

OBSERVAÇÕES SOBRE A BIOLOGIA REPRODUTIVA DE CINCO ESPÉCIES DE BAGRES (SILURIFORMES) DO CATALÃO

Analú Vieira do Nascimento¹; Elizabeth Lima Mendes Leão²

¹Bolsista CNPq/PIBIC; ² Pesquisadora INPA/CPBA

Hoplosternum littorale, *Auchenipterus nuchalis* e *Parauchenipterus galeatus* são espécies de importância comercial para consumo humano (Ferreira *et al.*, 1998) e *Auchenipterichthys thoracatus* como espécie ornamental (Axelrod *et al.*, 1995). *P. galeatus*, com os morfotipos “escuro” e “malhado”, *A. britskii*, *A. nuchalis*, *A. thoracatus* e *H. littorale* foram as cinco espécies mais abundantes em número de indivíduos nas coletas efetuadas no Lago Catalão. Tendo em vista a inexistência de informações sobre a reprodução destas espécies em rios amazônicos, os objetivos deste estudo são estimar seu período reprodutivo, determinar proporção entre sexos na estrutura em comprimento e a relação entre peso total e comprimento padrão. Os exemplares foram capturados com malhadeiras em 19 coletas com periodicidade aproximadamente mensal, de 27/09/1999 a 03/05/2001. A enchente e a vazante foram consideradas, respectivamente, como os períodos de nível da água ascendente e descendente, entre as cotas de 20 e 26 m, sendo a cheia o período de cotas superiores a 26 m e a seca o período de cotas inferiores a 20 m (Fig. 1). De cada exemplar foram registrados comprimento padrão (CP) em milímetros, peso total (PT) e dos ovários (PG) em decigramas, sexo e grau de desenvolvimento gonadal segundo os estádios: (1) imaturo, (2) em maturação inicial, (3) em maturação avançada, (4) maduro, (5) esvaziado e (6) em repouso. Para cada fêmea, o índice gonado-somático (IGS) foi calculado como: $IGS = PG / (PT - PG)$. O período reprodutivo foi definido como aquele de ocorrência de fêmeas nos estádios 3 e 4. Quatro espécies apresentaram diferenças entre sexos quanto ao comprimento máximo. Nas classes de maior comprimento padrão, o teste qui-quadrado com correção de continuidade de Yates revelou uma predominância significativa ($0,05 \leq P$) de machos de *H. littorale* (Tab. 1) e de fêmeas de *A. thoracatus*, *A. britskii*, e *A. nuchalis*, (Tab. 2 a 4), bem como inexistirem diferenças significativas ($P > 0,05$) tanto em *P. galeatus* “escuro” como em “malhado” (Tab. 5 e 6). O teste-F de homogeneidade do coeficiente de regressão da reta ajustada aos dados logaritmizados de CP e PT pelo método dos mínimos quadrados revelou diferenças significativas ($0,05 \leq P$) entre machos e fêmeas de *H. littorale* e *A. britskii* (Tab. 7), indicando que a relação entre PT e CP deve ser descrita para cada sexo, separadamente, pelas equações de potenciação apresentadas na Tabela 8. A inexistência de diferenças significativas ($P > 0,05$)

entre os coeficientes de regressão, bem como entre os interceptos das retas de regressão de lnPT em lnCP obtidas para machos e fêmeas de *A. thoracatus*, *A. nuchalis*, *P. galeatus* “escuro” e *P. galeatus* “malhado” (Tab. 7), permitiu o agrupamento dos sexos para a obtenção das equações de potenciação apresentadas na Tabela 8. A relação entre PT e CP difere significativamente entre *P. galeatus* “escuro” e *P. galeatus* “malhado” (Tab. 9). Fêmeas de *H. littorale* em maturação avançada e maduras (IGS.10³∓60) foram capturadas de 2/12/1999 a 4/2/2000 e de 5/12/2000 a 14/02/2001, indicando que a reprodução ocorre do fim da seca ao início da enchente (Fig. 2). A captura das duas únicas fêmeas maduras de *A. thoracatus* (IGS.10³∓40) ocorreu em 5/4/2001 e em 2/5/2001, indicando reproduzirem-se no início da cheia (Fig. 3). Fêmeas de *A. britskii* em maturação avançada e maduras (IGS.10³∓20) foram capturadas de 11/4/2000 a 7/8/2000 e de 5/4/2001 a 3/05/2001, indicando um período reprodutivo que inicia-se próximo ao final da enchente e que se estende até a segunda metade da cheia (Fig. 4). Fêmeas em maturação avançada de *A. nuchalis* (IGS.10³∓34) foram capturadas de 29/9/1999 a 1/11/1999 e de 12/9/2000 a 11/10/2000, indicando atividade reprodutiva durante o final da vazante e início da seca (Fig. 5). A captura da única fêmea de *P. galeatus* “malhado” em maturação avançada ocorreu em 13/3/2000, enquanto fêmeas de *P. galeatus* “escuro” em maturação avançada e maduras (IGS.10³∓28) foram coletadas de 13/3/2000 a 10/5/2000 e de 13/2/2001 a 3/5/2001, indicando para *P. galeatus* “escuro” um período de desova da segunda metade da enchente até o início da cheia (Fig. 6). Segundo Miyamoto (1990), também no nordeste do Brasil a reprodução de *P. galeatus* ocorre durante a enchente. *Auchenipterichthys longimanus*, única espécie do gênero cujo período reprodutivo é conhecido, desova durante a enchente no rio Trombetas (Mannheimer, 1998).

Axelrod, H. R.; Burgess, W. E.; Emmens, C. W.; Pronek, N.; Walls, J. G.; Hunziker, R. 1995. *Dr. Axelrod's mini-atlas of freshwater aquarium fishes*. T.F.H. Publications, Neptune City. 992 p.

Ferreira, E. J.; Zuanon, J. A. S.; Santos, G. M. 1998. *Peixes comerciais do médio Amazonas. região de Santarém, Pará*. Edições IBAMA, Brasília. 214 p.

Mannheimer, S. 1998. *Distribuição, alimentação e aspectos da reprodução de Auchenipterichthys longimanus (Günther, 1864) (Siluriformes, Auchenipteridae) em um lago amazônico impactado por rejeito de bauxita (Lago Batata, PA)*. Dissertação de Mestrado, Universidade federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 134 p.

Miyamoto, C. T. 1990. *Aspectos reprodutivos de espécies de teleósteos da bacia do rio Paraná. Uma revisão*. Monografia de Especialização, Fundação Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná. 108 p.

Tabela 1 - Resultados do teste qui-quadrado com Correção de continuidade de Yates (Π_c^2) aplicado à proporção entre machos (M) e fêmeas (F) de *Hoplosternum littorale*.

| Classes de CP (mm) | M:F | Π_c^2 | P |
|--------------------|-------|-----------|------------------------|
| # 109 | 6:17 | 4,348 | 0,05 \exists P>0,01 |
| 110 – 119 | 14:27 | 3,512 | P>0,05 |
| 120 – 129 | 16:19 | 0,114 | P>0,05 |
| 130 – 139 | 24:43 | 4,836 | 0,05 \exists P>0,01 |
| 140 – 149 | 31:46 | 2,545 | P>0,05 |
| 150 – 159 | 22:7 | 6,759 | 0,01 \exists P>0,001 |
| 160 # | 28:0 | 26,036 | 0,001 \exists P |

Tabela 3 - Resultados do teste qui-quadrado com correção de continuidade de Yates (Π_c^2) aplicado à proporção entre machos (M) e fêmeas (F) de *Auchenipterus britskii*.

| Classes de CP (mm) | M:F | Π_c^2 | P |
|--------------------|-------|-----------|-------------------|
| # 109 | 10:7 | 0,235 | P>0,05 |
| 110 – 114 | 15:16 | 0,000 | P>0,05 |
| 115 – 119 | 23:17 | 0,625 | P>0,05 |
| 120 – 124 | 20:15 | 0,457 | P>0,05 |
| 125 – 129 | 12:14 | 0,038 | P>0,05 |
| 130 – 134 | 4:22 | 11,115 | 0,001 \exists P |
| 135 – 139 | 3:26 | 16,690 | 0,001 \exists P |
| 140 – 144 | 1:21 | 16,409 | 0,001 \exists P |
| 145 # | 0:26 | 24,038 | 0,001 \exists P |

Tabela 5 - Resultados do teste qui-quadrado com correção de continuidade de Yates (Π_c^2) aplicado à proporção entre machos (M) e fêmeas (F) de *Parauchenipterus galeatus* “escuro”.

| Classes de CP (mm) | M:F | Π_c^2 | P |
|--------------------|-------|-----------|-----------------------|
| # 89 | 9:5 | 0,643 | P>0,05 |
| 90 – 99 | 14:11 | 0,160 | P>0,05 |
| 100 – 109 | 18:23 | 0,390 | P>0,05 |
| 110 – 119 | 11:3 | 3,500 | P>0,05 |
| 120 – 129 | 21:13 | 1,441 | P>0,05 |
| 130 – 139 | 5:18 | 6,261 | 0,05 \exists P>0,01 |
| 140 # | 6:10 | 0,562 | P>0,05 |

Tabela 7 – Resultados do teste-F de homogeneidade dos coeficientes de regressão (b) e dos interceptos (a) das retas de regressão $\ln(\text{PT}) = a + b \cdot \ln(\text{CP})$ do logaritmo do peso total (PT) no logaritmo do comprimento padrão (CP) de machos e de fêmeas.

| Espécie | Homogeneidade de b | | | Homogeneidade de a | | |
|--|--------------------|-----------------------------------|--------|--------------------|-----------------------------------|--------|
| | F _s | gl ₁ , gl ₂ | P | F _s | gl ₁ , gl ₂ | P |
| <i>Hoplosternum littorale</i> | 27,6741 | 1, 296 | 0,0000 | - | - | - |
| <i>Auchenipterichthys thoracatus</i> | 2,9007 | 1, 673 | 0,0850 | 0,3265 | 1, 674 | 0,5750 |
| <i>Auchenipterus britskii</i> | 10,3263 | 1, 248 | 0,0019 | - | - | - |
| <i>Auchenipterus nuchalis</i> | 0,2558 | 1, 220 | 0,6198 | 1,8782 | 1, 221 | 0,1684 |
| <i>Parauchenipterus galeatus</i> “escuro” | 1,7963 | 1, 163 | 0,1787 | 0,0416 | 1, 164 | 0,8330 |
| <i>Parauchenipterus galeatus</i> “malhado” | 1,3959 | 1, 33 | 0,2450 | 0,2075 | 1, 34 | 0,6561 |

Tabela 2 - Resultados do teste qui-quadrado com Correção de continuidade de Yates (Π_c^2) aplicado à proporção entre machos (M) e fêmeas (F) de *Auchenipterichthys thoracatus*.

| Classes de CP (mm) | M:F | Π_c^2 | P |
|--------------------|--------|-----------|------------------------|
| # 74 | 7:8 | 0,056 | P>0,05 |
| 75 – 79 | 13:20 | 1,091 | P>0,05 |
| 80 – 84 | 69:50 | 2,723 | P>0,05 |
| 85 – 89 | 231:29 | 155,388 | 0,001 \exists P |
| 90 – 94 | 114:51 | 23,297 | 0,001 \exists P |
| 95 – 99 | 8:27 | 9,257 | 0,01 \exists P>0,001 |
| 100 – 104 | 1:25 | 20,346 | 0,001 \exists P |
| 105 – 109 | 0:14 | 12,071 | 0,001 \exists P |
| 110 # | 0:10 | 8,100 | 0,01 \exists P>0,001 |

Tabela 4 - Resultados do teste qui-quadrado com Correção de continuidade de Yates (Π_c^2) aplicado à proporção entre machos (M) e fêmeas (F) de *Auchenipterus nuchalis*.

| Classes de CP (mm) | M:F | Π_c^2 | P |
|--------------------|-------|-----------|------------------------|
| # 119 | 8:8 | 0,062 | P>0,05 |
| 120 – 129 | 19:25 | 0,568 | P>0,05 |
| 130 – 139 | 8:21 | 4,966 | 0,05 \exists P>0,01 |
| 140 – 149 | 10:10 | 0,050 | P>0,05 |
| 150 – 159 | 29:25 | 0,167 | P>0,05 |
| 160 – 169 | 20:24 | 0,205 | P>0,05 |
| 170 # | 2:15 | 8,471 | 0,01 \exists P>0,001 |

Tabela 6 - Resultados do teste qui-quadrado com correção de continuidade de Yates (Π_c^2) aplicado à proporção entre machos (M) e fêmeas (F) de *Parauchenipterus galeatus* “malhado”.

| Classes de CP (mm) | M:F | Π_c^2 | P |
|--------------------|-------|-----------|--------|
| # 89 | 0:1 | | |
| 90 – 99 | 1:2 | | |
| 100 – 109 | 1:0 | | |
| 110 – 119 | 0:1 | | |
| 120 – 129 | 1:1 | | |
| 130 – 139 | 0:1 | | |
| 140 # | 18:10 | 1,750 | P>0,05 |

Tabela 8 – Parâmetros a e b da curva de potência $PT = a \cdot CP^b$, que descreve a relação entre peso total (PT) e comprimento padrão (CP) para a amplitude de valores de CP dos n exemplares capturados.

| Espécie | Sexo | a | b | n | CP mín | CP máx |
|--|-------|-------------------------|--------|-----|--------|--------|
| <i>Hoplosternum littorale</i> | M | $5,1538 \cdot 10^{-5}$ | 2,9369 | 141 | 97 | 175 |
| <i>Hoplosternum littorale</i> | F | $22,3611 \cdot 10^{-5}$ | 2,6307 | 159 | 100 | 155 |
| <i>Auchenipterichthys thoracatus</i> | M e F | $2,4206 \cdot 10^{-5}$ | 2,9656 | 677 | 69 | 118 |
| <i>Auchenipterus britskii</i> | M | $9,1150 \cdot 10^{-5}$ | 2,6136 | 88 | 95 | 140 |
| <i>Auchenipterus britskii</i> | F | $0,4175 \cdot 10^{-5}$ | 3,2534 | 164 | 100 | 157 |
| <i>Auchenipterus nuchalis</i> | M e F | $1,98005 \cdot 10^{-5}$ | 2,9202 | 224 | 100 | 190 |
| <i>Parauchenipterus galeatus</i> “escuro” | M e F | $1,3018 \cdot 10^{-5}$ | 3,1419 | 167 | 72 | 182 |
| <i>Parauchenipterus galeatus</i> “malhado” | M e F | $0,9895 \cdot 10^{-5}$ | 3,2129 | 37 | 74 | 175 |

Tabela 9 – Resultados do teste-F de homogeneidade dos coeficientes de regressão (b) e dos interceptos (a) das retas de regressão $\ln(PT) = a + b \cdot \ln(CP)$ do logaritmo do peso total (PT) no logaritmo do comprimento padrão (CP) de *Parauchenipterus galeatus* “escuro” e de *Parauchenipterus galeatus* “malhado”.

| Homogeneidade de b | | | Homogeneidade de a | | |
|--------------------|-----------------------------------|--------|--------------------|-----------------------------------|--------|
| F _s | gl ₁ , gl ₂ | P | F _s | gl ₁ , gl ₂ | P |
| 0,4273 | 1, 200 | 0,5213 | 10,3232 | 1, 201 | 0,0019 |

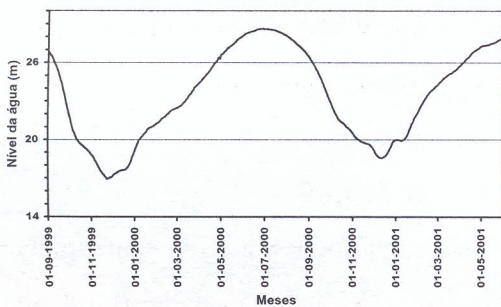


Figura 1 – Variação do nível da água do rio Negro no porto de Manaus durante o período de estudo.

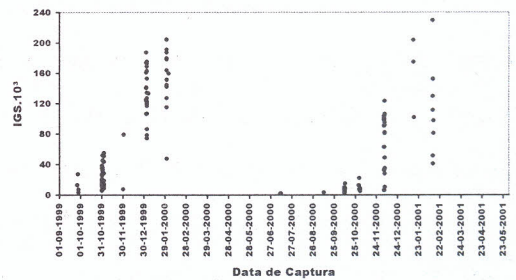


Figura 2 – Variação sazonal do índice gonadosômico (IGS) de *Hoplosternum littorale*.

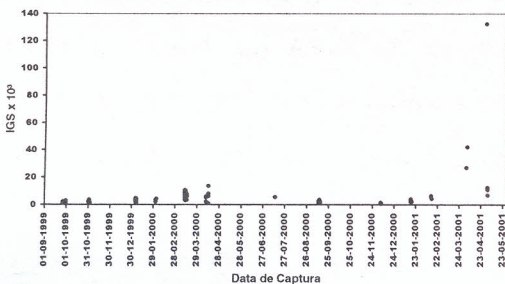


Figura 3 – Variação sazonal do índice gonadosômico (IGS) de *Auchenipterichthys thoracatus*.

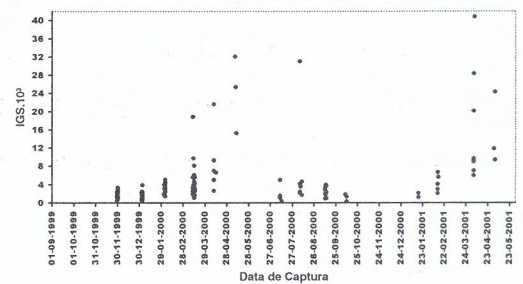


Figura 4 – Variação sazonal do índice gonadosômico (IGS) de *Auchenipterus britskii*.

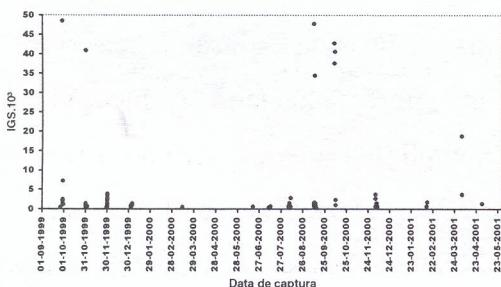


Figura 5 – Variação sazonal do índice gonadosômico (IGS) de *Auchenipterus nuchalis*.

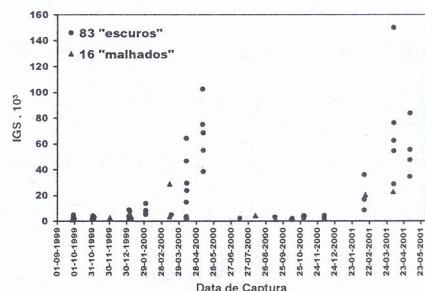


Figura 6 – Variação sazonal do índice gonadosômico (IGS) de *Parauchenipterus galeatus*.

ORGANIZAÇÃO DA COLEÇÃO DE TECIDOS E MONTAGEM DE UM BANCO DE DNA PARA MAMÍFEROS A PARTIR DE MATERIAL DEPOSITADO NA COLEÇÃO DE MAMÍFEROS DO INPA

Wancley Garcia Santos ⁽¹⁾; Maria Nazareth Ferreira da Silva ⁽²⁾; Vera Maria Ferreira da Silva ⁽³⁾

⁽¹⁾ Bolsista CNPq/INPA; ⁽²⁾ e ⁽³⁾ Pesquisadora INPA.

As coleções científicas são de grande importância para pesquisas em diversas áreas do conhecimento. Nelas são depositados espécimes de animais e plantas cuidadosamente preservados de modo que possam ser estudados mais detalhadamente no futuro. Assim, viabilizam-se estudos evolutivos em sistemática e em biogeografia, além dos espécimes armazenados servirem de registro sobre organismos que viveram em determinada época e lugar (Emmons, 1997).

Estudos mais abrangentes requerem amostras de indivíduos de diferentes populações permitindo a observação de variações intra e interespecíficas. Uma coleção que possui numerosa quantidade de indivíduos de dada espécie permitirá uma análise mais detalhada, enquanto que poucos indivíduos podem gerar resultados insatisfatórios.

A coleção de mamíferos do INPA possui um grande número de roedores, marsupiais e mamíferos aquáticos amazônicos, entre outros, armazenados na forma de esqueletos, crânios, peles ou tecidos. As coleções de mamíferos aquáticos e de roedores foram o ponto de partida deste projeto, que tem como objetivos: (i) organizar a Coleção de Mamíferos Aquáticos do INPA e; (ii) criar no Laboratório de Biologia Molecular do INPA um Banco de DNA genômico com o maior número possível de espécies de mamíferos a fim de serem utilizadas como fonte de material genético para estudos futuros na área de sistemática e filogeografia molecular.

Para isso, técnicas moleculares foram utilizadas para a montagem do banco de DNA. Os estudos genéticos estão sendo realizados no Laboratório de Biologia Molecular localizado no Campus I do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. O ponto de partida de qualquer estudo genético-molecular está na obtenção das amostras seguidas da extração e preservação do DNA. No entanto, em alguns casos, como o de mamíferos aquáticos, a obtenção das amostras para estudos genéticos torna-se bastante complicada ou até mesmo inviável. Primeiramente foi feita a organização do acervo de cetáceos da Coleção de Mamíferos Aquáticos do INPA e realizada a identificação dos indivíduos. Em seguida foi selecionada uma parte do esqueleto ou do crânio. Foram utilizadas 13 amostras de tecido ósseo de *Inia geoffrensis* (boto vermelho) para a extração do DNA (Tabela 1). Na segunda fase do projeto

foram identificados e selecionados 65 indivíduos de várias espécies, principalmente de roedores e marsupiais (Tabela 1). Destes indivíduos foram retiradas amostras de fígado e de músculo. A extração do DNA foi feita por meio de técnicas padronizadas descritas em Smith & Patton (1991, 1993). O DNA total (mitocondrial + genômico) foi extraído com tampão à base de SDS na presença de proteinase K e purificado através de duas extrações com fenol equilibrado, duas com fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1) e duas com clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), utilizando em média 0,20g de tecido digerido. Após a extração foram estimadas a concentração e a qualidade do DNA através de comparações com marcadores moleculares em eletroforese de géis de agarose a 0,8%.

A maioria das amostras de *Inia geoffrensis* (boto vermelho) extraídas na primeira etapa do projeto apresentou uma grande quantidade de DNA. Entretanto, algumas amostras apresentaram degradação, ou seja, o material genético se encontrava bastante fragmentado. Foram escolhidas três amostras de *Inia geoffrensis* (boto vermelho) para amplificação (RAPD) utilizando um primer universal. A amplificação foi realizada em 40 ciclos, sendo que cada ciclo constitui-se de: 94°C por três minutos antes de começar o ciclo; 1 minuto a 92°C para desnaturação do DNA; 1 minuto a 36°C para anelamento dos primers; 2 minutos para extensão dos segmentos a serem amplificados. Não houve amplificação do fragmento selecionado. Provavelmente o primer utilizado, por não ser específico, pode não ter anelado devido ao fato de suas sequências nucleotídicas não terem encontrado, durante a reação, homologia com o DNA da espécie em questão. O DNA de algumas amostras de marsupiais e roedores também apresentava degradação. Isso pode estar relacionado, por exemplo, ao fato das amostras terem sido preservadas em álcool 70%, terem sido fixadas em volume inadequado de álcool ou o tempo entre a morte do animal e o processo de fixação do tecido pode ter sido muito longo. Na maioria das extrações observou-se uma grande quantidade de DNA, evidenciando que o produto obtido apresentava alto peso molecular. O DNA das amostras se encontra devidamente rotulado em tubos ependorf e mantido em freezers a -20°C e será utilizado futuramente em estudos de sistemática molecular.

Smith, M. F.; Patton, J. L. 1991. Variation in mitochondrial cytochrome b sequence in natural populations of South American akodontine Rodents (Muridae: Sigmodontinae). Mol. Biol. Evol. 8: 85-103.

Smith, M. F.; Patton, J. L. 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. Biol. J. Linn. Soc. 50: 149-177.

Emmons, L. H.; Feer, F. 1997. Neotropical Rainforest Mammals – A field guide. University of Chicago press, Chicago and London, 2 ed., 307 p.

| Táxons | N.º amostras extraídas | Material utilizado |
|---------------------|------------------------|--------------------|
| MARSUPIALIA | | |
| <i>Didelphis</i> | 02 | Fígado |
| Marmosa | 01 | Fígado |
| Marmosops | 01 | Fígado |
| Micoureus | 10 | Fígado |
| Monodelphis | 01 | Fígado |
| RODENTIA | | |
| <i>Agouti</i> | 03 | Fígado |
| Proechimys | 29 | Fígado |
| Mesomys | 03 | Fígado |
| Neacomys | 02 | Fígado |
| Oryzomys | 03 | Fígado |
| Oecomys | 05 | Fígado |
| PRIMATES | | |
| Alouatta | 01 | Músculo |
| Ateles | 02 | Fígado, músculo |
| CETACEA | | |
| Inia | 13 | Osso, cartilagem |
| ARTIODACTYLA | | |
| Tayassu | 01 | Fígado |
| TOTAL | 77 | |

Tabela 1. Táxons, número de amostras e material utilizado para extração de DNA.