

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**

**EFEITO DA MATURAÇÃO GONADAL NO PADRÃO DE  
PREFERÊNCIAS DE FÊMEAS POR DESCARGAS DE MACHOS  
COESPECÍFICOS EM UM PEIXE ELÉTRICO AMAZÔNICO**

CARINE MARIÁ COLA

Manaus, Amazonas

Junho, 2019

**CARINE MARIÁ COLA**

**EFEITO DA MATURAÇÃO GONADAL NO PADRÃO DE  
PREFERÊNCIAS DE FÊMEAS POR DESCARGAS DE MACHOS  
COESPECÍFICOS EM UM PEIXE ELÉTRICO AMAZÔNICO**

DRA. MARINA ANCIÃES

Orientadora

Dr. José Antônio Alves Gomes

Coorientador

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia (Ecologia).

Manaus, Amazonas

Junho, 2019

C683p Cola, Carine Mariá  
EFEITO DA MATURAÇÃO GONADAL NO PADRÃO DE  
PREFERÊNCIAS DE FÊMEAS POR DESCARGAS DE MACHOS  
COESPECÍFICOS EM UM PEIXE ELÉTRICO AMAZÔNICO / Carine  
Mariá Cola; orientadora Marina  
Anciães; coorientador José Antônio Alves-Gomes. --  
Manaus:[s.l.], 2019.  
67 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós Graduação  
em Ecologia) -- Coordenação do Programa de Pós-  
Graduação, INPA, 2019.

1. Peixe elétrico. 2. Seleção sexual. 3. Dimorfismo sexual.  
4. Preferência espontânea. 5. Teste de duas escolhas.  
I. Anciães, Marina, orient. II. Alves-Gomes, José Antônio,  
coorient. III. Título.

CDD: 598

Sinopse:

Foi estudado como parâmetros da descarga do órgão elétrico de machos afetam a preferência de fêmeas em uma espécie de peixe elétrico da Amazônia central. Aspectos de maturação sexual, sazonalidade de dimorfismo sexual e preferência de fêmeas por machos foram avaliados.

Palavras chaves: **Peixe elétrico de descarga fraca, seleção sexual, dimorfismo sexual, preferência espontânea, teste de duas escolhas.**

*Ao progresso da ciência brasileira*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai e minha mãe que sempre me deram todo suporte para eu fazer o que mais quis em toda a minha vida. Vocês nunca duvidaram de mim nem por um segundo, me deram força e coragem para seguir meus sonhos, mesmo longe. Vocês são meus maiores amores da vida, são meu forte, são o motivo de tudo! Sem o apoio de vocês, eu não estaria aqui! Obrigada por me fazerem tão feliz! Amo vocês!

As minhas “mins” queridas, amigas mais fiéis da vida: Aline, Denny, Bel, Talitinha, Polly e Show. Que também saíram de Londrina pelo mundo a fora em busca de seus sonhos e me deixam doida de saudades. Com vocês aprendi o significado de amizade verdadeira. Compartilhar a vida com vocês a torna mais colorida. Vocês são demais!

Aos meus amigos da graduação na Universidade Estadual de Londrina: Edith, Juliana, Paola, Adriano, Cowboy, Chuck, Bruna, Paty e Wellisson que sempre foram presentes nos piores e melhores momentos da vida universitária e que ficam me esperando de cervejas abertas quando volta pra Londrina.

Aos mais que especiais Biba, Carmen e Ana Claudia que estão comigo para o que der e vier e que, compartilhando ou não parte do meu DNA, são da família que escolhi ter. Obrigado pelo apoio em explorar as terras do norte e por me esperarem sempre de braços abertos quando volto para casa!

Aos parceiros de mestrado e doutorado de LABECA e LFCE que compartilharam comigo a caminhada nesses dois anos e a todos amigos que fiz na minha turma de mestrado, no INPA e em Manaus, em especial ao Yago, a pessoa que fez mais amoroso, construtivo e divertido o tempo do meu mestrado. Esses anos de Manaus se tornaram muito mais agradáveis por causa de você, obrigada por tudo! <3

A melhor gata do mundo, Moondrunge e a pior gata do mundo, Tchaba Dominique Araújo da Costa e Silva. Aos outros gatinhos que passaram por mim em Manaus: Aretha, Ernesto, Raul e Taubaté.

Aos meus queridos peixinhos (Zuleica, Severina, Oitávia, Nova, Clóvis, Nathy, Cotoco, Show, Bravão, Loba, Mirrado, nº 18, Gordoy, Vinhadu, El Cabrón, Virgem, Cincão, Vanessão, Boza, Mirim, Fofinha, Cavala, Dúvida, Última Thurman, Trinith, Juvenila e

Joice) que foram extremamente especiais para mim. Obrigada por serem os peixes elétricos mais interessantes do mundo.

As cervejas compartilhadas com todas essas pessoas maravilhosas acima citadas que me ajudaram a acalmar meus dias difíceis e a extrapolar meus dias felizes.

A minha orientadora Marina Anciães que sempre me instigou a superar as dificuldades, me guiou durante o mestrado e aumentou a minha paixão por comportamento animal. Ao meu coorientador José Gomes que me apresentou o universo empolgante dos peixes elétricos.

A Dr<sup>a</sup> Adília Nogueira pela troca de ideias e informações sobre essa nova espécie.

Ao Dr. Tiago Pires pela ideia de ajustes necessários para o projeto se tornar viável.

A Dr<sup>a</sup>. Daiani Kochhann e ao Dr. Adalberto Val que me ajudaram com o software *Ethovision*, importante para a análise dos meus experimentos. Aos professores, pesquisadores e demais funcionários que compõem Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu primeiro orientador na vida acadêmica, Prof<sup>o</sup>. Dr. Paulo César Meletti, que me ajudou nos meus primeiros passos na pesquisa científica e teve toda a paciência do mundo com uma garota que estava perdida na graduação, mas que sabia o que queria. Você me ensinou quais as ferramentas eram necessárias no processo e como consegui-las.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que proporcionou financiamento a mim e a outras milhares de pessoas que contribuíram com o avanço da ciência do nosso país.

Ao projeto SATREPS (*Behavioral and ecological studies of Amazon fishes*) e ao projeto do Grupo de Pesquisa em Biologia Evolutiva de Peixes do INPA (PRJ12.307) que financiaram a ida a campo e todos os insumos necessários para a realização dos experimentos.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização do meu trabalho, muitíssimo obrigada!

*Se a educação não é libertadora, o sonho do oprimido é ser opressor.*  
(Paulo Freire)

## RESUMO

O mecanismo de escolha por parceiros reprodutivos impõe a seleção sexual através de variações em caracteres sexuais secundários no sexo escolhido. Os caracteres sexuais secundários podem se expressar através de ornamentos conspícuos, atuando frequentemente como índices confiáveis de aptidão do indivíduo. Em peixes elétricos de descarga fraca, a comunicação intraespecífica ocorre através de descargas do órgão elétrico (DOE) podendo se tornar sexualmente dimórficas na maioria dos gêneros durante o período reprodutivo. A acentuação do dimorfismo sexual nas DOEs sugere a presença de seleção sexual através de características elétricas da DOE. Neste estudo foi investigado a preferência de fêmeas maduras por parâmetros específicos das DOEs de machos. Primeiramente, foi investigado o dimorfismo sexual nas DOEs de indivíduos entre estágio não reprodutivo e reprodutivo e, posteriormente, a preferência de fêmeas pelas DOEs por meio de testes de preferência não forçada e análise dos parâmetros das DOEs. Para isso, foi utilizado um aquário de duas escolhas, dividido em três zonas principais: Zona Neutra (ZN), duas Zonas de Confinamentos (ZCs) e duas Zonas de Preferência (ZPs). Cada teste foi realizado com uma tríade de indivíduos: uma fêmea na ZN com acesso as ZPs e dois indivíduos potencialmente escolhidos confinados em uma ZC cada um. A preferência da fêmea foi contabilizada pela quantificação do tempo de ocupação de cada ZP e atribuída ao indivíduo que ocupava a ZC correspondente. Em nossos resultados de preferência, tanto fêmeas não maduras quanto maduras escolheram significativamente um dos indivíduos, mas diferiram entre si na frequência de escolha. As fêmeas não maduras, em geral, ocuparam com maior frequência a ZPs relacionada a um macho, mas não diferindo muito o tempo de ocupação entre as ZPs. Enquanto a maioria das fêmeas maduras realizaram escolhas assertivas por algum macho, diferindo marcadamente no tempo de permanência entre ZPs. Os resultados das análises dos parâmetros de DOE, evidenciaram sazonalidade no dimorfismo sexual na DOE, ocasionado pela maturação gonadal em machos e padrões de DOE em machos maduros correspondentes ao padrão de preferência das fêmeas. De fato, as escolhas espontâneas das fêmeas puderam ser relacionadas a dois padrões principais de DOE e o padrão preferido se mostrou consideravelmente diferente do não preferido em oito parâmetros. Estes parâmetros podem indicar às fêmeas atributos de aptidão importantes no contexto reprodutivo. Dentre eles, a duração da DOE já foi relacionada ao tamanho do indivíduo e a maior duração da segunda fase pode ser considerada um ornamento conspícuo variável em machos utilizado na seleção sexual por fêmeas. Este estudo foi o primeiro a caracterizar a DOE emitida por machos e fêmeas desta espécie compatíveis aos períodos não reprodutivo e reprodutivo, evidenciando que as fêmeas utilizam características das DOEs com padrões bem definidos na escolha de machos mesmo na estação não reprodutiva, e mais acentuadamente durante o estágio de maturação gonadal, corroborando o papel da seleção sexual na evolução das DOEs neste grupo de peixes elétricos.

Palavras-chave: Peixes elétricos de descarga fraca, seleção sexual, dimorfismo sexual, preferência espontânea, teste de duas escolhas.



## ABSTRACT

### **EFFECT OF GONADAL MATURATION ON FEMALE PREFERENCES PATTERN FOR CONSPECIFIC MALE'S DISCHARGE IN AMAZON ELECTRIC FISH**

The mechanism by which individuals choose among potential reproductive partners imposes sexual selection through variations in secondary sexual characters on the chosen sex. The secondary sexual characters are represented by conspicuous ornaments and often act as honest contents of the individual's quality. In weakly electric fish, intraspecific communication occurs through the electric organ discharges (EOD) and, during the reproductive period, EODs become sexually dimorphic in most genera. Higher intensity of sexual dimorphism in EODs suggests the presence of sexual selection through EOD parameters. In our study, we investigated the preference of mature females for EOD parameters produced by males. First, we investigated the sexual dimorphism of individuals between the non-reproductive and reproductive periods and, subsequently, the preference of females for EODs through non-forced preference tests and analysis of EOD parameters. For this, a two-choice aquarium was used, divided into three main zones: Neutral Zone (NZ), two Confinement Zones (CZs) and two Preference Zones (PZs). Each test was performed with a triad of individuals: one female in NZ with access to both PZs and two potentially preferred individuals confined in a CZ each. Female preference was measured by the time that females occupied each PZ, which was attributed to the individual occupying the CZs. Our preference results showed that both immature and mature females performed statistically significant choices by individuals but differed in choice frequency. While immature females generally occupied for more time one of the PZs, most of the mature females made assertive choices for one of the males (one PZ). EOD parameters revealed marked seasonality in the sexual dimorphism of EODs caused by gonadal maturation in males, and EOD patterns from mature males corresponding to female preferences. The observed spontaneous choices by females were related to the variation in EOD parameters, between two well defined patterns. The preferred pattern proved to be substantially different from the non-preferred (rejected) in eight parameters. These parameters may indicate quality attributes important in the reproductive context to females. Within those, the duration of EOD was already shown to relate to the size of the individual and the longer duration of the second phase is considered a conspicuous ornament in males used in sexual selection by females. This study was the first to characterize the EOD produced by males and females from this species, which corresponded to non-breeding and breeding periods, uncovering that females base their choice on EOD characteristics from males with well-defined patterns, even outside the breeding period, and more markedly during gonadal maturation, corroborating the role of sexual selection in the evolution of EODs in this group of electric fish.

Key-words: Weakly electric fish, sexual selection, sexual dimorphism, spontaneous preference, two choices test.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Localização do igarapé onde foram coletados os indivíduos usados no presente estudo .....	7
Figura 2 – Esquema representativo dos parâmetros das DOEs analisados na caracterização da forma de onda de <i>Microsternarchus</i> sp. nov. linhagem Ducke.....	8
Figura 3 – Esquematisação do aquário-teste <i>u-maze</i> e do <i>set</i> de gravação.....	10
Figura 4 – Relação de tempo total de ocupação de fêmeas não maduras nas ZPs..	18
Figura 5 – Relação de tempo total de ocupação de fêmeas maduras nas ZPs.....	19
Figura 6 – PCA dos 18 parâmetros de DOE de machos e fêmeas não maduros.....	22
Figura 7 – Forma de pulso médio de machos e fêmeas não maduros.....	22
Figura 8 – PCA dos 18 parâmetros de DOE de machos e fêmeas maduros.....	23
Figura 9 – Forma de pulso médio de machos e fêmeas maduros.....	24
Figura 10 – Duas formas de pulso (padrões) evidenciadas em machos maduros usados em testes que as fêmeas apresentaram preferência (n=14).....	26

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Indicação dos 18 parâmetros da descarga do órgão elétrico (DOE) analisados e suas respectivas unidades de medida e códigos de referência ao parâmetro elétrico da DOE.....	9
Quadro 2 – Descrição de experimentos controle não analisados.....	12
Quadro 3 – Esquematisação do agrupamento de dados dos parâmetros da DOE para maior e menor tempo de ocupação para análise estatística.....	15
Quadro 4 – Resumo de testes experimentais, agrupamento de dados, análises estatísticas e respectivas justificativas realizados nesse estudo.....	16
Quadro 5 – Esquematisação do agrupamento de dados dos parâmetros da DOE para o padrão 1 e o padrão 2 para análise estatística.....	26

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valor médio e desvio padrão (DP) dos parâmetros de DOE de indivíduos de <i>Microsternarchus</i> sp. nov. linhagem Ducke.....	20
Tabela 2 – Variação em porcentagem explicada por cada eixo da PCA, valores de <i>loading</i> e os principais parâmetros de DOE selecionados pela PCA para machos e fêmeas não maduros.....	21
Tabela 3 – Variação em porcentagem explicada por cada eixo da PCA, valores de <i>loading</i> e os principais parâmetros de DOE selecionados pela PCA para machos e fêmeas maduros.....	23

## LISTA DE ABREVIÇÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

Ø – diâmetro

% – porcentagem

® – marca registrada

AC/DC – corrente alternada/corrente direta

cm – centímetro

DOE – Descarga do Órgão Elétrico

DVR – Gravador Digital de Vídeo

gl – Grau de Liberdade

Hz – Hertz

INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

IRL – Luz Infravermelha

kHz – Quilohertz

LED – Emissor de Luz Diodo

LFCE – Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução

MANOVA – Análise Multivariada de Variância

ms – milissegundos

PCA – Análise de Componentes Principais

SEE – Sistema Eletrogênico e Eletrosensório

X<sup>2</sup> – qui-quadrado

ZC – Zona de Confinamento

ZN – Zona Neutra

ZP – Zona de Preferência

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO GERAL.....	3
2.1.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	4
3.1 OBJETO DE ESTUDO.....	4
3.2. COLETA, CULTIVO E MATURAÇÃO GONADAL.....	5
3.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	6
3.3.1. GRAVAÇÕES E ANÁLISES DAS DOES.....	6
3.3.2. AQUÁRIO-TESTE <i>U-MAZE</i> E <i>SET</i> DE GRAVAÇÃO.....	8
3.3.3. TESTES DE DUAS ESCOLHAS DE FÊMEAS NÃO MADURAS E MADURAS.....	10
3.3.4. PROCEDIMENTO DOS TESTES.....	11
3.3.5. ANÁLISE DAS FILMAGENS DOS TESTES DE DUAS ESCOLHAS.....	12
3.4. ANÁLISE DE DADOS.....	12
3.4.1. ANÁLISE DAS ESCOLHAS DE FÊMEAS.....	12
3.4.1.1. <i>Teste de escolha de fêmeas não maduras e maduras</i> .....	13
3.4.1.2. <i>Variação da preferência de fêmeas entre estágios gonadais</i> .....	14
3.4.2. COMPARAÇÕES DE DOES.....	13
3.4.2.1. <i>Dimorfismo sexual e sazonalidade nas DOE</i> .....	14
3.4.2.2. <i>Parâmetros das DOEs emitidas por indivíduos escolhidos por fêmeas</i> .....	15
4. RESULTADOS.....	16
4.1. COMPORTAMENTO DE ESCOLHA DE FÊMEAS.....	16
4.1.1. TESTE DE DUAS ESCOLHAS DE FÊMEAS.....	16
4.1.2. VARIAÇÃO DA PREFERÊNCIA DE FÊMEAS ENTRE ESTÁGIOS GONADAIS.....	18
4.2. COMPARAÇÕES DE DOES.....	19
4.2.1. EFEITO DA MATURAÇÃO GONADAL.....	19
4.2.2. DIMORFISMO SEXUAL E SAZONALIDADE NAS DOES.....	20
4.2.3. PARÂMETROS DAS DOES EMITIDAS POR INDIVÍDUOS ESCOLHIDOS POR FÊMEAS.....	24
4.2.4. PADRÕES DE DOES.....	24
5. DISCUSSÃO.....	26
5.1. EFEITOS DA MATURAÇÃO GONADAL E DIMORFISMO SEXUAL NAS DOES.....	26
5.2. PREFERÊNCIA DE FÊMEAS MADURAS.....	27
6. CONCLUSÕES.....	34
7. REFERÊNCIAS.....	36
APÊNDICES.....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A comunicação animal se dá através da emissão de sinais que carregam informações importantes do emissor e espécies podem evoluir usufruindo dessas informações caso consigam captá-las e interpretá-las (Bradbury e Vehrencamp, 2011). A eficiência de um sinal depende da forma e comportamento do sinal e do receptor que irá direcionar uma evolução conjunta (Endler, 1992). Mas para isso, o meio externo ao emissor/receptor deve ser propício à propagação do sinal emitido. A sinalização elétrica é um exemplo de comunicação evoluída estritamente em ambiente aquático (Hopkins, 2009). As condições ambientais de um meio eletricamente condutivo permitiram a evolução da sinalização elétrica em peixes elétricos de descarga fraca. Os Sistemas Eletrogênico e Eletrosensório (SEE) é o resultado da atuação conjunta dos sistemas eletrossensorial e eletrogênico, o que confere aos peixes elétricos possibilidade de usar eletrolocalização tanto para localização de organismos e objetos como para a Eletrocomunicação intraespecífica (Alves-Gomes, 1999). O sistema eletrogênico produz um campo elétrico tridimensional através de descargas do órgão elétrico (DOEs) que são monitorados por células sensitivas especializadas do sistema eletrossensório (Lissmann, 1958). As DOEs são utilizadas não só para a comunicação, mas também para a navegação e forrageamento (von der Emde, 1998; von der Emde e Bleckmann, 1998; Nelson e Maciver, 1999) uma vez que a detecção da impedância do meio circundante projeta uma imagem elétrica analisada pelo animal (para revisão Caputi e Budelli, 2006). A evolução excepcional das DOEs é considerada um “traço mágico” que possibilitou a diversificação de peixes elétricos através da eletrolocalização e eletrocomunicação (Feulner et al., 2009).

A eletrocomunicação permite o reconhecimento dos seus coespecíficos através de diferenças existentes nas DOEs entre as espécies de peixes elétricos (Feulner et al., 2008). A grande riqueza em DOEs pode indicar que a eletrocomunicação atua como barreira pré-zigótica importante para isolamento reprodutivo (Crampton, 2011). Assim como gama de diferenças intraespecíficas nas modulações da frequência e na forma de onda permite um vasto repertório eletrocomunicativo. As DOEs podem transmitir informações sobre identidade sexual, idade e estágio reprodutivo (Hopkins, 1972; Kramer e Otto 1991; Curtis e Stoddard, 2003, Albert e Crampton, 2005). Tal

plasticidade nas DOEs pode ser relacionada a níveis endógenos de hormônios sexuais esteroides gênero-específicos e se alteram durante a estação reprodutiva e regulam o dimorfismo sexual entre outros fatores (Bass e Hopkins, 1985; Dunlap, et al., 1997; Dunlap, 2002; Hagedorn e Carr, 1985; Meyer, 1983; Meyer, et al., 1987; Silva et. al. 2002, Pouso et. al. 2010).

Por ser um sinal de uso eletrocomunicativo, são inúmeras as informações que ele pode conter. Em diversos táxons, fêmeas são atraídas por sinais de acasalamento elaborados em machos (Ryan e Rand, 1993). Esses sinais podem ser selecionados pelas fêmeas por conterem informações honestas de qualidade dos machos portadores (Andersson, 1994). Por exemplo, a diferença intrasexual na duração da DOEs de machos indicou às fêmeas o tamanho dos machos (Curtis e Stoddard, 2003). Assim como a alteração da área da segunda fase da DOE apenas em machos durante o período reprodutivo pode ser considerado um caractere sexual secundário conspícuo em certas espécies de Gymnotiformes (Hagedorn e Carr, 1985; Crampton, 2011), apesar de nem sempre os sinais atingirem apenas o receptor desejado. A modificação da segunda fase em machos pode torná-lo mais detectável a predadores eletroreceptivos (Stoddard, 1999; Stoddard et al. 2019).

Existem várias forças seletivas direcionando a evolução das DOEs e a diversificação das espécies de peixes elétricos de descarga fraca. O primeiro registro de número total de espécies pertencentes a ordem Gymnotiformes foi de 82, feito por Mago-Leccia (1976), mas um trabalho mais recente realizado por Lévêque (2008) contabilizou cerca de 180 espécies pertencentes à ordem. Apesar do aumento do número de espécies descritas, existem evidências de que ainda existem muitas espécies não descritas, constituindo um complexo de espécies (Schmitt, 2005; Milhomem et al., 2008; Nagamachi et al., 2010; Maia, 2011). O gênero *Microsternarchus* pertencente a essa Ordem é um exemplo da falta de conhecimento sobre a diversidade de espécies. Fernández-Yépez (1968) descreveu com a hipótese de ser um gênero monotípico distribuído pelas bacias Amazônica, Orinoco e Guianas, sendo *Microsternarchus bilineatus* a única espécie (Mago-Leccia, 1994; Albert e Crampton, 2005). Porém, ao longo da última década, uma série de estudos evidenciaram diferenças morfológicas, moleculares e nas DOEs em exemplares de

*Microsternarchus* coletados em campo (Nogueira, 2006, 2011; Maia, 2007, 2011) se contrapondo à essa hipótese. Recentemente, Fernandes e colaboradores (2015) descreveram uma espécie nova para o gênero, *Microsternarchus brevis* e redescreveram a espécie *Microsternarchus bilineatus* mais adequadamente (Fernandes e Williston, 2017).

Dentre a diversidade de DOEs observada na Ordem Gymnotiformes, a DOE do gênero *Microsternarchus* foi considerada uma forma transicional entre a forma de onda e pulso, por apresentar um intervalo entre pulsos mais curto que a duração dos pulsos e uma alta taxa de descarga, com baixo coeficiente de variação (Sullivan, 1997, Alves-Gomes, 2001). Durante o período reprodutivo machos e fêmeas apresentam dimorfismo sexual nas DOEs em *Microsternarchus bilineatus* (Sullivan, 1997) e *Microsternarchus cf. bilineatus* da linhagem C (Vargas, 2015). Porém, ainda são desconhecidos os detalhes do mecanismo de reconhecimento sexual e seleção sexual através das DOEs para o gênero. O objetivo do presente estudo é determinar quais parâmetros das DOEs de machos influenciam a escolha por potenciais parceiros reprodutivos em fêmeas de peixes elétricos da espécie *Microsternarchus* sp. nov. linhagem Ducke (*Microsternarchus* Ducke) durante o período de acasalamento.

## **2. OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral deste trabalho foi determinar qual(is) parâmetro(s) da descarga do órgão elétrico (DOE) de machos influenciam a escolha de fêmeas por potenciais parceiros reprodutivos em peixes elétricos da espécie *Microsternarchus* sp. nov. linhagem Ducke durante o período reprodutivo.

## 2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para alcançar o objetivo geral, nos dedicamos a explorar os seguintes objetivos específicos:

- 1) Caracterizar numericamente a forma de onda de machos e fêmeas da espécie estudada durante o período reprodutivo e não reprodutivo e determinar a possível presença de dimorfismo sexual nas respectivas DOEs.
- 2) Determinar se fêmeas em estágio não reprodutivo apresentam algum tipo de preferência por DOEs geradas tanto por machos como por fêmeas na espécie estudada;
- 3) Determinar se fêmeas em estágio reprodutivo apresentam preferência por padrões de DOEs gerada por machos na espécie estudada;
- 4) Determinar quais os parâmetros associados às DOEs dos machos são determinantes para as escolhas das fêmeas na espécie estudada.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. OBJETO DE ESTUDO

O presente estudo utiliza como objeto de estudo uma espécie nova do gênero *Microsternarchus* em processo de descrição (Nogueira, dados pessoais) encontrada, até o momento, apenas no igarapé “TI 12”, localizado na Reserva Florestal Adolfo Ducke (Manaus/Amazonas). Estudos de sistemática filogenética (Maia e Alves-Gomes, 2012) demonstraram ser uma espécie nova, dado o grau de diferenciação e segregação de características genéticas e da forma de onda da DOE entre esta linhagem e as outras conhecidas para o complexo *M. cf. bilineatus*. Devido a essas novas evidências, nesta dissertação a espécie em estudo está sendo denominada como *Microsternarchus* sp. nov. linhagem Ducke (*Microsternarchus* Ducke) a fim de distingui-la das demais.



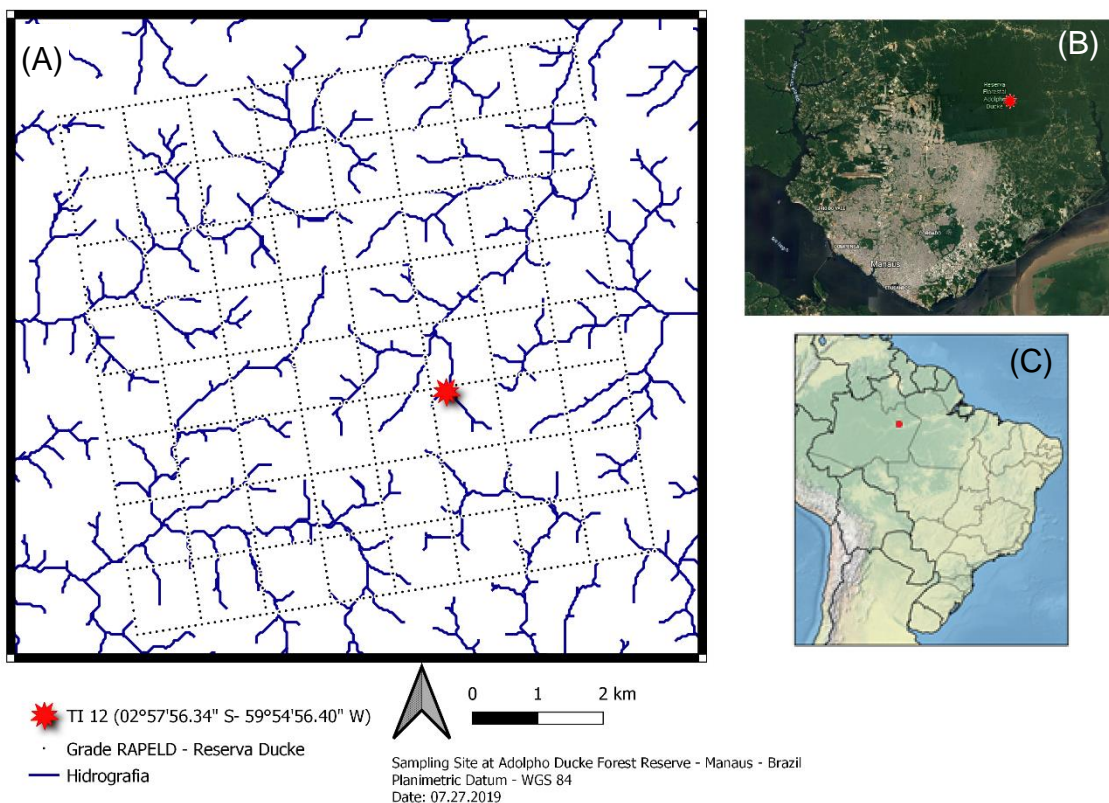
### 3.2. COLETA, CULTIVO E MATURAÇÃO GONADAL

Foram coletados 27 indivíduos de *Microsternarchus* Ducke, em setembro/2018 do igarapé "TI 12" (02°57'56.34" S, 59°54'56.40" O), na microbacia do igarapé Tinga, localizado na Reserva Florestal Adolfo Ducke (Manaus/Amazonas) (figura 1). Os parâmetros da água do igarapé TI12 foram mensurados por uma sonda multiparâmetros portátil (HI 98129, HANNA Instruments®, Woonsocket, EUA) (9 µS/cm; 24,5°C; pH 4,74).

Os indivíduos foram localizados com o auxílio de um detector de peixes elétricos, coletados e levados com água do local ao Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução (LFCE) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e mantidos em aquários de cultivos (43cm x 43 cm x 98 cm) em foto período natural (12:12) e alimentados com *Enchytraeus albidus* e *Artemia salina*. Após o período de aclimação de 15 dias, cada um dos 27 peixes foi medido, pesado e teve sua DOE gravada e, em seguida, recebeu uma marcação exclusiva com elastômero (Visible Implant Elastomer Tags, Northwest Marine Technology, Shaw Island, WA, USA) para identificação. O padrão para identificação seguiu um código de dupla marcação, com diferentes combinações de cores (azul, amarelo, rosa e branco) em uma dada localização de seis possíveis no tronco do animal.

Após um período de recuperação de 15 dias, os peixes foram submetidos ao protocolo de maturação gonadal de peixes elétricos de descarga fraca neotropicais desenvolvido por Kirshbaum (1979), que simula a estação chuvosa através do controle dos parâmetros físico-químicos da água. Durante a aplicação do protocolo de maturação, fêmeas e machos foram mantidos juntos em cativeiro. Quando foi possível realizar a sexagem dos indivíduos através da visualização de gônadas aumentadas, machos e fêmeas foram mantidos em aquários separados.

Figura 1 – Localização do igarapé onde foram coletados os indivíduos usados no presente



Legenda: (A) A estrela vermelha indica a localização do igarapé TI12 em relação a malha hidrográfica e a grade RAPELD da Reserva Florestal Adolfo Ducke. (B) Localização da Reserva Florestal Adolfo Ducke à nordeste de Manaus, a estrela vermelha localiza o igarapé TI12. (C) Localização de Manaus/AM – Brasil.

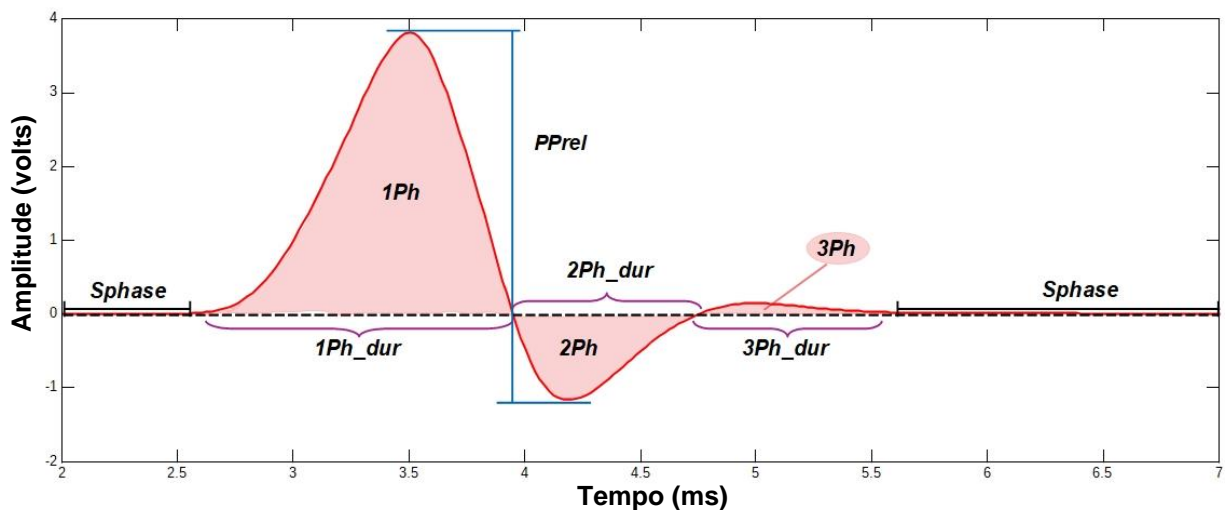
### 3.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.3.1. GRAVAÇÕES E ANÁLISES DAS DOES

As gravações de DOEs foram feitas em uma estação montada em um *container* com blindagem eletrostática a fim de reduzir interferências nas gravações das DOEs ocasionadas por ruídos eletromagnéticos externos. As gravações dos indivíduos foram feitas individualmente e, para obter captações precisas de DOEs e padronizadas, cada um dos indivíduos foi imobilizado dentro de um tubo cilíndrico (12 cm comprimento x 2 cm Ø) perfurado, posto em um aquário (40 cm x 30 cm x 10 cm)

com água do aquário onde se encontravam. O tubo cilíndrico foi alinhado longitudinalmente a três eletrodos de prata, dispostos equidistantes entre si, que captavam as DOEs. Por convenção, o eletrodo positivo é posicionado próximo a cabeça, o eletrodo negativo próximo a cauda e um eletrodo neutro entre os eletrodos positivo e negativo (Zupanc e Bullock, 2005). Os eletrodos foram conectados a um amplificador AC/DC (BMA-200, CWE Inc., Ardmore PA, USA) e as DOEs foram digitalizadas a uma resolução de 14 bits por um conversor analógico-digital Data Translation® (DT 9804, Data Translation Inc., Marlboro, USA). As DOEs digitalizadas foram monitoradas em um osciloscópio Tektronix® (TDS 2024, Tektronix Inc., Beaverton, USA) e, posteriormente, gravadas e armazenadas em um computador pelo software MATLAB 7.6.0®. Cada gravação individual de DOEs teve a duração de 5 segundos e forneceu as medidas dos parâmetros relacionados a aspectos temporais e da forma do pulso. A figura 2 esquematiza como ocorrem as medições dos parâmetros que compõem a forma da onda e a relação de todos os parâmetros analisados estão representados no quadro 1. As DOEs de cada indivíduo foram gravadas semanalmente durante o processo de maturação gonadal e antes e depois de serem submetidos ao teste de duas escolhas.

Figura 2 – Esquema representativo dos parâmetros das DOEs analisados na caracterização da forma de onda de *Microsternarchus* sp. nov. linhagem Ducke.



Legenda: *Sphase*: fase silenciosa, *1Ph*: 1ª fase, *2Ph*: 2ª fase, *3Ph*: 3ª fase, *1Ph\_dur*: duração da 1ª fase, *2Ph\_dur*: duração da 2ª fase; *3Ph\_dur*: duração da 3ª fase. A área em vermelho claro é referente a área de pulso e, através dela, é calculado a área de cada fase (*1Ph\_area*, *2Ph\_area*, *3Ph\_area*), a área total do pulso (*Tot\_EOD\_area*) e o balanço de polaridade entre a fase positiva e negativa do pulso ( $Pol\_bal = 1Ph\_area + 3Ph\_area / 2Ph\_area$ ). A linha azul vertical é referente ao cálculo da relação pico-a-pico (*PPrel*) entre a 1Ph e 2Ph. A razão entre a fase de pulso e a silenciosa é dada pela equação  $1Ph\_dur + 2Ph\_dur + 3Ph\_dur / Sphase$  (*P/S ratio*).

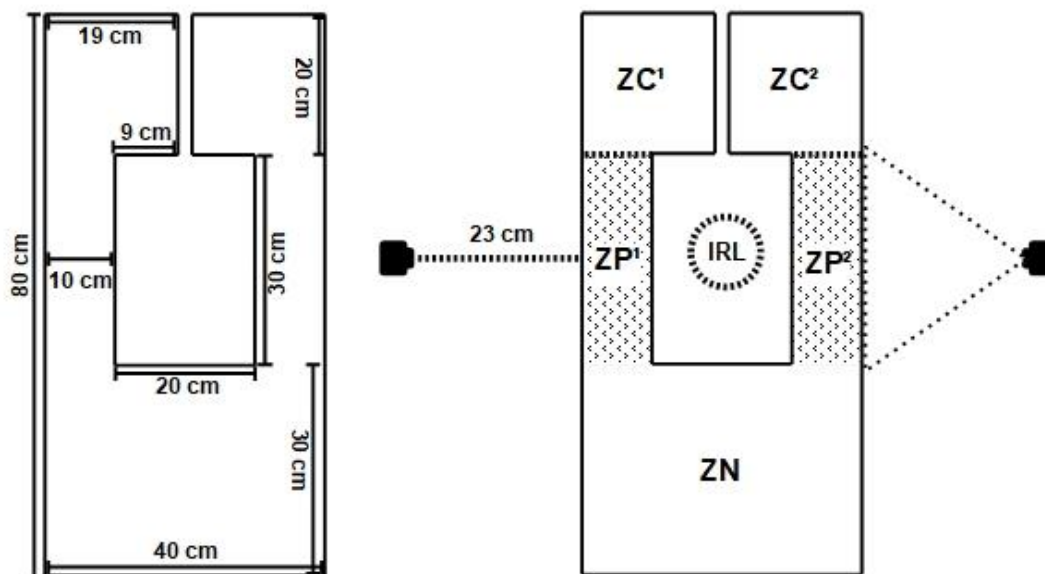
Quadro 1 – Indicação dos 18 parâmetros da descarga do órgão elétrico (DOE) analisados e suas respectivas unidades de medida e códigos de referência ao parâmetro elétrico da DOE.

	<b>Parâmetro da DOE</b>	<b>Unidade</b>	<b>Código</b>
1	Média de intervalos entre pulsos	ms	<i>Mean IPI</i>
2	Média da taxa de descargas por segundo	Hz	<i>Mean rate</i>
3	Coeficiente de variação	n/a	<i>CV</i>
4	Fase silenciosa (entre pulsos)	ms	<i>Sphase</i>
5	Relação entre fase silenciosa e duração do pulso	n/a	<i>P/S ratio</i>
6	Área total da DOE	n/a	<i>Tot_EOD_area</i>
7	Valor eficaz do pulso sem corrente direta	n/a	<i>RMSnoDCvec</i>
8	Relação entre fase positiva e negativa do pulso	n/a	<i>PPrel</i>
9	Balanço de polaridade	%	<i>Pol_bal</i>
10	Frequência de maior energia da DOE, no espectro de Fourier	kHz	<i>PPF</i>
11	Duração efetiva do pulso	ms	<i>EPD</i>
12	Duração total da DOE	ms	<i>EOD_dur</i>
13	Duração percentual da 1ª fase	%	<i>1Ph_dur</i>
14	Duração percentual da 2ª fase	%	<i>2Ph_dur</i>
15	Duração percentual da 3ª fase	%	<i>3Ph_dur</i>
16	Área percentual da 1ª fase	%	<i>1Ph_area</i>
17	Área percentual da 2ª fase	%	<i>2Ph_area</i>
18	Área percentual da 3ª fase	%	<i>3Ph_area</i>

### 3.3.2. AQUÁRIO-TESTE *U-MAZE* E SET DE GRAVAÇÃO

Para avaliar a preferência das fêmeas foram realizados testes de duas escolhas em um aquário *u-maze* (80 cm comprimento x 40 cm largura) de vidro transparente colocados no *container* com blindagem eletrostática. O aquário-teste *u-maze* é dividido em três áreas – um compartimento maior (40 cm x 30 cm) definido como Zona Neutra (ZN) e dois menores (20 cm x 19 cm) definidos como Zona de Confinamento (ZC1 e ZC2) – interligados por dois corredores (30 cm x 10 cm) definidos como Zona de Preferência (ZP1 e ZP2) (Figura 3).

Figura 3 – Esquemática do aquário-teste *u-maze* e do set de gravação



Legenda: à direita o esquema com as medidas internas de cada região do aquário e à esquerda as zonas definidas do aquário (ZN – zona neutra; ZP – zona de preferência; ZC – zona de confinamento; IRL – iluminação infravermelha; linha tracejada entre ZCs e ZPs – tela eletricamente transparente que separa as zonas; área hachurada – campo de filmagem das ZPs).

No interior do aquário, entre as ZPs, havia uma área vazia onde foi colocada luzes de LED infravermelho (IRL) para obter retroiluminação em cada ZP necessária para as filmagens noturnas. As ZCs foram separadas das ZPs por telas plásticas, o que permitiu o livre fluxo de água e dos sinais elétricos, mas não dos indivíduos. O nível da água nos aquários *u-maze* foi de 15 cm e os parâmetros da água utilizada foram iguais aos parâmetros da água do aquário de origem dos peixes na data da realização de cada teste de duas escolhas.

O formato de *u-maze* do aquário-teste foi escolhido a fim de minimizar a interferência entre as DOEs dos indivíduos que ocupavam as ZCs. Para testar o modelo do aquário, foi colocado um indivíduo em uma ZC e testada a detecção de sua DOE através de um detector de peixe elétrico nas diferentes áreas do aquário. Foi possível captar a DOE fortemente na ZP relacionada a ZC que o indivíduo ocupava e fracamente na ZN, mas não foi possível ser captada na ZP oposta à ZC testada. As laterais internas das ZPs foram revestidas com plástico adesivo branco para: (1) gerar contraste nas filmagens entre o peixe e o aquário; (2) impedir a transparência do vidro,

evitando que a mesma câmera filmasse as duas ZPs; mas ainda (3) permitindo a passagem de luz infravermelha para as ZPs.

Em cada lateral externa do aquário *u-maze* foi posicionado uma câmera infravermelha (VHD 3420, Intelbras S/A, São José, SC) direcionada a uma ZPs a uma distância de 23 cm, que filmava individualmente a atividade da fêmea nessa zona. As imagens filmadas eram gravadas em DVR (MHDX 1104, Intelbras S/A, São José, SC), salvas em filmes com uma hora de duração.

### 3.3.3. TESTES DE DUAS ESCOLHAS PARA FÊMEAS NÃO MADURAS E MADURAS

Foram realizados dois experimentos com testes de duas escolhas: o primeiro para testar a escolha de fêmeas maduras (n=20) e o segundo para testar fêmeas não maduras (n=10). A fim de se verificar o efeito da maturação gonadal nas escolhas das fêmeas, o teste com fêmeas não maduras foi utilizado como o teste controle, podendo assim servir de base para os resultados que não refletissem contextos reprodutivos diretamente.

Para compor o teste de escolha das fêmeas, foram selecionadas tríades (uma por teste) de indivíduos, compostas por uma fêmea a ser testada quanto a sua preferência (a fêmea “escolhedora”) e dois indivíduos que foram os potenciais objetos de escolha da fêmea testada (os indivíduos “potencialmente escolhidos”). Cada indivíduo “potencialmente escolhido” foi colocado em uma ZC e a fêmea “escolhedora” foi colocada na ZN com acesso livre às ZP<sup>1</sup> e ZP<sup>2</sup>. Para a quantificação da escolha da fêmea foi computado o tempo total de ocupação da fêmea em cada uma das ZPs durante o teste.

Nos testes com fêmeas maduras (n=20) a tríade era composta por uma “fêmea escolhedora” madura (n=12) e dois machos (n=7) (não necessariamente maduros) alocados cada um em uma ZC. Já para o teste de duas escolhas com fêmeas não maduras (n=10) a tríade era formada por uma “fêmea escolhedora” não madura (n=9)

e dois indivíduos alocados cada um em uma ZC ( $\sigma^2=7$  e  $\sigma^2=6$ ). Em três destes testes havia dois machos nas ZCs e em sete testes havia um macho e uma fêmea ocupando as ZCs. Outros experimentos foram realizados com intuito de obter controles negativos e positivos (quadro 2) para os resultados dos experimentos descritos acima. Porém, os dados relativos aos mesmos não foram analisados em tempo da elaboração do presente estudo.

Quadro 2 – Descrição de experimentos controle realizados, mas ainda não analisados

<b>Controle</b>	<b>Fêmeas</b>	<b>Zona de Confinamento</b>	
Negativo	Não maduras e Maduras	Vazio	Vazio
Positivo	Não maduras	Vazio	Coespecífico
Positivo		Vazio	Heteroespecífico
Positivo	Maduras	Coespecífico	Heteroespecífico

### 3.3.4. PROCEDIMENTO DOS TESTES

As tríades usadas em cada teste foram selecionadas aleatoriamente em torno de uma hora antes do teste de preferência. Os indivíduos selecionados tiveram suas DOEs gravadas individualmente (DOE pré-teste) e colocados em seus respectivos compartimentos no aquário *u-maze* para aclimação. Após o período de aclimação, as luzes visíveis foram apagadas e acesa a iluminação infravermelha e iniciada a filmagem do teste, geralmente por volta das 18:00 horas. Após iniciado o teste, foi impedido o uso do container para evitar possíveis interferências no comportamento dos peixes. Por serem peixes de hábitos noturnos (Kirschbaum, 1995), os testes de duas escolhas foram realizados no período da noite a fim de captar maior atividade dos indivíduos, respeitando o fotoperíodo (12:12). O tempo de gravação e duração de cada teste foi de 12 horas. Após as 12 horas, os peixes tiveram suas DOEs gravadas novamente (DOE pós-teste) e foram devolvidos para o aquário de manutenção. Cada peixe teve pelo menos 24 horas de repouso no aquário de manutenção antes de ser utilizado novamente em algum outro teste.

### 3.3.5. ANÁLISE DAS FILMAGENS DOS TESTES DE DUAS ESCOLHAS

Foram geradas 120 e 240 horas de gravação dos testes de duas escolhas com fêmeas não maduras e maduras, respectivamente, que foram analisadas no *software* de comportamento animal *EthoVision*<sup>®</sup> (*EthoVision*<sup>®</sup> XT, Noldus Information Technology B.V, Wageningen, Holanda). Cada hora de filmagem gravada foi subdividida em 10 pacotes de três minutos (três minutos analisados seguidos por intervalo de três minutos), tendo sido analisado 30 minutos de cada hora, distribuídos uniformemente dentro de cada hora. Com isso, em cada teste de duas escolhas foram analisadas 6 horas distribuídas uniformemente em pacotes de 3 minutos ao longo das 12 horas filmadas.

No *software*, a ZP foi determinada virtualmente como área de interesse para que fossem captadas as informações de tempo apenas quando o indivíduo fosse detectado dentro da área. O *software* analisou automaticamente as filmagens e forneceu o tempo total (segundos) de ocupação em cada ZP da fêmea escolhida durante o teste. Para eliminar os erros de detecção do *software*, os resultados das análises automáticas foram revistos manualmente e confirmados juntamente aos vídeos. Nos testes de duas escolhas foi considerado somente o tempo total em que as fêmeas despenderam nas ZPs, não considerando o tempo de ocupação da ZN.

## 3.4. ANÁLISE DE DADOS

### 3.4.1. COMPORTAMENTO DE ESCOLHA DE FÊMEAS

#### 3.4.1.1. *Teste de escolha de fêmeas não maduras e maduras*

Para determinar se a fêmea testada fez ou não uma escolha entre as ZPs no teste de duas escolhas, foi realizado um teste T pareado (paramétrico) ou teste de Wilcoxon (não paramétrico) e o teste de qui-quadrado por fêmea madura e não madura, bem como para o grupo de fêmeas em cada estágio de maturação gonadal. Para a realização do teste T pareado foram comparados os valores de tempo total de



ocupação (em segundos) despendido pelas fêmeas em cada ZP relativo a cada hora dentre as 12 horas dos testes (medidas repetidas). O teste de qui-quadrado por sua vez, foi calculado com os valores absolutos de tempo total de ocupação (em segundos) despendido por cada fêmea durante as 12 horas de teste em cada ZP, tabulado em uma tabela de contingência 2x2.

#### 3.4.1.2. *Varição da preferência de fêmeas entre estágios gonadais*

Para investigar se fêmeas de cada um dos tratamentos (gônadas maduras e não maduras) apresentam comportamento distinto de escolha foi realizado o teste G. Para isso, foi tabulado em uma tabela de contingência 2x2 o maior e menor tempo de ocupação de uma ZP por fêmeas não maduras contra o maior e menor tempo de fêmeas maduras, respectivamente. Foi realizado o teste de heterogeneidade (Sokal e Rolf, 1995) através dos testes G feitos individualmente para avaliar a variação em escolha observado entre as fêmeas testadas no estágio reprodutivo e não reprodutivo.

#### 3.4.2. COMPARAÇÕES DE DOES

##### 3.4.2.1. *Dimorfismo sexual e sazonalidade nas DOE*

Foram investigados o dimorfismo sexual e a variação das DOEs entre os estágios reprodutivo e não reprodutivo para cada sexo de duas formas. A primeira forma foi direcionada a investigar as diferenças e mudanças dos parâmetros individuais da DOE de machos e fêmeas entre estágios reprodutivos através de teste T de duas amostras para dados paramétricos e teste U de Mann-Whitney para dados não paramétricos. A segunda forma foi a análise das diferenças e mudanças da DOE pelo conjunto completo dos parâmetros que a compunham. Para isso, foram

realizadas ordenações dos parâmetros das DOEs (variáveis) em uma PCA com os 18 parâmetros das DOEs de machos e fêmeas gravadas durante o estágio não reprodutivo (gônadas não maduras) e outra com machos e fêmeas no estágio reprodutivo (gônadas maduras). Com os parâmetros mais influentes da DOE, foi realizada uma análise de variação multivariada (MANOVA) para comparar as DOEs emitidas por indivíduos de cada sexo, em cada estágio separadamente.

#### 3.4.2.2. *Parâmetros das DOEs emitidas por indivíduos escolhidos por fêmeas*

A partir dos resultados de tempo de ocupação da fêmea nas ZPs, os dados das DOEs dos indivíduos que ocupavam as respectivas ZCs foram agrupados em maior e menor tempo de ocupação da fêmea na sua ZP relacionada (quadro 3). Foram analisados os parâmetros das DOEs apenas dos indivíduos que participaram de testes de duas escolhas com diferença significativa do tempo de ocupação entre ZPs nos testes de qui-quadrado. Os 18 parâmetros das DOEs foram comparados através do teste T de duas amostras ou teste U de Mann-Whitney a fim de investigar as diferenças entre os indivíduos ocupantes das ZCs e possíveis parâmetros da DOE que explicariam o tempo de ocupação das fêmeas nas ZPs.

Quadro 3 – Esquematização do agrupamento de dados dos parâmetros da DOE para maior e menor tempo de ocupação para análise estatística

Análise do parâmetro “x” da DOE		
Nº do teste	Indivíduos da ZC com maior tempo de ocupação da ZP relacionada	Indivíduos da ZC com menor tempo de ocupação da ZP relacionada
1	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 1	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 1
2 (...)	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 2 (...)	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 2 (...)

Compilamos os testes experimentais, a forma de agrupamento de dados e as análises estatísticas já citados neste presente estudo, juntamente com suas respectivas justificativas no quadro 4.

Quadro 4 – Resumo de testes experimentais, agrupamento de dados, análises estatísticas e respectivas justificativas realizados nesse estudo

<b>Teste experimental</b>	<b>Dados</b>	<b>Análises</b>	<b>Justificativa</b>
Teste de duas escolhas para fêmeas não maduras e maduras	<p>Maior tempo de ocupação vs. Menor tempo de ocupação</p>	<p>Teste T pareado / Teste de Wilcoxon e teste de qui-quadrado</p>	<p>Verificar se a fêmea realizou escolha dentro de um teste</p>
	<p>Maior tempo de ocupação vs. Menor tempo de ocupação</p>	<p>Teste T com duas amostras / Teste U de Mann-Whitney, teste de qui-quadrado</p>	<p>Verificar se a população de fêmeas em um estágio gonadal realizaram escolha</p>
<p>Varição comportamental de fêmeas entre estágios reprodutivos</p>	<p>Maior e menor tempo de ocupação de fêmeas não maduras vs. Maior e menor tempo de ocupação de fêmeas maduras</p>	<p>Teste de qui-quadrado e Teste de G</p>	<p>Verificar se há diferença na escolha entre fêmeas não maduras e maduras através da diferença do tempo de ocupação das ZPs</p>
<p>Dimorfismo sexual e sazonalidade nas DOEs</p>	<p>DOEs de machos e fêmeas no período não reprodutivo e reprodutivo</p>	<p>Teste T de duas amostras / Teste U de Mann-Whitney e MANOVA</p>	<p>Verificar se machos e fêmeas diferem entre si e se há variação intrasexual na DOE entre o período reprodutivo e não reprodutivo</p>
<p>Preferência das fêmeas por parâmetros das DOEs</p>	<p>DOEs de indivíduos escolhidos v.s. DOEs de indivíduos não escolhidos</p>	<p>Teste T de duas amostras/Teste U de Mann-Whitney</p>	<p>Verificar se há variação entre os parâmetros de DOEs entre indivíduos que tiveram maior e menor tempo de ocupação de suas ZPs relacionadas</p>

## 4. RESULTADOS

### 4.1. COMPORTAMENTO DE ESCOLHA DE FÊMEAS

#### 4.1.1. TESTE DE DUAS ESCOLHAS DE FÊMEAS

Nos testes com fêmeas não maduras ( $n=10$ ) as medidas de tempo foram analisadas através do teste T pareado (dados com distribuição normal) e teste de Wilcoxon (dados sem distribuição normal) e, em apenas um teste a fêmea ocupou mais tempo uma ZP o suficiente para apresentar diferença significativa ( $p=0,024$ ). Já nos testes qui-quadrado, seis testes apresentaram diferença significativa ( $[x^2=12,9; 108]$ ,  $[p= 0.0003138; < 0,01]$ ). A figura 4 ilustra as proporções de tempo despendido pelas fêmeas entre as ZPs e o limiar da diferença de tempo necessário para um teste ser significativo. Para o teste de qui-quadrado dar resultado estatisticamente significativo, foi necessária uma diferença mínima de aproximadamente 8% e no teste T pareado de aproximadamente 20%.

Foram realizados sete testes em que a fêmea não madura foi exposta a um macho e a uma fêmea e três testes em que a fêmea foi exposta a dois machos. Dos sete testes de exposição à um macho e uma fêmea, em quatro a fêmea testada estatisticamente preferiu um lado, sendo que em três vezes o lado preferido foi o do macho e uma vez o da fêmea. Dos três testes com dois machos nas ZCs (teste nº 1, nº 2 e nº 5), dois foram significativos para a escolha da fêmea.

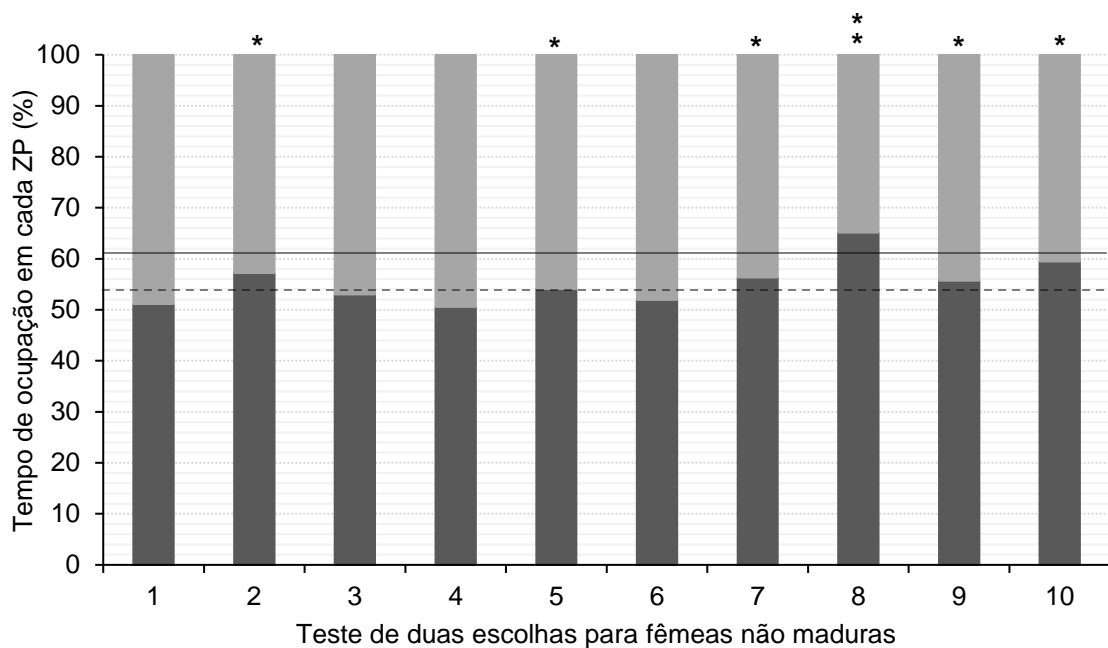
Para verificar se as escolhas realizadas representam um comportamento dentro da população de fêmeas não maduras, foi comparado se os maiores tempos de ocupação das fêmeas em uma ZP eram diferentes dos menores tempos. Para isso, foram agrupados os testes significativos no qui-quadrado ( $n=6$ ) e comparado os valores através do teste T de duas amostras e não houve diferença significativa ( $p= 0,373$ ).

Nos testes com as fêmeas maduras ( $n=20$ ) as medidas de tempo foram analisadas com o teste T pareado (dados com distribuição normal) e teste de Wilcoxon (dados sem distribuição normal), sendo oito vezes evidenciada uma diferença de tempo significativa as ZPs [ $p=0,042; 0,002$ ]. Já nos testes de qui-quadrado, 14 testes apresentaram diferença significativa ( $[x^2=5,3; 450,3]$ ,  $[p=0,02; < 0,01]$ ). Na figura 5 são

representadas as proporções de tempo despendido pelas fêmeas entre as ZPs e o limiar da diferença de tempo necessário para um teste ser significativo. Para o teste de qui-quadrado, foi necessária uma diferença mínima de 9,8% e no teste pareado de aproximadamente 18% entre a ocupação das ZPs. Todavia, ter uma diferença maior que 18% não garantiu diferença significativa em análises de teste pareado em dois testes de duas escolhas (teste nº 7 e nº 11).

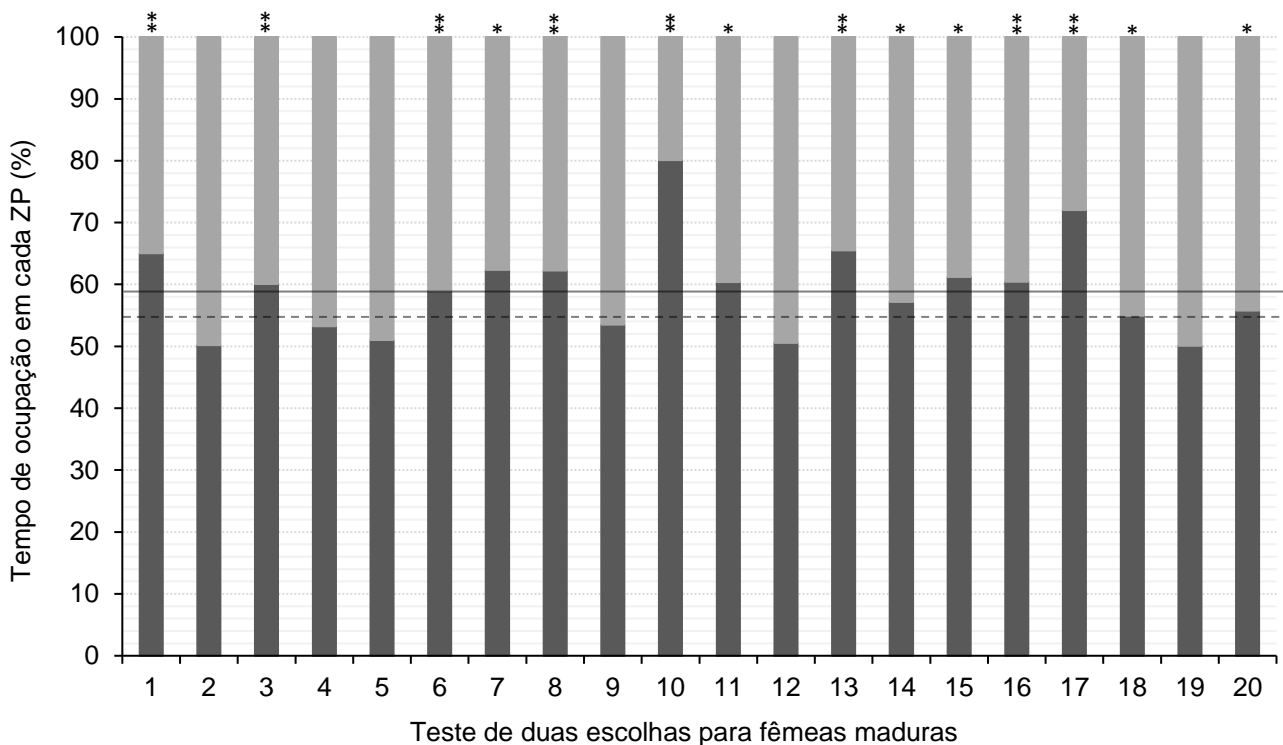
Para verificar se as escolhas realizadas representam um comportamento dentro da população de fêmeas maduras, foi comparado se os maiores tempos de ocupação das fêmeas em uma ZP eram estatisticamente diferentes dos menores tempos. Para isso, foi agrupado todos os testes significativos no qui-quadrado (n=14) e comparado os valores através do teste U de Mann-Whitney e houve diferença significativa (p=0,026).

Figura 4 – Relação de tempo total de ocupação de fêmeas não maduras nas ZPs



Legenda: As barras representam os testes realizados (n=10) e a proporção de tempo (%) de ocupação das fêmeas em cada ZP. As proporções das barras em cinza-escuro representam as ZPs com maior tempo de ocupação e as cinza-claro as com menor tempo. A linha contínua representa o limiar de significância para o teste T pareado e a linha tracejada para os testes de qui-quadrado. Barras com um asterisco indicam os testes significativos para o teste de qui-quadrado e com dois asteriscos o teste significativo para o qui-quadrado e o teste T pareado.

Figura 5 – Relação de tempo total de ocupação de fêmeas maduras nas ZPs



Legenda: As barras representam os testes realizados (n=20) e a proporção de tempo (%) de ocupação das fêmeas em cada ZP. As proporções das barras em cinza-escuro representam as ZPs com maior tempo de ocupação e as cinza-claro as com menor tempo. A linha contínua representa o limiar de significância para o teste T pareado e a linha tracejada para os testes de qui-quadrado. Barras com um asterisco indicam os testes significativos para o teste de qui-quadrado e com dois asteriscos o teste significativo para o qui-quadrado e o teste T pareado.

#### 4.1.2. VARIAÇÃO DA PREFERÊNCIA DE FÊMEAS ENTRE ESTÁGIOS GONADAIS

Para o teste de heterogeneidade da população de fêmeas não maduras (n=10) e maduras (n=20) foi realizado o teste *G* de cada teste de duas escolhas e o conjunto (*pooled*) de todos os testes de duas escolhas.

Para as fêmeas não maduras o valor de *G pooled* foi de 179,98 (gl=1) e o teste de heterogeneidade foi significativo ( $G_{HET} = 93,19$ ; gl=9;  $p < 0,001$ ). Para as fêmeas maduras o valor de *G pooled* foi de 1113,7 (gl=1) e o teste de heterogeneidade foi significativo ( $G_{HET} = 531,08$ ; gl=19;  $p < 0,001$ ).

## 4.2. COMPARAÇÕES DE DOES

### 4.2.1. EFEITO DA MATURAÇÃO GONADAL

As médias e desvios padrão dos valores dos parâmetros da DOE de machos e fêmeas não maduros e maduros estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Valor médio e desvio padrão (DP) dos parâmetros de DOE da indivíduos de *Microsternarchus* sp. nov. linhagem Ducke

Parâmetro da DOE	Valor médio e desvio padrão dos parâmetros da DOE							
	Fêmeas				Machos			
	Não Maduras		Maduras		Não Maduros		Maduros	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<i>Mean IPI (s)</i>	0.01254	0.0020	0.01294	0.00152	0.01223	0.00180	0.01163	0.00119
<i>Mean rate (Hz)</i>	79.73	12.66	77.30	8.60	81.76	12.27	85.99	8.22
<i>CV</i>	0.00226	0.0019	0.00268	0.00181	0.00300	0.00162	0.00303	0.00259
<i>Sphase (ms)</i>	8.08	2.34	8.73	1.41	7.62	1.89	6.88	1.26
<i>P/S ratio</i>	0.447	0.213	0.462	0.104	0.538	0.238	0.681	0.158
<i>Tot_EOD_area</i>	0.00313	0.0002	0.00303	0.00016	0.00318	0.00026	0.00316	0.00012
<i>RMSnoDCvec</i>	0.762	0.061	0.728	0.067	0.778	0.077	0.775	0.045
<i>PPrel</i>	0.337	0.088	0.321	0.068	0.310	0.078	0.305	0.043
<i>Pol_bal (%)</i>	60.08	10.55	61.90	7.17	50.76	11.03	45.92	4.64
<i>PPF (KHz)</i>	0.390	0.127	0.439	0.104	0.346	0.072	0.345	0.032
<i>EPD (ms)</i>	2.57	534.26	2.28	400.05	2.89	1.86	2.90	0.25
<i>EOD_dur (ms)</i>	3.57	0.95	4.13	0.57	4.00	1.10	4.48	0.44
<i>1Ph_dur (%)</i>	38.10	9.84	32.39	4.40	33.33	8.42	30.09	2.85
<i>2Ph_dur (%)</i>	25.21	11.60	20.95	7.33	34.36	14.00	35.35	7.62
<i>3Ph_dur (%)</i>	35.11	19.23	42.81	11.17	28.30	15.89	35.41	8.50
<i>1Ph_area (%)</i>	78.14	5.65	77.56	3.42	73.92	5.53	71.78	2.25
<i>2Ph_area (%)</i>	-19.96	5.29	-19.05	3.69	-24.62	5.52	-27.04	2.32
<i>3Ph_area (%)</i>	1.37	1.84	3.09	1.44	0.59	0.61	0.87	0.44

A maturação gonadal em fêmeas provocou aumento significativo nos parâmetros de medida de maior energia da DOE (*PPF*,  $p=0,009$ ), área da 3ª fase (*3Ph\_area*,  $p=0,002$ ) e diminuição na duração da 2ª fase (*2Ph\_dur*,  $p=0,005$ ) e na

duração efetiva do pulso (*EPD*,  $p=0,009$ ). Em machos a maturação gonadal provocou aumento significativos nos valores da razão entre a fase silenciosa e de pulso (*P/S\_ratio*,  $p=0,027$ ), da duração da DOE (*EOD\_dur*,  $p=0,031$ ) e da área da 2ª fase (*2Ph\_area*,  $p=0,047$ ) e diminuição no balanço de polaridade (*Pol\_bal*,  $p=0,05$ ), duração da 1ª fase (*1Ph\_dur*,  $p=0,03$ ) e da área da 1ª fase (*1Ph\_area*,  $p=0,035$ ).

#### 4.2.2. DIMORFISMO SEXUAL E SAZONALIDADE NAS DOES

Para machos e fêmeas não maduros a PCA (Figura 6) reduziu os parâmetros das DOEs em 4 eixos principais que explicaram 80,87% da variação. Na tabela 2 está listada os oito principais parâmetros determinadas pela PCA.

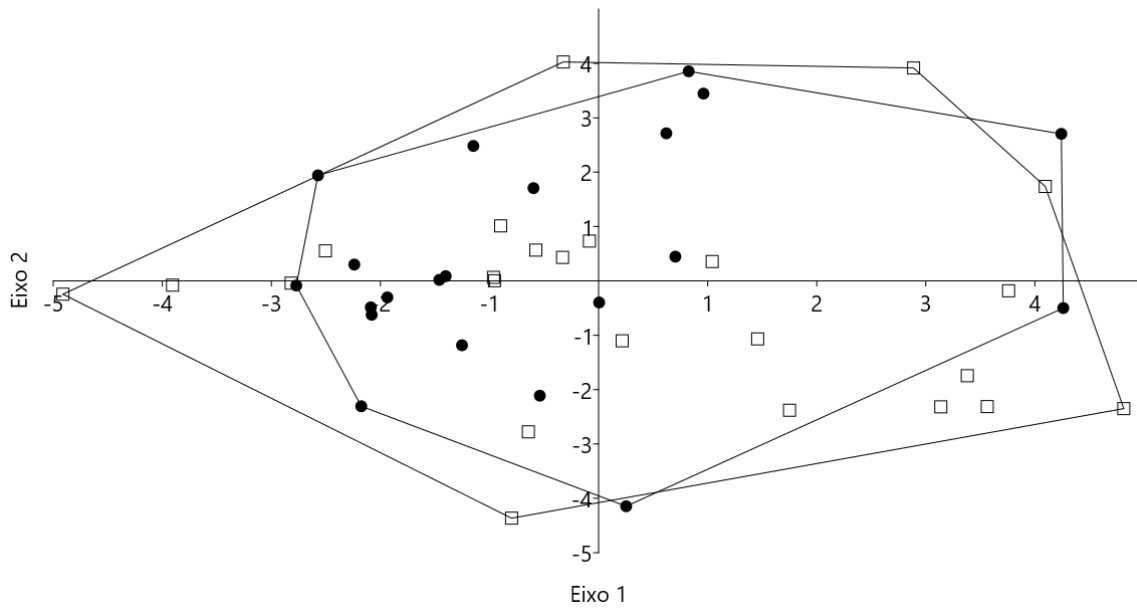
Com as oito principais variáveis foi realizado uma MANOVA e não houve diferença significativa entre os parâmetros da DOEs de machos e fêmeas não maduros (Wilk's lambda=0,0038;  $p=0,134$ ), (Pillai trace=3,7;  $p=0,07$ ).

Tabela 2 – Variação em porcentagem explicada por cada eixo da PCA, valores de *loading* e os principais parâmetros de DOE selecionados pela PCA para machos e fêmeas não maduros

<b>Eixo</b>	<b>Variação (%)</b>	<b>Loading</b>	<b>Parâmetros selecionadas pela PCA</b>
PC1	30.73	0.382	<i>1Ph_area (%)</i>
		0.350	<i>Pol_Bal (%)</i>
PC2	22.14	0.443	<i>RMSnoDCvc</i>
		-0.441	<i>Sphase (ms)</i>
PC3	15.67	-0.456	<i>2Ph_dur (%)</i>
		0.376	<i>3Ph_dur (%)</i>
PC4	12.33	0.511	<i>Tot_EOD_area</i>
		0.414	<i>EOD_dur (ms)</i>



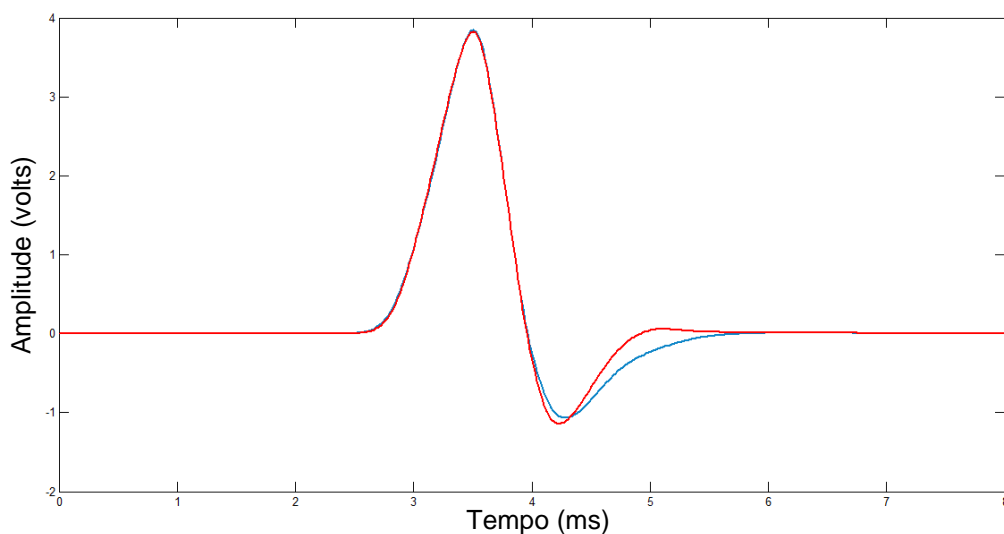
Figura 6 – PCA dos 18 parâmetros de DOE de machos e fêmeas não maduros



Legenda: PCA com as 18 variáveis da DOE de machos e fêmeas no estágio não maduros. Os machos (n=21) estão representados pelo círculo e as fêmeas (n=24) pelo quadrado.

Analisando os parâmetros separadamente, foi evidenciado que durante o estágio não reprodutivo fêmeas apresentaram maiores valores no balanço de polaridade (*Pol\_Bal*,  $p=0,010$ ) e na medida de maior energia da DOE (*PPF*,  $p=0,039$ ) do que machos e machos apresentam maiores valores na duração da 2ª fase (*2Ph\_dur*,  $p=0,005$ ) e na área da 2ª fase (*2Ph\_area*,  $p=0,010$ ) do que fêmeas. A figura 7 mostra a forma de pulso médio de machos e fêmeas não maduros.

Figura 7 – Forma de pulso médio de machos e fêmeas não maduros



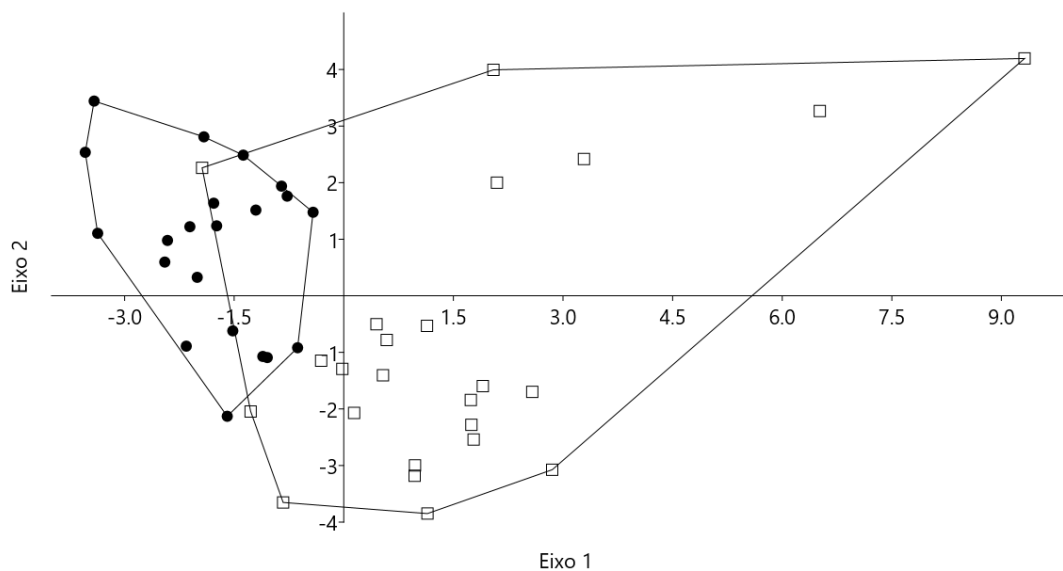
Legenda: Comparação de forma de pulso de machos e fêmeas em estágio não reprodutivo. O pulso em vermelho representa a média de pulsos de fêmeas (n=24) e em azul a média de machos (n=21).

Já para machos e fêmeas maduros a PCA reduziu os parâmetros em 4 eixos principais que explicaram 85,1% da variação. Na tabela 3 está listada os oito principais parâmetros determinadas pela PCA e na figura 8 está a PCA produzida com os dados de machos e fêmeas maduros.

Tabela 3 – Variação em porcentagem explicada por cada eixo da PCA, valores de *loading* e os principais parâmetros de DOE selecionados pela PCA para machos e fêmeas maduros

Eixo	Variação (%)	Loading	Parâmetros selecionadas pela PCA
PC1	34.16	0,384	<i>Pol_Bal</i> (%)
		0,382	<i>2Ph_area</i> (%)
PC2	26.74	0,425	<i>RMSnoDCvec</i>
		0,352	<i>Mean rate</i>
PC3	15.32	0,447	<i>3Ph_dur</i> (%)
		-0,381	<i>2Ph_dur</i> (%)
PC4	8.88	0,525	<i>EOD_dur</i> (ms)
		-0,422	<i>1Ph_dur</i> (%)

Figura 8 – PCA dos 18 parâmetros de DOE de machos e fêmeas maduros

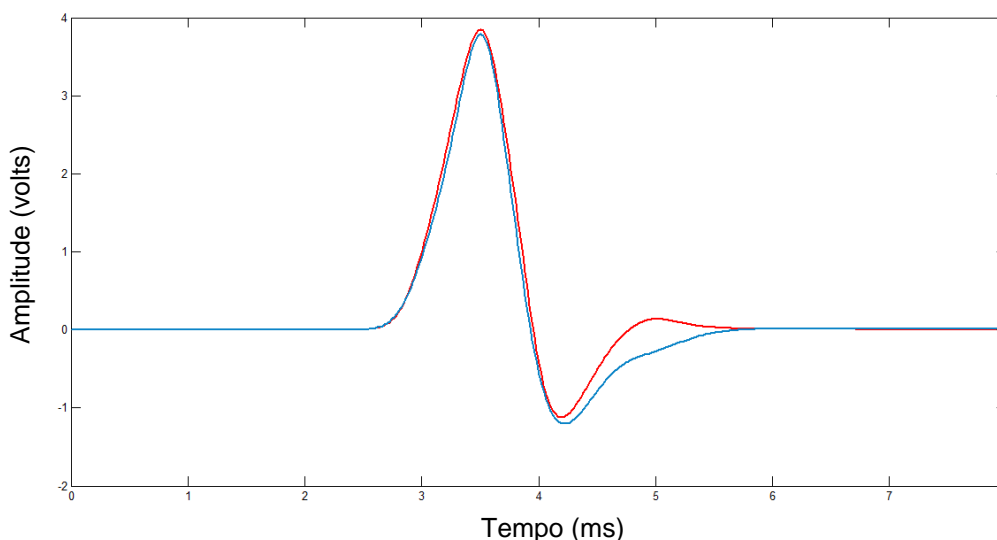


Legenda: PCA com as 18 variáveis da DOE de machos e fêmeas no estágio reprodutivo. Os machos (n=21) estão representados pelo círculo e as fêmeas (n=24) pelo quadrado.

Com os oito principais parâmetros foi realizado uma MANOVA e houve diferença significativa entre os parâmetros da DOEs de machos e fêmeas maduros (Wilk's lambda=0.000007232;  $p<0,001$ ) (Pillai trace= 4.81;  $p<0,001$ ).

Analisando os parâmetros separadamente, foi evidenciado que durante o estágio reprodutivo machos e fêmeas apresentaram dimorfismo sexual significativo em 14 parâmetros dos 18 analisados. As fêmeas apresentaram maiores valores de média de intervalos entre pulsos (*Mean IPI*,  $p=0,005$ ), duração da fase silenciosa (*Sphase*,  $p=<0,001$ ), balanço de polaridade (*Pol\_Bal*,  $p<0,001$ ), medida de maior energia na DOE (*PPF*,  $p=0,003$ ), duração da 1ª fase (*1Ph\_dur*,  $p=0,020$ ), duração da 3ª fase (*3Ph\_dur*,  $p=0,010$ ), área da 1ª fase (*1Ph\_area*,  $p<0,001$ ) e área da 3ª fase (*3Ph\_area*,  $p<0,001$ ). Já os machos apresentaram maiores valores de média da taxa de repetição de pulsos (*Mean rate*,  $p=0,006$ ), razão entre a fase silenciosa e de pulso (*P/S\_ratio*,  $p<0,001$ ), duração efetiva do pulso (*EPD*,  $p=0,003$ ), e duração da DOE (*EOD\_dur*,  $p=0,039$ ), duração da 2ª fase (*2Ph\_dur*,  $p<0,001$ ) e área da 2ª fase (*2Ph\_area*,  $p<0,001$ ). A figura 9 mostra a forma de pulso médio de machos e fêmeas maduros.

Figura 9 – Forma de pulso médio de machos e fêmeas maduros



Legenda: Comparação de forma de pulso de machos e fêmeas em estágio reprodutivo. O pulso em vermelho representa a média de pulsos de fêmeas (n=24) e o pulso em azul a de machos (n=21).

#### 4.2.3. PARÂMETROS DAS DOES EMITIDAS PELOS INDIVÍDUOS ESCOLHIDOS PELAS FÊMEAS

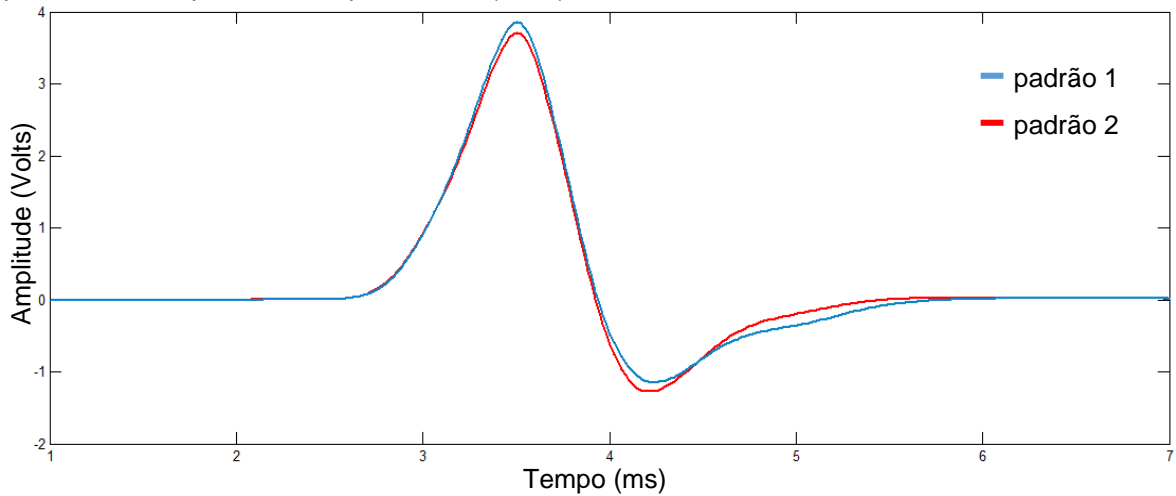
Quando analisada a escolha das fêmeas não maduras, nenhum parâmetro apresentou diferença significativa. Mas quando analisado apenas os testes em que a fêmea escolhedora ocupou mais tempo a ZP de algum macho (n=5) o parâmetro de duração da 2ª fase apresentou diferença significativa (*2Ph\_dur*,  $p=0,021$ ).

Já para a escolha de fêmeas maduras seis parâmetros das DOEs apresentaram diferença significativa, são eles a média de intervalos entre pulsos (*Mean IPI*,  $p=0,034$ ), média da taxa de repetição de pulsos (*Mean rate*,  $p=0,041$ ), área total da DOE (*Tot\_EOD\_area*,  $p=0,025$ ), valor eficaz do pulso sem DC (*RMSnoDCvec*,  $p=0,003$ ), medida de maior energia da DOE (*PPF*,  $p=0,026$ ) e duração efetiva do pulso (*EPD*,  $p=0,034$ ).

#### 4.2.4. PADRÕES DE DOES

Analisando visualmente a forma de pulso das DOEs dos pares de machos de cada teste de duas escolhas para fêmeas maduras, pode-se perceber duas formas distintas. Comparando cada uma das fase separadamente entre os machos, podemos observar que a 1ª e a 2ª fase inversamente correlacionadas: enquanto a amplitude da 1ª fase é maior no “macho padrão 1” e menor no “macho padrão 2”, a amplitude da 2ª fase é menor no “macho padrão 1” e maior no “macho padrão 2”. A diferença entre as amplitudes da 1ª e 2ª fase poderão ser demonstradas pela variável *PPrel*, que mostra a relação pico-a-pico entre a 1ª e 2ª fase da DOE. Outra característica que se mostrou diferente entre os padrões de machos foi a área da 2ª fase, a qual é, aparentemente, maior no “padrão 1” e menor no “padrão 2”. Os padrões podem ser visualizados na figura 10, sendo cada pulso da imagem a média dos pulsos pertencentes a um padrão que ocorreram nos testes de duas escolhas com fêmeas maduras que apresentaram diferença significativa (n=14).

Figura 10 – Duas formas de pulso (padrões) evidenciadas em machos maduros usados em testes que as fêmeas apresentaram preferência (n=14)



Legenda: O pulso em azul representa a média de pulsos que apresentaram o padrão 1 (n=14) e o pulso vermelho a média de pulsos que apresentam o padrão 2 (n=14)

Ao evidenciar esses dois padrões podemos partir do princípio que os dois espécimes expostos a fêmea escolhedora apresentavam diferenças nos parâmetros da DOE e que a fêmea poderia, então, apresentar uma preferência através delas. Os padrões foram notados em um primeiro momento nos testes com fêmeas maduras e, posteriormente, nos testes com fêmeas não maduras, mas não de maneira evidente.

Para avaliar a consistência desses padrões, testamos os 18 parâmetros das DOE do “padrão 1” contra as do “padrão 2” através de um teste T de duas amostras ou teste U de Mann-Whitney. Foram agrupados os valores de cada parâmetro de DOEs dos indivíduos que apresentaram o padrão 1 contra o valor do parâmetro dos indivíduos que apresentaram o padrão 2. No quadro 5 está esquematizado o agrupamento dos dados.

Quadro 5 – Esquematização do agrupamento de dados dos parâmetros da DOE para o padrão 1 e o padrão 2 para análise estatística

Análise do parâmetro “x” da DOE		
Nº do teste	Indivíduos da ZC com padrão 1	Indivíduos da ZC com padrão 2
1	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 1	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 1
2 (...)	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 2 (...)	Valor do parâmetro “x” do indivíduo 2 (...)

Foram analisados os parâmetros das DOEs apenas dos indivíduos das ZCs que participaram de testes de duas escolhas de fêmeas não maduras (n=6) e maduras com diferença significativa nos testes de qui-quadrado para o tempo de ocupação das ZPs.

Em quatro dos seis testes, as fêmeas não maduras preferiram o padrão 1 ao 2. Quando analisada a diferença entre os padrões apenas a variável de duração da 2ª fase apresentou diferença significativa entre os padrões (*2Ph\_dur*,  $p=0,017$ ).

Já as fêmeas maduras preferiram o padrão 1 ao 2 em 10 dos 14 testes. Quando analisada a diferença entre os padrões oito parâmetros apresentaram diferença significativa entre os padrões. São eles a área total da DOE (*Tot\_EOD\_area*,  $p=0,009$ ), valor eficaz do pulso sem DC (*RMSnoDCvec*,  $p=0,045$ ), relação entre fase negativa e positiva do pulso (*PPrel*,  $p<0,001$ ), medida de maior energia da DOE (*PPF*,  $p<0,001$ ), duração efetiva do pulso (*EPD*,  $p<0,001$ ), duração da 2ª fase (*2Ph\_dur*,  $p<0,001$ ), duração da 3ª fase (*3Ph\_dur*,  $p=0,005$ ) e a área da 3ª fase (*3Ph\_area*,  $p=0,009$ ).

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. EFEITOS DA MATURAÇÃO GONADAL NAS DOEs E DIMORFISMO SEXUAL

A existência de dimorfismo sexual das DOEs foi relatada pela primeira vez na espécie *Sternopygus macrurus*, assim como o uso das diferenças nela existentes para o reconhecimento sexual e interespecífico (Hopkins, 1972). Através das alterações nos valores dos parâmetros da DOE, podemos evidenciar que machos e fêmeas maduros de *Microsternarchus* Ducke aumentam as diferenças em suas DOEs em função da maturação gonadal. As diferenças na duração das DOE (*EOD\_dur*) podem ser relacionadas principalmente ao aumento em machos da taxa de emissão de pulsos (*Mean rate*) em relação entre a média de intervalos entre pulsos (*Mean IPI*) e maiores valores da medida de maior energia (*PPF*) em fêmeas. Outros parâmetros que compõe a DOE podem ter influenciado a maior duração da DOE como a maior área na 2ª fase em machos e a diminuição da duração da 2ª fase em fêmeas. Em um

estudo com *Brachyopomus pinnicaudatus*, Hopkins (1990) sugere que a preferência sexual das fêmeas selecionou machos com DOEs de maior duração. Em um estudo realizado por Shumway e Zelick (1988) com *Hypopomus occidentalis* em período reprodutivo foi relatado dimorfismo sexual em que machos apresentavam maior duração da DOE e fêmeas maiores valores de medida de maior energia da DOE (*PPF*). No estudo aqui apresentado, as diferenças intersexuais na forma do pulso de indivíduos maduros foram, para machos, relacionadas principalmente ao deslocamento da polaridade do pulso para a fase negativa (*Pol\_Bal*) devido ao aumento da área da segunda fase (*2Ph\_area*) e diminuição da área da primeira fase (*1Ph\_area*). O surgimento de dimorfismo sexual em *H. occidentalis* também ocorre pelo alongamento da fase negativa em machos maduros o que gera, similarmente ao encontrado nesse estudo, um deslocamento de polaridade para da fase negativa (Hagedorn e Carr, 1985).

O dimorfismo sexual na DOE é relatado na literatura apenas em estágios reprodutivos (Zakon, 1993) e a análise em conjunto dos parâmetros da DOE da espécie *Microsternarchus Ducke* também não apresentou dimorfismo sexual em estágio não reprodutivo. Porém, quando analisado os parâmetros individualmente, houve a presença de dimorfismo sexual por meio do maior valor na medida de maior energia da DOE (*PPF*) nas fêmeas e deslocamento de polaridade (*Pol\_Bal*) para a fase negativa (*2Ph\_dur* e *2Ph\_area*) em machos. O aumento da área da 2ª fase (*2Ph\_area*) em machos pode ser um indicativo de maturação gonadal dos indivíduos. O tratamento com andrógenos aumentou apenas 2ª fase em *Brachyhypopomus gaudero* (Pouso, et.al., 2010) e alterações ocorridas em partes específicas de DOEs foram relacionadas a hormônios esteroides (Silva, et al. 1999; Bass e Hopkins, 1985). O aumento da 3ª fase (*3Ph\_area*) nas fêmeas, aparentemente, também é um indicativo de maturação gonadal em fêmeas.

## 5.2. PREFERÊNCIA DE FÊMEAS MADURAS

Tanto fêmeas não maduras quanto as maduras ocuparam por maior tempo uma ZP do que outra, caracterizando uma escolha pelos indivíduos que ocupavam as ZCs

relacionadas. Mas quando observadas as porcentagens de tempo de ocupação das ZPs através do limiar de significância para os testes gerados, podemos observar que a escolha da fêmea madura se mostra mais acentuada do que nas fêmeas não maduras. Isso é evidenciado tanto pela maior magnitude da diferença necessária para garantir a significância nos testes T pareados para a escolha das fêmeas como pela menor frequência de testes significativos com fêmeas não maduras (um teste significativo) comparado com fêmeas maduras (oito testes significativos). Além disso, apesar do teste de heterogeneidade mostrar que tanto fêmeas não maduras e maduras variaram quanto a realização de escolhas, o menor valor de heterogeneidade para fêmeas não maduras mostra que elas foram mais consistentes em não apresentar preferência por uma ZP ou outra, (ou “maior homogeneidade” neste quesito), quando comparada as fêmeas maduras. Outra evidência da consistência da escolha das fêmeas maduras se mostrou através da maior diferença em ocupação entre as ZPs. Pode-se deduzir que as fêmeas maduras escolhem com mais frequência se aproximar de certos indivíduos do que de outros.

A acentuação de preferência no período reprodutivo pode estar associada ao aumento da diferença nos parâmetros que compõe as DOEs dos machos maduros em relação aos não maduros. A sazonalidade das DOEs de machos e a maturação gonadal foram relacionadas as estações reprodutivas na literatura por Silva e colaboradores (2002) e Quintana (2004). Além disso, machos e fêmeas não maduros da espécie do nosso estudo apresentaram larga sobreposição das DOEs na PCA, mas quando maduros apresentaram grande diminuição nessa sobreposição, ocasionada, aparentemente pela modificação nas DOEs dos machos. De fato, a maturação gonadal gerada pela simulação da estação chuvosa culminou na acentuação do dimorfismo sexual das DOEs na espécie em questão. A maturação gonadal pode ter contribuído com a capacidade das fêmeas distinguirem e, assim, apresentarem preferência por machos nas ZCs através das DOEs em comparação aos indivíduos não maduros no teste controle. O estudo de Shumway e Zelick (1988) com *H. occidentalis* evidenciou que fêmeas maduras respondem preferencialmente a DOEs de machos do que de fêmeas.

Segundo Zakon (1993), a diferença sexual nas DOEs em peixes pulsadores foram relatadas apenas em peixes maduros encontrados em campo ou em maturação



induzida em laboratório, podendo ser controladas por variações nos níveis de hormônios esteroides em algumas espécies (Bass e Hopkins, 1983; Hagedorn e Carr, 1985; Landsman, 1991). Em nossos testes, fêmeas não maduras preferiram machos a fêmeas, sugestionando reconhecimento sexual em indivíduos fora do estágio reprodutivo. A duração da 2ª fase (*2Ph\_dur*) se apresentou diferente entre machos e fêmeas não maduros, assim como também apresentou o 2º maior valor de *loading* na seleção pela PCA que investigava dimorfismo sexual para indivíduos não maduros. Este resultado sugere que um dos parâmetros relacionadas ao reconhecimento intersexual é a duração da segunda fase mesmo quando não estão em estágio reprodutivo. O reconhecimento sexual através de parâmetros de DOE varia entre as espécies de peixes elétricos de descarga fraca (Heiligenberg e Altes, 1978; Hopkins e Bass, 1981; Shumway e Zelick 1988; Crawford, 1991, 1992; Bastian, 2001). Assim, ainda que com menor frequência, a escolha espontânea maior por machos exercida pelas fêmeas não maduras, observada no presente estudo, parece indicar a capacidade de reconhecimento sexual em estágios não reprodutivos.

O dimorfismo sexual de DOEs podem apresentar pistas de idade de sexo dos indivíduos (Westby e Kirschbaum, 1980; Kramer e Otto, 1988) e se apresenta mais comumente em diferenças na frequência para peixes onduladores e na forma de pulso para peixes pulsadores (para revisões Bass, 1986; Hagedorn, 1986). Com a exceção de algumas espécies do gênero *Gymnotus*, (Crampton, 2013), o dimorfismo sexual na DOE é amplamente relatada na literatura em peixes elétricos pulsadores em período reprodutivo (Hopkins, 1974<sup>a</sup>, 1974<sup>b</sup> 1990; Mills e Zakon, 1987; Sullivan, 1997; Carlson et al., 2000; Vargas 2015). A diminuição da sobreposição das DOEs na PCA devido ao aumento do dimorfismo sexual, as variações nas DOEs entre machos e a maior intensidade da escolha das fêmeas durante o período reprodutivo pode indicar a presença de seleção sexual ativa da fêmea baseada nas DOEs de machos de *Microsternarchus* Ducke.

Em nossos estudos, as fêmeas maduras realizaram escolhas espontâneas e investiram ativamente mais tempo explorando uma determinada ZP, provavelmente, devido aos parâmetros de DOE de machos que ocupavam a ZC relacionada. Variações relevantes nas DOEs dos machos ocupantes das ZCs mostram a existência de diferenças importantes nos parâmetros entre os machos que, possivelmente,

sugestionaram a escolha da fêmea. Os parâmetros com valores maiores de taxa de repetição de pulsos (*Mean rate*), área total da EOD (*Tot\_EOD\_area*), valor eficaz do pulso sem DC (*RMSnoDCvec*), duração efetiva do pulso (*EPD*), menores de intervalos entre pulsos (*Mean IPI*) e medida de maior energia da DOE (*PPF*) também surgiram como fatores importantes para a escolha da fêmea. Em suma, a maior frequência de descarga de pulsos, maior área de DOE e menor PPF são os parâmetros de DOE sugestionaram a escolha em fêmeas maduras. Assim como para a espécie em estudo, a medida de maior energia da DOE é dimórfico sexualmente na espécie *H. occidentalis* (Shumway e Zelick, 1988) e em *B. pinnicaudatus* (Hopkins, 1990) e pode ser um indicativo importante para o sexo do indivíduo na espécie em estudo. O aumento da 2ª fase devido a maturação gonadal (Hagedorn e Carr, 1985), pode ser um dos fatores que ocasionou maior área de DOE vista em machos escolhidos no nosso estudo. A análise geral do comportamento de escolha de fêmeas maduras nos sugeriu que a preferência pode ser baseada em aspectos temporais (maior taxa de repetição), assim como aspectos na forma do pulso (maior área do pulso). Até então, os parâmetros que geraram alterações na forma do pulso e, conseqüente, preferência da fêmea por determinados machos permaneceram ofuscados em nossos estudos.

A DOE é composta por atributos temporais e de formas de pulso complexos e, por isso, a caracterização da preferência da fêmea por machos através de parâmetros da DOE foi investigada mais a fundo. Minimizar as diferenças nas DOEs através da redução dos parâmetros que a compõe, pode representar perda de informações de extrema importância para a compreensão do comportamento de preferência. Em um trabalho de Curtis (1999 *apud* Stoddard, 2002), a manipulação dos parâmetros de amplitude e duração da DOE, anteriormente relatados como importantes para a escolha, não gerou resultados de preferência da fêmea madura de *B. pinnicaudatus*. Para buscar o melhor entendimento da preferência de fêmeas, evidenciamos a existência de dois padrões na forma de pulso de machos maduros. Nitidamente, as fêmeas maduras escolheram um padrão em detrimento do outro, indicando não só a preferência por um determinado padrão, mas que independente da escolha das fêmeas, os padrões são percebidos por elas. Ao analisar apenas os testes em que as DOEs de machos escolhidos apresentaram o padrão preferido (padrão 1), notamos grandes diferenças em outros parâmetros de DOEs que compunham a forma do pulso

entre os machos preferidos e preteridos (padrão 2). Ao encontrar variações suficientes em DOEs entre estes grupos de machos, podemos deduzir que elas podem ser consideradas pelas fêmeas ao escolher um potencial parceiro reprodutivo.

Ao analisar os testes em que o padrão preferido foi escolhido (n=10), além dos parâmetros de DOE já evidenciados na escolha da fêmea (exceto *Mean IPI* e *Mean rate*), outros parâmetros mostraram importância como a duração da 2ª e da 3ª fase (*2Ph\_dur* e *3Ph\_dur*), área da 3ª fase (*3Ph\_area*) e a relação pico-a-pico entre a 1ª e a 2ª fase (*PPre*). Resumindo o padrão preferido, ele é composto por uma relação pico-a-pico menor e uma maior área de DOE ocasionado por alterações na duração e área da 2ª e 3ª fase. Assim, as análises baseadas apenas nas escolhas das fêmeas e as análises baseadas nos padrões de DOE dos machos nos forneceram informações complementares de preferência da fêmea. Pois, apenas na análise baseada na escolha da fêmea forneceu a informação de preferência por altas taxas de repetição de pulso (*Mean rate*) e apenas a análise dos padrões de DOE dos machos nos forneceu informações sobre os parâmetros relevantes da DOE que compõem o padrão de pulso preferido pelas fêmeas. Aparentemente, as fêmeas apresentam preferências mais acentuadas pelos parâmetros que compõem a forma de pulso, pois não houve diferença significativa na análise do *Mean rate* dos machos com o padrão preferido ( $p=0,073$ ). Porém, podemos sugerir a existência de uma tendência na escolha das fêmeas por *Mean rate* maiores, devido ao valor relativamente baixo de  $p$ . Outro fator que pode não ter gerado um valor de  $p$  não significativo para esse parâmetro é a baixa variedade e número de machos usados nos testes (n=7). Enquanto as forças seletivas de predação direcionam a evolução de caracteres menos conspícuos e energeticamente menos custosos, a seleção sexual gera uma força seletiva oposta, favorecendo a manutenção de caracteres mais conspícuos e energeticamente custosos (Andersson, 1994), pois o portador dos caracteres preferidos possui vantagem reprodutiva intrasexual (Trivers, 1972). A produção do padrão preferido de forma de pulso e alta frequência de descarga podem ser demasiadamente custosos ao macho e, moldar o pulso para se ajustar a preferência de fêmeas acarrete um *trade-off* nas taxas de repetição de pulsos. Deste modo, machos que conseguissem produzir o padrão preferido somada a altas taxas de descargas de pulsos seriam preferencialmente escolhidos por fêmeas em nossos

estudos. A produção de DOEs é mais custosa para os machos do que para as fêmeas e varia entre os sexos enquanto a alocação energética: enquanto machos aumentaram a taxa de repetição e alteraram a forma da onda, as fêmeas aumentaram apenas a taxa de repetição da DOE (Salazar e Stoddard, 2008).

O dimorfismo sexual encontrado em *Microsternarchus* Ducke se mostrou semelhante ao de *B. pinnicaudatus*; a amplitude do pulso e a medida de maior energia da DOE de fêmeas são maiores e machos apresentam 2ª fase com duração maior que, por sua vez, possibilita o aumento a duração da DOE (Hopkins, 1990). Nesse estudo, Hopkins (1990) assume que fêmeas de *B. pinnicaudatus* selecionam machos se baseando, principalmente, na duração da DOE e não na amplitude, pois esse parâmetro seria um bom indicador da aptidão de machos. A preferência das fêmeas em estágio reprodutivo *B. pinnicaudatus* foi testada por Curtis e Stoddard (2003) onde foi evidenciada que machos com maior comprimento eram escolhidos e que esse fenótipo estava correlacionado a amplitude e duração da DOE. Nesse trabalho, Curtis e Stoddard (2003) ofereceram as fêmeas duas opções de machos discrepantes em tamanho corporal e, conseqüentemente, discrepantes nas DOEs, o que pode ter “facilitado” a tomada de decisão da fêmea entre um macho de alta aptidão *versus* machos de baixa aptidão, o que facilitaria a visualização dos parâmetros da DOE relacionadas ao tamanho corporal do peixe. Os machos usados em nossos estudos pouco variavam no tamanho corporal, o que não possibilitou evidenciar a variação dos parâmetros relacionados ao tamanho do indivíduo, porém, possibilitou refinar e complementar as evidências dos parâmetros da DOE que se mostraram importantes para a escolha da fêmea. Por exemplo, fêmeas *B. pinnicaudatus* e *Microsternarchus* Ducke apresentam maiores valores de relação pico-a-pico (*PPrel*) do que machos e, por haver grande variação no tamanho dos machos nos testes de preferência com *B. pinnicaudatus* (Curtis e Stoddard, 2003), os machos com maior amplitude foram escolhidos. Entretanto, a preferência das fêmeas de *Microsternarchus* Ducke ocorreu por relação pico-a-pico menores, pois mesmo variando pouco em tamanho corporal, os machos variavam consideravelmente na amplitude da DOE. De fato, a preferência das fêmeas em nossos estudos também pôde ser relacionada a machos maiores, uma vez que em oito dos dez testes, o macho maior foi escolhido. Porém, a duração da DOE não pôde ser relacionada aos machos preferidos, mas sim, a maiores valores de

área total da DOE (*Tot\_EOD\_area*). A maturação provocou o aumento da área da 2ª fase (*2Ph\_area*) em machos de *Microsternarchus* Ducke o que pode ter acarretado o aumento na área da DOE (*Tot\_EOD\_area*) e a diminuição da relação pico-a-pico (*PPrel*). A preferência por menores valores de relação pico-a-pico deve surgir como consequência da construção do padrão preferido, ao deslocar o balanço de polaridade para a fase negativa, através do aumento da área da 2ª fase, a relação pico-a-pico foi diminuída. O aumento da divergência entre as DOEs de machos e fêmeas em período reprodutivo e o padrão preferido ser mais diferente da DOE produzida por fêmeas que o padrão não preferido, pode sugerir que a preferência da fêmea seja guiada pela alta divergência fenotípica intersexual nas DOEs. As DOEs de machos maduros da espécie *H. occidentalis* apresentam DOE assimétrica ocasionada pela maior duração da 2ª fase enquanto fêmeas maduras e indivíduos juvenis apresentam uma DOE simétrica (Hagedorn e Carr, 1985).

O aumento da duração da segunda fase em machos maduros é comum em *Gymnotiformes* e pode representar um índice confiável de aptidão de machos, pois pode gerar altos custos energéticos e aumentar o risco de predação (Stoddard, 1999; Crampton, 2011). A seleção sexual pode favorecer sinais conspícuos e se opor a seleção natural, pois os sinais usados para a atração de parceiros podem tornar o emissor mais fácil de ser encontrado por predadores (Darwin, 1871). Stoddard (1999) argumenta que a evolução da 2ª fase (fase negativa) em peixes elétricos e que o aumento da magnitude do dimorfismo sexual na 2ª fase torna os machos mais perceptíveis a possíveis predadores eletroreceptivos. Segundo Hanika e Krammer (2000), os machos da espécie *Marcusenius macrolepidotus* (Mormyriiformes) são mais predados pelo bagre *Clarias gariepinus* do que fêmeas e juvenis pois, esse predador apresenta alta sensibilidade a pulsos de longa duração e baixas frequências, características intrínsecas às DOEs de machos maduros de peixes elétricos de descarga fraca. Segundo o princípio de *handicap*, postulado por Zahavi (1975), a seleção sexual é direcionada a preferência por caracteres custosos aos seus portadores, pois seriam indicações da aptidão do parceiro a ser escolhido. Assim, podemos inferir que a 2ª fase da DOE pode estar sob pressão de seleção sexual, indicando a capacidade dos machos escaparem de predadores, sugerindo possível exploração sensorial de uma característica evoluída em outro contexto seletivo, como

já observado para sonares em morcegos e vocalização de anuros (para revisões, Ryan 1990; Ryan e Rand 1993; Arnqvist 2006; Akre et al. 2011), o que faria sentido para um sinal usado mesmo fora da estação não reprodutiva. Porém, a origem da diferença encontrada nesta característica entre fêmeas e machos não maduros permanece aberta para exploração mais detalhada. Caracteres sexuais secundários são balanceados por pressões seletivas de predação e sexuais e, quando a pressão é deslocada pela seleção sexual devido a diminuição da pressão de predação, os caracteres sexuais secundários se tornam mais conspícuos (Endler, 1978, 1980). Em um trabalho de comunidades de peixes com dados coletados ao longo de 20 anos na reserva florestal Adolfo Ducke (Borba, dados não publicados), não foram encontradas espécies de peixes eletroreceptivos predadores no igarapé T112, local onde foram coletados os indivíduos nesse estudo. Isso pode sugerir que a espécie não esteja sofrendo pressão de predação por peixes eletroreceptivos, o que poderia justificar a presença de ornamentos conspícuos fora da estação reprodutiva.

## **6. CONCLUSÕES**

A partir dos resultados encontrados no presente trabalho pudemos evidenciar que o interesse da fêmea por machos coespecíficos pode ser determinado por um conjunto de características que compõe as DOEs. Apesar de fêmeas não maduras não realizarem atos de escolhas que representem o comportamento geral de fêmeas não maduras, há uma tendência de escolha por DOEs de machos do que de outras fêmeas. O aumento significativo no número e intensidade de escolhas em fêmeas maduras pode ser gerado pelo aumento do dimorfismo sexual ocasionado pela maturação gonadal e o maior investimento em procura por um potencial parceiro reprodutivo. Deste modo, alguns parâmetros elétricos que compõe a DOE podem ser usados para o reconhecimento sexual, indicador de estágio reprodutivo e aptidão do indivíduo. O aumento da duração da DOE, da frequência de descarga e da área e duração da segunda fase em machos foram importantes para a escolha da fêmea. O reconhecimento de um padrão de DOE preferido por fêmeas, assim como o conjunto de variações nos parâmetros que compõe as DOEs de machos maduros, será

importante para o melhor entendimento do processo de seleção sexual para a espécie e de espécies relacionadas. O aumento da duração da segunda fase em particular e, por consequência, da conspicuidade em machos maduros, pode ser um indicador confiável da aptidão dos indivíduos, podendo ser considerado assim um caractere sexual secundário, além de um sinalizador de qualidade individual. Podemos concluir através dos resultados obtidos de aumento do dimorfismo sexual, de presença de grandes variações nas DOE de machos maduros e de preferência de fêmeas maduras por um determinado padrão de DOE, que a evolução das DOEs na espécie estudada foi mediada por seleção sexual ativa de fêmeas por atributos elétricos de machos.

## 7. REFERÊNCIAS

Akre, K. L. et al. 2011. Signal perception in frogs and bats and the evolution of mating signals. *Science*, 333:6043 751-752.

Albert, J. S.; Crampton, W.G.R. 2005. Diversity and phylogeny of Neotropical electric fishes (Gymnotiformes). In: Bullock, T. H. et. al. (Ed.). *Electroreception*. Springer Science & Business Media. Springer, New York, NY. p. 360-409.

Alves-Gomes, J.A. 2001. The evolution of electroreception and bioelectrogenesis in teleost fish: a phylogenetic perspective. *Journal of Fish Biology*, 58: 1489-1511.

Alves-Gomes, J.A. et. al. 1999. Systematic biology of Gymnotiform and Mormyriiform electric fishes: Phylogenetic relationships, molecular clocks and rates of evolution in the mitochondrial rRNA genes. *The Journal of Experimental Biology*, 202: 1167-1183.

Andersson, M. 1994. *Sexual Selection*, Monografia em Comportamento e Ecologia, Princeton University Press. / Princeton, New Jersey.

Arnqvist, G. 2006. Sensory exploitation and sexual conflict. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361:466 375-386.

Bass A.H. 1986. A hormone-sensitive communication system in an electric fish. *Journal of Neurobiology*, 17: 131-156.

Bass, A.H.; Hopkins, C.D. 1983. Hormonal control of sexual differentiation: changes in electric organ discharge waveform. *Science*, 220: 971-974.

Bass, A.H.; Hopkins, C.D. 1985. Hormonal control of sex differences in the electric organ discharge (EOD) of mormyrid fishes. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 156:5 587-604.

Bastian, J. et al. 2001. Arginine vasotocin modulates a sexually dimorphic communication behavior in the weakly electric fish *Apteronotus leptorhynchus*. *Journal of Experimental Biology*, 204: 1909-1923.

Bradbury, J.K.; Vehrencamp S.L. 2011. Mate attraction and courtship. In: Bradbury, J.K.; Vehrencamp S.L. *Principles of Animal Communication* (2<sup>a</sup> ed.), Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA. p. 467-513.



Caputi, A. A., Budelli, R. 2006. Peripheral electrosensory imaging by weakly electric fish. *Journal of Comparative Physiology A*, 192:6 587.

Carlson, B.A. et. al., 2000. Androgen correlates of socially induced changes in the electric organ discharge waveform of a mormyrid fish. *Hormones and Behavior*, 38: 177-186.

Crampton, W.G.R et al. 2011. Reproductive character displacement and signal ontogeny in a sympatric assemblage of electric fish. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 65:6, 1650-1666.

Crampton, W.G.R. et al. 2013. Proximate and ultimate causes of signal diversity in the electric fish *Gymnotus*. *Journal of Experimental Biology*, 216:13 2523-2541.

Crawford, J.D. 1991. Sex recognition by electric cues in sound-producing mormyrid fish, *Pollimyrus isidori*. *Brain, Behavior and Evolution*, 38: 20-38.

Crawford, J.D. 1992. Individual and sex specificity in the electric organ discharges of breeding mormyrid fish (*Pollimyrus isidori*). *Journal of Experimental Biology*, 164: 79-102.

Curtis, C.C.; Stoddard, P.K. 2003. Mate preference in female electric fish, *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Animal Behaviour*, 66:2 329-336.

Darwin, C. 1871. *The descent of man and selection in relation to sex*. Murray, London.

Dunlap, K.D. 2002. Hormonal and body size correlates of electrocommunication behavior during dyadic interactions in a weakly electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Hormones and Behavior*, 41: 187-194.

Dunlap, K.D. et al. 1997. Estrogen modifies an electrocommunication signal by altering the electrocyte sodium current in an electric fish, *Sternopygus*. *Journal of Neuroscience*, 17:8 2869-2875.

Endler, J. A. 1978. A predator's view of animal color patterns. *In*: Hecht, M. K. et. al. *Evolutionary biology*. Vol. 11. Springer, Boston, MA. p. 319-364.

Endler, J. A. 1980. Natural selection on color patterns in *Poecilia reticulata*. *Evolution*, 34:1 76-91.

Endler, J. A. 1992. Signals, signal conditions, and the direction of evolution. *The American Naturalist*, 139, S125-S153.

Fernandes, C. C. et al. 2015. A new species of electric knifefish from the rio Negro, Amazon basin (Gymnotiformes: Hypopomidae, Microsternarchini). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 164:1 213-228.

Fernandes, C. C.; Williston, A. 2017. Redescription of *Microsternarchus bilineatus* (Fernández-Yépez, 1968) (Gymnotiformes: Hypopomidae, Microsternarchini), with the designation of a neotype. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 165:1 105-116.

Fernández-Yépez, A. 1968. Contribución al conocimiento de los peces Gymnotiformes. *Evencias*, 20: 1-7.

Feulner, P. G. et al. 2008. Electrifying love: electric fish use species-specific discharge for mate recognition. *Biology Letters*, 5:2 225-228.

Feulner, P. G. et al. 2009. Magic trait electric organ discharge (EOD) dual function of electric signals promotes speciation in African weakly electric fish. *Communicative & Integrative Biology*, 2:4 329-331.

Hagedorn M. 1986. The ecology, courtship, and mating of gymnotiform electric fish. In: Bullock T.H, Heiligenberg W. (Eds) *Electroreception*. Wiley, New York, p. 497-525

Hagedorn, M.; Carr, C. 1985. Single electrocytes produce a sexually dimorphic signal in South American electric fish, *Hypopomus occidentalis* (Gymnotiformes, Hypopomidae). *Journal of Comparative Physiology A*, 156:4 511-523.

Hanika, S.; Kramer, B. 2000. Electrosensory prey detection in the African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Clariidae), of a weakly electric mormyrid fish, the bulldog (*Marcusenius macrolepidotus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 48:3 218-228.

Heiligenberg, W.; Altes, R.A. 1978. Phase sensitivity in electroreception. *Science*, 199: 1001-1004.

Hopkins C. D. 2009. Electrical Perception and Communication. *In*: Squire LR (ed.) Encyclopedia of Neuroscience, vol. 3, pp. 813-831. Oxford: Academic Press.

Hopkins C.D. 1972. Sex differences in electric signalling in an electric fish. *Science*, 176: 1035-1037

Hopkins, C.D. 1974<sup>a</sup>. Electric communication in the reproductive behavior of *Sternopygus macrurus* (Gymnotoidei). *Z. Tierpsychol.* 35: 518-535.

Hopkins, C.D. 1974<sup>b</sup>. Electric communication: functions in the social behavior of *Eigenmannia virescens*. *Behaviour*, 50: 270-305.

Hopkins, C.D. et al. 1990. Functional analysis of sexual dimorphism in an electric fish, *Hypopomus pinnicaudatus*, order Gymnotiformes. *Brain, Behavior And Evolution*, 35:6 350-367.

Hopkins, C.D., Bass, A.H. 1981. Temporal coding of species recognition signals in an electric fish. *Science*, 212: 85-87.

Kirschbaum, F., 1995. Taxonomy, zoogeography and general ecology of South American knifefishes (Gymnotiformes). *In*: Moller, P. (Ed.), *Behavior, History, Electric fishes*. Chapman and Hall, Londres, Reino Unido, p.446–464.

Kramer, B., Otto, B. 1991. Waveform discrimination in the electric fish *Eigenmannia*: sensitivity for the phase differences between the spectral components of a stimulus wave. *Journal of Experimental Biology*, 159:1 1-22.

Kramer, B.; Otto, B. 1988. Female discharges are more electrifying: spontaneous preference in the electric fish, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 23: 55-60.

Landsman, R.E. 1991. Captivity affects behavioral physiology: Plasticity in signaling sexual identity. *Experientia*, 47: 31-38.

Lévêque, C. et. al. 2008. Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 545-567.

Lissmann H.W., Machin K.E. 1958. The mechanism of object location in *Gymnarchus niloticus* and similar fish. *The Journal of Experimental Biology* 35:2, 451-486.

Lissmann, H. W. 1958. On the function and evolution of electric organs in fish. *The Journal of Experimental Biology*, 35:1, 156-191.

Mago-Leccia, F. 1976. Los peces Gymnotiformes de Venezuela: un estudio preliminar para la revisión del grupo en la América del Sur. Tese de Doutorado. Universidade Central da Venezuela. Caracas. p.376.

Mago-Leccia, F. 1994. Electric Fishes of the Continental Waters of America. Biblioteca de la Academia de Ciencias Físicas Matemáticas, y Naturales, Caracas, Venezuela. p.206.

Maia, C.R. 2007. *Estimativa da diferenciação genética de *Microsternarchus bilineatus* Fernández-Yépez, 1968 (Gymnotiformes: Hypopomidae) em quatro localidades no rio Negro, Amazônia, Brasil*. Relatório Final do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. p. 31.

Maia, C.R. 2011. *Diferenciação genética e relações filogenéticas entre as linhagens de *Microsternarchus* (gymnotiformes: hypopomidae) na bacia do rio Negro em função de marcadores moleculares mitocondriais e nucleares*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. p. 73.

Maia, C.R.; Alves-Gomez, J.A. 2012. Utilização do código de barras de DNA na estimativa da diversidade de peixes elétricos do gênero *Microsternarchus* (Ostariophysi:Gymnotiformes) na bacia do Rio negro, Amazonas. In: Souza, L.A.G.; Castellón, E.G. (Ed.) *Desvendando as fronteiras do conhecimento na região amazônica do alto Rio Negro*. Manaus, Amazônia, 185-201.

Meyer, J.H. 1983. Steroid influences upon the discharge frequencies of a weakly electric fish. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 153:1 29-37.

Meyer, J.H. et. al. 1987. Hormone-induced and maturational changes in electric organ discharges and electroreceptor tuning in the weakly electric fish *Apteronotus*. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 160:3, 385-394.

Milhomem, S.S. et. al. 2008. Chromosomal evidence for a putative cryptic species in the *Gymnotus carapo* species-complex (Gymnotiformes, Gymnotidae). *BMC genetics*, 9:1 75.

Mills, A., Zakon, H.H., 1987. Coordination of EOD frequency and pulse duration in a weakly electric wave fish: the influence of androgens. *Journal of Comparative Physiology*, 161:3 417-430.

Nagamachi, C.Y. et. al. 2010. Multiple rearrangements in cryptic species of electric knifefish, *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Gymnotiformes) revealed by chromosome painting. *BMC Genetics*. 11:1 28.

Nelson, M. E., Maciver, M. A. 1999. Prey capture in the weakly electric fish *Apteronotus albifrons*: sensory acquisition strategies and electrosensory consequences. *Journal of Experimental Biology*, 202:10, 1195-1203.

Nogueira, A.P.R. 2006. Estudo do comportamento do gênero *Microsternarchus* Fernández-Yépez, 1968 durante o período reprodutivo. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. p.75.

Nogueira, A.P.R. 2011. Diversidade específica em *Microsternarchus* (gymnotiformes: hypopomidae) da bacia do rio Negro e comportamento agonístico em cativeiro de uma nova espécie do gênero. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. p.131.

Pouso, P. et. al. 2010. Brain androgen receptor expression correlates with seasonal changes in the behavior of a weakly electric fish, *Brachyhypopomus gauderio*. *Hormones and Behavior*, 58:5 729-736.

Quintana, L. 2004. Temperature induces gonadal maturation and affects electrophysiological sexual maturity indicators in *Brachyhypopomus pinnicaudatus* from a temperate climate. *Journal of Experimental Biology*, 207:11 1843-1853.

Ryan, M.J. et al. 1990. Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford surveys in evolutionary biology*, 7: 157-195.

Ryan, M.J.; Rand, A.S. 1993. Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution*, 47:2, 647-657.

Schmitt, R. 2005. *Filogeografia de Hypopygus lepturus Hoedeman, 1962 (Gymnotiformes: Rhamphichthyidae) ao longo do médio rio Negro, Amazônia*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil. p.131.

Shumway, C.A.; Zelick, R.D. 1988. Sex recognition and neuronal coding of electric organ discharge waveform in the pulse-type weakly electric fish, *Hypopomus occidentalis*. *Journal of Comparative Physiology A*, 163: 465-478.

Silva, A. et al. 2002. Environmental and hormonal influences upon EOD waveform in gymnotiform pulse fish. *Journal of Physiology (Paris)* 96: 473-484.

Silva, A., et. al. 1999. Water temperature sensitivity of EOD waveform in *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 185:02 187-197.

Sokal, R.R.; Rolf, F.J. 1995. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman Co., New York, p.702-703.

Stoddard, P. K. 1999. Predation enhances complexity in the evolution of electric fish signals. *Nature*, 400:6741 254.

Stoddard, P. K., Tran, A., Krahe, R. 2019. Predation and crypsis in the evolution of electric signaling in weakly electric fishes. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7: 264.

Stoddard, P.K. 2002. Electric signals: predation, sex, and environmental constraints. *In: Advances in the Study of Behavior*, 31: Academic Press, p.201-242.

Sullivan, J.P. 1997. A phylogenetic study of the neotropical hypopomid electric fishes (Gymnotiformes: Rhamphichthyoidea). Tese (Doutorado em Filosofia - Departamento de Zoologia) Universidade de Duke, Estados Unidos.

Trivers, R. et al. 1972. Parental Investment and Sexual Selection. *In: Campbell, B.G. (Ed.) Sexual selection and the descent of man*, New York, p.136-179.

Vargas, J.I.C. et al. 2015. *Efeito do hormônio gonadotrófico na maturação gonadal e na descarga do órgão elétrico no gênero Microsternarchus (Gymnotiformes: Hypopomidae)*. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazônia.

von Der Emde, G. et al. 1998. Electric fish measure distance in the dark. *Nature*, 395:6705 890.

von der Emde, G., Bleckmann, H. 1998. Finding food: senses involved in foraging for insect larvae in the electric fish *Gnathonemus petersii*. *Journal of Experimental Biology*, 201:7 969-980.

Westby, M.G.W.; Kirschbaum, F. 1980. Sex differences in the electric organ discharge of *Eigenmannia virescens* and the effect of gonadal maturation. *In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS*, 28, 1980, Budapeste, Hungria. *Advances in physiological sciences*, 31: 179-194.

Zahavi, A. 1975. Mate selection — a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*, 53:1 205-214.

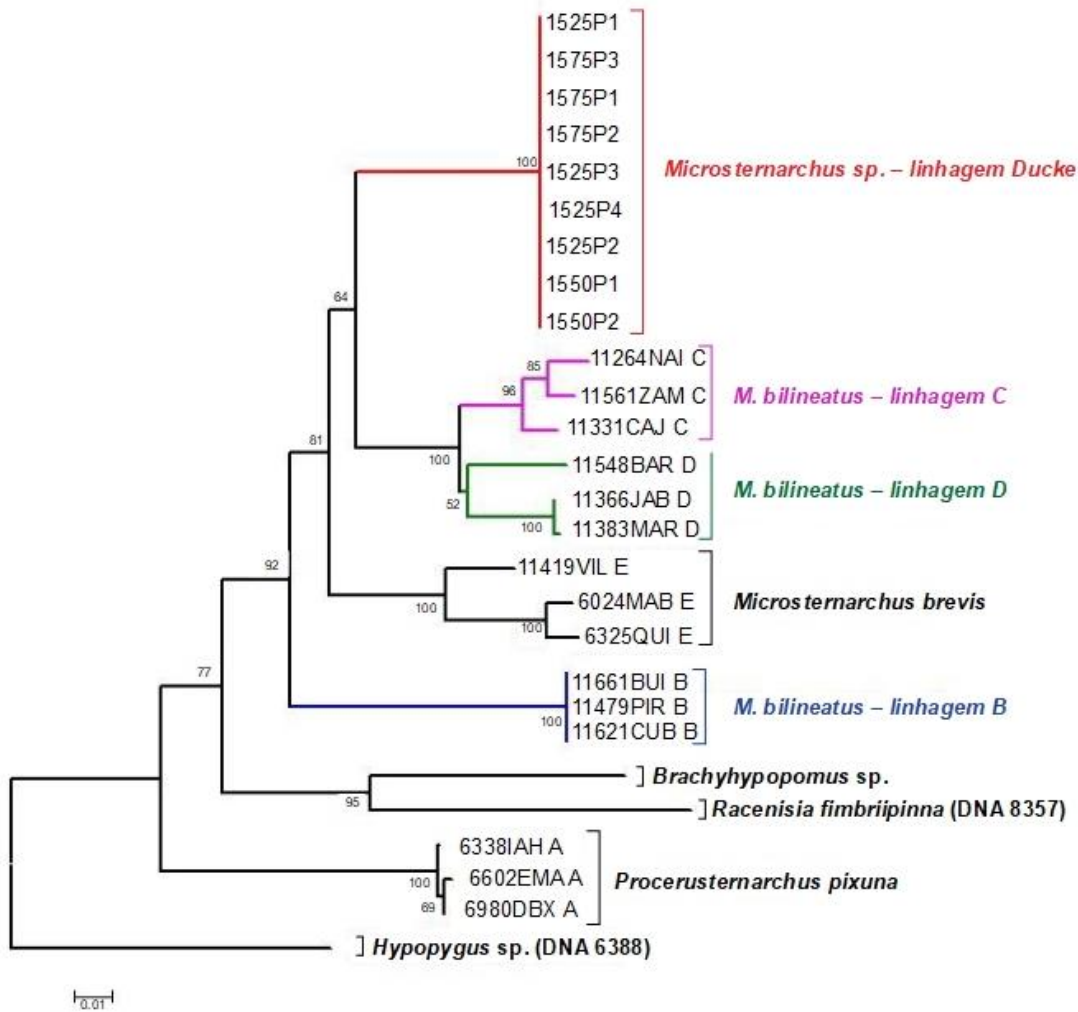
Zakon, H.H. 1993. Weakly electric fish as model systems for studying long-term steroid action on neural circuits. *Brain, Behavior and Evolution*, 42: 242-251.

Zupanc G.K.H.; Bullock, T.H. 2005. From Electrogenesis to Electroreception: An Overview *In: Bullock, T.H. et al. Electroreception* (Ed.). Springer Science & Business Media.

# APÊNDICE

## APENDICE A – ANÁLISE MOLECULAR

Figura A.1 – Árvore simplificada de *Hypopomidae* (Arquivos LFCE).

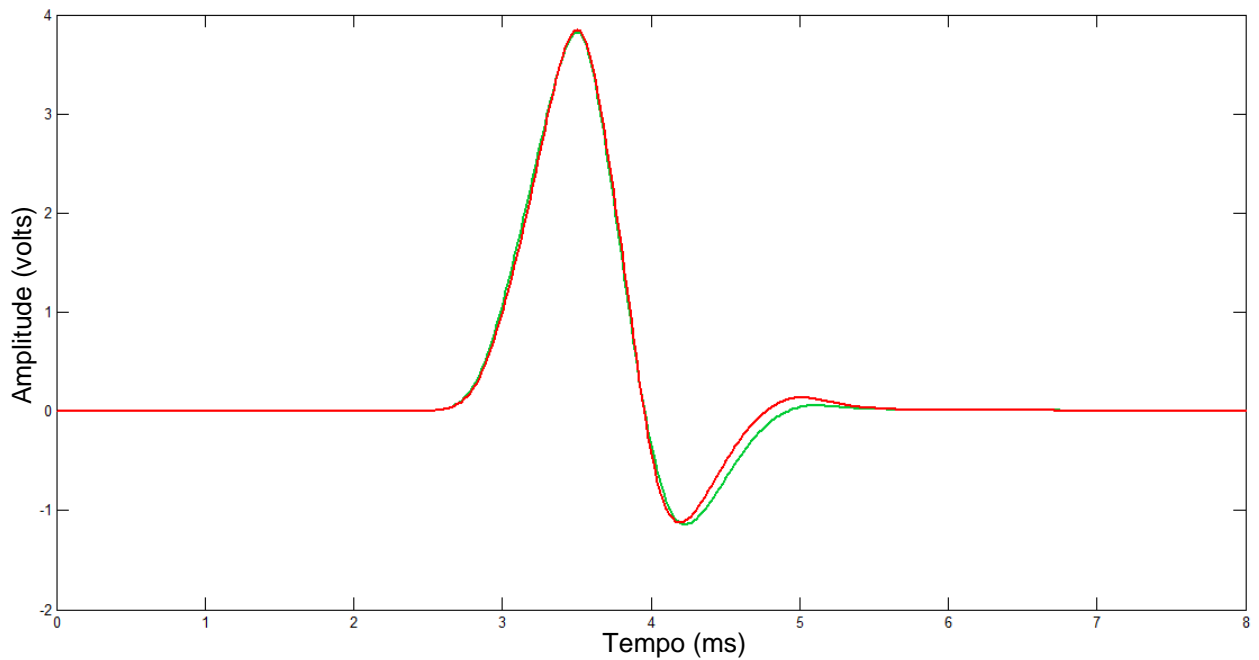


Legenda: Identificação da nova espécie *Microsternarchus* sp. nov. linhagem da Ducke utilizando o protocolo de DNA *bar code* através do sequenciamento de um fragmento do gene citocromo oxidase subunidade I (COI).



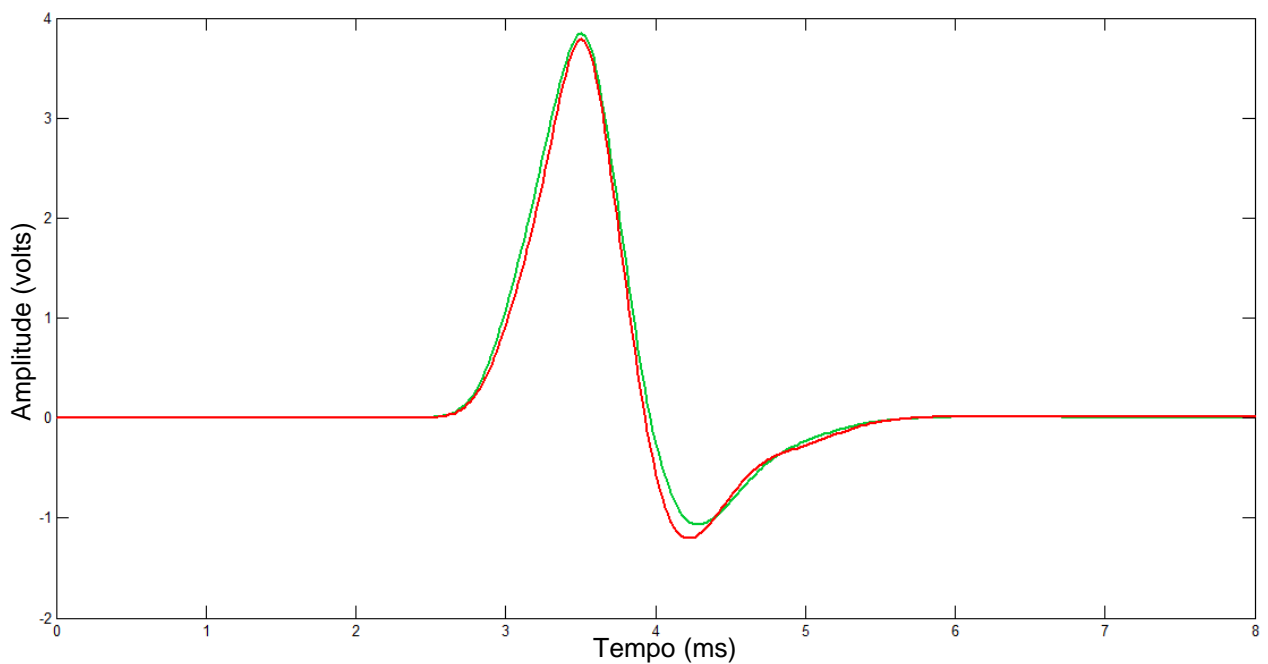
## APENDICE B – COMPARAÇÃO DE FORMAS DE PULSO

Figura B.1 – Forma de pulso médio de fêmeas não maduras e maduras



Legenda: Comparação da forma de pulso de fêmeas entre os estágios reprodutivos. O pulso em vermelho representa a média de pulsos de fêmeas maduras (n=24) e em verde de fêmeas não maduras (n=24).

Figura B.2 – Forma de pulso médio de machos não maduros e maduros



Legenda: Comparação da forma de pulso de machos entre os estágios reprodutivos. O pulso em vermelho representa a média de pulsos de machos maduros (n=21) e em verde de machos não maduros (n=21).

## APÊNDICE C – TABELA COM VALOR MÉDIO E DESVIO PADRÃO DOS PARÂMETROS DA DOE DE FÊMEAS E MACHOS

Tabela C.1 – Valor médio e desvio padrão dos parâmetros de DOE fêmeas e machos em estado não reprodutivo (não maduro) e reprodutivos (maduro).

Valor médio e desvio padrão dos parâmetros da DOE								
Parâmetro da DOE	Fêmeas				Machos			
	Não Maduras		Maduras		Não Maduros		Maduros	
	Média	D.P	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
<i>Mean IPI (s)</i>	0.01254	0.0020	0.01294	0.00152	0.01223	0.00180	0.01163	0.00119
<i>Mean rate (Hz)</i>	79.73	12.66	77.30	8.60	81.76	12.27	85.99	8.22
<i>CV</i>	0.00226	0.0019	0.00268	0.00181	0.00300	0.00162	0.00303	0.00259
<i>Sphase (ms)</i>	8.08	2.34	8.73	1.41	7.62	1.89	6.88	1.26
<i>P/S ratio</i>	0.447	0.213	0.462	0.104	0.538	0.238	0.681	0.158
<i>Tot_EOD_area</i>	0.00313	0.0002	0.00303	0.00016	0.00318	0.00026	0.00316	0.00012
<i>RMSnoDCvec</i>	0.762	0.061	0.728	0.067	0.778	0.077	0.775	0.045
<i>PPrel</i>	0.337	0.088	0.321	0.068	0.310	0.078	0.305	0.043
<i>Pol_bal (%)</i>	60.08	10.55	61.90	7.17	50.76	11.03	45.92	4.64
<i>PPF (KHz)</i>	0.390	0.127	0.439	0.104	0.346	0.072	0.345	0.032
<i>EPD (ms)</i>	2.57	534.26	2.28	400.05	2.89	1.86	2.90	0.25
<i>EOD_dur (ms)</i>	3.57	0.95	4.13	0.57	4.00	1.10	4.48	0.44
<i>1Ph_dur (%)</i>	38.10	9.84	32.39	4.40	33.33	8.42	30.09	2.85
<i>2Ph_dur (%)</i>	25.21	11.60	20.95	7.33	34.36	14.00	35.35	7.62
<i>3Ph_dur (%)</i>	35.11	19.23	42.81	11.17	28.30	15.89	35.41	8.50
<i>1Ph_area (%)</i>	78.14	5.65	77.56	3.42	73.92	5.53	71.78	2.25
<i>2Ph_area (%)</i>	-19.96	5.29	-19.05	3.69	-24.62	5.52	-27.04	2.32
<i>3Ph_area (%)</i>	1.37	1.84	3.09	1.44	0.59	0.61	0.87	0.44

Legenda: Foram utilizados as DOEs dos indivíduos utilizados nos testes de duas escolhas com fêmeas não maduras e maduras (♀ n= 24; ♂ n=21).

## APÊNDICE D – RESULTADOS DE TESTE ESTATÍSTICO PARA OS PARÂMETROS DE DOEs

Tabela D.1 – Valores de  $p$  e tipo de teste usados para a verificação de mudanças na DOE causadas pela maturação gonadal de fêmeas e machos

Maturação Gonadal				
Parâmetro da DOE	Fêmeas		Machos	
	Valor de $p$	Teste	Valor de $p$	Teste
<i>Mean IPI (s)</i>	0,332	T	0,339	T
<i>Mean rate (Hz)</i>	0,280	T	0,481	T
<i>CV</i>	0,439	U	0,706	U
<i>Sphase (ms)</i>	0,884	T	0,128	U
<i>P/S ratio</i>	0,392	U	<b>0,027</b>	U
<i>Tot_EOD_area</i>	0,392	U	0,279	U
<i>RMSnoDCvec</i>	0,106	U	0,466	U
<i>PPrel</i>	0,778	T	0,651	U
<i>Pol_bal (%)</i>	0,348	U	<b>0,050</b>	U
<i>PPF (KHz)</i>	<b>0,009</b>	U	0,571	U
<i>EPD (ms)</i>	<b>0,009</b>	U	0,571	U
<i>EOD_dur (ms)</i>	0,054	T	<b>0,031</b>	U
<i>1Ph_dur (%)</i>	<b>0,044</b>	U	<b>0,030</b>	U
<i>2Ph_dur (%)</i>	<b>0,005</b>	U	0,782	U
<i>3Ph_dur (%)</i>	0,081	U	0,056	U
<i>1Ph_area (%)</i>	0,894	T	<b>0,035</b>	U
<i>2Ph_area (%)</i>	0,348	U	<b>0,047</b>	U
<i>3Ph_area (%)</i>	<b>0,002</b>	T	0,167	T

Legenda: Teste T – Teste T de duas amostras para dados paramétricos  
 Teste U – Teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos

Tabela D.2 – Valores de  $p$  e tipo de teste usados para a verificação da existência de dimorfismo sexual entre indivíduos não maduros e maduros

Dimorfismo Sexual				
Parâmetro da DOE	Não Maduros		Maduros	
	Valor de $p$	Teste	Valor de $p$	Teste
<i>Mean IPI (s)</i>	0,389	T	<b>0,005</b>	T
<i>Mean rate (Hz)</i>	0,419	T	<b>0,006</b>	T
<i>CV</i>	0,090	U	0,888	U
<i>Sphase (ms)</i>	0,129	T	<b>&lt;0,001</b>	T
<i>P/S ratio</i>	0,099	U	<b>&lt;0,001</b>	T
<i>Tot_EOD_area</i>	0,055	U	0,070	U
<i>RMSnoDCvec</i>	0,304	T	0,593	T
<i>PPrel</i>	0,745	T	0,925	U
<i>Pol_bal (%)</i>	<b>0,010</b>	T	<b>&lt;0,001</b>	U
<i>PPF (KHz)</i>	<b>0,039</b>	U	<b>0,003</b>	U
<i>EPD (ms)</i>	<b>0,039</b>	U	<b>0,003</b>	U
<i>EOD_dur (ms)</i>	0,158	U	<b>0,039</b>	T
<i>1Ph_dur (%)</i>	0,115	T	<b>0,020</b>	U
<i>2Ph_dur (%)</i>	<b>0,005</b>	U	<b>&lt;0,001</b>	U
<i>3Ph_dur (%)</i>	0,230	U	<b>0,010</b>	U
<i>1Ph_area (%)</i>	0,052	T	<b>&lt;0,001</b>	U
<i>2Ph_area (%)</i>	<b>0,010</b>	T	<b>&lt;0,001</b>	U
<i>3Ph_area (%)</i>	0,141	U	<b>&lt;0,001</b>	U

Legenda: Teste T – Teste T de duas amostras para dados paramétricos  
 Teste U – Teste de Mann-Withney para dados não paramétricos

Tabela D.3 – Valores de  $p$  e tipo de teste usados para a verificação da existência diferença entre os padrões de forma de pulso 1 e 2 dos indivíduos que ocupavam as ZCs nos testes de duas escolhas de fêmeas não maduras

Padrões de DOE		
Parâmetros da DOE	Valor de $p$	Teste
<i>Mean IPI (s)</i>	0,129	T
<i>Mean rate (Hz)</i>	0,109	T
<i>CV</i>	0,869	T
<i>Sphase (ms)</i>	0,190	T
<i>P/S ratio</i>	0,354	T
<i>Tot_EOD_area</i>	0,788	T
<i>RMSnoDCvec</i>	0,208	T
<i>PPrel</i>	0,180	U
<i>Pol_bal (%)</i>	0,277	T
<i>PPF (KHz)</i>	0,310	U
<i>EPD (ms)</i>	0,310	U
<i>EOD_dur (ms)</i>	0,937	U
<i>1Ph_dur (%)</i>	1,00	U
<i>2Ph_dur (%)</i>	<b>0,017</b>	T
<i>3Ph_dur (%)</i>	0,233	T
<i>1Ph_area (%)</i>	0,409	T
<i>2Ph_area (%)</i>	0,277	T
<i>3Ph_area (%)</i>	0,093	T

Legenda: Teste T – Teste T de duas amostras para dados paramétricos  
 Teste U – Teste de Mann-Withney para dados não paramétricos

Tabela D.4 – Valores de  $p$  e tipo de teste usados para a verificação da existência diferença entre os padrões de forma de pulso 1 e 2 dos machos que ocupavam as ZCs nos testes de duas escolhas com fêmeas maduras

Padrões de DOE		
Parâmetros da DOE	Valor de $p$	Teste
<i>Mean IPI (s)</i>	0,073	T
<i>Mean rate (Hz)</i>	0,073	T
<i>CV</i>	0,627	T
<i>Sphase (ms)</i>	0,120	T
<i>P/S ratio</i>	0,186	U
<i>Tot_EOD_area</i>	<b>0,003</b>	T
<i>RMSnoDCvec</i>	<b>0,002</b>	T
<i>PPrel</i>	<b>0,005</b>	U
<i>Pol_bal (%)</i>	0,784	T
<i>PPF (KHz)</i>	<b>&lt;0,001</b>	T
<i>EPD (ms)</i>	<b>&lt;0,001</b>	T
<i>EOD_dur (ms)</i>	0,788	T
<i>1Ph_dur (%)</i>	0,913	T
<i>2Ph_dur (%)</i>	<b>0,003</b>	T
<i>3Ph_dur (%)</i>	<b>0,015</b>	T
<i>1Ph_area (%)</i>	0,923	T
<i>2Ph_area (%)</i>	0,784	T
<i>3Ph_area (%)</i>	<b>0,020</b>	T

Legenda: Teste T – Teste T de duas amostras para dados paramétricos  
 Teste U – Teste de Mann-Withney para dados não paramétricos

## APÊNDICE E – TABELA COM VALOR MÉDIO E DESVIO PADRÃO DOS PARÂMETROS DA DOE DOS PADRÕES DE FORMA DE PULSO 1 E 2

Tabela E.1 – Valor médio e desvio padrão dos parâmetros de DOE dos padrões de forma de pulso 1 e 2 dos indivíduos que ocupavam as ZCs nos testes de duas escolhas com fêmeas não maduras

<b>Valor médio e desvio padrão dos parâmetros da DOE nos testes com fêmeas não maduras</b>				
<b>Parâmetros da DOE</b>	<b>Padrão 1</b>		<b>Padrão 2</b>	
	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>
<i>Mean IPI (s)</i>	0.0116	0.0012	0.0130	0.0024
<i>Mean rate (Hz)</i>	86.44	8.43	77.03	11.61
<i>CV</i>	0.00445	0.00222	0.00475	0.00213
<i>Sphase (ms)</i>	6.95	1.68	8.49	2.30
<i>P/S ratio</i>	0.655	0.218	0.525	0.139
<i>Tot_EOD_area</i>	0.00312	0.00013	0.00301	0.00022
<i>RMSnoDCvec</i>	0.760	0.0483	0.711	0.0595
<i>PPrel</i>	0.2928	0.0479	0.3781	0.0960
<i>Pol_bal (%)</i>	45.06	6.31	50.51	15.35
<i>PPF (KHz)</i>	0.3435	0.0409	0.3981	0.1655
<i>EPD (ms)</i>	2.92	0.32	2.51	1069.17
<i>EOD_dur (ms)</i>	4.48	0.77	4.50	0.36
<i>1Ph_dur (%)</i>	31.06	6.43	30.22	1.99
<i>2Ph_dur (%)</i>	39.02	7.45	21.71	9.20
<i>3Ph_dur (%)</i>	30.26	8.47	41.75	15.01
<i>1Ph_area (%)</i>	71.85	3.29	74.01	7.37
<i>2Ph_area (%)</i>	-27.47	3.16	-24.75	7.69
<i>3Ph_area (%)</i>	0.62	0.31	1.39	0.98

Legenda: Foram utilizados as DOEs dos indivíduos que ocupavam as ZCs apenas dos testes de duas escolhas em que a fêmea apresentou preferência significativa por algum padrão (n=6)

Tabela E.2 – Valor médio e desvio padrão dos parâmetros de DOE dos padrões de forma de pulso 1 e 2 dos machos que ocupavam as ZCs nos testes de duas escolhas com fêmeas maduras.

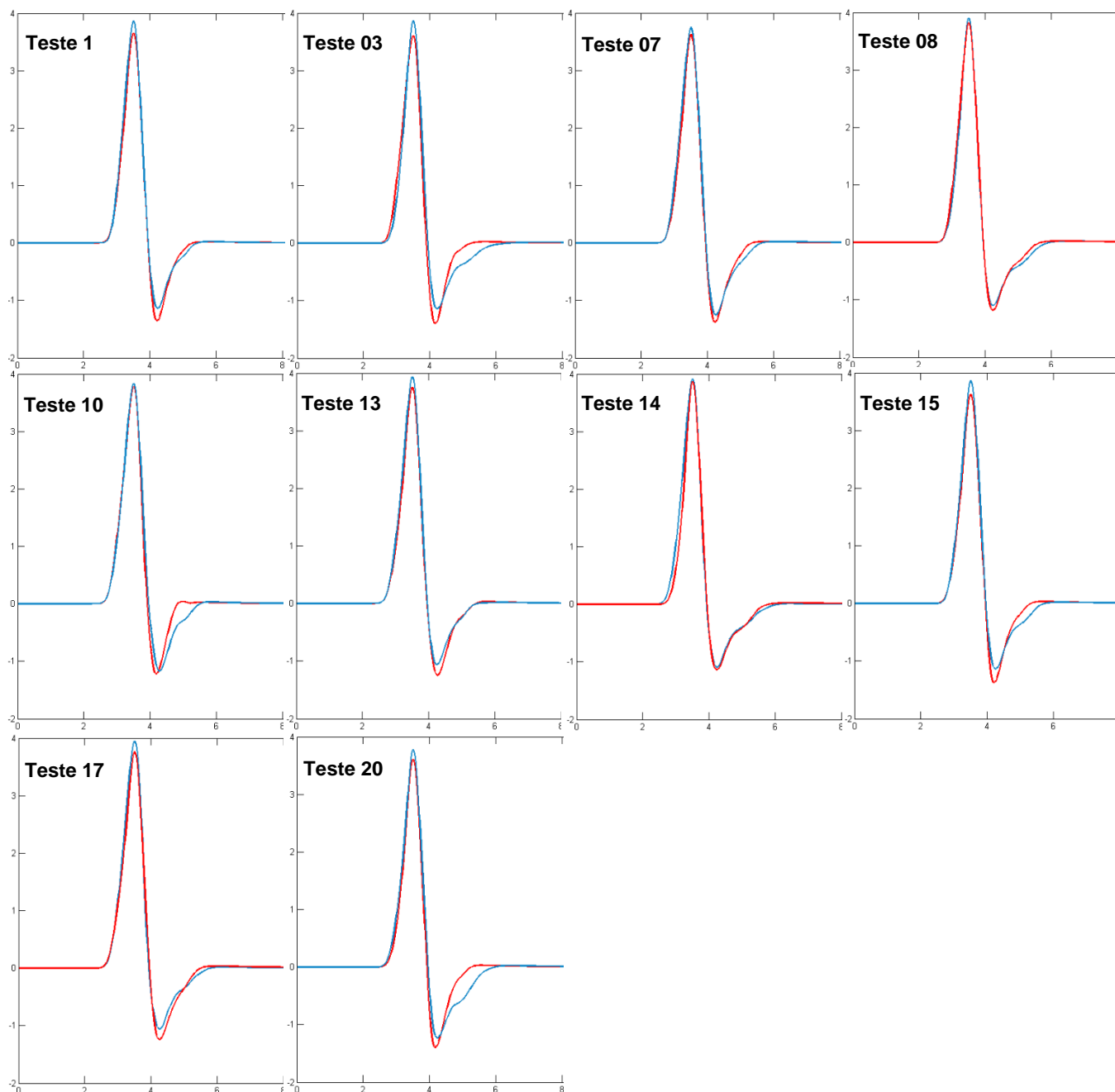
<b>Valor médio e desvio padrão dos parâmetros da DOE dos testes com fêmeas maduras</b>				
<b>Parâmetros da DOE</b>	<b>Padrão 1</b>		<b>Padrão 2</b>	
	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>
<i>Mean IPI (s)</i>	0.0114	0.00085	0.0120	0.00108
<i>Mean rate (Hz)</i>	87.74	6.95	83.29	7.02
<i>CV</i>	0.00317	0.00183	0.00412	0.00163
<i>Sphase (ms)</i>	6.67	1.03	7.47	1.40
<i>P/S ratio</i>	0.715	0.187	0.5809	0.215
<i>Tot_EOD_area</i>	0.00326	0.000097	0.003071	0.000128
<i>RMSnoDCvec</i>	0.792	0.0247	0.745	0.0405
<i>PPrel</i>	0.295	0.0220	0.352	0.0348
<i>Pol_bal (%)</i>	45.43	5.84	45.98	4.96
<i>PPF (KHz)</i>	0.331	0.0159	0.386	0.0262
<i>EPD (ms)</i>	3.03	0.14	2.59	0.19
<i>EOD_dur (ms)</i>	4.78	0.51	4.57	0.66
<i>1Ph_dur (%)</i>	29.07	3.42	29.76	3.57
<i>2Ph_dur (%)</i>	37.53	6.19	32.38	4.24
<i>3Ph_dur (%)</i>	34.22	7.72	39.67	5.49
<i>1Ph_area (%)</i>	72.08	2.99	71.38	2.53
<i>2Ph_area (%)</i>	-27.28	2.92	-27.01	2.48
<i>3Ph_area (%)</i>	0.7692	0.339	1.293	0.454

Legenda: Foram utilizados as DOE dos machos que ocupavam as ZCs apenas dos testes de duas escolhas em que a fêmea apresentou preferência significativa pelo padrão 1 (n=10)



## APÊNDICE F – CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO DE FORMA DE PULSO 1 E 2

Figura F.1 – Representação do pulso de machos para a caracterização do padrão de forma de pulso 1 e 2 de DOE



Legenda: Representação das DOEs de machos usados nos testes de duas escolhas para fêmeas maduras em que a houve preferência da fêmea pelo padrão de forma de pulso 1 ( $n=10$ ). O pulso em azul é referente a DOE do macho escolhido e em vermelho a DOE do macho não escolhido. Nota-se que a forma de pulso dos machos escolhidos apresenta um padrão de maior amplitude da 1ª fase, menor amplitude da 2ª fase e aparente maior área da 2ª fase. O código no canto esquerdo superior de cada gráfico é referente ao número do teste de duas escolhas. Em todos os gráficos o eixo x é referente ao tempo (ms) e o y a amplitude (volts).

## APENDICE G – BIOMETRIA DOS INDIVÍDUOS UTILIZADOS NO PRESENTE ESTUDO

Tabela G.1 – Relação dos indivíduos usados no presente estudo e respectivo número de identificação, sexo e medidas de comprimento total (mm) e peso (mg).

Número do indivíduo	Identificação	Sexo	Comprimento Total (mm)	Peso (mg)
1	02	♂	98	2317
2	05	♂	77	542
3	07	♀	74	851
4	08	♀	87	901
5	09	♀	85	874
6	11	♂	81	1211
7	13	♂	87	902
8	14	♀	77	839
9	17	♀	76	717
10	18	♀	78	674
11	19	♀	80	693
12	20	♀	70	493
13	22	♀	77	610
14	23	♀	77	640
15	24	♂	84	663
16	27	♀	80	641
17	28	♀	72	482
18	29	♀	81	703
19	30	♀	85	795
20	32	♀	80	745
21	33	♀	83	836
22	35	♀	83	764
23	36	♀	66	577
24	37	♂	118	2092
25	39	♀	66	431
26	40	♂	90	1015
27	44	♂	103	1225

## APENDICE H – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA



**MINISTÉRIO DA  
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,  
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES**



**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA  
PARECER CONSUBSTANCIADO E CERTIFICADO SOBRE PROTOCOLOS DE PESQUISAS NO USO DE ANIMAIS**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Preferência de fêmeas determinada por parâmetros das Descargas do Órgão Elétrico (DOEs) de machos de peixe-elétrico *Microsternarchus cf. bilineatus* (Gymnotiformes, Hypopomidae)", registrada com o nº 046/2018, SEI 01280.001155/2018-64, sob a responsabilidade de Carine Maria Cola - que envolve a utilização de animais pertencentes ao *filo Chordata, subfilo Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA, em reunião de 13/08/2018.

Vigência da Autorização	Inicio: 20/11/2018 Final: 20/02/2019
Finalidade:	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Número da Solicitação ou Autorização SISBIO	14833-1
Atividades:	<input type="checkbox"/> Captura <input type="checkbox"/> Coleta de espécies <input type="checkbox"/> Marcação <input type="checkbox"/> Outras: _____
Espécies/Grupos Taxonômicos	<i>Microsternarchus cf. bilineatus</i>
Local(is) de realização das atividades	Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução
Jejum:	
Inoculação:	

Data de liberação do Parecer: 14.08.2018

Raimunda Liege Souza de Abreu  
Presidente CEUA-INPA  
PO 194/2017



Documento assinado eletronicamente por Raimunda Liege Souza de Abreu, Pesquisador(a) em Ciência e Tecnologia, em 15/08/2018, às 11:18, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <http://sei.mctic.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador 3262232 e o código CRC 705A40CF.