade de ambientes que habitam, exige particularidades no método de coleta e preparação desses organismos para inclusão em coleções. As coleções de pesquisa possuem exemplares preservados, direta ou indiretamente, para o estudo científico. Este material está, geralmente, depositado em museus ou universidades. Podem ser coleções a nível regional, oriundas do inventário faunístico de uma determinada área geográfica, determinada formação rochosa, etc. Podem ainda ser coleções de identificação ou referência, que engloba alguns exemplares do maior número possível de espécies, quando viável cobrindo as variações intraespecíficas, seja causada pelo dimorfismo sexual, ontogenia e outros fatores (CARAMASHI, 1983).

A preparação de um espécime consiste em um conjunto de operações que tem por objetivo manter a integridade, preservando o máximo de características do animal vivo ou, pelo menos, as que são necessárias ao trabalho científico. A preparação é feita por soluções fixadoras e conservadoras (VANZOLINI e PAPAVERO, 1967).

O líquido fixador prepara os tecidos do animal para fase de preservação, sendo o formol o mais utilizado, considerado de uso universal; entretanto, o álcool e outras substâncias também são utilizadas (VANZOLINI e PAPAVERO, 1967). O formol comercial

é uma solução aquosa saturada de aldeído fórmico a 40%, sendo a concentração mais utilizada a de 10% desta solução. Ao utilizar esse fixador para animais de pequeno porte, os espécimes estarão fixados, em média, 48 horas após embebidos em formol. Já animais de grande porte precisam de 7 a 15 dias para atingir a fixação (VANZOLINI e PAPAVERO, 1967). O método de afogamento em formol, apesar de ser considerado cruel por alguns pesquisadores, em algumas situações, geralmente resulta em exemplares fixados com o corpo estendido e nadadeiras abertas, condições que facilita a identificação taxômica posterior (MALABARBA e REIS, 1987).

A fixação é o processo pela qual ocorre a coagulação dos conteúdos celulares dos exemplares, geralmente através do estabelecimento de pontes químicas, previamente inexistentes, entre cadeias proteicas adjacentes, tornando-os insolúveis e, como consequência, impedindo a autólise e decomposição dos tecidos e consequentemente dos exemplares (TAYLOR, 1977).

O líquido conservador mantém o animal preservado, sustentando suas principais características e evitando o ataque de outros organismos. O álcool é um conservador amplamente utilizado, geralmente usa-se na concentração de 70% (VANZOLINI e PAPAVERO, 1967). O processo de preservação permite que o material seja armazenado por tempo indefinido, sem alterações severas dos espécimes, evitando a destruição das células pelo processo de autólise e evitando o ataque de bactérias e fungos (CARAMASHI, 1983). Muitos pesquisadores utilizam a metodologia proposta por Vanzolini e Papavero (1967), onde os indivíduos são inicialmente fixados em formol 10% e em seguida preservados em álcool 70% (MARTINEZ et al., 2013; VERGARA-SOLANA, 2014).

Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi analisar as variações ecomorfológicas entre três populações de *A. lacustris* provenientes da bacia hidrográfica do Pajeú, semiárido do Nordeste brasileiro, e comparar morfologicamente as mudanças ocorridas nos exemplares submetidos à preservação em álcool, formol e congelamento. Espera-se que as observações aqui expostas sejam importantes, tanto do ponto de vista científico/acadêmico, contribuindo para o conhecimento da biologia da espécie, quanto para o seu manejo e conservação.

2- Referências bibliográficas

ABILHOA, V. Natural history aspects of *Astyanax scabripinnis* Jenyns (Teleostei, Characidae) in a Auracaria Forest stream in southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, p. 997-1005, 2007.

ADITE, A.; WINEMILLER, K.O. Ontogenetic, seasonal, and spatial variation in the diet of *Heterotis niloticus* (Osteoglossiformes: osteoglossidae) in the So River and Lake Hlan, Benin, Africa. **Environmental Biology of fishes**, v.73(4), p. 367-378, 1997.

ALMEIDA, R.B.C. *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação. 2007. 103p. **Tese (Doutorado)** – Instituto de Biociência – UNESP, Botucatu.

BOCK, W.J.; VON WAHLERT, G. Adaptation and the form-function complex; **Evolution**, v. 19, p. 269-299, 1965.

BREDA, L.; OLIVEIRA, E. F.; GOULART, E. Ecomorfologia de locomoção de peixes com enfoque para espécies neotropicais. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 27(4), p. 371-381, 2005.

BRITSKI, H.; SATO Y.; ROSA, A.B.S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chave de identificação para os peixes da bacia do São Francisco**. 3°ed. Minas Gerais: Ministério da Irrigação – CODEVASF. 1988. 105p.

CARAMASHI, U. **Manual de técnicas para a preparação de coleções zoológicas.** Campinas-SP. 1987. p.01-23.

CARVALHO, P.A.; PASCHOALINI, A. L.; SANTOS, G.B.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Reproductive biology of *Astyanax fasciatus* (Pisces: Characiformes) in a reservoir in southeastern Brazil. **Journal. Applied. Ichthyology**, v. 25, p. 306–313, 2009.

CASATTI, L.; CASTRO, R. M. C. Testing the ecomorphological hypothesis in a headwater riffles fish assemblage of the rio São Francisco, southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 4(2), p. 203-214, 2006.

ESCHMEYER W.N, FRICKE R, VAN DER LAAN R. (Eds) **Catalog of Fishes: Classification.** (2017). Disponível em: <http://www.calacademy.org/scientists/catalog-of-fishes-classification>. Acesso em: 10 de junho de 2019.

ESTEVES, K.E. Feeding ecology of three *Astyanax* species (Characidae, Tetragonopterinae) from a floodplain lake of Mogi-Guaçú River, Paraná River Basin, Brazil. **Environmental Biology of Fishes (Dordrecht)**, v. 46, p.83-101, 1996.

FROESE R, PAULY D. (EDS). FISHBASE (VERSION FEB 2018). IN: ROSKOV Y., OWER G., ORRELL T., NICOLSON D., BAILLY N., KIRK P.M., BOURGOIN T., DEWALT R.E., DECOCK W., NIEUKERKEN E. VAN, ZARUCCHI J., PENEV L., eds. (2018). **Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 30th October 2018**. Disponível em <www.catalogueoflife.org/col>. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. Acesso em: 15 de maio de 2019.

GARUTTI, V. **Piscicultura ecológica**. São Paulo: Editora UNESP, 2003. 332p.

GARUTTI, V. Revisão taxonômica dos *Astyanax* (Pisces, Characidae), com mancha umeral ovalada e mancha no pedúnculo caudal, estendendo-se à extremidade dos raios caudais medianos, das bacias do Paraná, São Francisco e Amazônica. 1995. 286p. **Tese de Livre-Docência –** Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto.

GATZ JR, A. J. Ecological morphology of freshwater stream fishes. Tulane Studies in **Zoology and Botany**, v. 21(2), p. 91-124, 1979.

HUGUENY, B.; POUILLY, M. Morphological correlates of diet in an assemblage of West African freshwater fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 54, p. 1310-1325, 1999.

KAVALKO, K.F. Estudos evolutivos no gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae). 2008. 197p. **Tese (Doutorado**) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LANGEANI, F.; RÊGO, A.C.L. **Guia ilustrado dos peixes da bacia do rio Araguari**. Uberlândia: CCBE, 2014. 195 p.

LUCENA C.A.S.; SOARES H.G. Review of species of the *Astyanax bimaculatus* "caudal peduncle spot" subgroup sensu Garutti & Langeani (Characiformes, Characidae) from the rio

La Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. **Zootaxa** 4072, p.101-125, 2016.

MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; Manual de técnicas para a preparação de coleções zoológicas. **Sociedade Brasileira de Zoologia (Campinas)**, v.36, p1-14, 1987.

MARTINEZ, P.A.; BERBEL-FILHO, W.M.; JACOBINA, U.P. Is formalin fixation and ethanol preservation able to influence in geometric morphometric analysis? Fishes as a case study. **Zoomorphology**, v. 132 (1), p. 87–93, 2013.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C. *Astyanax Scabripinnis* (Pisces, Characidae): A Species Complex. **Brazilian Journal Genetics**, v. 14, p.331-357, 1991.

MOTTA, P. J.; NORTON, S. F.; LUCZKOVICH, J. J. Perspectives on the ecomorphology of bony fishes. **Environmental Biology of Fishes**, v. 44(1-3), p. 11-20, 1995.

NELSON J.S.; GRANDE T.C.; WILSON M.V.H. **Fishes of the world. John Wiley and Sons, Hoboken**. New Jersey, 2016. 651p.

OLIVEIRA, E. F. Padrões Ecomorfológicos da assembleia de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil: efeitos das estruturas trófica, espacial e filogenética. 2005. 64p. **Tese (Doutorado) -** Universidade Estadual de Maringá. Maringá.

OLIVEIRA, E. F.; GOULART, E.; BREDA, L.; MINTEVERA, C. V.; PAIVA, L. R. S.; VISMARA, M. R. Ecomorphological patterns of the fish assemblage in a tropical floodplain: effects of trophic, spatial and phylogenetic structures. **Neotropical Ichthyology**, v. 8 (3), p. 569-586, 2010.

ORNELAS-GARCIA C.P.; DOMINGUEZ-DOMINGUEZ O.; DOADRIO I. Evolutionary History Of The Fish Genus *Astyanax* Baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) In Mesoamerica Reveals Multiple Morphological Homoplasies. **BMC Evolutionary Biology**, v. 8, p.340, 2008.

OSTRENSKY A.; PEDRAZZANI A.S.; VICENTE A.L.; Use of MS-222 (tricaine methanesulfonate) and propofol (2, 6-diisopropylphenol) as anaesthetics for the tetra *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). **Aquacultura Research**, v.47(11): 3477, p.88, 2015.

PAGOTTO, J. P. A.; GOULART, E.; OLIVEIRA, E. F.; YAMAMURA, C. B. Trophic ecomorphology of Siluriformes (Pisces, Osteichthyes) from a tropical stream. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71(2), p. 469-479, 2011.

PERES-NETO, P. R. Alguns métodos e estudos em ecomorfologia de peixes de riachos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 6(1), p. 7, 1999.

PORTO-FORESTI F.; CASTILHO-ALMEIDA R.; FORESTI F. Biologia e criação do lambari-do-rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: Baldisserotto B, Gomes LC. **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Santa Maria, RS: UFSM, 2005, p. 105-120.

POUILLY, M.; LINO, F.; BRETENOUX, J. G.; ROSALES. C. Dietary-morphological relationships in a fish assemblage of the Bolivian Amazonian floodplain. **Journal of Fish Biology**, v. 62, p. 1137-1158, 2003.

PRADO, P.S.; SOUZA, C.C.; BAZZOLI, N. & RIZZO.; E. Reproductive disruption in lambari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.74, p.1879-1887, 2011.

SILVA D.A.; PESSOA E.K.R.; COSTA S.A.G.L.; CHELLAPPA N.T.; CHELLAPPA S. Ecologia Alimentar de *Astyanax Lacustris* (Osteichthyes: Characidae) Na Lagoa do Piató, Assu, Rio Grande Do Norte, Brasil Macapá. **Biota Amazônica**, v. 2, n.1, p.74-82, 2012.

TAYLOR, W.R. An enzyme method of clearing and staining small vertebrates. **Proceedings of the United States National Museum**, v. 122 (3596), p. 1–17, 1967.

VANZOLINI, P.E.; PAPAVERO, N. (eds). **Manual de coleta e preparação de animais terrestres e de água doce**. Departamento de zoologia, São Paulo, 1967. 223p.

VERGARA-SOLANA F.J.; GARCIA RODRÍGUEZ, F.J.; De La CRUZ AGUERO, J.; Effect of preservation producere on the body shape of *Diapterus aurelous* (Teleostei; Gerreidae) and its repercussion in a taxonomic study. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 44(1), p. 65-70. 2014.

VICENTE A.L. Uso de óleos essenciais e de compostos sintéticos como agentes anestésicos para o lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000). 2014. **Dissertação (Mestrado) -** Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

WATSON, D. J.; BALON, E. K. Ecomorphological analysis of fish taxocenes in rainforest streams of northern Borneo. **Journal of Fish Biology**, v. 25, p. 371-384, 1984.

WEITZMAN, S. H. & VARI, R. P. Miniaturization in South American freshwater fishes; an overview and discussion. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.101(2), p.444-465, 1988.

WIKRAMANAYAKE, E. D. Ecomorphology and biogeography of a tropical stream fish assemblage: Evolution of assemblage structure. **Ecology, New York**, v. 71(5), p. 1756-1764, 1990.

3- Artigo científico

3. 1 - Artigo científico I

Artigo científico a ser encaminhado a Revista **Journal Of Fish Biology**.

Todas as normas de redação e citação, doravante, atendem as estabelecidas pela referida revista, exceto o idioma.

Ecomorfologia em piaba *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875) da Bacia hidrográfica do Rio Pajeú

Higo Vinicius Gomes Lima[1]; Renata Akemi Shinozaki-Mendes[2]

[1]Laboratório de Biologia Pesqueira, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Gregório Ferraz Nogueira, S/Nº, José Tomé de Souza Ramos, Serra Talhada, PE, Brasil,

[2]Laboratório de Biologia Pesqueira, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Gregório Ferraz Nogueira, S/Nº, José Tomé de Souza Ramos, Serra Talhada, PE, Brasil

Resumo

O objetivo do presente estudo foi verificar as variações ecomorfológicas entre as populações de *Astyanax lacustris* da Bacia Hidrográfica do Rio Pajeú e discutir as principais causas dessas mudanças. As coletas foram realizadas em três reservatórios do Semiárido Pernambucano, todos pertencentes à Bacia hidrográfica do Rio Pajeú, entre os meses de março e junho de 2018. Para verificar a variância da forma, uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada. A variação da forma corporal entre as populações foi verificada a partir da análise de variável canônica (CVA) e análises de função discriminante (DFA) e validações cruzadas. As maiores diferenças encontradas foram entre as populações da barragem de Brejinho e riacho do Brejo. Os indivíduos da barragem de Brejinho são caracterizados por corpo alongado, focinho longo e um pedúnculo caudal mais largo, enquanto os indivíduos do riacho do Brejo apresentam corpo fusiforme, cabeça robusta, focinho curto e pedúnculo caudal fino, havendo diferença significativa em suas formas ($p<0,05$). A diversidade morfológica encontrada entre as populações de *A. lacustris* do presente estudo sugere uma forte influência abiótica no fenótipo dos espécimes.

Palavras chaves Morfometria geométrica, divergência populacional, Teleostei

Introdução

Devido a grande diversidade morfológica e ecológica apresentada pelos peixes, estes apresentam grande potencial para estudos que avaliam as relações entre forma e função (Freire e Agostinho, 2001). A ordem Characiformes é um dos maiores grupos de peixes de água doce (Reis et al., 2003), apresentando uma grande diversidade morfológica e ecológica, estando presentes em todos os níveis tróficos, desde forrageiros constituindo a base da cadeia alimentar, até predadores de topo (Moreira, 2007).

Astyanax (Baird & Girard, 1854) possui 146 espécies, representando o gênero com maior riqueza dentre os Characiformes (Froese e Pauly, 2018). Sua distribuição vai desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina Central (Ornelas-Garcia et al., 2008). Este gênero é considerado um "complexo de espécies" que serve de modelo para estudos de evolução devido à sua variabilidade morfológica e cromossômica, assim como sua abrangente distribuição geográfica (Moreira-Filho e Bertollo, 1991).

Astyanax lacustris (Lütken, 1875), popularmente conhecido como piaba ou lambari, atinge 10 a 15 cm de comprimento, 60g de peso e é encontrado em pequenos córregos e afluentes das bacias hidrográficas da América do Sul (Porto-Foresti et al., 2005). Possui dimorfismo sexual aparente, fêmeas maiores e machos com espinhos ásperos na nadadeira anal (Castilho-Almeida, 2005; Foresti, 2005). Segundo Silva et al. (2012), *A. lacutris* possui hábito alimentar onívoro com tendência a insetivoria, mas se alimenta também de pequenos moluscos e microcrustáceos.

Populações alopátricas possuem variabilidade intrínseca dos caracteres morfológicos, genéticos e ontogenéticos, e esta é a matéria-prima que torna essas populações importantes modelos para o estudo da diversificação evolutiva (Badyaev et al., 2000). Segundo Shibatta e Artoni (2005), o isolamento populacional por meio de barreiras geográficas é o principal fator para ocorrência de especiação em *Astyanax*. Devido as diferenças ambientais encontradas nos mais diversificados ecossistemas, os organismos tendem a se adaptar conforme as pressões e variações ambientais que estão submetidos. Este processo evolutivo reflete a grande influência do ambiente nas adaptações (genotípica e fenotípica) dos organismos (Peres-Neto, 1999). Neste sentido, a Ecomorfologia se demonstra uma eficiente metodologia. Este ramo da Ecologia investiga como o ambiente age sobre o fenótipo dos organismos, através de pressões seletivas, selecionando-os de acordo com os recursos disponíveis naquele ambiente (Leisler e Winkler, 1995; Gomes et al., 2003).

Divergências morfológicas associadas ao habitat são bastante conhecidas em peixes de ambientes naturais, com indivíduos possuindo formas corporais hidrodinâmicas em habitats

lênticos e maior capacidade de locomoção em águas lóticas (Brinsmead e Fox, 2002; Langerhans et al., 2003; Langerhans, 2008; Tobler; Carson 2010; Collin e Fumagalli, 2011). Apenas recentemente, a divergência morfológica foi identificada como consequência de represamentos (Esguícero e Arcifa, 2010; Haas et al., 2010; AvanriFar et al., 2011; Franssen, 2011). Estes estudos mostraram que o represamento do rio causa mudanças de forma e compartilham um padrão comum de diferenças morfológicas, com diferenças fenotípicas representando respostas potencialmente adaptativas e seleções divergentes entre ambientes lênticos e lóticos.

Nesse contexto, objetivou-se analisar as variações ecomorfológicas entre três populações de *A. lacustris* pertencentes a Bacia Hidrográfica do rio Pajeú, e discutir as principais causas desse processo.

Material e métodos

Área de estudo

Os espécimes de *A. lacustris* foram coletados em três reservatórios (barragem de Brejinho, barragem do Jazigo e riacho do Brejo) do Semiárido Pernambucano, todos pertencentes à Bacia Hidrográfica do Rio Pajeú (Figura 1). A Bacia do Rio Pajeú está localizada entre 07º 16’ 20” e 08º 56’ 01” de latitude sul, e 036º 59’ 00” e 038º 57’ 45” de longitude oeste, com uma área de 16.838,70 km², correspondendo a 17,02% da área do Estado, a bacia do Rio Pajeú é a maior do Estado de Pernambuco (SECTMA, 1998). Toda a rede hidrográfica da Bacia, incluindo o principal rio, possui um regime sazonal-intermitente, com a interrupção do curso de água no período de estiagem. O clima da bacia hidrográfica do Pajeú é predominantemente semiárido com temperatura média mensal de 24ºC, apresentando uma evapotranspiração potencial superior a 1.200 mm/ano (Lins e Albuquerque, 2001). Embora pertencente à mesma bacia, observa-se que estes reservatórios possuem características ambientais distintas, como fluxo de água, cobertura vegetal e tipo de sedimento.

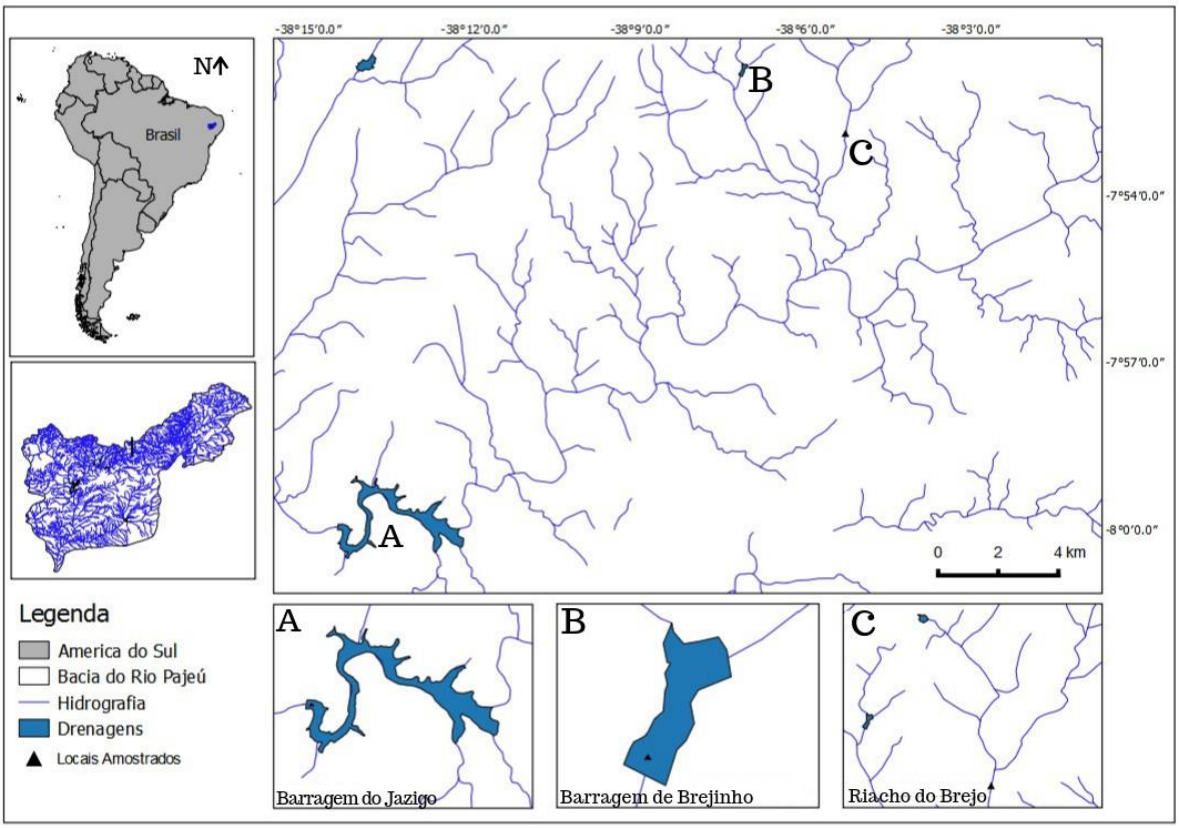

Figura 1 Localização dos pontos de coleta de *Astynax lacustris* na Bacia hidrográfica do Pajeú. A- barragem do Jazigo, B- barragem de Brejinho e C- riacho do Brejo.

Amostragem

As coletas foram realizadas, sob a licença SISBIO-24109-2, entre os meses de março e junho de 2018 com auxílio de tarrafa, puças e armadilhas artesanais (adaptado de Uieda & Castro, 1999). Foram amostrados três pontos em cada reservatório, totalizando nove pontos de coletas. Após as capturas, os espécimes foram anestesiados com eugenol e posteriormente levados ao Laboratório de Biologia Pesqueira da UFRPE/UAST, onde foram identificadas de acordo com o guia de identificação proposto por Britski (1988). Objetivando caracterizar o ambiente, amostras de solo e água foram coletadas em três diferentes pontos de cada localidade para, em seguida, ser realizada as análises granulométrica do solo e de pH da água.

Análise de dados

Imagens de cada indivíduo foram obtidas com auxílio de uma câmera digital com lente de 50 mm, acoplada a um tripé e paralelo ao plano. Foram estabelecidos 13 marcos anatômicos para representar a forma do corpo dos espécimes (Figura 2). Os marcos anatômicos foram alocados em cada imagem com o auxílio do software TpsDig2 2.31 (Rohlf, 2018). Em seguida, foi

realizada a superimposição de Procrustes usando o software MorphoJ (Klingenberg, 2011) para eliminar as variações de tamanho, orientação e posição para que somente a forma dos indivíduos das populações de *A. lacustris* pudesse ser analisada. Esta técnica sobrepõe todos os indivíduos, ajustando e centralizando as imagens em função dos marcos homólogos.

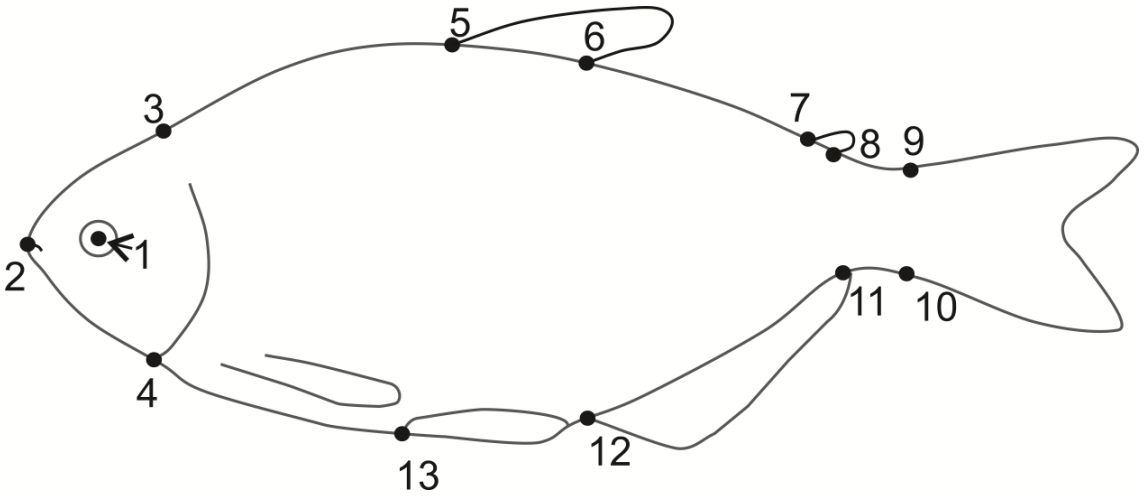

Figura 2 Desenho ilustrativo de um exemplar de *Astyanax lacustris* com identificação dos marcos anatômicos: 1- Centro do olho; 2- Porção anterior da mandíbula superior (ponta do focinho); 3- Região dorsal da cabeça; 4- Limite inferior da abertura opercular; 5- base do primeiro raio da nadadeira dorsal; 6- Base posterior do último raio da nadadeira dorsal; 7- Base anterior da nadadeira adiposa; 8- Base posterior da nadadeira adiposa; 9- Base antero dorsal da nadadeira caudal; 10- Base antero ventral da nadadeira caudal; 11- Base posterior da nadadeira anal; 12- Base anterior do primeiro raio da nadadeira anal; 13- Base anterior da nadadeira pélvica.

Para verificar a variação total da forma, uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada. A variação da forma corporal entre as populações foi comparada a partir da análise de variável canônica (CVA); análises de função discriminante (DFA) e validações cruzadas foram realizadas para cada par de variáveis, com o auxílio do software MorphoJ (Klingenberg, 2011). Para testar a significância das diferenças entre as populações foi realizado o teste de Hottelling (T^2) ($p<0,05$).

Resultados

A barragem de Brejinho está localizada no município de Triunfo, a 1.010 m de altitude. É um ambiente lêntico com razoável presença de macrófitas aquáticas, mata ciliar pouco preservada com trechos totalmente descampado, substrato composto principalmente por areia grossa, várias residências próximas às margens e grande circulação de veículos pelas muitas estradas que levam a essas casas.

Localizada a 419 m de altitude, no município de Serra Talhada, a barragem do Jazigo é um ambiente lêntico com grande presença de macrófitas aquáticas, substrato formado em grande maioria por areia grossa, mata ciliar degrada em vários trechos, principalmente em seu curso médio, onde existem atividades agropecuárias e algumas residências.

O riacho do Brejo fica localizado no distrito de Canaã, a uma altitude de 480 m, é um corpo d'água lótico de regime perene, não possui residências às margens, condição essa que proporciona uma mata ciliar bem preservada em toda sua extensão, possui razoável presença de macrófitas e um substrato formado principalmente por areia grossa.

Os exemplares apresentaram comprimento padrão (CP) variando de 2,9 a 6,73 cm na barragem de Jazigo, localidade essa que registrou os menores indivíduos de *A. lacustris*; 4,7 a 10,1 cm na barragem de Brejinho e 3,4 a 12,5 cm no Riacho do Brejo, localidade que foram encontrados os maiores espécimes (Figura 3). Todas as localidades apresentaram seus substratos predominantemente composto por areia grossa, sendo a barragem de Brejinho o local com a maior composição (99,29%), seguido por riacho do Brejo e barragem do jazigo com 97,80% e 94,06%, respectivamente, de areia grossa. De acordo com a análise de pH, o riacho do Brejo é o ambiente que possui o valor mais elevado, de 6,9. A barragem do Jazigo e Brejinho apresentaram valores próximos, 6,6 e 6,4 respectivamente.

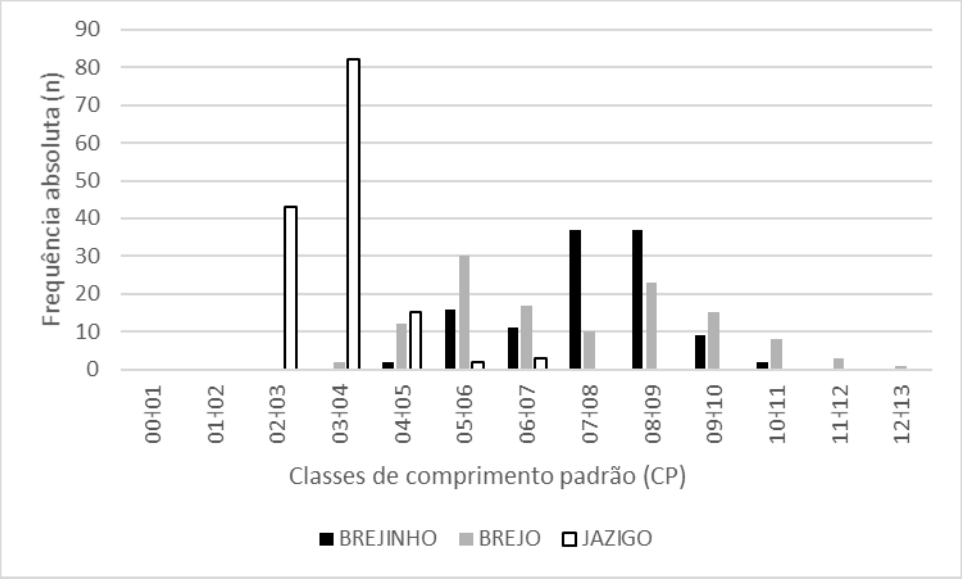

Figura 3 Distribuição de frequência do comprimento padrão (CP) de *Astyanax lacustris* coletados na barragem de Brejinho, barragem de jazigo e riacho do Brejo.

Ao analisar as Componentes Principais (PCA) que resultaram da variação da forma, observou-se uma variância de 31,99% para o primeiro componente (PC1) e 14,90% para o segundo componente (PC2). A espécie variou desde um formato de corpo fusiforme, cabeça robusta e pedúnculo caudal fino até um formato de corpo mais alongado com focinho mais comprido e pedúnculo caudal mais robusto (Figura 4).

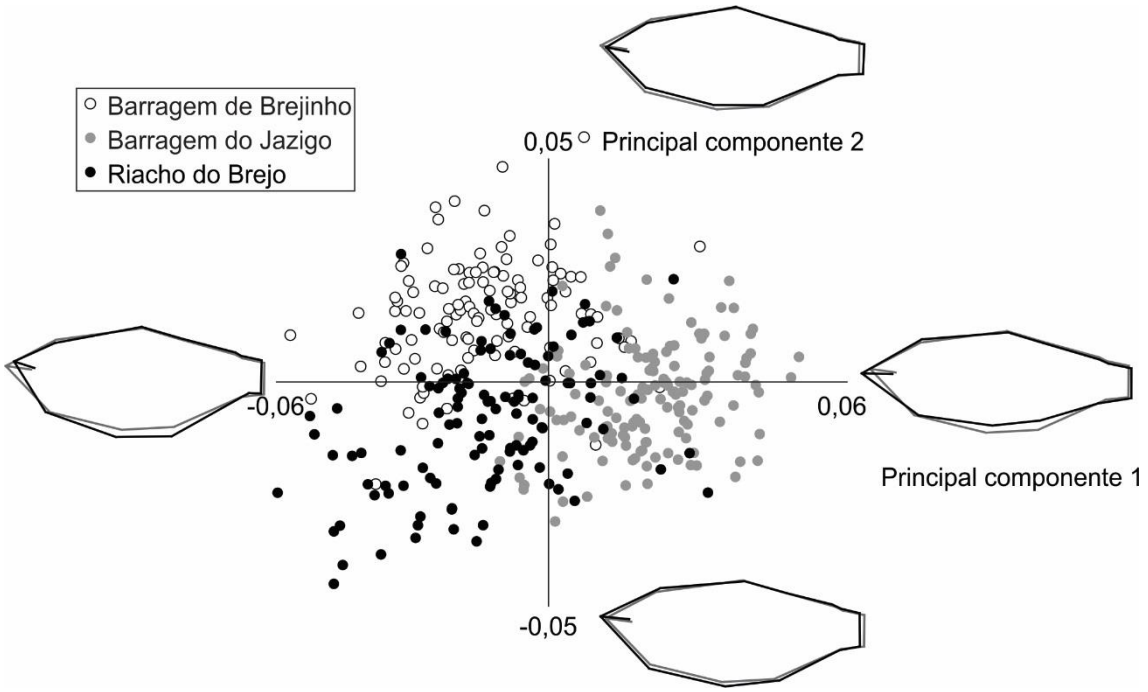

Figura 4 *Scores* da análise de componentes principais (PC) para as populações de *Astyanax lacustris*. Gráficos do tipo *wireframe* estão representando as deformações no PC1 e PC2.

A população do riacho do Brejo ocupou a região positiva do eixo canônico 1 (CV1). A região negativa desse mesmo eixo foi ocupada pela população da barragem Brejinho. A população da barragem do Jazigo distribui-se tanto na região positiva, como na região negativa do eixo canônico 1. Em relação ao eixo 2 (CV2), nota-se que a barragem do Jazigo ocupou a região negativa enquanto que os demais corpos d'água na região positiva deste eixo (Figura 5).

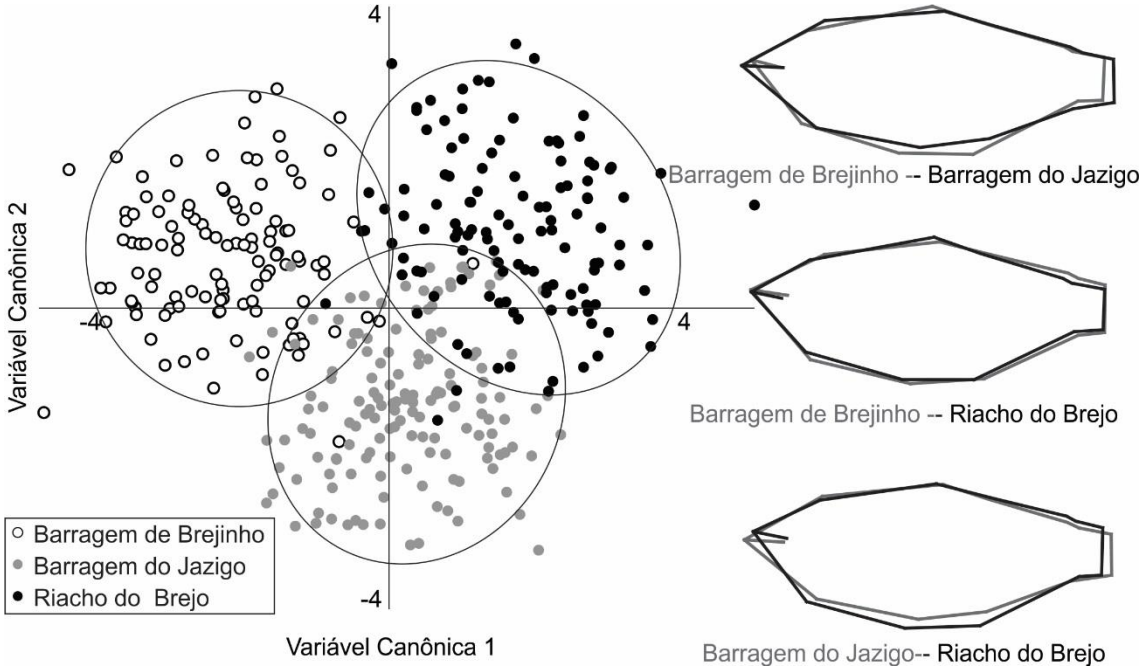

Figura 5 Posição dos *scores* das três populações de *Astyanax lacustris*, mostrando as diferenças na forma dos indivíduos de ambientes lênticos (barragem de brejinho e barragem do Jazigo) e lótico (riacho do Brejo). Linha clara mostra a deformação de cada variável canônica em relação a configuração de referência (linha escura).

Com base na análise de Variável Canônica, 67,17% da variância entre os grupos foi explicado pela primeira variável canônica (CV1) e 32,82% pela segunda variável (CV2), apresentando distâncias de Procrustes entre populações de 0,0245 para riacho do Brejo – barragem de Brejinho ($p < 0,0001$), 0,0215 para barragem do Jazigo – barragem de Brejinho ($p < 0,0001$) e 0,0224 para barragem do Jazigo – riacho do Brejo ($p < 0,0001$) (Figura 4). A partir da análise de função discriminante entre os grupos, observou-se diferença estatisticamente significativa em relação a distância de Procrustes para todos os grupos $p<0,0001$).

Com base nos padrões de forma encontrados, os indivíduos foram alocados em diferentes grupos (riacho do Brejo, barragem do Jazigo e barragem de Brejinho) a fim de verificar se estes padrões coincidiam com o local de origem dos espécimes. Na análise entre barragem de Brejinho e riacho do Brejo, os indivíduos da primeira localidade tiveram 98,24% dos indivíduos alocados corretamente e os do riacho do Brejo foram alocados com 98,34% de confiabilidade. Os demais resultados da alocação dos grupos apresentaram valores próximos e estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Resultado da análise discriminante entre as populações de *Astyanax lacustri*s. As linhas indicam a localidade à qual pertenciam os espécimes e as colunas indicam os grupos aos quais os espécimes foram atribuídos. BRE - barragem de Brejinho; BJO – riacho do Brejo; JAZ - barragem do Jazigo.

Barragem de Brejinho *vs* riacho do Brejo	***Grupo***	***BRE***	***BJO***	***Total***	***%***
	BRE	112	2	114	98,24
	BJO	2	119	121	98,34
Barragem de Brejinho *vs* barragem do Jazigo	***Grupo***	***BRE***	***JAZ***	***Total***	***%***
	BRE	110	4	114	87,71
	JAZ	6	139	145	95,86
Riacho do Brejo *vs* barragem do Jazigo	***Grupo***	***BJO***	***JAZ***	***Total***	***%***
	BJO	114	7	121	94,21
	JAZ	8	137	145	94,48

As maiores diferenças encontradas foram entre as populações da barragem de Brejinho e riacho do Brejo. Os indivíduos da barragem de Brejinho são caracterizados por corpo alongado, focinho longo e pedúnculo caudal mais robusto, enquanto os indivíduos do riacho do Brejo apresentam corpo fusiforme, cabeça robusta, focinho curto e pedúnculo caudal fino. Sendo os marcos anatômicos 2, 3, 4, 7 e 8 os principais responsáveis por essas diferenças. As populações que mais se assemelharam morfologicamente foram as da barragem do Jazigo e barragem de Brejinho.

Discussão

Diferenças na morfologia do corpo podem ser usadas para detectar adaptação local entre populações (Marques et al., 2016), sendo provável que organismos de uma mesma espécie, localizados em ambientes diversos ou submetidos a diferentes fatores ambientais, possam apresentar fenótipos distintos (Gould e Johnston, 1972; Brett, 1979). Segundo Moreira-Filho e Bertollo (1991), as espécies do complexo *Astyanax scabripinnis* apresentam pequena diferenciação morfológica quando oriundas de diferentes bacias e comparadas entre si. Podem ainda apresentar plasticidade fenotípica e diferenciação morfológica quando analisadas na mesma bacia hidrográfica (Caramashi, 1986).

Lazzarotto (2017) afirma, ao comparar a variação morfológica em populações de uma espécie de Characidae (*Hemigrammus coeruleus*), que apenas 10,88% de toda variação é decorrente

do desenvolvimento ontogenético, ou seja, as variações ocorridas estão ligadas principalmente a fatores externos do que ao desenvolvimento natural da espécie. Essa informação pode ser levada em consideração em nossas descobertas, pois nossa espécie alvo pertence a mesma família e tem características bem semelhantes a *H. coeruleus*.

A diversidade morfológica encontrada entre os espécimes de *A. lacustris* do presente estudo pode estar relacionada aos diferentes locais em que foram coletados e aos diferentes fatores ambientais em que foram expostos, embora pertençam a uma mesma Bacia Hidrográfica. As populações da barragem de Brejinho e riacho do Brejo foram as que mais divergiram morfologicamente. Os indivíduos do riacho do Brejo apresentaram corpo fusiforme, cabeça robusta, focinho curto e pedúnculo caudal fino. Em ambientes lóticos, como o riacho do Brejo, onde a correnteza é mais forte, o corpo fusiforme é teoricamente ideal para locomoção à alta velocidade, pois a altura máxima na parte anterior do corpo e o pedúnculo caudal fino amenizam as forças de oposição ao movimento. (Breda et al., 2005). Peixes com essa morfologia apresentam desempenha maior em hábitats que a manobrabilidade é importante, como em ambientes com muita vegetação, corredeiras e fluxo de água forte, como é o riacho do Brejo. (Breda et al., 2005) A maior largura do pedúnculo observada na população da barragem de Brejinho proporciona aos indivíduos uma natação contínua em busca de suas presas (Oliveira, 2005). Essa característica também foi relata por Souza et al. (2012) em indivíduos de *Astyanax paranae* de um córrego formado por corredeiras e remansos da bacia do alto rio Paraná.

As divergências morfológicas relacionadas a altura da cabeça entre os indivíduos do riacho do Brejo e demais localidades, pode ser explicado pelo tamanho da presa ingerida (Pouilly et al., 2003). Ambientes com características de cabeceiras, como é caso do riacho do Brejo, possuem alimentos com um tamanho maior devido a contribuição alóctone da mata ciliar bem preservada.

As populações da barragem de Brejinho e barragem do Jazigo foram as que mais se assemelharam entre si. Esses dois corpos d'água são ambientes lênticos. Sabe-se que modificações na forma de peixes devido ao represamento do rio afeta sua morfologia e podem ocasionar mudanças fenotípicas (Cunico e Agostinho, 2006; Haas et al., 2010). Santos e Araújo (2015) observaram indivíduos de *A. bimaculatus* tendo a forma do corpo mais hidrodinâmica e ser mal adaptada para manobrabilidade em comparação com os habitats lóticos, o que corrobora com nossas descobertas.

Através da presente análise, tornou-se possível detectar diferenças morfológicas entre as populações de uma mesma Bacia, porém de diferentes localidades. O conhecimento dessa

variação morfológica é imprescindível para a compreensão da influência dos fatores ambientais, bem como da plasticidade fenotípica da espécie.

Referências

AvanriFar, H., Khyabani, A., Farahmand, H., Vatandoust, S., AvanriFar, H., Jahageerdar, S. (2011). Detection of morphometric differention between isolated up- and downstream populations of Siah Mahi (Capoeta capoeta gracilis) (Pisces: Cyprinidae) in the Tajan River (Iran). *Hydrobiologia* **673**, 41–52.

Badyaev A.V., Hill G.E., Stoehr A.M., Nolan P.M., McGraw K.J. (2000). The evolution of sexual size dimorphism in the house finch. II. Population divergence in relation to local selection. *Evolution* **54**, 2134–2144.

Breda L., Oliveira E.F., Goulart E. (2005). Ecomorfologia de locomoção de peixes com enfoque para espécies neotropicais. *Acta Scientiarum. Biology Sciences* **27**, **No. 4**, 371–381.

Brett J.R. (1979). Environmental factors and growth. In Hoar W.S., Randall D.J., Brett J.R., (eds) *Fish physiology* vol. 8 (pp 599–675). New York, Academic Press.

Brinsmead J., Fox M.G. (2002). Morphological variation between lake-and stream-dwelling rock bass and pumpkinseed populations. *Journal of Fish Biology* **61**, 1619–1638.

Britski H, Sato Y, Rosa A. B. S. (1988). Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chave de identificação para os peixes da bacia do São Francisco). 3°ed. Minas Gerais: Ministério da Irrigação – CODEVASF. pp. (105).

Caramaschi, E.M.P. (1986). Distribuição da ictiofauna de riachos das bacias do Tietê e do Paranapanema, junto ao divisor de águas (Botucatu, SP). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

Collin H, Fumagalli L. (2011). Evidence for morphological and adaptive genetic divergence between lake and stream habitats in European minnows (Phoxinus, Cyprinidae). *Molecular Ecology* **20**, 4490–4502.

Cunico M.A., Agostinho A.A. (2006). Morphological patterns of fish and their relationships with reservoir hydrodynamics. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **49**, 125–134.

Esquícero A.L.H., Arcifa, M.S. (2010). Fragmentation of a Neotropical migratory fish population by a century-old dam. *Hydrobiologia* **638**, 41–53.

Franssen R.N. (2011). Anthropogenic habitat alteration induces rapid morphological divergence in a native stream fish. *Evolutionary Applications* **4**, 791–804.

Freire A.G., Agostinho A.A. (2001). Ecomorfologia de oito espécies dominantes da ictiofauna do reservatório de Itaipu (Paraná-Brasil. *Acta Limnogica Brasiliensia*, **13**, 1-9.

Froese R, Pauly D. (eds). (2018). FishBase (version Feb 2018). In: Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. (2018). Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 30th October 2018. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.

Gomes L.N., Pinheiro J.R., Piorski, N.M. (2003) Aspectos ecomorfológicos da comunidade de peixes do estuário do rio Anil, Ilha de São Luís - MA. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, **16**, 29-34.

Gould, S.J., Johnston, R.F. (1972). Geographic variation. *Annual Review of Ecology and Systematic* **3**, 457–498.

Haas T.C., Blum M.J., Heins D.C. (2010). Morphological response of a stream fish to water impoundment. *Biology Letters* **6**, 803–806.

Klingenberg C.P. (2011). Morphoj: An Integrated Software Package for Geometric Morphometrics. *Moecularl Ecology Resources* **11**, 353–357.

Langerhans R.B. (2008). Predictability of phenotypic differentiation across flow regimes in fishes. *Integrative and Comparative Biology* **48,** 750-68.

Langerhans R.B., Layman C.A., Langerhans A.K., DeWitt T.J. (2003). Habitat associated morphological divergence in two Neotropical fish species. *Biology Journal of the Linnean Society* **80(4)**, 689-698.

Langerhans R.B., Layman C.A., Schrokollahi A.M., DeWitt T.J. (2004). Predator-driven phenotypic diversification in *Gambusia affinis*. *Evolution* **58(10)**, 2305-2318.

Lazzarotto H., Barros T., Louvise J., Caramaschi E.P. (2017). Morphological variation among populations of *Hemigrammus coeruleus* (Characiformes: Characidae) in a Negro River tributary, Brazilian Amazon. *Neotropical Ichthyology* **15(1)**.

Leisler, B., Winkler, H. (1995) Ecomorphology. In: Johnston, R. F. *Current Ornithology* (pp. 155-176). Washington: Springer.

Lins, C.J.C., Albuquerque, M.J.C. (2001). A Região Semi-Árida Do Nordeste Do Brasil. Revista Do Instituto Brasileiro De Edições Pedagógicas. Área De Conhecimento: Geografia. Ano I – Nº 4.

Marques, D.A., Lucek K., Meier J.I., Mwaiko S., Wagner C.E., Excoffier L., Seehausen O. (2016). Genomics of rapid incipient speciation in sympatric *threespine stickleback*. *PLOS Genetics* **12(2)**.

Moreira, C.R. (2007) Relações filogenéticas na Ordem Characiformes Ostariophysi (Teleostei). 62p. (Tese Doutorado) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.

Moreira-Filho, O, Bertollo, L.A.C. (1991) *Astyanax Scabripinnis* (Pisces, Characidae): A Species Complex. *Brazilian Journal Genetics*, V. **14**, P. 331-357.

Ornelas-Garcıa C.P, Dominguez-Dominguez O, Doadrio I. (2008). Evolutionary History Of The Fish Genus Astyanax Baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) In Mesoamerica Reveals Multiple Morphological Homoplasies. *BMC Evolutionary Biology* **8**:340.

Porto-Foresti F, Castilho-Almeida R, Foresti F. (2005). Biologia E Criação Do Lambari-Do-Rabo-Amarelo (Astyanax Altiparanae). In: Baldisserotto B, Gomes LC. Espécies Nativas Para A Piscicultura No Brasil. Santa Maria, RS: UFSM. P.105-120.

Pouilly M., Lino F., Bretenoux., J.G, Rosales C. (2003). Dietary-morphological relationships in a fish assemblage of the Bolivian Amazonian floodplain. *Journal of Fish Biology* v. **62**, p. 1137-1158.

Reis R.E, Kullander, S.O, Ferraris Jr, C.J. (2003) Check listo f the freshwater fishes of south and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS. 729p.

Rohlf F.J. (2017, 2018). Tps series. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York. http://life.bio.sunysb.edu/morph/.

Santos A.B.I., Araújo F.G. (2015). Evidence of morphological differences between Astyanax bimaculatus (Actinopterygii: Characidae) from reaches above and below dams on a tropical river. *Environmental Biology of Fish* **98**:183-191.

SECTMA - Secretaria De Ciência, Tecnologia E Meio Ambiente. (1998). Plano Estadual De Recursos Hídricos Do Estado De Pernambuco. V.1, Pt. Ii e Iii. Recife – PE.

Shibata A.O., Artoni R.F. (2005). Sobre a identidade das populações alopátricas de *Astyanax* (Characiformes, Characidae) das formações urna 1 e Furna 2 do Parque Estadual de Vila Velha, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. UEPG. *Biol. Saúde* **11**: 7-12.

Silva D.A., Pessoa E.K.R, Costa S.A.G.L., Chellappa N.T., Chellappa S. (2012) Ecologia Alimentar de *Astyanax Lacustris* (Osteichthyes: Characidae) Na Lagoa do Piató, Assu, Rio Grande Do Norte, Brasil Macapá. *Biota Amazônica* v. **2**, n. 1, p. 74-82.

Souza F., Zuanon L.A., Frota A., Junior L.F.P., Silva H.P. (2015) Variação Ecomorfológica em populações de *Astyanax* aff. *paranae* Eigenmann, 1914, na bacia do alto Rio Paraná. *Biota Amazônia* v. **5**, n. 3, p. 44-49.

Tobler M., Carson EW. (2010). Environmental variation, hybridization, and phenotypic diversification in Cuatro Ciénegas pupfishes. *Journal of evolutionary biology* **23**: 1475-1489.

Uieda V.S., Castro R.M.C. (1999) Coleta e fixação de peixes de riachos. In: Caramaschi, E. P.; Mazzoni, R.; Peres-Neto, P. R. (Eds.). Ecologia de Peixes de Riachos, Série Oecologia Brasiliensis. Vol. VI. PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil. p. 1-22.

Webster M.M., Atton N., Hart P.J.B, Ward A.J.W. (2011) Habitat-specific morphological variation among three spine sticklebacks (Gasterosteus aculeatus) within a drainage basin. *PloS ONE* **6(6)**.

3- Artigo científico

3. 1 - Artigo científico II

Artigo científico a ser submetido a Revista **Journal of Fish Biology.**

Todas as normas de redação e citação, doravante, atendem as estabelecidas pela referida revista, exceto o idioma.

Efeitos dos procedimentos de preservação em álcool, formol e congelamento em *Astyanax Lacustris* (Lütken, 1875)

Higo Vinicius Gomes Lima[1]; Renata Akemi Shinozaki-Mendes[2]

[1]Laboratório de Biologia Pesqueira, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Gregório Ferraz Nogueira, S/Nº, José Tomé de Souza Ramos, Serra Talhada, PE, Brasil,

[2]Laboratório de Biologia Pesqueira, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Gregório Ferraz Nogueira, S/Nº, José Tomé de Souza Ramos, Serra Talhada, PE, Brasil

Resumo

Indivíduos de *Astyanax lacustris* (n=380) foram fotografados frescos e após 24h, 1 mês e 6 meses submetidos a formol, álcool e congelamento para, por meio da técnica de morfometria geométrica, verificar os efeitos desses conservantes sobre a forma corporal. Os indivíduos foram armazenados em álcool a 70%, formol a 10% e congelamento a -14ºC. No total foram 10 tratamentos (frescos, álcool 24h, álcool 1 mês, álcool 6 meses, formol 24h, formol 1 mês, formol 6 meses, gelo 24h, gelo 1 mês e gelo 6 meses). Teve-se o cuidado de manter os animais armazenados paralelos ao plano para evitar efeitos de arqueamento. Foram estabelecidos 13 marcos anatômicos para representação da forma do corpo dos espécimes. A variação da forma corporal entre os tratamentos foi verificada a partir da análise de variável canônica (CVA) e análises de função discriminante (DFA) para cada período com o auxílio do software MorphoJ. O congelamento a -14ºC se mostrou como o método que mais altera a forma dos animais, seja a curto ou longo prazo. O formol a 10% alterou significativamente a forma ao decorrer dos seis meses, porém a curto prazo foi o mais indicado para manutenção da forma dos animais. O etanol a 70% foi o método que menos modificou a forma dos espécimes ao final do experimento, sendo, portanto, o mais indicado para preservação a longo prazo. As regiões do corpo onde ocorreram as variações mais significativas foram nas regiões dorsal e ventral, além do pedúnculo caudal. O efeito mais comum é o encolhimento que ocorre quando a água corporal dos animais é perdida ou substituída por algum conservante.

Palavras-chaves: etanol, formaldeído, fixação, morfometria geométrica, peixes

Introdução

As coleções biológicas desempenham um papel fundamental na área da Biologia, incluindo estudo da biodiversidade e sua perda, invasões biológicas, perda de habitat, mudanças climáticas, estudos taxonômicos, sistemáticos e populacionais, além de oferecem informações importantes e únicas, fornecendo dados ao longo de um vasto período de tempo até os dias atuais (Suarez e Tsutsui, 2004).

Espécimes provenientes de coleções biológicas geralmente passam por um processo de fixação em formol (10%) e posterior preservação em etanol 70%. Os métodos de preservação são usados para manter a integridade de espécimes para armazenamento a longo prazo (Leslei e Moore, 1986). Ambas as substâncias, formalina e etanol, têm efeitos semelhantes no corpo e deixe a amostra rígida. Além disso, a oxidação causada por formol produz ácido fórmico, que diminui o grau de cálcio nos ossos e, eventualmente, os transformam em tecidos moles (Sturgess e Nicola, 1975).

Vários campos da Biologia (sistemática, análise de crescimento, gestão de estoques pesqueiros) usam dados morfológicos, e qualquer interferência que algum método possa causar, poderia intervir diretamente a compreensão biológica dos resultados (Berbel-Filho, 2013). Estudos anteriores mostraram mudanças no comprimento decorrentes da preservação em álcool, formol e congelamento (Shields e Carson, 1996; Lee et al., 2012; Florin e Lingman, 2008; Greszkiewicz, 2018), em que a intensidade dessas mudanças pode variar de acordo com a espécie. Para uma análise mais precisa e quantitativa de como as variações morfológicas dos peixes ocorrem após a preservação, trabalhos anteriores utilizaram técnicas de morfometria geométrica. Em um estudo com uma espécie de peixe de água doce, preservada durante 90 dias em etanol a 95% e gelo a -20°C, foi relatado uma contração do olho, encolhimento corporal e profusão da mandíbula (Berbel-Filho, 2013). Outro estudo analisou os efeitos causados pela preservação em formol a 10% e etanol a 70% durante 8 semanas na forma do corpo de dez espécies. As principais mudanças ocorridas nos indivíduos após a preservação foram uma diminuição do comprimento do abdômen, diminuição do pedúnculo caudal (até duas semanas), seguido por um aumento na oitava semana. Além de pequenas mudanças no tamanho do olho e alongamento da cabeça (Sotola et al., 2019).

Embora mostrem que mudanças na forma do corpo após a preservação são conhecidas, nenhum desses estudos examinou as alterações morfológicas em uma espécie de Characidae. Portanto este é o primeiro trabalho com uma espécie dessa família que aborda, por meio da técnica de morfometria geométrica, as mudanças morfológicas ocorridas após os procedimentos de preservação. Nesse contexto, objetivou-se quantificar as variações

morfológicas ocasionadas pela preservação em álcool, formol e congelamento em três diferentes populações de *Astyanax lacustris* da Bacia Hidrográfica do rio Pajeú.

Material e métodos

Um total de 380 indivíduos de *A. lacustris* foram capturados, sendo 145 na barragem do Jazigo, 114 na barragem de Brejinho e 121 no riacho do Brejo. O tamanho dos indivíduos variou de 2,9 cm a 12,5 cm. Após a coleta, os peixes frescos (controle), foram fotografados lateralmente com auxílio de uma câmera digital com distância focal de 50 mm, acoplada a um tripé e paralela ao plano. Em seguida os indivíduos foram armazenados em álcool a 70%, formol a 10% e congelamento. Os indivíduos do tratamento congelamento foram colocados na posição horizontal e armazenados em freezer a -14ºC durante seis meses. Os espécimes do tratamento álcool a 70% e formol a 10% foram armazenados em recipientes de vidro durante o mesmo período. Ao todo foram 10 tratamentos (frescos, álcool 24h, álcool 1 mês, álcool 6 meses, formol 24h, formol 1 mês, formol 6 meses, congelamento 24h, congelamento 1 mês e congelamento 6 meses) Teve-se o cuidado de manter os animais armazenados paralelos ao plano para evitar efeitos de arqueamento. Usando o mesmo procedimento de captura de imagens descrito acima, os indivíduos foram fotografados novamente após 24h (curto prazo), um mês (médio prazo) e seis meses (longo prazo).

Foram estabelecidos 13 marcos anatômicos (Figura 1), para representação da forma do corpo dos espécimes. Os marcos anatômicos foram digitalizados com o auxílio do software TpsDig2 2.31 (Rohlf, 2018). Em seguida, foi realizada a superimposição de Procrustes usando o software MorphoJ (Klingenberg, 2011) para eliminar as variações de tamanho, orientação e posição. As diferenças entre as formas médias dos tratamentos foram calculadas usando a distância de Procrustes.

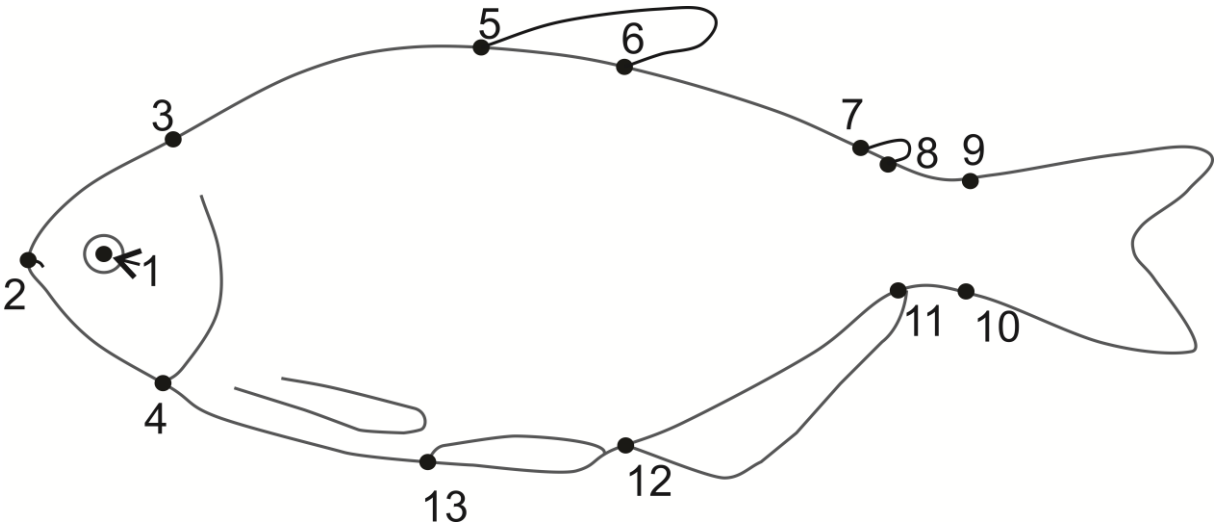

Figura 1 Localização dos 13 marcos anatômicos usados nas análises morfológicas, numeração e descrição. 1- Centro do olho; 2- Porção anterior da mandíbula superior (ponta do focinho); 3- Região dorsal da cabeça; 4- Limite inferior da abertura opercular; 5- base do primeiro raio da nadadeira dorsal; 6- Base posterior do último raio da nadadeira dorsal; 7- Base anterior da nadadeira adiposa; 8- Base posterior da nadadeira adiposa; 9- Base antero dorsal da nadadeira caudal; 10- Base antero ventral da nadadeira caudal; 11- Base posterior da nadadeira anal; 12- Base anterior do primeiro raio da nadadeira anal; 13- Base anterior da nadadeira pélvica.

A variação da forma corporal entre os tratamentos foi verificada a partir da análise de variável canônica (CVA) e análises de função discriminante (DFA) para cada período com o auxílio do software MorphoJ (Klingenberg, 2011). A variação entre tratamentos e tempo foi avaliada por meio de uma regressão multivariada usando o log do tamanho do centróide como a variável independente e as coordenadas de Procrustes como variável dependente.

Foi testado inicialmente a normalidade do tamanho de centroide utilizando o teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade por meio do teste de Bartlett. Como os dados não se apresentaram normais ($p=<0,005$), foi então utilizado ANOVA não paramétrica (teste de Kruskal-Wallis). Para verificar qual tratamento foi mais influente na modificação da forma, quantificou-se o grau de alteração morfológica para cada tratamento através da distância de Procrustes antes e após a preservação.

Resultados

Nas primeiras 24h de preservação houve uma expansão da região ventral e dorsal (em menor escala), e encolhimento no pedúnculo caudal nos indivíduos armazenados em álcool e formol.

Os espécimes submetidos ao congelamento apresentaram uma expansão da região ventral (próximo a nadadeira caudal), encolhimento do focinho e retração da região dorsal nas 24h subsequentes a preservação. No período entre 24h e um mês para os espécimes preservados em álcool, não foi observado uma variação na forma do animal, que permaneceu quase que inalterada. No tratamento com formol, as mudanças morfológicas registradas foram o encolhimento das regiões dorsal e ventral e do pedúnculo caudal. Nos indivíduos congelados houve uma expansão da região dorsal. Após seis meses em álcool a variação dos indivíduos foi mínima, a forma dos indivíduos praticamente não foi alterada, registrando somente uma leve redução do focinho e expansão das regiões dorsal e ventral. No tratamento formol, a região posterior ventral, área próxima à nadadeira anal, retraiu significativamente e o pedúnculo caudal expandiu. O único método que modificou a forma como um todo, inclusive de maneira significativa no focinho, foi o congelamento a longo prazo (Figura 2).

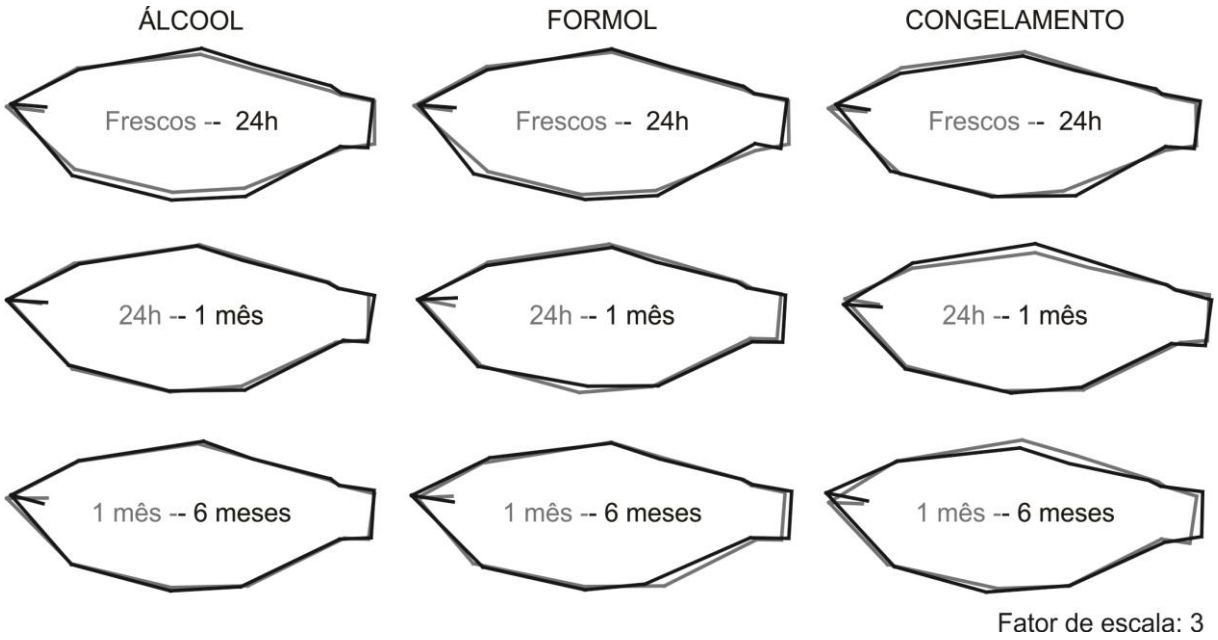

Figura 2 *Wireframe* das principais mudanças ocorridas nos indivíduos de *Astyanax lacustris* preservados em álcool, formol e congelamento durante 6 meses. Linhas em tom claro representa a configuração de referência e linhas em tom mais escuro representa a mudança ocorrida após o tempo de preservação.

Ao analisarmos as variáveis canônicas (CVA), verificamos uma grande dispersão dos pontos, sendo possível perceber um distanciamento gradual dos tratamentos. Os indivíduos frescos se concentram do lado positivo do eixo, onde há um deslocamento gradual dos demais tratamentos. A variável canônica 2 apresentou uma separação menos clara entre os grupos,

contudo, observa-se que no eixo positivo há uma concentração dos indivíduos submetidos ao tratamento de congelamento por 6 meses distanciado dos demais grupos (Figura 3).

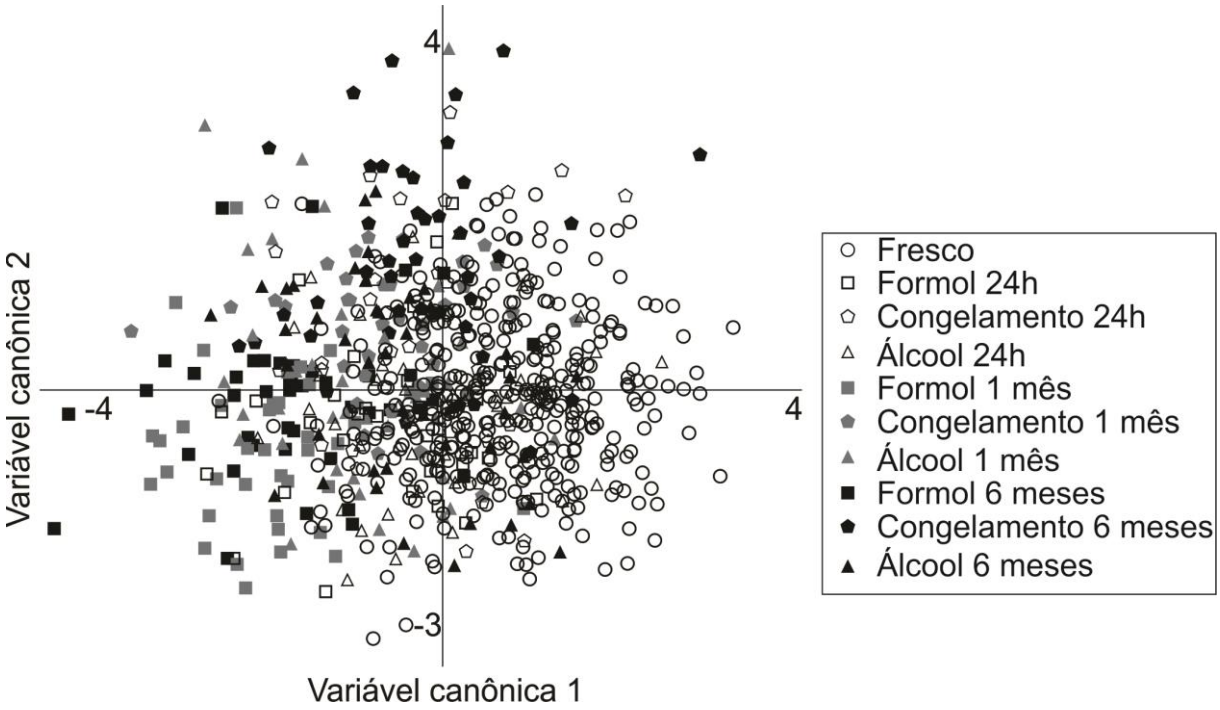

Figura 3 Resultados da Análise de Variável Canônica (CVA) comparando CV1 e CV2 do lambari *Astyanax lacustris* fresco, após 24 horas, 1 mês e 6 meses em formol, álcool e congelamento.

De um modo geral, há uma expansão na forma e em seguida ocorre uma retração. Porém, esse efeito não ocorreu de maneira significativa nas primeiras 24h de congelamento, sendo observado somente após esse período. O que implica dizer que o método de congelamento ocorre de maneira lenta, porém mais forte na modificação da forma dos peixes.

O congelamento a -14ºC se mostrou como o método que mais altera a forma dos animais, seja a curto ou longo prazo. O formol a 10% mostrou-se agressivo ao decorrer dos seis meses, porém a curto prazo é o mais indicado para manutenção da forma dos animais. O etanol a 70% foi o método que menos modificou a forma dos espécimes ao final do experimento, sendo, portanto, o mais indicado para preservação a longo prazo. As regiões do corpo onde ocorreram as variações mais significativas foram nas regiões dorsal e ventral, além do pedúnculo caudal, representados pelos marcos anatômicos 5, 9, 10, 12 e 13.

Discussão

Já foi verificado em estudos anteriores que a forma do peixe pode mudar devido aos processos de preservação (Berbel-Filho et al., 2013; Martinez et al., 2003; Sotola et al., 2019; Vergara-

Solana et al., 2014). Os efeitos causados dependem do tipo de conservante usado; geralmente usa-se álcool, formol ou congelamento. O efeito mais comum é o encolhimento (Florin e Lingman, 2008; Lee et al. 2012; Smith e Walker, 2003), que ocorre quando a água corporal dos animais é perdida ou substituída por algum conservante (Al-Hassan et al., 2000). A redução dos indivíduos preservados em álcool ocorre principalmente por conta da desidratação dos tecidos (Sturgess e Nicola, 1975). Apesar de ter ocorrido em uma maior magnitude, a retração encontrada na região dorsal e ventral dos indivíduos do tratamento álcool é semelhante com as encontradas por Berbel-Filho (2013) ao estudar os efeitos dos procedimentos da preservação de *Cichla kelberi* (Tucunaré) após 90 dias em álcool a 95%. Martinez et al. (2013) também registraram um encolhimento proveniente do método de preservação proposto por Vanzolini e Papavero (1967) em *Pomadasys corvinaeformis* e *Eucinostomus argenteus*. Após 52 semanas preservados (6 semanas em formol) esses autores verificaram uma contração do olho, diminuição na profundidade do corpo para ambas as espécies. Além disso, uma profusão do focinho para *E. argenteus*, corroborando com nossas descobertas (embora tenham sido em menor nível) para o tratamento formol à longo prazo. As discrepâncias encontradas no grau de encolhimento do corpo durante a preservação em álcool podem ser atribuídas a diferenças específicas das espécies, no teor de água corporal e/ou concentração do álcool (Lee et al., 2012).

Berbel-Filho (2013), registrou expansão das regiões dorsal e ventral, do pedúnculo caudal e da cabeça em indivíduos de Tucunaré congelados a -20ºC durante 3 meses. Apesar de ter ocorrido em menor nível, esses resultados são condizentes com nossas descobertas. Florin et. al. (2008) verificou uma menor redução corporal em indivíduos de *Platichthys flesus* e *Psetta maxima* em comparação com os resultados do nosso estudo. Isso pode ser explicado porque espécies menores, como é o caso de *A. lacustris*, são mais susceptíveis à perda de água do que espécies de maior porte (Olsson et al., 2003). A redução corporal ocorrida nos indivíduos submetidos a formol corrobora com diversos outros estudos (Shields e Carson, 1996; Vergara-Solana, 2014). A oxidação causada pelo formol produz ácido fórmico, diminuindo a concentração de cálcio nos ossos e, eventualmente, transforma os indivíduos em tecidos moles (Sturgess e Nicola, 1975).

Muitos autores seguem a metodologia proposta por Vanzolini e Papavero (1967) em que os exemplares são inicialmente fixados em formol a 10% e posteriormente preservados em álcool a 70%. Nossos resultados foram condizentes com o que propõe essa metodologia, já que verificamos que a curto prazo o formol é melhor método para preservação; e a médio e

longo prazo, o álcool é o mais indicado. Já o método d congelamento é o menos indicado independente se for a curto ou longo prazo. Na escolha de um único método isolado, sem combinação, o álcool se mostra mais eficiente na manutenção da forma. Estes resultados são de grande importância biológica, tendo em vista que vários estudos de variação morfológica utilizam indivíduos provenientes de coleções biológicas. Tais estudos podem levar a resultados errados e, consequentemente, conclusões erradas devido a alteração causada pelos métodos de preservação e não por questões biológicas.

Referências

Al-Hassan L.A.J., Bujawari J.A., El-Silini O.A. (2000). The effect of some preservatives and freezing on certain body dimensions of two species of the family Mullidae collected from Benghazi waters, Libya. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **30 (2)**: 127–136.

Berbel-Filho WM, Jacobina UP, Martinez PA. (2013) Preservation effects in geometric morphometric approaches: freezing and alcohol in a freshwater fish. *Ichthyological Research*.; **60(3)**, 268–71.

Fey, D. P. (1999). Effects of preservation technique on the length of larval fish: methods of correcting estimates and their implication for studying growth rates. *Archive of Fishery and Marine Research* **47**, 17−29.

Florin A.B., Lingman A. (2008). Shrinkage of flounder Platichthys flesus (L.) and turbot Psetta maxima (L.) following freezing. *Journal of Fish Biology* **72 (3)**, 731–736.

Greszkiewicz M., Fey D.P. (2018) Effect of preservation in formalin and alcohol on the growth rate estimate of larval northern pike. *North American Journal of Fisheries Management*. **38(3)**, 601–5.

Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* **11**, 353–357.

Lee J.H., Kodama K., Horiguchi T. (2012). Change in body size of juvenile marbled sole Pseudopleuronectes yokohamae after preservation in ethanol. *Ichthyological Research* **59 (1)**, 49–52.

Leslie J.K., Moore J.E. (1986) Changes in lengths of fixed and preserved young freshwater fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **43(5)**, 1079–81.

Martinez P.A., Berbel-Filho W.M., Jacobina U.P. 2013. Is formalin fixation and ethanol preservation able to influence in geometric morphometric analysis? Fishes as a case study. *Zoomorphology* **132 (1)**, 87–93.

Olsson, G. B., Olsen, R., Ofstad, R. 2003. Post-mortem structural characteristics and water-holding capacity in Atlantic halibut muscle. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* **36**, 125–133.

Rohlf F.J. (2017, 2018). Tps series. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York. http://life.bio.sunysb.edu/morph/.

Shields P.A., Carlson S.R. (1996) Effects of formalin and alcohol preservation on lengths and weights of juvenile sockeye salmon. *Alaska Fishery Research Bulletin*.; **3(2)**, 81–93.

Smith B.B., Walker K.F. (2003) Shrinkage of 0+ carp (Cyprinus carpio L.) after preservation in ethanol. *Marine and Freshwater Research* **54**,113–116.

Sotola V.A., Craig C.A., Pfaff P.J., Maikoetter J.D., Martin N.H., Bonner T.H. (2019) Effect of preservation on fish morphology over time: Implications for morphological studies. *PLoS ONE* **14(3)**, 1-16.

Sturgess J.A., Nicola S.J (1975) Preparation of fish for identification and preservation as museum specimens. *The Resources Agency of California, Department of Fish and Game, Inland Fisheries Informational Leaflet* **29**.

Suarez V.A.; Tsutsui D.N. 2004. The Value of Museum Collections for Research and Society. *BioScience*. **54 No. 1**

Vanzolini, P.E., Papavero, N. (1967) Manual de coleta e preparação de animais terrestres e de água doce. Fonseca, São Paulo. pp. (223).

Vergara-Solana F.J, Garcia Rodrígues F.J, De La Cruz Aguero J. (2014) Effect of preservation producere on the body shape of *Diapterus aurelous* (Teleostei; Gerreidae) and its repercussion in a taxonomic study. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **44(1)**, 65-70.

Declaração sobre plágio

Eu, Higo Vinicius Gomes Lima, autor da dissertação intitulada "ECOMORFOLOGIA E EFEITOS DOS PROCEDIMENTOS DE PRESERVAÇÃO EM *Astyanax lacustris* (LÜTKEN, 1875) (TELEOSTEI: CHARACIFORMES)", vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Unidade Acadêmica de Serra Talhada da Universidade Federal Rural de Pernambuco, declaro que:

- O trabalho de pesquisa apresentada nesta dissertação, exceto onde especificado, representa uma pesquisa original desenvolvida por mim;

- Esta dissertação não contém material escrito ou dados de terceiros, de qualquer fonte bibliográfica, a menos que devidamente citada e referenciada no item "Referências Bibliográficas".

Serra Talhada, 11 de julho de 2019

_____

(assinatura)