

SANDRA CRISTINA SOARES DA LUZ

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E BIOLOGIA REPRODUTIVA DO
CICHLA E SUAS INTERAÇÕES MORFOLÓGICAS**

**RECIFE,
2016**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E BIOLOGIA REPRODUTIVA DO
TUCUNARÉ E SUAS INTERAÇÕES MORFOLÓGICAS**

Sandra Cristina Soares da Luz

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Doutor.

**Prof^a. Dr^a. MARIA RAQUEL MOURA
COIMBRA**
Orientadora

Prof. Dr. WILLIAM SEVERI
Co-orientador

Recife,
Fevereiro/2016

Ficha Catalográfica

L979i Luz, Sandra Cristina Soares da.
 Identificação molecular e biologia reprodutiva do
Cichla e suas interações morfológicas / Sandra Cristina
Soares da Luz. – Recife, 2016.
 91 f. : il.

 Orientadora: Maria Raquel Moura Coimbra.
 Tese (Doutorado em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2016.
 Inclui referências.

 1. Morfometria geométrica. 2. COI. 3. Plasticidade
fenotípica. I. Coimbra, Maria Raquel Moura, orientadora.
II. Título

CDD 639

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E BIOLOGIA REPRODUTIVA DO CICHLA E
SUAS INTERAÇÕES MORFOLÓGICAS**

Sandra Cristina Soares da Luz

Tese julgada adequada para obtenção do título de doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 29/02/2016 pela seguinte Banca Examinadora.

Profª. Dra. MARIA RAQUEL MOURA COIMBRA

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profª. Dra. RITA DE CÁSSIA DE MOURA

Departamento de Biologia
Universidade de Pernambuco

Prof. Dr. PAULO GUILHERME VASCONCELOS DE OLIVEIRA

Departamento de Pesca e Aquicultura
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profª. Dra. SÍLVIA HELENA LIMA SCHWAMBORN

Unidade Acadêmica de Vitória
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. FRANCISCO MARCANTE SANTANA DA SILVA

Unidade Acadêmica de Serra Talhada
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus amados pais e marido por todo apoio ao longo da minha vida e por sempre acreditaram em mim.

Agradecimentos

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente para a construção deste trabalho:

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro;

Aos meninos e meninas do Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE, pelo apoio moral e intelectual;

As **meninas** do Departamento de Genética da UFPE, pelas análises computacionais;

Aos **funcionários e professores** do DEPAq, que estavam junto nesta caminhada, pela dedicação e empenho durante as atividades de pesquisa;

As meninas da copa do DEPAq, pelos milhares de cafezinhos, lanches e conselhos;

A Professora Raquel Coimbra, pela oportunidade oferecida, conhecimento, orientação e apoio;

Ao Professor William Severi, pelo apoio em todas as instâncias e amizade;

Aos meus parceiros de trabalho (migos e migas), pelo companherismo nessa jornada e,

Aos meus amigos que me aguentaram durante todo esse processo, nos bons e maus momentos, pelas dias e noites compartilhados...

Obrigada do fundo do coração!

Resumo

Várias espécies de *Cichla* foram supostamente introduzidas em açudes, lagos e reservatórios do Brasil, causando sérios prejuízos à fauna local. Os ciclídeos (*Cichla*) capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso (BA), na bacia do São Francisco, têm apresentado identificação incerta, devido ao fato de não compartilharem caracteres morfométricos discriminantes e padrões de colorações. Essa diversidade na forma pode ser atribuída tanto à introdução de mais de uma espécie, à ocorrência de híbridos ou mesmo associados a diferentes estágios de maturação gonadal. Para a identificação dos indivíduos amostrados neste trabalho, foram utilizadas ferramentas moleculares (COI e microssatélites), além de medições morfométricas, contagens merísticas dos peixes e morfometria geométrica. Também foi realizada uma avaliação da reprodução dos indivíduos, para verificar possíveis relações com os “tipos” encontrados. As medições morfométricas e contagens merísticas dos peixes não confirmaram a taxonomia da espécie, contudo as análises genéticas revelaram a ocorrência de uma única espécie, *Cichla monoculus*, em todo o Complexo. As análises haplotípicas apontaram para uma população que sofreu efeito gargalo e se apresenta em processo de expansão. Os diferentes padrões de forma e cores foi avaliado com relação a parâmetros reprodutivos como comprimento de primeira maturação gonadal, índice gonadosomático, fator de condição, estádios de desenvolvimento gonadal, período reprodutivo e fecundidade. Observou-se uma predominância de fêmeas com relação aos machos, uma redução do tamanho de primeira maturação em relação ao habitat natural da espécie e um longo período reprodutivo, com picos de RGS relacionados ao período chuvoso da região. A morfometria não permitiu associar as diferenças da forma e coloração aos estádios maturacionais. Contudo, foi observada uma diferenciação entre os padrões de coloração para a forma, com o morfotipo “cinza” com o corpo mais alongado, mais baixo e com a boca uma posição mais inferior em relação ao morfotipo “amarelo”. Estas mudanças podem ser atribuídas à plasticidade fenotípica da espécie em relação ao ambiente que ocupam. Se os cruzamentos forem preferenciais por morfotipo, através da escolha do parceiro por coloração; e se a pressão ambiental persistir, é provável que uma especiação do *Cichla monoculus* venha a ocorrer nesta bacia.

Palavras-chave: *Cichla monoculus*, morfometria geométrica, marcadores genéticos, plasticidade fenotípica.

Abstract

Several species of *Cichla* were supposedly introduced in dams, lakes and reservoirs of Brazil causing serious damage to local wildlife. Cichlids captured in Paulo Afonso hydroelectric complex (BA) have uncertain classification due to the fact of not sharing the morphometric discriminant characters and patterns of colorations. This diversity in the form can be attributed to the introduction of more than one species or to the occurrence of hybrids or even may be associated with different stages of gonadal maturation. For the identification of individuals sampled in this study, we used molecular tools (COI and microsatellites), in addition to morphometric measurements, meristic counts fish and geometric morphometry. Was also performed an evaluation of the reproduction of individuals. Morphometric measurements and meristic counts of fish confirmed the taxonomy of species, but genetic analyses revealed the occurrence of a single species, *Cichla monoculus*, in the complex. The haplotype analysis pointed to a population that suffered and bottleneck effect in the process of expansion. The different patterns and colors were evaluated with respect to reproductive parameters such as length of first maturity, gonadal gonadosomatic index, and condition factor, stages of gonadal development, fecundity and reproductive period. It was observed a predominance of females relative to males, a reduction in the size of first maturity relative to the natural habitat of the species and a long reproductive period, with peaks of RGS related to rainy season in the region. The morphometry was not allowed to associate the differences of form and colour to the maturational stages. However, a differentiation was observed between the staining patterns for the sample, with the morphotype "gray" with the more elongated body, and with the mouth a lower position compared to the morphotype "yellow". These changes can be attributed to phenotypic plasticity in the environment occupied by cichlids. These morphotypes might be splitting up, there is a crossing between types, through the choice of partner by color, and if the environmental pressure persist, it can lead to speciation of *Cichla monoculus*.

Keywords: *Cichla monoculus*, geometric morphometric, genetic markers, phenotypic plasticity.

Lista de figuras

Página

Figura 1- Mapa da área de amostragem, com destaque o Complexo de Paulo Afonso (Bahia, Brasil).....	41
Figura 2- Rede de haplótipos de <i>Cichla monoculus</i> , amostrados nos rios São Francisco, Negro, Solimões e alto rio Paraná, por meio do método de Median-Joining. Os círculos numerados representam os haplótipos (H _i) e o seu diâmetro a frequência do haplótipo.	45
Figura 3- Análise da distribuição de <i>mismatch</i> mostrando a distribuição com características de efeito gargalo.....	45
Figura 4- Árvore consenso Bayesiana reconstruída com base em sequências do gene mitocondrial COI (bp) utilizando 137 espécimes de <i>Cichla</i> e seis do GeneBank e BOLD, mais a espécie <i>Retroculus xinguensis</i> como grupo externo. Para o suporte de ramo, números da esquerda são as probabilidades posteriores obtidas pela análise bayesiana e os da direita os valores de bootstrap obtidos pela análise de Neighbor-Joining pelo modelo K2-P.	46
Figura 6- Padrão eletroforético em gel de poliacrilamida dos produtos amplificados do DNA das amostras de <i>Cichla</i> coletadas no rio São Francisco por PCR utilizando o locus CM15. Em destaque duas amostras de <i>Cichla monoculus</i>	47
Figura 7- Mapa da área de amostragem, com destaque para o Complexo de Paulo Afonso (BA) e sua posição na bacia do rio São Francisco.....	65
Figura 8- Esquema das medidas longitudinais (A) e dados merísticos de <i>Cichla</i> (B)..	67
Figura 9- Delimitação dos marcos anatômicos dos <i>Cichla</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA, submédio rio São Francisco	69
Figura 10- Distribuição por classe de tamanho de machos e fêmeas de <i>Cichla monoculus</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.	70
Figura 11- Distribuição do tamanho médio do comprimento padrão (L ₅₀) das fêmeas maduras <i>Cichla monoculus</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.....	71
Figura 12- Distribuição mensal da frequência relativa (%) dos estádios maturacionais de fêmeas (A) e machos (B); relação gonadossomática e fator de condição de fêmeas (C) e machos (D) de <i>Cichla monoculus</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.....	71

Figura 13- Diagrama de ordenação da análise de variáveis canônicas (CVA) entre cor e estágio maturacional (A) e entre sexo e cor (B) dos morfotipos de *Cichla* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.74

Figura 14- Resultado da classificação por validação cruzada da análise discriminante entre os exemplares de cores amarela e cinza de *Cichla monoculus* (A) e os vetores de deformação representando as alterações na forma do corpo (B). Morfotipo amarelo – linha azul claro: morfotipo cinza – linha azul escura.75

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1- Microssatélites monomórficas para a espécie <i>C. monocolus</i>	43
Tabela 2- Composição nucleotídica do Gene COI para as 137 sequências analisadas e testes de neutralidade.....	47
Tabela 3- Estimativa da divergência evolucionária entre as sequências.	48
Tabela 4- Descrição das medidas morfométricas e dados merísticos analisados de <i>Cichla monocolus</i> no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso.	68
Tabela 5- Frequências mensais absoluta (n) e relativa (%) e nível de significância de proporção sexual (χ^2) de <i>Cichla monocolus</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA	70
Tabela 6- Valores mínimo, máximo e média da morfometria e dados merísticos dos morfotipos amarelo e cinza e de <i>Cichla monocolus</i> , <i>C. kelberi</i> , <i>C. piquiti</i> e <i>C. temensis</i> já descritas na literatura (Kullander & Ferreira, 2006). <i>p</i> corresponde à diferença significativa entre as razões. As abreviaturas dos dados morfométricos e merísticos constam da Tabela 1.	73
Tabela 7- Autovalor, variância explicada (%) e variância explicada acumulada (%) dos cinco primeiros componentes principais	73
Tabela 8- Resultados da distância de Mahalanobis, com os p-valores e t-quadrados das análises entre os morfotipos de <i>Cichla</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA	75
Tabela 9- Resultado da classificação por validação cruzada da análise discriminante entre os sexos (macho e fêmea), coloração (amarela e cinza) e estágio maturacional (I, II, III e IV) dos exemplares de <i>Cichla monocolus</i> capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.....	76

Sumário

Página

Dedicatória

Agradecimento

Resumo

Abstract

Lista de figuras

Lista de tabelas

1- Introdução.....	11
2- Revisão de literatura.....	12
3- Referência bibliográfica	20
4- Anexos	35
5- Artigo científico	37
5.1- Artigo científico I.....	37
5.1.1- Normas da Revista Neotropical Ichthyology	58
5.2- Artigo científico II.....	61
5.2.1- Normas da Revista Neotropical Ichthyology	88

1- Introdução

A problemática da invasão dos tucunarés (*Cichla*) principalmente, em áreas com grande grau de endemismo deve ser vista como fator preocupante, uma vez que os problemas resultantes podem ser muitas vezes irreversíveis, em decorrência das alterações do ambiente, como a redução da população nativa, competição por nichos tróficos e predação. O fato do *Cichla* exibir uma alta plasticidade fenotípica alimentar e reprodutiva (CHELLAPPA et al., 2003; NOVAES et al. 2004; KOVALENKO et al., 2010), além de poder apresentar diversos morfotipos para a mesma espécie, além da ocorrência de híbridos (ANDRADE et al, 2001; MOURÃO, 2012), torna esta espécie potencialmente perigosa e o seu estudo, muito importante, para futuros monitoramentos nos ambientes receptores, para conhecer exatamente quais recursos estão sendo utilizados e compreender o funcionamento do ecossistema e suas reais interações.

Este trabalho tem como objetivo identificar, em nível molecular, as espécies de tucunaré introduzidas no Submédio São Francisco e possíveis híbridos, além de caracterizar a reprodução no trecho do complexo hidrelétrico de Paulo Afonso, através da análise dos estádios maturacionais e tamanho dos exemplares. As informações advindas desta pesquisa poderão dar suporte para uma avaliação do estado atual do status taxonômico dos tucunarés que fazem parte da comunidade e elaborar com propriedade programas de manejo das represas e controle do estoque pesqueiro para esses ambientes.

Revisão de literatura

O Brasil é conhecido por sua riqueza hidrológica e, junto com o continente sul-americano, representa uma das maiores reservas de água interiores do planeta, abrangendo rios, pântanos, lagos e áreas alagadas. Entretanto, as proporções continentais (superfície de mais de 8 milhões km²) e o posicionamento geográfico do país, com mais de 92% de suas terras entre os trópicos, resulta em regiões heterogêneas, com diferentes biomas, climas, relevos e uma distribuição temporal e espacial complexa de chuvas e vazões (TUCCI, 2001). Nossa área biogeográfica é composta de oito grandes bacias (VARI, 1988). A Amazônica possui uma das maiores diversidades ícticas do Brasil, estimado em mais de 1.400 espécies (REIS et al., 2003), resultado da diversidade do ecossistema compreendendo rios, canais, praias, florestas inundadas, várzeas, entre outros, concentrados em uma imensa área de 4.800.000 km². Já a bacia do alto rio Paraná, desmembrada da bacia do Prata, apresenta um alto grau de endemismo em sua ictiofauna, (VARI, 1988) e pelo menos 250 espécies de peixes conhecidas (AGOSTINHO e JÚLIO JÚNIOR, 1999). Aa bacia do rio São Francisco é a terceira maior do Brasil, com área aproximada de 631.00 km² e cerca de 180 espécies conhecidas (ROSA e LIMA, 2008), exibindo uma ictiofauna diversificada com peixes nativos, endêmicos e introduzidos, estes últimos apresentam populações estabelecidas, como os tucunarés (*Cichla* spp.) (GOMIERO e BRAGA, 2004).

No que se refere à riqueza ictiofaunística, a região neotropical é a mais rica em número de espécies de peixes, possuindo para a ictiofauna de água doce mais de 4.470 espécies válidas, com uma estimativa de haver mais 1.550 a serem descritas (REIS et al., 2003). Acredita-se que cerca de 30 a 40% de todas as espécies de peixes dessa região ainda não foram descritas sendo uma das causas, a escassez de informações

filogenéticas e/ou dados divergentes (VARI e MALABARBA, 1998). Para o Brasil, foram reportadas 3.322 espécies, dos quais 377 são consideradas endêmicas (FISHBASE, 2015). Além da complexidade e riqueza da ictiofauna brasileira, existe o problema da ação antrópica, com introdução de novas espécies em diversos ecossistemas aquáticos, dificultando a análise no âmbito mais específico da biodiversidade de uma dada região. Além disso, dezenas de espécies são descritas por ano, com previsão de que o número se aproxime dos 5.000 (REIS et al., 2003). Só no período entre 2001 e 2005 foram descritas mais de 260 espécies, sendo considerado o período mais produtivo da história da ictiofauna brasileira (BUCHUP et al., 2007).

Espécie introduzida, alienígena ou exótica diz-se de “toda e qualquer espécie transportada e liberada pelo homem, fora de sua área de distribuição natural, intencional ou acidentalmente” (FAO, 2006). Existe registro de translocação de espécies por humanos há pelo menos dez mil anos (PERRY e VANDERKLEIN, 1996). Porém, as introduções humanas modernas são algo usual e em expansão, resultando em uma das principais mudanças no ecossistema provocadas pela ação antrópica, perdendo apenas para as modificações ambientais (SIMBERLOFF, 2003; WILSON, 2006; VITULE et al., 2012) e uma das grandes ameaças à biodiversidade do planeta (NEVILLE e MURPHY, 2001). No que se refere ao sistema aquático, esta atividade é considerada um problema para a conservação de peixes dulciaquícolas (VITULE, 2009), trazendo como consequências alterações no habitat e na estrutura da comunidade. A introdução de carpa comum no lago Vitória nos Estados Unidos, por exemplo, causou impactos desastrosos para o ecossistema, como a alteração do habitat, predação, parasitas, doenças e hibridação (HALL e MILLS, 2000). Também se observou o declínio da biodiversidade geral de peixes neste lago, resultado também, de peixamentos com espécies exóticas de tilápia *Oreochromis leucostictus* (Trewavas, 1933), *O. Niloticus*

Linneus 1756, *Tilapia zillii* (Gervais, 1848) e *T. rendalli* Boulenger, 1896 e a perca-do-Nilo (*Lates niloticus* Linneus 1758) (GOUDSWAARD et al., 2002).

No Brasil, a translocação de peixes exóticos (de outros países) teve seu auge entre 1910 e 1940, com a carpa comum *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, sendo substituída pela tilápia (*Tilapia* e *Oreochromis*) de 1950 a 1970. O aumento destas introduções coincide com as tentativas de desenvolvimento da aquicultura (WELCOMME, 1988; DELARIVAL e AGOSTINHO, 1990). A partir das décadas de 60 e 70, espécies oriundas das Bacias Amazônica e do São Francisco foram transportadas para as estações de cultivo de peixes no Nordeste e, posteriormente, distribuídas para os açudes, lagos e reservatórios do Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil, com intuito de aumentar a pesca e o desenvolvimento da aquicultura (MENEZES, 1942; AGOSTINHO e JULIO JÚNIOR, 1997).

A aquicultura é considerada uma das principais atividades disseminadoras e contaminadoras de peixes alienígenas (CASAL, 2006), tendo a estocagem e peixamento apoiados por órgãos governamentais como o Departamento Nacional de Obras Contar a Seca (DNOCS) com a transferência do tucunaré (*Cichla ocellares* Bloch e Schneider 1801) para os açudes do Nordeste e Companhia Energética do Estado de São Paulo (CESP) introduzindo a pescada-do-Piauí (*Plagioscion squamosissimus* Heckel, 1840) em seus reservatórios) e Instituto de Ensino e Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), que efetuou o peixamento de espécies exóticas no rio Paraíba do Sul) (AGOSTINHO e JÚLIO JÚNIOR, 1996; BIZERRIL e PRIMO, 2001; MAGALHÃES et al., 2005).

As primeiras introduções do tucunaré na região Nordeste foram registradas na década de 40 pelo DNOCS para suas estações de pisciculturas e, posteriormente,

transferidos para as demais regiões do país (PEIXOTO, 1954; FONTENELE e PEIXOTO, 1979; AGOSTINHO e JULIO JÚNIOR, 1996; BORGHETTI e OSTRENSKY, 2002). Peixoto (1982) registrou a introdução destas espécies em açudes do Nordeste e Santos et al. (1994) nos reservatórios de Furnas e Marimbondo, no Alto Paraná, assim como em todos os reservatórios da CESP (TORLONI et al., 1993). Moura-Brito et al. (2005) citam a introdução do *Cichla* spp. no rio Paranapanema; Agostinho e Júlio (1999) comentam sua chegada para os reservatórios do Alto Paraná e Barros et al. (2001), na bacia do rio Piquiri (MS).

A família Cichlidae comporta mais de 400 espécies na região neotropical (REIS et al., 2004), sendo *Cichla* o gênero com a segunda maior riqueza, com 15 espécies (WINEMILLER et al., 1997). Eles são nativos das bacias do Amazonas, Tocantins e Orinoco, e de pequenos rios que drenam as Guianas até o Oceano Atlântico (KULLANDER e FERREIRA, 2006). Estes peixes preferem águas transparentes, com altas temperaturas e ambientes lênticos para alimentação e reprodução. São espécies piscívoras, não migratórias, que exibem cuidados parentais tais como construção de ninhos, ovos adesivos, além de o casal permanecer junto vigiando até os filhotes se tornarem independentes (FONTENELE, 1950; ZARET, 1980; NOVOA, 1996; WINEMILLER et al., 1997; LOWE-McCONNELL, 1999; WINEMILLER, 2001; CHELLAPA e CÂMARA, 2003; GOMIERO et al., 2009). As desovas coincidem com período chuvoso, com aumento de nutrientes e oferta de alimento para os filhotes (LOWE-McCONNELL, 1969; ZARET, 1980). Em outra estratégia reprodutiva adotada para garantir o sucesso da prole, os ciclídeos abanam os ovos com as barbatanas e músculos associados ao controle de certos movimentos, fornecendo assim, oxigênio e removendo detritos de sua superfície, reduzindo a chance de infecção causada por fungos (ZARET, 1980; BLUMER, 1986).

Os tucunarés têm grande porte, atingindo 80 cm de comprimento padrão e mais de 10 kg, apresentando posição de destaque entre os ciclídeos neotropicais, devido à sua capacidade de adaptação aos ambientes lênticos. Sua carne branca é apreciada para consumo, sendo importante na alimentação e comércio da população, além da pesca esportiva. Devido a tais características, tem sido introduzido em barragens e açudes de quase todas as regiões do país, bem como em outros países da América do Sul e Central (SANTOS et al., 1984; NASCIMENTO et al., 2001). O tucunaré é bastante utilizado nas pescarias comerciais em reservatórios do Nordeste (PAIVA et al., 1994) e, juntamente com a pescada (*Plasgioscion*), são os peixes mais capturados no reservatório de Tucuruí (TO) (PETRERE JÚNIOR, 1996)

De acordo com Kullander e Ferreira (2006), existe a possibilidade de quatro espécies de tucunaré terem sido introduzidas na região nordeste do Brasil: *C. kelberi*, *C. piquiti*, *C. temensis* e *C. monoculus*. Algumas delas são sintópicas nos ambientes introduzidos, compartilhando o mesmo biótopo e recursos alimentares. Trabalhos desenvolvidos sobre a reprodução de tucunaré em seu ambiente natural ou introduzidos (ANDRADE e YASUI, 2003; SOUZA et al., 2008) e em cativeiro (CARNEIRO et al., 2004; SOARES, 2007) reforçam ainda mais o caráter adaptativo desta espécie em locais modificados, a exemplo das represas.

O *Cichla monoculus* possui uma ampla distribuição, sendo introduzido em praticamente todo território brasileiro, com intuito de incrementar a pesca esportiva e a piscicultura (FONTENELE e PEIXOTO, 1979; BRAGA 1982; FONTENELE 1982; PEIXOTO 1982; OLIVEIRA et al., 1986; AGOSTINHO, 1994; PETRERE JÚNIOR, 1996; SANTOS et al., 2011). Existem relatos de sua introdução no reservatório de Lajes (RJ), nos anos 50 e 60 visando o controle da população de tilápias e peixes forrageiros e

para o aumento da pesca esportiva (OLIVEIRA et al., 1986; PETRERE JÚNIOR, 1996); também nos reservatórios de Marimbondo (Alto Paraná) (SANTOS et al., 1994); de Samuel (RO) (SANTOS, 1996); de Volta Grande (MG/SP) (GOMIERO e BRAGA, 2003); de Serra da Mesa (TO) (NOVAES et al., 2004) e no açude de Lima Campos (CE) (PEIXOTO, 1982).

O tucunaré responde positivamente a mudanças ambientais de lótico para lêntico, observando-se sua rápida proliferação em locais que foram introduzidos. Como no caso do *Cichla monoculus*, antes do represamento do Rio Tocantins a espécie era rara na região, mas tornou-se abundante no reservatório (SANTOS e OLIVEIRA, 1999). A rápida colonização pelos *Cichla* também foi relatada após o represamento do rio Jamari (RO) (SANTOS, 1996), o rio Uatumã (AM) (SANTOS e OLIVEIRA JÚNIOR, 1999), dos rios Caroní e Paraguai (Bolívia) (WILLIAMS et al., 1998), e quando a espécie foi introduzida em reservatórios no sul do Brasil (ARCIFA e MESCHIATTI, 1993; MAGALHÃES et al., 1996; SANTOS et al., 2001).

Esta adaptação é atribuída à sua plasticidade fenotípica, isto é, a capacidade do fenótipo de um organismo em variar em diferentes ambientes (BRADSHAW, 1965), podendo ser considerada como fator que resulta na evolução da diversificação morfológica (WIMBERGER, 1991). A capacidade adaptativa de uma espécie se dá devido à sua plasticidade alimentar e reprodutiva (principalmente), além de aparatos respiratórios que os tornam capazes de vencer às pressões ambientais como oscilações de temperatura e oxigênio (VAZZOLER, 1996). A partir dessa plasticidade, a população é capaz de permanecer em locais modificados e sendo essas pressões constantes, poderá haver modificações permanentes do fenótipo, através da assimilação genética do novo (WADDINGTON, 1975; CHAPMAN et al., 2000). Casos de alteração

do fenótipo foram relatados em ciclídeos dos lagos Malawi, Tanganyika e Victoria (África), citado por abrigar uma das ictiofauna mais especiosa do mundo (FRYER e ILES, 1972; KOCHER et al., 1993, STAUFFER et al., 2004). A forma do peixe pode ser afetada por sua composição genética, pelo ambiente (dieta, desenvolvimento ontogênico, taxa de crescimento e nutrição) (MARTIN, 1949; KULLANDER, 1986; LOVELL, 1989). Os peixes da família Cichlidae apresentam enorme diversidade na forma do corpo, como relatados por Wimberger (1992), observando que certos aspectos da morfologia do trato digestório desse grupo ciclídeos demonstraram ter plasticidade, em resposta a diferentes dietas. Outros estudos relatam além da elevada plasticidade trófica, a adaptabilidade reprodutiva em novos ambientes como no caso do *Cichla kelberi* (NOVAES et al., 2004). Esta plasticidade fenotípica encontrada nos tucunarés seria uma explicação para sua capacidade invasora, demonstrando que, mesmo um pequeno número de indivíduos introduzidos pode ser capaz de se estabelecer e dominar o ambiente receptor, independentemente de sua diversidade genética (CARVALHO, 2009).

A história da introdução de tucunarés na bacia do São Francisco, assim como seu *status* taxonômico são incipientes. Esta espécie foi citada pela primeira vez na bacia, na represa de Três Marias (MG), no Alto rio São Francisco, em 1980, por Sato e Godinho (1988), que especularam que a introdução deste peixe teria sido acidental, por escape de viveiros, lagos ou açudes, uma vez que a espécie não fazia parte do programa de peixamento para a região.

Por serem espécies morfologicamente muito semelhantes, a identificação das espécies do gênero *Cichla* em algumas bacias é problemática (KULLANDER e FERREIRA, 2006), como os tucunarés introduzidos em algumas bacias hidrográficas

brasileiras, a exemplo do São Francisco (GODINHO e GODINHO, 2003, ALVES e BARTHEM, 2008). O fato de não compartilharem caracteres morfométricos e merísticos discriminantes para espécies distintas pode ser considerado como indício de hibridação. Casos de hibridação natural em *Cichla* já foram relatados no rio Uatumã, lago da UHE de Balbina (AM) para *C. monoculus* e *C. temensis* (ANDRADE et al., 2001), e na bacia do rio Paraná para *C. kelberi* e *C. piquiti* (GASQUES, 2014).

As análises por morfometria geométrica permitem uma avaliação integrada das espécies, discriminando melhor os grupos, indicando diferenças morfológicas específicas (GARAVELLO et al., 1991, CAVALCATI e LOPES, 1993) e a discriminação entre grupos intraespecíficos (BEMVENUTI, 2000). Esta técnica é mais eficiente em capturar a informação relacionada à forma dos organismos e apresenta uma maior robustez estatística, além de identificar onde, como e em que magnitude estão ocorrendo as mudanças (ROHLF e MARCUS, 1993). Santos (2012) investigou as respostas morfológicas de peixes tropicais em resposta ao represamento do rio Paraíba do Sul (RJ). O uso desta técnica também serviu para mostrar a radiação adaptativa entre ciclídeos e seus ajustes aos diferentes nichos ecológicos em lagos africanos (COOPER et al., 2010; KERSCHBAUMER e STURMBAUER, 2011). Variações morfológicas para o dimorfismo sexual, considerando a história de vida e o sexo da *Plagioscion squamosissimus* também foram investigados por esta técnica (ANDRÉA et al., 2006), que também foi empregada para verificar as relações das diferenças entre as formas como o padrão de coloração e *status* de vida de *Cichla*. (REISS e GROTHUES, 2015)

A taxonomia é tradicionalmente baseada em caracteres morfológicos e merísticos, entretanto, esta tem recorrido cada vez mais às ferramentas moleculares, sobretudo na caracterização e diferenciação de espécies filogeneticamente próximas. As abordagens

genéticas colaboram para distinguir ou identificar espécies desconhecidas ou morfologicamente semelhantes (criptas), ou quando ocorre hibridação entre espécies simpátricas. Para tal, tem sido utilizado, principalmente, o DNA mitocondrial e nuclear para a identificação, como nos casos de surubins e seus híbridos na bacia do Paraná (CARVALHO et al., 2009) e na caracterização molecular de híbridos de *Leporinus* em pisciculturas brasileiras (PORTO-FORESTI, 2008).

Um dos primeiros estudos genético aplicados à taxonomia de tucunarés da Amazônia foi feito por Alves (1998), nos rios Uatumã (*C. monocus*, *C. temensis* e *Cichla* sp.), Jaú (*C. temensis*) e Solimões - lago Janauacá (*C. monocus*), através de análises cromossômicas destas espécies, que indicam a ocorrência de hibridação entre *C. monocus* e *C. temensis*. Esta hipótese foi comprovada *a posteriori*, por Andrade et al. (2001), que sequenciou o DNA mitocondrial das duas espécies nas bacias do Tapajós, Moju, Tocantins, Guamá e Uatumã. Estudos para compreender a estrutura e evolução de *C. monocus* e *C. ocellares* na porção superior do rio Madeira (Amazônia boliviana), utilizando sequências da região controle do DNA mitocondrial (mtDNA), foram feitos por Renno et al. (2006).

Trabalhos de sistemática, filogenia e biogeografia de ciclídeos, com intuito de elucidarem sua trajetória evolutiva, identificação de morfotipos incertos e seus possíveis híbridos e relações populacionais baseados em nucleotídeos nucleares e mitocondriais foram elaborados por Sides e Lydeard (2000); Sparks e Smith (2004); Willis et al. (2006); Stuart et al. (2007); Carvalho et al. (2009); López-Fernandez et al. (2010); Almeida-Ferreira et al. (2011); Willis et al. (2012) e Willis et al. (2013). Também foram desenvolvidos microssatélites específicos para espécies ajudando nos estudos da estrutura genética populacional, história demográfica e na distinção entre espécies de

Cichla (CARVALHO et al., 2009; MACRANDER, 2010; LIMA et al., 2010; WILLIS et al., 2012; WILLIS et al., 2013). Microssatélites são repetições de nucleotídeos de 2-6 pares de bases, em número repetições e tamanhos variáveis, com regiões polimórficas, podendo diferir no número de repetições entre os indivíduos (TAUTZ, 1989), apresentando sucesso na identificação de espécies e de populações, detecção de variabilidade genética de populações naturais ou cultivadas, verificação de relações filogenéticas entre espécies (ROSENFELD et al., 2000; PERDICES et al., 2005).

O citocromo oxidase subunidade I (COI) é outro marcador molecular que vem sendo utilizado na discriminação entre espécies, permitindo a identificação precisa de espécimes. Este marcador corresponde a uma região codificante, bastante conservada, da parte de uma enzima terminal da cadeia respiratória da mitocôndria. O COI é um pequeno fragmento de DNA que pode ser usado como identificador padronizado e único de cada espécie, um “código de barras” que ajudaria tanto na identificação como na descoberta de novas espécies (HEBERT et al., 2003; ORTIZ, 2010). A aplicação do COI tem demonstrado bastante eficácia, apontando uma resolução de mais de 95% das espécies de água doce (WARD et al., 2009); no México, 98% dos peixes dulciaquícolas foram identificados (VALDEZ-MORENO et al., 2009) e mais de 99% foram discriminados para a ictiofauna de água doce neotropicais (PEREIRA, 2013). Esta técnica também foi utilizada como ferramenta forense na conservação e gestão de peixes de interesse comercial do Amazonas e na detecção de adulteração de pescado marinhos e frutos do mar (PIMENTA NETO, 2013). Para o gênero *Cichla*, o COI foi usado para a diferenciação cromossômica e genética entre as espécies *C. kelberi* e *C. piquiti* e seus prováveis híbridos naturais dos rios Panará (PR) e Tietê (SP) (MOURÃO, 2012); discriminação entre peixes da bacia do Paraná (PR) (PEREIRA et al., 2013) e

também como ferramenta de identificação de diversos tipos de filés e postas para alimentação, incluindo tucunarés (ARDURA et al., 2010).

3- Referência bibliográfica

AGOSTINHO, A.; JÚLIO JR., H.F.; GOMES, L.C.; BINI, L.M.; AGOSTINHO, C.S. Composição, abundância e distribuição espaço-temporal da ictiofauna. In: VAZZOLER, A.E.A. de M.; AGOSTINHO, A. A.; HAHN, N.S. (Ed.). A Planície de Inundação do Alto Rio Paraná. Aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos. Maringá: EDUEM: Nupélia, 1997. p.179-208.

AGOSTINHO, A.A. Pesquisas, monitoramento e manejo da fauna aquática em empreendimentos hidrelétricos. In: **Seminários sobre fauna aquática e o setor elétrico brasileiro**, 1994. v.1, p.38-61.

AGOSTINHO, A.A.; JÚLIO JR, H.F. Peixes da bacia do alto rio Paraná. In: LOWE-McCONNELL R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: Edusp, 1999. p. 374-400.

ALMEIDA-FERREIRA, G.C.; OLIVEIRA, A.V.; PRIOLI, A.J.; PRIOLI, S.M. Spar genetic analysis of two invasive species of *Cichla* (Tucunaré) (Perciformes: Cichlidae) in the Paraná river basin. **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, v. 33, n. 1, p. 79-85, 2011.

ALVES, M.C.B.; BARTHEM, R.B. A pesca comercial dos “tucunarés” *Cichla* spp. (Perciformes, Cichlidae) no reservatório da UHE-Tucuruí, rio Tocantins, PA. **Bol. Inst. Pesca**, p. 553-561, 2008.

ANDRADE, D.R.; YASUI, G.S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Animal**, v.27, n.2, p.166-172, Abr/Jun, 2003.

ANDRADE, F., SCHNEIDER, H., FARIAS, I., FELDBERG, E.; SAMPAIO, I. Análise filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*Cichla*, Perciformes), com registro de hibridização em diferentes pontos da bacia amazônica. **Revista Virtual de Iniciação Acadêmica de Universidade Federal do Para**, v. 1, p. 1-11, 2001.

ARCIFA, M.S.; MESCHIATTI, A.J. Distribution and feeding ecology of fishes in a Brazilian Reservoir: Lake Monte Alegre. **Interciência**, Caracas, v. 18, n.6, p. 302-313, 1993.

ARDURA, A., POLA I.G., GINUINO, I., GOMES, V., GARCIA-VÁSQUEZ, E. Application of barcoding to Amazonian commercial fish labeling. **Food Res Int.** v. 43, p.1549–1552, 2010.

BARROS, S.E., MOSA, S.; REGIDOR, G.H.A.; SÜHRING, S.S. Relaciones longitud – peso em peces del embalse Cabra Corral, Salta, Argentina. **Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción**, v.72, p. 25-30, 2001.

BEMVENUTI, M.A. Diferenciação geográfica do peixe-rei *Odontesthes argelllinensis* (Atherinopsidae), no extremo sul do Brasil, através da morfometria multivariada. **Atlântica**, Rio Grande, v.22, p. 7 1-79, 2000.

BIZERRIL, C.R.S.F.; PEIXOTO P.B.S. Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, **PLANAGUA – FEMAR/ SEMADS**, p. 417, 2001.

BLUMER, L.S. The function of parental care in the brown bullhead *Ictalurus nebulosus*. **American Midland Naturalist**, n.115, p. 234-238, 1986.

BORGHETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. Aquicultura. Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: **Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos ambientais**, p.128, 2003.

BRADSHAW, A.D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. **Advances in Genetics**, v.13, p.115-155, 1965.

BRAGA, R.A. Crescimento de tucunaré pinima *Cichla temensis* (Humboldt) em cativeiro (Actinopterygii, Cichlidae). **Coleção. Trab. Técn. DNOCS**, Fortaleza, v.2, p.101-112, 1982.

BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; GHAZZI, M.S. Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. **Museu Nacional**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

CARNEIRO, R.L.; SILVA, J.A.M.; ALBINATI, R.C.B.; SOCORRO, E.P.; NEVES, A.P. Uso do microcrustáceo branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) in peacock bass feed. **Ver. Bras. Saude Prod. An.**, v.5, n.1, p.18-24, 2004.

CARVALHO, D.C.; OLIVEIRA, D.A.A.; DOS SANTOS, J.E.; TESKE, P.; BEHEREGARAY, L.B.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Genetic characterization of native and introduced populations of the neotropical cichlid genus *Cichla* in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 601-607, 2009.

CASAL, C. M. V. Global documentation of fish introductions: The growing crisis and recommendations for action. **Biological Invasions**, v.8, p. 3-11, 2006.

CAVALCANTI, M.J.; LOPES, P.R.D. Análise morfométrica multivariada de cinco espécies de Serranidae (Teleostei, Perciformes). **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 15, n. 1, p. 53-64, 1993.

CHAPMAN, L.J.; GALIS, F.; SHINN, J. Phenotypic plasticity and the possible role of genetic assimilation. Hypoxia-induced trade-offs in morphological traits of an African cichlid. **Ecol. Lett.**, v.3, p.387-393, 2000.

CHELLAPPA, S., CAMARA, M.R., CHELLAPPA, N.T. Ecologia reprodutiva de um ciclídeo neotropical, *Cichla monoculus* (Osteichthyes: Cichlidae). **Braz. J. Biol**, v.63, n.1, p.17-26, 2003.

COOPER, W.J.; PARSONS, K.; McINTYRE, A.; KERN, B.; MCGEE-MOORE, A.; ALBERTSON, R.C. Benthopelagic divergence of cichlid feeding architecture was prodigious and consistent during multiple adaptive radiations within African Rift- Lakes. **PLoS One**, v.5, n.3, p.9551, 2010.

DELARIVA, R.L.; AGOSTINHO, A.A. Introdução de espécies: uma síntese comentada. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.21, p.255-262, 2008.

FAO - The State of World Fisheries and Aquaculture – Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO Fisheries and Aquaculture Department, Roma. Disponível < <http://www.fao.org/home/en/>>. Acesso em 05 de janeiro de 2016.

FISHBASE, 2016. Disponível <<http://www.fishbase.org/>>. Acesso em 05 de janeiro de 2016.

FONTENELE, O. Contribuição para o conhecimento da biologia dos tucunarés (Actinopterygii, Cichlidae), em cativeiro. Aparelho reprodutor. Hábitos de desova e incubação. **Revista Brasileira de Biologia**, v.10, n.4, p.503-519, 1982.

FONTENELE, O.; PEIXOTO, J.T. Apreciação sobre os resultados da introdução do tucunaré comum, *Cichla ocellaris* Bloch & Schneider, 1801, nos açudes do nordeste brasileiro, através da pesca comercial. **BoI. Téc. DNOCS**, Fortaleza, v.37, n.2, p.109-134, 1979

FRYER, G.; ILES, T.D. Cichlid fishes of the great lakes of Africa. 1972.

GASQUES, L.S.; FABRIN, T.M.C.; PRIOLI, S.M.A.P.; PRIOLI, A.J.A. Introdução do gênero *Cichla* [Block e Schneider, 1801] na planície de inundação do alto rio Paraná. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.17, n.4, 2015.

GODINHO, A.L., GODINHO H.P. Breve visão do São Francisco. In: Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. GODINHO, H.P.; GODINHO A.L. (org.). Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. p.15-24.

GOMIERO, L.M.; BRAGA, F.M.S. Pesca experimental do tucunaré, gênero *Cichla* (Osteichthyes, Cichlidae), no reservatório da UHE de Volta Grande, rio Grande (48°25' - 47°35' W, 19°57' - 20°10' S). **B. Inst. Pesca**, v.29, n.1, p.29-37, 2003.

GOMIERO, L.M.; VILLARES JUNIOR, G.A, NAOUS, F. Reproduction of *Cichla kelberi* Kullander and Ferreira, 2006 introduced into an artificial lake in southeastern Brazil. **Braz. J. Biol**, v.69, n.1, p.175-183, 2009.

GOMIERO, LM.; BRAGA, FMS. Feeding of introduced species of *Cichla* (Perciformes, Cichlidae) in Volta-Grande reservoir, river Grande (MG/SP). **Braz. J. Biol.**, v.64, n.4, p. 787-795, 2004.

GOUDSWAARD, P. C.; WITTE, F.; KATUNZI, E. F. B. The tilapiine fish stock of Lake Victoria before and after the Nile perch upsurge. **Journal of Fish Biology**, v.60, p.838-856, 2002.

HALL, S.R.; MILLS, E.L. Exotic species in large lakes of the world. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v.3, p.105-135, 2000.

HEBERT P.D.N, A. CYWINSKA, S.L. BALL, AND J. R. DE WAARD. Biological Identifications Through DNA Barcodes. **Proc. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.**, n.270, p.313–321, 2003.

KERSCHBAUMER, M.; STURMBAUER, C. The Utility of Geometric Morphometrics to Elucidate Pathways of Cichlid Fish Evolution. **International Journal of Evolutionary Biology**, p.1-8, 2011.

KOCHER, T.D., CONROY, J.A., MCKAYE, K.R.; STAUFFER, J.R., JR. Similar morphologies of cichlid fish in lakes Tanganyika and Malawi are due to convergence. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.2, p.158-165, 1993.

KOVALENKO, K. E. et al. Recognition of non-native peacock bass, *Cichla kelberi* by native prey: testing the naiveté hypothesis. **Biological Invasions**, v. 12, n. 9, p. 3071-3080, 2010.

KULLANDER, S. O. Cichlid Fishes of the Amazon River Drainage of Peru. Stockholm: **Swedish Museum of Natural History**, 1986.

LIMA, M.P.; CAMPOS, T.; SOUSA, A.C.B.; SOUZA, A.P. E ALMEIDA-VAL, V.M.F. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Cichla monoculus* (Agassiz, 1831), an important freshwater fish in the Amazon. **Conservation Genetic Resour**, v.2, p.215–218, 2010.

LOPEZ-FERNANDEZ, H.,K.O.; WINEMILLER; HONEYCUTT, R.L. Multilocus phylogeny and rapid radiations in Neotropical cichlid fishes (Perciformes: Cichlidae: Cichlinae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.55, p.1070-1086, 2010.

LOVELL, T. Nutrition and feeding of fish. **Van Nostrand Reinhold**, New York, USA, 1989.

LOWE-McCONNELL, R. H. The cichlid fishes of Guyana, South America, with notes on their ecology and breeding behaviour. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v.48, p.255-302, 1969.

LOWE-McCONNELL, R.H. Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais. São Paulo: **Editora da Universidade de São Paulo**, 1999.

MACRANDER, J. C. Microsatellite development, population structure and demographic histories for two species of amazonian peacock bass *Cichla temensis* and *Cichla monoculus* (Perciforme: Cichlidae). **University of Nebraska** - Lincon, 2010.

MAGALHÃES, A.L.B., SATO, Y., RIZZO, E., FERREIRA, R.M.A.; BAZZOLI, N. Ciclo reprodutivo do tucunaré *Cichla ocellaris* (Schneider, 1801) na represa de Três Marias, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, n.1, p.85-92, 1996.

MAGALHÃES, A.L.B.; BRITO, M.F.G.; ANDRADE R.F. Espécies introduzidas. In: MAGALHÃES, A.L.B.; BRITO, M.F.G.; ANDRADE, R.F (eds.). Uma abordagem didático-científica sobre peixes introduzidos no Estado de Minas Gerais. Disponível <<http://www.exoticfish.bio.br>> . Acesso em 5 de janeiro de 2016.

MARTIN, W. R. The mechanics of environmental control of body form in fishes. University of Toronto Studies, **Biological Series**, v.58, p.1-91, 1949.

MENEZES, R.S. Desenvolvimento da pesca e da piscicultura no Nordeste. Publicação nº 101, do Serviço de Piscicultura. Fortaleza: **DNOCS**, 1942.

MOURA-BRITO, M.; PATROCÍNIO, D.M.N. A fauna das espécies exóticas do Paraná: contexto nacional e situação atual. Cap. II – Ações para a melhoria da qualidade ambiental das unidades de conservação. IN: (Org.) CAMPOS, J.B.; TOSSULINO, M.G.P.; MÜLLER, C.R.C. 2005. Unidades de conservação: ações para valorização da biodiversidade. Instituto Ambiental do Paraná Governo do Paraná – IAP. Curitiba, p. 53-94, 2005.

MOURÃO, A.A.D.F. Caracterização citogenética e molecular das espécies *Cichla kelberi* e *Cichla piquiti* e seu possível híbrido interespecífico coletados em ambientes naturais. 2013. 73p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Estadual Paulista – São Paulo.

NASCIMENTO, F.L.; CATELLA, A.C. MORAES, A.S. Distribuição espacial do tucunaré, *Cichla* sp. (Pisces, Cichlidae), peixe amazônico introduzido no Pantanal, Brasil. Corumbá: **Embrapa Pantanal**, 2001. 17p.

NETO, D.A.P. Detecção de adulteração de espécies em pescado e derivados por meio da técnica de DNA Barcoding, 2013. 45p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais.

NEVILLE, L.E.; MURPHY, S. Invasive alien species: Forging cooperation to address a borderless issue. Berks, **International Association for Ecology (INTECOL) Newsletter**, Spring/Summer, p. 3-7, 2001.

NOVAES, J.L.C.; CARAMASCHI, É.P.; WINEMILLER, K.O. Feeding of *Cichla monoculus* Spix, 1829 (Teleostei: Cichlidae) during and alter reservoir formation in the Tocantins river, Central Brazil. **Acta limnol. Bras.**, v.16, n.1, p.41-9, 2004.

NOVOA, D.F.R. Aspectos generales sobre la biologia, pesqueria, manejo y cultivo del pavón (*Cichla orinocensis* y *Cichla temensis*) en el lago de Guri y otras áreas de la region Guayana. **Natura**, v. 96, p.34-39, 1996.

OLIVEIRA, S.L. de; MENDES, Z.C.; CRISÓSTOMO, L.C.; ARAÚJO, F.G. Resultados preliminares do levantamento ictiológico na represa de Ribeirão das Lajes, estado do Rio de Janeiro. **Publ. Avuls Mus. Nac.** Rio de Janeiro, v.65, p.87-90, 1986.

ORTIZ, M.D.F. Validação do DNA barcoding como identificador de espécies: um estudo de ampla amostragem com o gênero *Pseudoplatystoma* (SILURIFORMES; PIMELODIDAE) na Amazônia. 2010. p. **Dissertação (Mestrado)** – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

PAIVA M.P; PETRERE JUNIOR, M; PETENATE A.J. NEPOMUCENO, F.H.; VASCONCELOS, E.A. Relationship between the number of predatory fish species and fish yield in large north- eastern Brazilian reservoirs. In: COWX, I.G. (ed) Rehabilitation of freshwater fisheries. Fishing News Books, Osney Mead, 1994. P.120–129.

PAIVA, M.P. **Grandes represas do Brasil**. Brasília: Editerra, 1982. 304p.

PEIXOTO, J.T. Alimento de tucunaré, *Cichla ocellaris* Bloch & Schneider, 1801 no açude Lima Campos, Icó, Ceará, (Actinopterygii, Cichlidae). **Colet. de Trab. Técn. DNOCS**, Fortaleza, 2: 159-172. 1982.

PERDICES, A.; DOADRIO, I.; BERMINGHAM, E. Evolutionary history of the synbranchid eels (Teleostei: Synbranchidae) in Central America and the Caribbean islands inferred from their molecular phylogeny. **Mol. Phylogenet. Evolut.**, v.37, p.460–473, 2005.

PEREIRA, L.H.; HANNER, R.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **BMC genetics**, v.14, n.1, p.20, 2013.

PEREIRA, L.H.G; PAZIAN, M.F., HANNER, R.; FORESTI, F., OLIVEIRA, C. DNA barcoding reveals hidden diversity in the Neotropical freshwater fish *Piabina argentea* (Characiformes: Characidae) from the Upper Paraná Basin of Brazil. **Mitochondrial DNA**, v.22, (Suppl 1), p.87–96, 2011.

PERRY, J.; VANDERKLEIN, E. Water quality: Management of a natural resource. Biddeford: **Blackwell Science**, 1996.

PETREIRE JR., M. Fisheries in large tropical reservoirs in South America. Lakes & Reservoirs: **Research and Management**. V.2, p.111-133, 1996.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; ALVES, A.L.; ALMEIDA, R.B.C.; SENHORINI, J.A.; BORTOLOZZI, J.; FORESTI, F. Cytogenetic markers as diagnoses in the identification of the hybrid between Piauçu (*Leporinus macrocephalus*) and Piapara (*Leporinus elongatus*). **Genetics and Molecular Biology**, v.31, 1 suppl, p.195-202, 2008.

REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JR., C.J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. EDIPUCRS, Porto Alegre, 2003.

REISS, P.; GROTHUES, T. M. Geometric morphometric analysis of cyclical body shape changes in color pattern variants of *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae) demonstrates reproductive energy allocation. **Neotropical Ichthyology**, v.3, n. 1, p.103-112, 2015.

RENNO, J.F.; HUBERT, N.; TORRICO, J.P.; DUPONCHELLE, F.; NUNEZ RODRIGUEZ, J.; GARCIA-DAVILA, C.; WILLIS, S.C.; DESMARAIS, E. Phylogeography of peacock bass *Cichla monoculus* in the upper Madeira (Amazon, Bolivia): Evidence of incipient speciation. **Mol Phylogenet Evol**, v. 41, p.503-510, 2006.

ROHLF, F.J.; MARCUS, L.F. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, v.8, n.4, p.129-132, 1993.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T. 2008. Peixes. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção, p.278.

ROSENFELD, J.A.; TODD, T. E GREIL, R. Asymmetric hybridization and introgression between pink salmon and chinook salmon in the Laurentian Great lakes. **Trans. Of The Am. Fish. Soc.**, v.129, p.670-679, 2000.

SANTOS, A.B.I. Resposta morfológica de uma espécie de peixe tropical aos represamentos do Rio Paraíba do Sul, RJ. 2012. **Dissertação (Mestrado)** Universidade Federal Rural Rio de Janeiro – Rio de Janeiro.

SANTOS, A.F.G.N. E SANTOS, L.N. Feeding morphology of the Neotropical piscivorous fish *Cichla kelberi* (Perciformes: Cichlidae) introduced into an oligotrophic Brazilian reservoir. **Rev. Biol. Trop.** v.59, n.3, p.2011.

SANTOS, G.M. Impactos da hidrelétrica Samuel sobre as comunidades de peixes do rio Jamari (Rondônia, Brasil). **Acta Amazonica**, v.25, n.3/4, p.247-280, 1996.

SANTOS, G M.; OLIVEIRA JUNIOR A.B. A pesca no reservatório da hidrelétrica de Balbina (Amazonas, Brasil). **Acta Amazonica**, v.29, p.145-163, 1999.

SANTOS, G.B., MAIA-BARBOSA, P.M., VIEIRA, F., LÓPEZ, C.M. Fish and zooplakton community struture in reservoirs of southeastern Brazil: Effects of the introduction of exotic predatory fish. In: PINTO-COELHO, R.M.; GIANI, A; VON SPERLING, E. Ecology and human impact on lakes and reservoirs in Minas Gerais with special reference to future development and management strategies. Belo Horizonte: SEGRAC, 1994. p.77-83.

SANTOS, G.B.; MAIA BARBOS, P.M.; VIEIRA, F.; LOPES, C.M. Fish and zooplankton community structure in reservoirs of southeastern Brazil: effects of the introduction of exotic predatory fish. In: PINTO-COELHO, R.M.; GIANI, A.; SPERLING, E. (eds) Ecology and human impact on lakes and reservoirs in Minas Gerais. Segrac, Belo Horizonte, 1994. p.115–132.

SANTOS, G.M.; JEGU, M.; MERONA, B. Catálogo de peixes comerciais do Baixo rio Tocantins. Manaus, **ELETRONORTE, CNPq, INPA**, 1984. 83p.

SANTOS, L. N., GONZALEZ, A. F. & ARAUJO, F. G. A dieta do tucunaré-amarelo *Cichla monoculus* (Bloch & Schneider) (Osteichthyes, Cichlidae), no reservatório de Lajes, Rio de Janeiro, **Brasil. Revta. Bras. Zool.**, v.18, n.1, p.191-204, 2001.

SATO, Y.; GODINHO, A.L. Tucunaré - um peixe exótico na represa de Três Marias. **Coletânea de Resumos dos Encontros da Associação Mineira de Aquicultura (AMA)**, v.1987, p.92-93, 1982.

SIDES, J., LYDEARD, C. Phylogenetic utility of the tyrosine kinase gene X-src for assessing relationships among representative cichlid fishes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.14, p.51- 74, 1999.

SIMBERLOFF, D. Confronting introduced species: A form of xenophobia? **Biological Invasions**, v.5, n.3, p.179-192, 2003.

SOARES, E.C.; PEREIRA-FILHO, M; ROUBACH, R.; SILVA, R.C.S. Condicionamento alimentar no desempenho zootécnico do tucunaré. **Rev. Bras. Enga. Pesca 2**. São Luís, Ed. UEMA, v.2, número especial, p.35-48, setembro de 2007.

SOUZA, J.E.; FRAGOSO-MOURO, E.N.; FENERICH-VERANI, N.; ROCHA, O.; VERANI JR. Population structure and reproductive biology of *Cichla kelberi* (Perciformes, Cichlidae) in Lobo Reservoir, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.6, n.2, p.201-210, 2008.

SPARKS, J.S.; SMITH, W.L. Phylogeny and biogeography of cichlid fishes (Teleostei: Perciformes: Cichlidae). **Cladistics**, v.20, p.501-517, 2004.

STAUFFER, J. R.; GRAY E. V. S. School Phenotypic plasticity: its role in trophic radiation and explosive speciation in cichlids (Teleostei: Cichlidae). **Animal Biology**, v.54, n.2, p. 137-158, 2004.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, v.17, p.6463-6471, 1989.

TORLONI, C.E.C.; SANTOS, J.J.; CARVALHO JR., A.A.; CORRÊA, A.R.A. Produção pesqueira e composição das capturas em reservatórios sob concessão da CESP nos rios Tietê, Paraná e Grande, no período de 1986 a 1991. **CESP Série Produção Pesqueira 001**. 1993.

TUCCI, C.E.M.; HESPANHOL, I.; CORDEIRO-NETO, O.M. **Gestão da Água no Brasil**. Brasília: UNESCO, 2001. 156p.

VALDEZ-MORENO, M.; IVANOVA, N.V.; ELÍAS-GUTIÉRREZ, M.; CONTRERAS-BALDERAS, S.; HEBERT, P.D.N. Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. **Journal of Fish Biology**, v.74, p.377–402, 2009.

VARI, R.P. The Curimatidae, a lowland Neotropical fish family (Pisces: Characiformes): Distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. In: VANZOLIN, I. P.E.; HEYER, W. R. Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns, edited by, 313–348. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. 1988.

VARI, R.P.; MALABARBA, L.R. 1998. Neotropical Ichthyology: an overview. In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.P. et al. (Eds.) **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. Porto Alegre, Edipucrs. p. 1-11.

VIANA, A.P.; FRÉDOU, T.; LUCENA, F. Aplicações de técnicas morfométricas no estudo da morfometria de pescada branca, *Plagioscion squamosissimus*, Heckel (1940), Perciformes, Sciaenidae, desembarcada na ilha de Mosqueiro-PA. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v.19, p.01-12, p. 2006.

VITULE, J. R. S.; SKÓRA, F.; ABILHOA, V. Homogenization of freshwater fish faunas after the elimination of a natural barrier by a dam in Neotropics. **Diversity and Distributions**, v.18, n.2, p.111-120, 2012.

VITULE, J.R.S.; FREIRE, C.A.; SIMBER- LOFF, D. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. *Fish and Fisheries*, 10:98-108. 2009.

WADDINGTON, C.H. **The evolution of an evolutionist**, Cornell University Press, Ithaca, New York, 1975.

WARD, R.D.; HANNER, R.; HEBERT, P.D.N. The campaign to DNA barcode all fishes,. **J. Fish Biol.** V.74, p.329–356, 2009.

WELCOMME, R.L. International introductions of inland aquatic species. **FAO - Fisheries Technical Paper**, p.294-318, 1988

WILLIAMS, J.D.; WINEMILLER, K.O.; TAPHORN, D.C.; BALBAS, L. Ecology and status of piscivores in Guri, an oligotrophic tropical reservoir. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 18, n.2, p.274-285, 1998.

WILLIS, S.C.; FARIAS, I.P.; ORTÍ, G. Multi-locus species tree for the Amazonian peacock basses (Cichlidae: *Cichla*): Emergent phylogenetic signal despite limited nuclear variation. **Molecular phylogenetics and evolution**, v.69, n.3, p.479-490, 2013.

WILLIS, S.; NUNES, M.S.; MONTAÑA, C.G.; FARIAS, I.P.; LOVEJOY, N.R. Systematics, biogeography, and evolution of the Neotropical peacock basses *Cichla* (Perciformes: Cichlidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.44, p.291–307, 2007.

WILLIS, S.C. Multilocus and parametric analyses of the evolutionary history of the Amazonian peacock cichlids, genus *Cichla* (Teleostei: Cichlidae). **School of Biological Sciences**, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, USA, 2011.

WILLIS, S.C.; MACRANDER, J.; FARIAS, I.P.; ORTI, G. Simultaneous delimitation of species and quantification of interspecific hybridization in Amazonian peacock cichlids (genus *Cichla*) using multi-locus data. **BMC Evolutionary Biology**, v.12, 2012.

WILLIS, S.C.; NUNES, M.S.; MONTAÑA, C.G.; FARIAS, P.F.; LOVEJOY, N.R. Systematics, biogeography, and evolution of the Neotropical peacock basses *Cichla* (Perciformes: Cichlidae). **Mol. Phylog. Evol.**, v.44, p.291-307, 2007.

WILSON, E.O. **The creation: An appeal to save life on earth**. New York: W. W. Norton and Company, Inc, 2006.

WIMBERGER, P.H. Plasticity of fish body shape, the effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichlidae). **Biology Journal of the Linnean Society**, v.45, p.197-218, 1992.

WIMBERGER, P.H. Plasticity of jaw and skullmorphology in the neotropical cichlids *Geophagus brasiliensis* and *G. steindachneri*. **Evolution**, v.45, p.1545-1563, 1991.

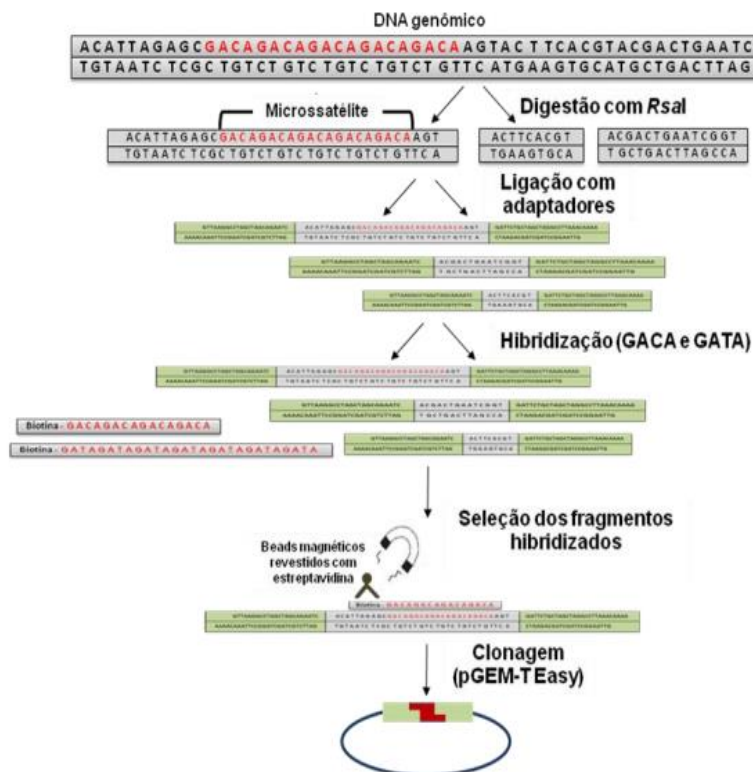
WINEMILLER, K.O. Ecology of peacock cichlids (*Cichla* spp.) in Venezuela. **Journal of Aquariculture and Aquatic Sciences**, v.9, p.93-112, 2001.

WINEMILLER, K. O.; TAPHORN, D. C.; BARBARINO-DUQUE, A. Ecology of *Cichla* (Cichlidae) in two blackwater rivers of southern Venezuela. **Copeia**, p.690-696, 1997.

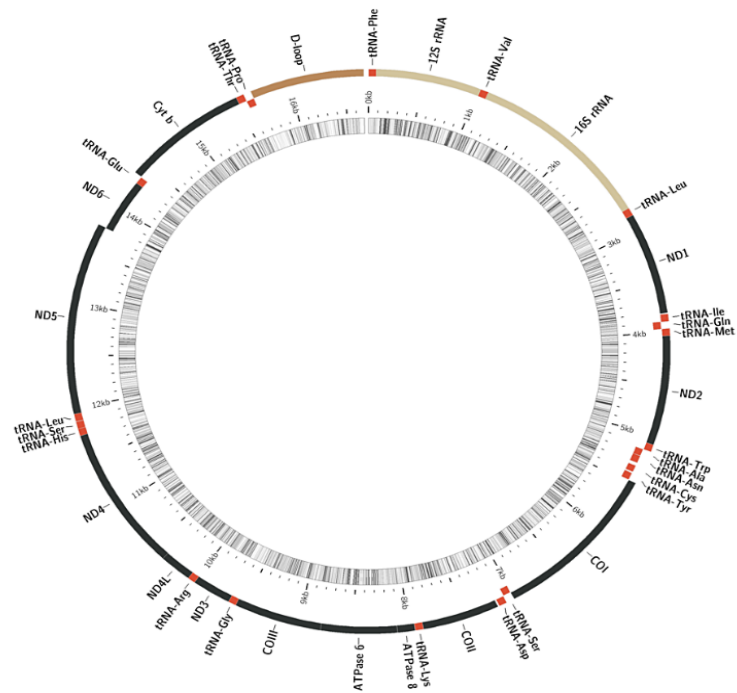
ZARET, T.M. Life history and growth relationships of *Cichla ocellaris*, a predatory South American cichlid. **Biotropica**, v.12, p.144-157, 1980.

ANEXOS

Desenho esquemático do processo de extração do microssatélite.



Desenho esquemático da mitocôndria de um peixe.



Fonte: <http://www.ufsj.edu.br/recgenlab/>

Exemplares de *Cichla* capturados nos reservatórios de Paulo Afonso

5- Artigo científico

5.1 - Artigo científico I

Artigo científico a ser encaminhado a Revista
Neotropical Ichthyology.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

Ferramentas moleculares comprovam uma única espécie de tucunaré com ampla plasticidade fenotípica no submédio do rio São Francisco

Sandra Cristina Soares da Luz¹, Martin Alejandro Montes², Rodrigo Augusto Torres³, Efrem Jorge Gondim Ferreira⁴, William Severi¹ e Maria Raquel Moura Coimbra¹

¹ Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manuel de Medeiros, Dois Irmãos, CEP: 52171-900 Recife/Pernambuco (PE), Brasil. (SCSL) sandracluz7@hotmail.com, (WS) wseveri@gamil.com, (MRMC) maria.rmcoimbra2@ufrpe.br (corresponding author)

² Departamento de Biologia, UFRPE, Recife, PE, Brasil. (MAM) martinmontes76@gmail.com

³ Departamento de Zoologia, (RAT) Universidade Federal de Pernambuco. Recife/PE, Brasil. rodrigotorres@ufpe.br

⁴ Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas INPA. (EJGF) efrem@inpa.gov.br

Resumo

Os tucunarés (*Cichla* spp.) introduzidos no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso apresentam identificação incerta devido a seus caracteres morfométricos e merísticos discrepantes com a literatura. Quatro espécies de *Cichla*, *C. kelberi*, *C. piquiti*, *C. temensis* e *C. monoculus* têm sua ocorrência relatada para a região Nordeste do Brasil. Devido ao aspecto invasor destas espécies e ao impacto que causam na ictiofauna do ambiente receptor, o conhecimento exato da taxonomia é essencial para o manejo e a implementação de políticas públicas para o controle de espécies invasoras. O objetivo desse trabalho foi discriminar 137 exemplares de tucunarés capturados ao longo de 12 meses, através de ferramentas moleculares (COI e microssatélites). Apesar de indivíduos com diversos padrões de coloração e morfologia terem sido encontrados, as análises Bayesiana e de Neighbor-joining, bem como o monomorfismo dos marcadores microssatélite evidenciaram a ocorrência de uma única espécie, *Cichla monoculus*.

Introdução

Diversas introduções de peixes têm sido realizadas em reservatórios hidrelétricos do Brasil com o propósito de aumentar a ictiofauna e, sobretudo, proporcionar melhores condições para a pesca, incrementando a produtividade pesqueira (Gomiero & Braga, 2003). As práticas de introdução de peixes eram estratégias bastante comuns em reservatórios brasileiros nos anos 60 até os 90 (Agostinho & Julio Júnior, 1999; Agostinho *et al.*, 2007). Dentre as espécies mais utilizadas nos peixamentos estão os tucunarés (*Cichla* spp.), curimatãs (*Prochilodus* spp.), tilápias (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) e *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) e as traíras (*Hoplias* spp.), por serem consideradas as que melhor se adaptam às mudanças ambientais (Peixoto, 1954; Borghetti & Ostrensky, 2002).

Entretanto, vários problemas podem surgir a partir dessas atividades, como disseminação de doenças e/ou parasitas, hibridização, redução da ictiofauna e a extinção de espécies locais (Agostinho & Júlio, 1999; Suárez *et al.*, 2001; Latini & Petrere Júnior, 2004; Vitule, 2006).

Espécies de *Cichla* foram registradas em açudes do Nordeste (Peixoto, 1954), nos reservatórios de Furnas e Marimbondo, na bacia do Alto rio Paraná (Agostinho & Júlio, 1999; Santos *et al.*, 1994; Carvalho, 2009), no rio Tocantins (Carvalho *et al.*, 2009), na bacia do rio Paranapanema, sub-bacia do Paraná (Moura-Brito *et al.*, 2005) e em todos os reservatórios da Companhia Energética de São Paulo - CESP (Torloni *et al.*, 1993). A presença de tucunarés *C. kelberi* foi registrada no rio São Francisco em 1982 (Sato & Godinho, 1999), e na represa de Três Marias (Carvalho *et al.*, 2009; Santos-Clapp & Brasil-Sato, 2014). Já o *C. piquiti*, *C. cf. kelberi* e *C. temensis* foram detectados em lagoas e tributários do Médio São Francisco (Pompeu & Godinho, 2003; Carvalho *et al.*, 2009; Luz *et al.*, 2009; Luz *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2015), enquanto *C. monoculus*, no reservatório de Itaparica, no Submédio São Francisco por Barros (2004).

Cichla são peixes piscívoros, não migradores, cuja reprodução ocorre através de desovas parceladas, principalmente nos meses mais quentes, e possuem cuidado parental, com a construção de ninhos e proteção da prole (Câmara, 2002; Gomiero *et al.*, 2009). São nativos das bacias do Amazonas, Tocantins e Orinoco, e de pequenos rios que drenam as Guianas até o Oceano Atlântico (Kullander & Ferreira, 2006). Possuem posição de destaque entre os ciclídeos neotropicais quanto à sua capacidade de

adaptação a ambientes lênticos e por apresentarem alta plasticidade fenotípica (Chellappa *et al.*, 2003; Albertson & Kocher, 2006; Kovalenko *et al.*, 2010), sendo sua introdução em rios e reservatórios considerada uma ameaça potencial às espécies nativas

A plasticidade fenotípica é a capacidade do organismo se modificar de acordo com o ambiente (Bradshaw, 1965). Esta característica, aliada ao fato de serem predadores vorazes e ao sucesso reprodutivo nos mais diversos ambientes, torna a introdução dos tucunarés nociva à ictiofauna nativa. Como por exemplo, na introdução de *Cichla kelberi* no reservatório de Rosana, no Alto rio Paraná, que resultou no declínio de 95% da densidade e 80% da riqueza dos peixes locais, avaliado em dois anos de pesquisa (Pelicice & Agostinho, 2009).

O status taxonômico de exemplares de tucunaré em algumas regiões e bacias brasileiras onde foi introduzido, a exemplo do São Francisco (Godinho & Godinho, 2003) e do reservatório da UHE-Tucuruí, rio Tocantins (PA) (Alves & Barthem, 2008), tem sido incerto, devido ao fato de não compartilharem caracteres morfométricos e merísticos discriminantes para espécies distintas, o que pode ser considerado como indício de hibridação. Casos de hibridação natural em *Cichla* já foram relatados no rio Uatumã, lago da UHE de Balbina (AM) para *C. monoculus* e *C. temensis* (Andrade *et al.*, 2001), e na bacia do rio Paraná para *C. kelberi* e *C. piquiti* (Gasques, 2014).

Nos reservatórios de Paulo Afonso no Submédio rio São Francisco foram encontrados uma variedade de morfotipos de *Cichla* que poderia representar mais de uma espécie de tucunaré e até mesmo possíveis híbridos. Estas hibridações naturais foram enfoque em trabalhos como de Mourão (2012), nos rios Paraná e Tietê, (SP), Brinn *et al.* (2004) e Alves (1998) no rio Amazonas.

A caracterização e diferenciação de espécies filogeneticamente próximas utilizando ferramentas moleculares têm sido cada vez mais empregadas, sobretudo para distinguir ou identificar espécies desconhecidas ou morfologicamente semelhantes (cripticas), ou mesmo quando ocorre hibridação entre espécies simpátricas (Andrade *et al.*, 2001; Mendonça *et al.*, 2009; Padial *et al.*, 2010; Ponzetto, 2012). O gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI) é um catalizador terminal da cadeia respiratória mitocondrial (Lunt *et al.*, 1996), extremamente conservado dentro de espécies. Este último aspecto o torna apropriado nos estudos de identificação taxonômica, sendo chamado de região *barcode* (Hebert *et al.*, 2003a; Hebert *et al.*, 2003b). Este gene foi eficiente para identificar mais de 99% das espécies da megafauna

de peixe de água doce, da bacia do rio Paraná (Pereira *et al.*, 2013), como ferramenta forense na identificação precisa e confiável de espécies de peixes amazônicos de interesse comercial (Ardura *et al.*, 2010), assim como na caracterização de *C. kelberi* e *C. piquiti* e seus híbridos coletados em ambientes naturais (Mourão, 2013).

A identificação taxonômica precisa constitui um passo fundamental para o conhecimento da biologia do animal e para a construção de medidas mitigatórias e de controle da população invasora. O fato de vários morfotipos serem encontrados no rio São Francisco torna necessário sua precisa identificação taxonômica para auxiliar no controle biológico desta espécie, disponibilizando informações para a criação de plano de gestão pesqueira.

Material e Métodos

O estudo foi realizado nos reservatórios do Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso, localizado no trecho do Submédio São Francisco e formado pelos aproveitamentos hidrelétricos de Moxotó, PA I, II, III e IV (**Fig. 1**). Foram utilizados 137 exemplares amostrados mensalmente, entre agosto de 2012 e julho de 2013, a partir da pesca artesanal. De cada indivíduo foi retirado uma amostra de músculo da região caudal e preservada em etanol a 95% para posterior extração do material genético. Os exemplares foram devidamente fotografados, etiquetados e seus dados merísticos, morfológicos e morfométricos, anotados.

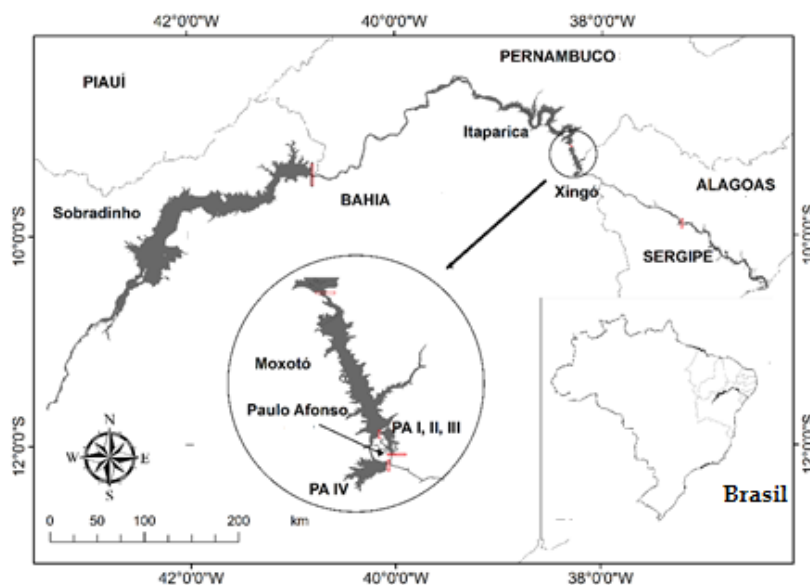


Fig. 1. Mapa da área de amostragem, com destaque o Complexo de Paulo Afonso (Bahia, Brasil).

Procedimentos moleculares

O DNA total foi extraído seguindo o protocolo de Fenol/Clorofórmio/Álcool Isoamílico (FCI) modificado (Sambrook *et al.*, 1989). Após a extração, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro e sua integridade, estimada em eletroforese de gel de agarose.

A amplificação por PCR do citocromo oxidase subunidade I foi realizada com os primers BarcFish11 (5'-TCGGACTTAATCATAAAGATATCGGCAC-3') e BarcFish2 (5'- ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3'), descritos por Ward *et al.*, (2005). As PCRs foram conduzidas em volume final de 25 µL contendo, 1U de *Taq* polimerase, 300 µM de cada dNTP, 25 mM de Tris-HCL (pH 8,3), 75 mM de KCl, 2,5 mM de MgCl₂, 1µM de cada primer e cerca de 100ng de DNA. O ciclo térmico de amplificação consistiu em uma desnaturação inicial a 95°C por 2 min, seguida de 35 ciclos a 95°C por 30s, 57°C por 30s e 72°C por 1 min, e uma extensão final a 72°C por 10 min. O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1%, para verificar a amplificação do tamanho esperado de 648 pb, e posteriormente, purificado com as enzimas ExoI/SAP para remoção de primers e de dinucleotídeos não incorporados. O sequenciamento foi conduzido em um sequenciador 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA, USA). Também foram sequenciadas cinco amostras do Amazonas, sendo três de *Cichla monoculus*: (P19622 – rio Solimões “Ecologia e Conservação de peixes de água doce: Projeto Catalão INPA/MCTI)), (P24183 e P25112 – rio Xingu cedido pelo Profº Mark Sabaj “Xingu Projet, N5F DEB – 1257813) e dois *C. temensis* (P19639 e P19638 – rio Negro, pelo projeto “Caracterização e prospecção de novos insumos da biodiversidade na área do médio rio Negro-AM com potencial biotecnológico”, convênio SUDAM – Proc. nº CUP 59004/00473/2013-42).

Uma segunda confirmação para a espécie foi realizada utilizando dois marcadores de microssatélites monomórficos para a espécie *C. monoculus* (CM12 e CM15) (**Tabela 1**), selecionados do trabalho de Lima *et al.*, (2010). Foi realizada a amplificação cruzada deste primers com outras espécies de *Cichla*, no qual o autor comprovou que são monomórficos para *Cichla monoculus*. Cada reação de PCR continha 1U de *Taq* polimerase, 200 µM de cada dNTP, 10 mM de Tris-HCL (pH 8,3), 50 mM de KCl, 2,5mM de MgCl₂, 1µM de cada primer e, aproximadamente, 20 ng de DNA para um volume final de 10 µL. As reações foram conduzidas utilizando-se as seguintes condições: desnaturação a 94°C por 4 min; 35 ciclos sucessivos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 56°C (primer CM12) e 49°C (primer CM15) por 45s, extensão a

72° C por 1 min e extensão final a 72° por 10 min. Os produtos da PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 5%. A visualização do DNA foi feita através do protocolo padrão de nitrato de prata e os tamanhos dos alelos foram estimados a partir de um marcador de peso molecular de 10bp (Invitrogen).

Locus	Ta (°C)	Repetição	Sequências (5' → 3')	Nº acesso Genbank	Tamanho (pb)
CM12	58	(CAC) ₅	F: CCTTGCTATTATTGGGTTGG R: GAGGCTACAGTTCACATTGG	GU391588	248
CM15	49	(CT) ₄ T(AC) ₅	F: ATGAGAAGTGGCAAGCAGAT R: TGTGGGAAAGTAAGCAACC	GU391591	280

Tabela 1: Microssatélites monomórficas para a espécie *Cichla monoculus*.

Análise dos dados

As sequências obtidas foram editadas no software BioEdit e alinhadas no Programa MEGA 5.2 (Tamura *et al.*, 2011), usando o ClustalW (Thompson *et al.*, 1994). Sequências da região COI de *Cichla* foram selecionadas na base de dados do GenBank, acesso (*Cichla piquiti* JN988800; *C. kelberi* JN988796, JN988797; *C. monoculus* JN988798, JN988799, *C. orinocensis* KF771234, *C. temensis* FJ440622, AY66278) e BOLD (Ratnasingham & Hebert, 2007), acesso (*C. monoculus* FUPR1226, FUPR1227) para posterior comparação entre os indivíduos.

A estimativa de diversidade genética (nucleotídica e haplotípica), assim como as estimativas do número e frequências dos haplótipos das amostras, bem como o gráfico “mismatch distribution” e os testes de neutralidade Tajima D e Fs de Fu, foram realizados no programa DNAsp v.5.10.00 (Librado & Rozas, 2009). A rede de haplótipos foi construída no programa Network 4.5.6 calculada pelo algoritmo Median-Joining (Bandelt *et al.*, 1999).

Foram realizadas duas topologias, a de Neighbor-joining foi gerada pelo modelo Kimura 2-parâmetros no software PAUP v. 4.0b10 (Swofford, 2003) com a amostragem das árvores feitas com 10.000 replicações de bootstrap por busca heurística e os valores dos ramos, estimados por meio de análise de bootstrap, segundo Xiang *et al.* (2002). Já a inferência Bayesiana utilizou o modelo de substituição nucleotídica K-80+G, estimado através do programa JMODELTEST 3.06 (Darriba *et al.*, 2012), gerada no MrBayes v. 3.0b4 (Ronquist & Huelsenbeck 2003), utilizando 2.000.000 de gerações. A espécie *Retroculus xinguensis* (AY662784), pertencente à mesma família do grupo de estudo e já utilizado em filogenias de ciclídeos (López-Fernández *et al.*, 2010; Farias *et*

al., 2000; López-Fernández *et al.*, 2005; Willis *et al.*, 2013) foi utilizada como outgroup.

Resultados

As 137 amostras foram amplificadas com sucesso para o gene COI, revelando fragmentos de aproximadamente 541pb. Foram encontrados 22 haplótipos ($h=22$) entre as 137 sequências de *Cichla*, contendo 25 sítios polimórficos, 27 mutações e o índice de C+G foi de 45%. A diversidade haplotípica foi de $hd=0,2924$ e de nucleotídeos (π) de 0,00166.

A rede de haplótipos apresentou formato de estrela, com um haplótipo central em alta frequência compartilhado por 83,9% da população estudada incluindo acessos de indivíduos do Alto rio Paraná (Fig. 2). Ainda foram verificados haplótipos exclusivos para os *Cichla* do São Francisco e um grande número de mutações entre os haplótipos do Amazonas (H21- rio Negro e H22 – rio Solimões) e os demais espécimes amostrados. Os testes de neutralidade indicaram valores negativos e significativos para Tajima D ($P<0,0001$) e FS de Fu ($P<0,002$) e o teste de expansão populacional recente, pela análise de *mismatch* aponta para uma distribuição com características de efeito gargalo (Tabela 2, Fig. 3).

A topologia obtida (Fig. 4) revelou um agrupamento formado pelos indivíduos de *Cichla monoculus* amostrados no São Francisco e exemplares oriundos da bacia do Alto rio Paraná (PA), separado das demais espécies com alto valor de suporte da Probabilidade Posterior Bayesiana (PPB = 99%) e de *bootstrap* (86%). Na topologia, exemplares de *C. monoculus* coletados na região amazônica (rios Negro e Solimões) formaram um clado separado das demais espécies de *Cichla* incorporadas na análise e do grupo externo.

O diagnóstico da distância par a par (Tabela 3) revelou que todos os espécimes estudados aparentaram divergência genética menor que 2% entre si e as amostras do Alto rio Paraná, e maior para as outras espécies de *Cichla* comparadas. Os exemplares de *Cichla monoculus* do Amazonas também mostraram uma divergência maior que 2%, tanto em relação aos exemplares do São Francisco, quanto em relação aos do Alto Paraná.

Além da avaliação feita por COI, também foram utilizadas dois loci microssatélites (CM12 e CM15) espécie-específicos para *Cichla monoculus*

(monomórficas). Todos os indivíduos apresentaram um único padrão de bandejamento, monomórfico, com um único alelo para cada loci, de 248bp e 280bp, respectivamente para CM12 e CM15 (**Fig. 5**).

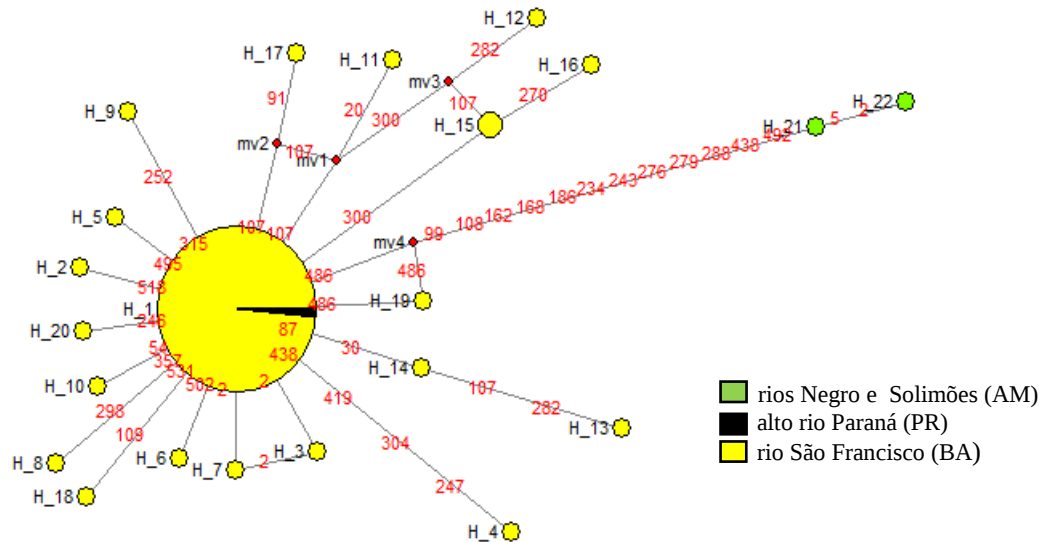


Fig.2: Rede de haplótipos de *Cichla monoculus*, amostrados nos rios São Francisco, Negro, Solimões e Alto rio Paraná, por meio do método de Median-Joining. Os círculos numerados representam os haplótipos (H_) e o seu diâmetro a frequência do haplótipo.

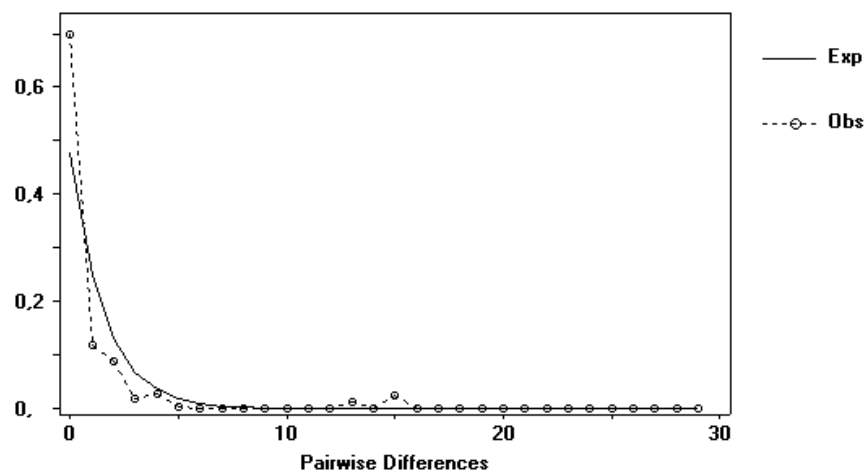


Fig. 3: Análise da distribuição de *mismatch* mostrando a distribuição com características de efeito gargalo.

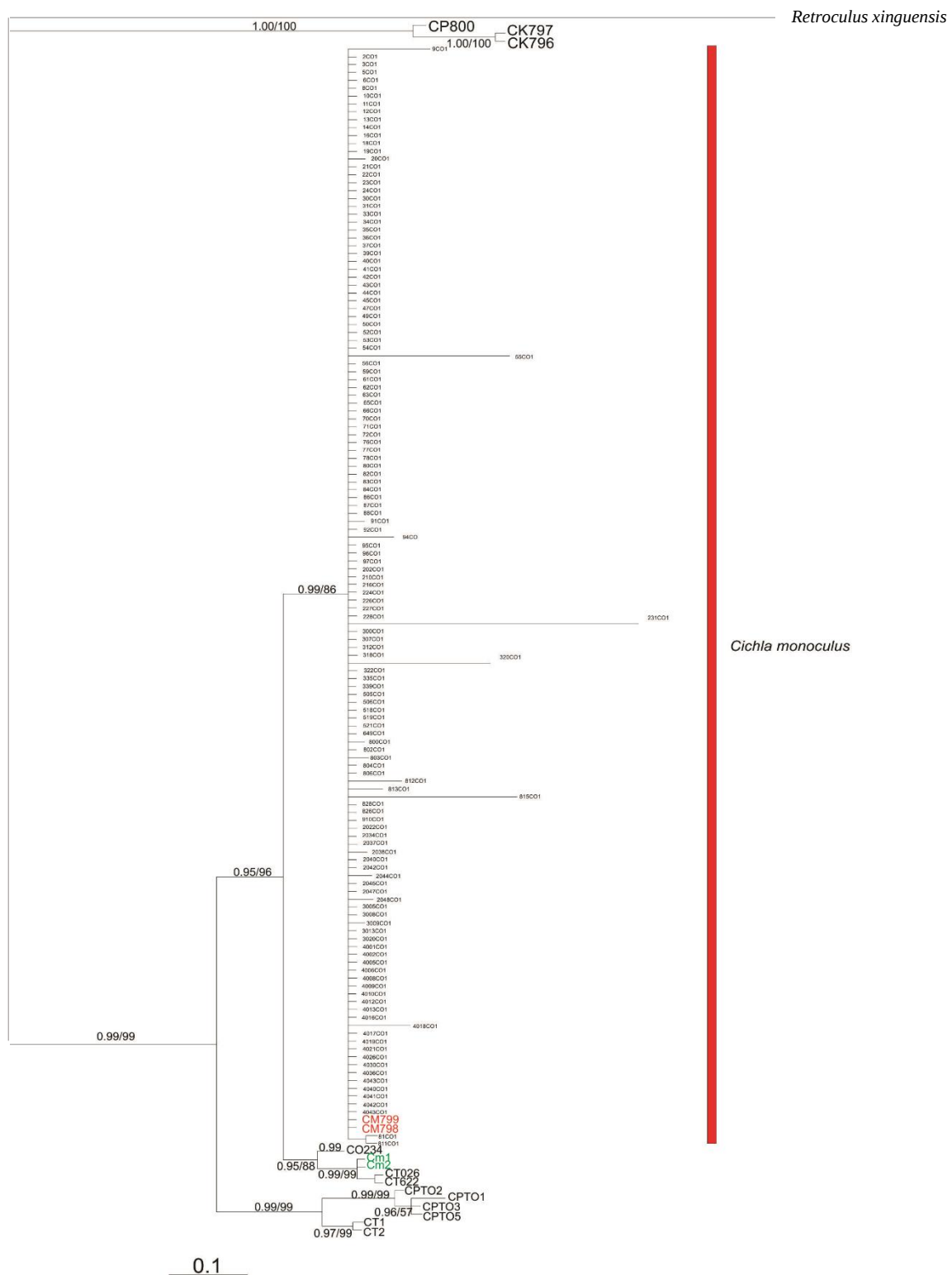


Fig. 4: Árvore consenso Bayesiana reconstruída com base em sequências do gene mitocondrial COI (bp) utilizando 137 espécimes de *Cichla* e seis do GeneBank e BOLD, mais a espécie *Retroculus xinguensis* como grupo externo. Para o suporte de ramo, os números da esquerda são as probabilidades posteriores obtidas pela análise Bayesiana e os da direita, os valores de bootstrap obtidos pela análise de Neighbor-Joining pelo modelo K2-P

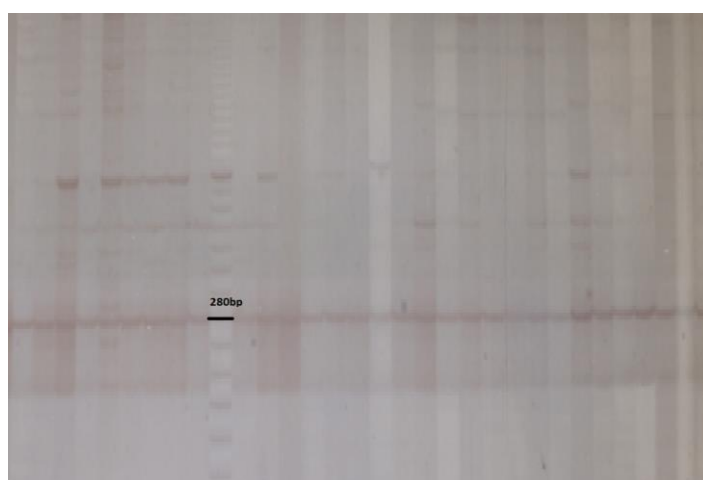


Fig. 5: Padrão eletroforético em gel de poliacrilamida dos produtos amplificados do DNA das amostras de *Cichla* coletadas no rio São Francisco por PCR utilizando o locus CM15. Em destaque duas amostras de *Cichla monoculus*.

Tabela 2: Composição nucleotídica do Gene COI para as 137 sequências analisadas e testes de neutralidade

Número de sequências	137
Número de sites	541
Número de sites variáveis	S = 25
Número total de mutações	$\eta = 27$
Número de haplótipos	H = 20
Diversidade haplotípica	hd = 0,2924
Diversidade nucleotídica	$\pi = 0,0016$
C+G	45%
Tajima's D	-2,60365 / P < 0,0001
FS Fu's	-6,58235 / P < 0,002

Tabela 3: Estimativa da divergência evolucionária entre as sequências.

10C01	
21C01	0.000
43C01	0.004, 0.002,
39C01	0.009, 0.007, 0.009,
81C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009,
91C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009, 0.004,
228C01	0.004, 0.002, 0.002, 0.009, 0.004, 0.004,
231C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006,
320C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006, 0.007,
800C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009, 0.004, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006,
803C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006, 0.007, 0.007, 0.006,
812C01	0.007, 0.006, 0.007, 0.012, 0.007, 0.007, 0.007, 0.009, 0.009, 0.006,
813C01	0.009, 0.007, 0.009, 0.013, 0.009, 0.009, 0.011, 0.011, 0.009, 0.007, 0.006,
813C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006, 0.007, 0.006, 0.007, 0.009, 0.004,
2697C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009, 0.004, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006, 0.004, 0.006, 0.004, 0.009, 0.006,
2038C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006, 0.007, 0.006, 0.007, 0.006, 0.011, 0.007, 0.002,
2044C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006, 0.007, 0.006, 0.006, 0.007, 0.006, 0.007,
2049C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006, 0.004, 0.006, 0.004, 0.009, 0.006, 0.002, 0.006,
2049C01	0.006, 0.004, 0.006, 0.011, 0.006, 0.006, 0.006, 0.007, 0.006, 0.007, 0.006, 0.011, 0.007, 0.006, 0.007, 0.000, 0.007, 0.006,
3009C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009, 0.004, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006, 0.004, 0.006, 0.007, 0.009, 0.006, 0.004, 0.006,
4018C01	0.004, 0.002, 0.004, 0.009, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006, 0.004, 0.006, 0.007, 0.009, 0.006, 0.004, 0.006, 0.004,
4017C01	0.002, 0.000, 0.002, 0.007, 0.002, 0.002, 0.004, 0.004, 0.002, 0.004, 0.006, 0.007, 0.004, 0.002, 0.004, 0.004, 0.002, 0.002,
CM_681	0.002, 0.000, 0.002, 0.007, 0.002, 0.002, 0.004, 0.004, 0.002, 0.004, 0.006, 0.007, 0.004, 0.002, 0.004, 0.004, 0.002, 0.002, 0.000,
CM_682	0.002, 0.000, 0.002, 0.007, 0.002, 0.002, 0.004, 0.004, 0.002, 0.004, 0.006, 0.007, 0.004, 0.002, 0.004, 0.004, 0.002, 0.002, 0.000, 0.000,
CK_797	0.160, 0.138, 0.160, 0.184, 0.136, 0.160, 0.162, 0.138, 0.138, 0.138, 0.162, 0.160, 0.133, 0.138, 0.160, 0.162, 0.138, 0.160, 0.138, 0.138,
CK_796	0.160, 0.138, 0.160, 0.184, 0.136, 0.160, 0.162, 0.138, 0.138, 0.138, 0.162, 0.160, 0.133, 0.138, 0.160, 0.162, 0.138, 0.160, 0.138, 0.138, 0.000,
CP_19	0.143, 0.141, 0.143, 0.147, 0.133, 0.143, 0.143, 0.141, 0.141, 0.143, 0.143, 0.141, 0.141, 0.141, 0.141, 0.141, 0.141, 0.141, 0.141, 0.017,
CM1	0.026, 0.023, 0.026, 0.030, 0.026, 0.026, 0.028, 0.028, 0.026, 0.028, 0.030, 0.032, 0.028, 0.026, 0.028, 0.028, 0.028, 0.028, 0.028, 0.143, 0.143, 0.129,
CM3	0.030, 0.028, 0.026, 0.034, 0.030, 0.030, 0.032, 0.032, 0.030, 0.032, 0.034, 0.036, 0.032, 0.030, 0.032, 0.030, 0.032, 0.030, 0.030, 0.133, 0.133, 0.004,
CT1	0.034, 0.032, 0.030, 0.036, 0.034, 0.032, 0.036, 0.032, 0.034, 0.036, 0.038, 0.030, 0.036, 0.034, 0.036, 0.034, 0.032, 0.032, 0.032, 0.133, 0.133, 0.03, 0.046,
CT2	0.032, 0.003, 0.030, 0.036, 0.032, 0.048, 0.034, 0.030, 0.032, 0.034, 0.036, 0.038, 0.034, 0.032, 0.034, 0.030, 0.032, 0.030, 0.030, 0.131, 0.131, 0.134, 0.048, 0.03, 0.004,

Discussão

A despeito da variedade de padrões morfométricos dos indivíduos analisados, os dados genéticos confirmaram a existência de uma única espécie: *Cichla monoculus*. O resultado aponta um clado bem suportado contendo os espécimes do São Francisco e do Alto rio Paraná, que compartilham o mesmo haplótipo, permitindo a discriminação da espécie com formação de um grupo coeso.

Diante destes resultados, é possível inferir que tanto os tucuranés (*Cichla monoculus*) do rio São Francisco quanto os do Alto rio Paraná sejam provenientes de um mesmo estoque fundador. Dados históricos relatam que os peixes da bacia amazônica eram transferidos para centros de criação de peixes no Nordeste, nos anos 60, para serem distribuídos para açudes e reservatório da região, e em seguida, para o sul e sudeste do Brasil (Fontenele, 1948; Fontenele e Peixoto, 1979; Agostinho e Julio Júnior, 1999), incluindo os tucunarés. Sendo assim, é provável que as populações de *C. monoculus* encontradas no rio São Francisco e no rio Paraná provenham de um mesmo local de origem.

A utilização de um único gene, COI, para taxonomia de espécies é defendida por autores como Ratnasingham & Hebert (2007) e Hebert *et al.* (2003b). A acurácia na identificação de peixes por DNA *barcode* já demonstrou ser altamente eficaz, chegando a distinguir com precisão espécies de peixes marinhos e peixes ornamentais australianos e do Sudeste e Sul do Brasil (Ward *et al.*, 2005; Steinke *et al.*, 2009; Ribeiro, 2012), peixes dulciaquícolas da América do Norte e do México e Guatemala (Hubert *et al.*, 2008; Valdez-Moreno *et al.*, 2009); 74 espécies de tubarões (Wong *et al.*, 2009), peixes comerciais do Amazonas (Ardura *et al.*, 2010) e mais de 200 espécies de peixes de água doce da região Neotropical, discriminado inclusive espécies altamente relacionadas, entre elas *Cichla kelberi*, *C. monoculus* e *C. piquiti*. (Pereira *et al.*, 2013).

Inicialmente, acreditava-se que a variedade de morfotipos encontrados nas amostras seria o resultado de mais de uma espécie de *Cichla* e possivelmente a sua hibridação. Contudo, após as análises moleculares de COI esta hipótese foi descartada, sendo ratificada pelos resultados da amplificação monomórfica dos microssatélites espécie-específicos para *Cichla monoculus*. Marcadores microssatélites para *Cichla* foram desenvolvidos tanto para auxiliar na identificação da espécie, filogenia, estudos de estrutura populacional e conservação (Farias *et al.*, 2001; Medeiros *et al.*, 2006; Teixeira, 2008; Macrander, 2010; Carvalho *et al.*, 2009, 2013, 2014).

O efeito fundador é comum em populações introduzidas em que uma pequena parte da população original é levada para uma nova localidade, diminuindo assim sua diversidade genética (Lee, 2002; Prentis *et al.*, 2008), que poderia acarretar à endogamia e a uma possível extinção (Frankham, 1996). Entretanto, apesar dos resultados apontarem para um efeito de gargalo populacional, em decorrência do efeito fundador, os dados moleculares mostram também que a população estudada se apresenta em expansão. O sucesso dos *Cichla* em novos ambientes é atribuído à sua capacidade adaptativa, se estabelecendo com êxito no ambiente receptor devido à plasticidade fenotípica, e à capacidade reprodutiva, adaptando-se às condições ecológicas adversas, dificultando um controle eficaz (Chellappa *et al.*, 2003; Chandler *et al.*, 2008; Carvalho *et al.*, 2009; Kovalenko *et al.*, 2010; Gasques *et al.*, 2014).

Tendo em vista a grande capacidade dessas espécies em se adaptar a novos ambientes, e aos diversos problemas ecológicos que as espécies introduzidas possam causar ao ambiente receptor como a redução da biodiversidade ictiofaunística local (Godinho *et al.*, 1994; Pompeu & Godinho, 2001; Chellappa *et al.*, 2003; Kovalenko *et al.*, 2010), a identificação correta do status taxonômico é fundamental para fazer futuras avaliações ecológicas com o objetivo de desenvolver estratégias de manejo e impactos que possam trazer para região.

Referências

- Agostinho A. A., Pelicice, F. M., Petry A. C., Gomes L. C. & Julio Junior H. F. 2007. Fish diversity in the upper Paraná River basin: habitats, fisheries, management and conservation. *Aquat Ecosyst Health Manag* 10(2):174–186.
- Agostinho, A. A & H. F. Júlio Jr. 1999. Peixes da bacia do alto rio Paraná. Pp. 374-400. In: Lowe-McConnell, R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo, Edusp. 534p
- Agostinho, A. A. & Júlio Jr, H. F. 1999. Peixes da bacia do alto rio Paraná. In: LOWE-McCONNELL R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: Edusp: 374-400.
- Albertson R. C. & Kocher T. D. 2006. Genetic and Development Basis of Cichlid Trophic Diversity. *Heredity*, 97: 211-221.

- Alves, M. C. B. & R. B. Barthem. 2008. A pesca comercial dos “tucunarés” *Cichla* spp. (Perciformes, Cichlidae) no reservatório da UHE-Tucuruí, rio Tocantins, PA. Bol. Inst. Pesca, 553-561.
- Alves, M. N. 1998. Análise citogenética da família Cichlidae: gênero *Cichla* (Schneider, 1801) Perciformes, Labroidei. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- Andrade, F., H. Schneider, I. Farias, E. Feldberg & I. Sampaio. 2001. Análise filogenética de duas espécies simpátricas de tucunaré (*Cichla*, Perciformes), com registro de hibridização em diferentes pontos da bacia amazônica. Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da Universidade Federal do Pará, 1: 1-11.
- Ardura, A., Pola I. G., Ginuino, I., Gomes, V. & Garcia-Vásquez, E. 2010. Application of barcoding to Amazonian commercial fish label-ling. Food Res Int., 43:1549–1552.
- Bandelt, H-J.; Forster, P. & Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 16:37-48.
- Barros, A. C. 2004. Evolução de fatores hidrobiológicos no reservatório de Itaparica, rio São Francisco (1987, 1989, 2002). Dissertação, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 104p.
- Borghetti, J., A. Ostrensky, A. Rebouças, B. Braga & J. Tundisi. 2002. Problemas e perspectivas para a pesca e para a aquicultura continental no Brasil. Águas Doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação, 2: 451-471.
- Bradshaw, A. D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. Advances in Genetics, (13): 115-155.
- Brinn, M. N. A., J. I. R. Porto & E. Feldberg. 2004. Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. Hereditas, 141: 252-257.
- Câmara, M. R., N. T. Chellappa & S. Chellappa. 2002. Ecologia reprodutiva do *Cichla monoculus*, um ciclídeo amazônico no semi-árido do Rio Grande do Norte. Acta Limnologica Brasiliensia, 14(2): 9-16.
- Carvalho, D. C.; D. A. A.; Oliveira, J. E.; Santos, P. Teske, L. B.; Beheregaray, H. Schneider & I. Sampaio. 2009. Genetic characterization of native and introduced populations of the neotropical cichlid genus *Cichla* in Brazil. Genetics and Molecular Biology, 32(3): 601–607.
- Carvalho, D. C.; Oliveira, D. A. A.; Sampaio, I., & Beheregaray, L. B. 2014. Analysis of propagule pressure and genetic diversity in the invasibility of a freshwater apex predator: the peacock bass (genus *Cichla*). Neotropical Ichthyology, 12(1): 105–116.
- Chandler, E. A.; Mcdowell, J. R & Graves, J. E. 2008. Genetically monomorphic invasive populations of rapa whelk, *Rapana venosa*. Mol Ecol, 17:4079-4091.

- Chellappa, S., M. R. Câmara, N. T. Challappa, M. C. M. Beveridge, F. A. Huntingford. 2003. Reproductive ecology of a neotropical cochlid fish, *Cichla monoculus* (Osteichthyes: Cichlidae). *Braz. J. Biol.* 63(1): 17-26.
- Darriba, D., G. L. Taboada, R. Doallo & D. Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*, 9: 772p.
- Fabrin, T. M. C.; SIMONE, I.; Prioli, S. M. A. P.; Prioli, A. J. & Gasques, L. S. 2014. A utilização de marcadores na filogenia dos ciclídeos (Teleostei: Perciformes): uma análise cienciométrica. *Enciclopédia Biosfera*, 10 (18):3118-3128.
- Farias, I. P., G. Ortí, I. Sampaio, H. Schneider & A. Meyer. 1999. Mitochondrial DNA phylogeny of the family Cichlidae: Monophyly and fast molecular evolution of the neotropical assemblage. *Journal of Molecular Evolution*, 48(6): 703-711.
- Farias, I. P., Ortí, G. E. & Meyer, A. 2000. Total Evidence: Molecules, Morphology, and the Phylogenetics of Cichlid Fishes. *Journal of Experimental Zoology. Mol. Dev. Evol.*, 288: 76-92.
- Farias, I. P.; Ortí, G.; Sampaio I.; Schneider, H. & Meyer, A. 2001. The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *Journal of Molecular Evolution*, 53(2): 89-103.
- Fontenele, O. & Pelxoto, J. T. 1979. Apreciação sobre os resultados da introdução do tucunaré comum, *Cichla ocellaris* Bloch & Schneider, 1801, nos açudes do nordeste brasileiro, através da pesca comercial. *BoI. Téc. DNOCS, Fortaleza*, 37(2): 109-134.
- Fontenele, O. 1982. Contribuição para o conhecimento da biologia dos tucunarés (Actinopterygii, Cichlidae), em cativeiro. Aparelho reprodutor. Hábitos de desova e incubação. *Revista Brasileira de Biologia*, 10 (4): 503-519.
- Frankham, R. 1996. Relationship of genetic variation to populations size in wildlife. *Conservation Biology*, 10: 1500-1508.
- Gasques, L. S. & T. M. C. Fabrin, S. M. A. P. Prioli & A. J. A. Prioli. 2014. Introdução do gênero *Cichla* [Block e Schneider, 1801] na planície de inundação do Alto Rio Paraná. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama*, 17(4): 261-266.
- Godinho, A. L. & H. P. Godinho. 2003. Breve visão do São Francisco. Pp. 15-24. In: Godinho, H. P. & A. L. Godinho (org.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte, PUC Minas.
- Gomiero L. M.; Villares Junior, G. A. & Naous, F. 2009. Reproduction of *Cichla kelberi* Kullander and Ferreira, 2006 introduced into an artificial lake in southeastern Brazil. *Braz. J. Biol* 69(1): 175-183.
- Gomiero, L. M. & F. M. S. Braga. 2003. Pesca experimental do tucunaré, gênero *Cichla* (Osteichthyes, Cichlidae), no Reservatório da UHE de Volta Grande, Rio Grande (48° 25'47"35"W, 19° 57'20"10"S). *B. Inst. Pesca, São Paulo*, 29(1): 29 - 37.

- Gusmão, C. P. B. de. 2013. Taxonomia e filogenética de peixes de ambientes recifais com base em dados moleculares. Dissertação – Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco.
- Hebert, P. D. N.; Cywinska, A; Ball, S. L. & de Waar, J. R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society of London. B* 270: 313–321.
- Hebert, P. D. N.; Ratnasingham, S. & Dewaard, J. R. 2003b. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences*, 270: 596–599
- Hubert, N.; Hanner, R.; Holm, E.; Mandrak, N. E.; Taylor, E., Burrige, M.; ... Bernatchez, L. 2008. Identifying Canadian Freshwater Fishes through DNA Barcodes. *PLoS ONE*, 3(6): e2490.
- Kovalenko, K. E., E. D. Dibble, A. A. Agostinho & F. M. Pelicice. 2010. Recognition of non-native peacock bass, *Cichla kelberi* by native prey: testing the naivet, hypothesis. *Biological Invasions*, 12: 3071-3080.
- Kullander, S. O. & E. J. G. Ferreira. 2006. A review of the South American cichlid genus *Cichla* with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyol. Explor. Freshw*, 17: 289–398.
- Latini, A. O. & M. Petrere Junior. 2004. Reduction of a native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. *Fish Manag Ecol*, 11(2): 71–79.
- Lee, C. E. 2002. Evolutionary genetics of invasive species. *Trends Ecol. Evol.* 17(8):386–391. 2002.
- Librado, P. & Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 451-1452.
- Lleonart, J.; Taconet, M. & Lamboeuf, M. 2006. Integrating information on marine species identification for fishery purposes. *Marine Ecology Progress Series*, 316:231-238.
- López-Fernández, H., Honeycutt, R. L. & Winemiller, K. O. 2005. Molecular phylogeny and evidence for an adaptive radiation of geophagine cichlids from South America (Perciformes: Labroidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34:227–244.
- López-Fernández, H., Winemiller, K. O. & Honeycutt, R. L. 2010. Multilocus phylogeny and rapid radiations in neotropical cichlid fishes (Perciformes: Cichlidae: Cichlinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3): 1070–1086.
- Lunt, D. H.; Zhang, D.X.; Szymura, J. M. & Hewitt, G.M. 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Mol Biol*, 5: 153-165.

- Luz, S. C. S., A. C. A. El-Deir, E. J. D. França & W. Severi. 2009. Estrutura da assembleia de peixes de uma lagoa marginal desconectada do rio, no submédio Rio São Francisco, Pernambuco. *Biota Neotropica*, 9(3): 117-129.
- Luz, S. C. S., H. C. Lima & W. Severi. 2012. Composição da ictiofauna em ambientes marginais e tributários do médio-submédio rio São Francisco. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária) Brazilian Journal of Agricultural Sciences*, 7(2), 358-366.
- Macrander, J. C. 2010. Microsatellite development, population structure and demographic histories for two species of amazonian peacock bass *Cichla temensis* and *Cichla monoculus* (Perciforme: Cichlidae). University of Nebraska – Lincon, 92.
- Medeiros, C. D. F. L.; Cardoso, M. A., & Ferreira, P. C. G. 2006. Uso de microssatélites em estudos de biologia da conservação. *Floresta E Ambiente*, 13(OCTOBER): 25–36.
- Mendonça, F. F, D. T. Hashimoto, F. Porto-Foresti, C. Oliveira, O. B. F. Gadig & F. Foresti. 2009. Identification of the shark species *Rhizoprionodon lalandii* and *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) by multiplex PCR and PCR-RFLP techniques. *Molecular Ecology Resources*, 9: 771–773.
- Moura-Brito, M. & Patrocínio, D. M. N. 2005. A fauna das espécies exóticas do Paraná: contexto nacional e situação atual. *Unidades de Conservação*, 53-94.
- Mourão, A. A. D. F. 2013. Caracterização citogenética e molecular das espécies *Cichla kelberi* e *Cichla piquiti* e seu possível híbrido interespecífico coletados em ambientes naturais. 73p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista – São Paulo.
- Oliveira, A. V.; Prioli, A. J.; Prioli, S. M. A. P.; Bignotto, T. S.; Júlio, H. F.; Carrer, H. & Prioli, L. M. 2006. Genetic diversity of invasive and native *Cichla* (Pisces: Perciformes) populations in Brazil with evidence of interspecific hybridization. *Journal of Fish Biology*, 69: 260-277.
- Padial, J. M., A. Miralles, I. Dela Riva & M. Vences. 2010. Review: The integrative future of taxonomy. *Front Zool*, 7: 1-14.
- Peixoto, J. T. 1982. Alimento de tucunaré, *Cichla ocellaris* Bloch & Scheneider, 1801 no açude Lima Campos, Icó, Ceará, (Actinoptelygii, Cichlidae). *Colet. de Trab. Técn. DNOCS, Fortaleza*, 2: 159-172.
- Pelicice, F. M.; Agostinho, A. A. 2009. Fish fauna destruction after the introduction of a non-native predator (*Cichla kelberi*) in a Neotropical reservoir. *Biol Invasions* 11:1789–1801.
- Pereira, L.H.; Hanner, R.; Foresti, F.; Oliveira, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. *BMC genetics*, 14 (1):20, 2013.

- Pompeu, P. S. & H. P. Godinho. 2003. Ictiofauna de três lagoas marginais do médio São Francisco. Pp. 167-181. In: Godinho, H. P. & A. L. Godinho (org.). Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte, PUC Minas. 468p.
- Ponzetto, J. M. 2012. Relações filogenéticas e filogeografia molecular das espécies de peixes anuais do gênero *Simpsonichthys* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, São Paulo, 63p.
- Prado-Lima, M., Campos, T., Sousa, A. C. B., Souza, A. P., & Almeida-Val, V. M. F. 2010. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Cichla monoculus* (Agassiz, 1831), an important freshwater fish in the Amazon. Conservation Genetics Resources, 2(1), 215–218.
- Prentis, P. J.; Wilson, J. R. U; Dormontt, E. E.; Richardson, D. M. & Lowe, A. J. 2008. Adaptive evolution in invasive species. Trends in Plant Science, 16(6):288–294.
- Ratnasingham S. & Hebert P. D. N. 2007. BOLD: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org). Mol. Ecol. Notes, 7, 355-364.
- Reiss, P. & T. M. Grothues. 2015. Geometric morphometric analysis of cyclical body shape changes in color pattern variants of *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae) demonstrates reproductive energy allocation. Neotropical Ichthyology, 13 (1): 103-112.
- Ribeiro, A. D. E. O. 2012. Identificação molecular de peixes marinhos das regiões Sudeste e Sul do Brasil com ênfase no estado de São Paulo. Dissertação – mestrado. Universidade Estadual Paulista Instituto de Biociências de Botucatu – São Paulo. 78p.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. 2003. Mrbayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19(12), 1572-1574.
- Sambrook, J.; E. F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. 21p.
- Santos, G. B., Maia-Barbosa, P. M.; Vieira, F. & López, C. M. 1994. Fish and zooplakton community structure in reservoirs of southeastern Brazil: Effects of the introduction of exotic predatory fish. Pp. 77-83. In: Pinto-Coelho, R. M., A. Giani & E. Von Sperling. Ecology and human impact on lakes and reservoirs in Minas Gerais with special reference to future development and management strategies. Belo Horizonte: SEGRAC, 77-83.
- Santos, U., P. C. Silva, L. C. Barros & J. A. Dergam. 2015. Fish fauna of the Pandeiros River, a region of environmental protection for fish species in Minas Gerais state, Brazil. CheckList, 11(1): 1507.
- Santos-Clapp, M. D. & M. C. Brasil-Sato. 2014. Parasite Community of *Cichla kelberi* (Perciformes, Cichlidae) in the Três Marias Reservoir, Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 23(3): 367-374.

- Sato, Y. & H. P. Godinho. 1999. Peixes da bacia do rio São Francisco. Pp. 401-413. In: Lowe McConnell, R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo, Edusp. 534p.
- Steinke, D.; Zemlak, T. S. & Hebert, P. D. N. 2009. Barcoding Nemo: DNA-based identifications for the ornamental fish trade. PLoS One, 4: e6300
- Suárez, I. R., F. L. Nascimento & A. C. Catella. 2001. Alimentação do tucunaré *Cichla* sp. (Pisces, cichlidae) – Um peixe introduzido no Pantanal, Brasil. Corumbá: Embrapa Pantanal, (Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa, 23), 21p.
- Swofford D. L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), version 4.0. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution, 28(10): 2731-2739.
- Teixeira, W. G. 2008. Identificação e caracterização de sequências repetidas de DNA no genoma de peixes ciclídeos do gênero *Cichla*. Dissertação – Mestrado. Universidade Estadual Paulista Instituto de Biociências Campus de Botucatu – São Paulo.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins, & T. J. Gibson. 1994. ClustalW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids, Res 22: 4673-4680.
- Torloni, C. E. C.; Santos, J. J.; A. A. Carvalho Jr. & A. R. A. Corrêa. 1993. A pescada-do-Piauí *Plagioscion squamosissimus* (HECKEL, 1840) (Osteichthyes, Perciformes) nos reservatórios da Companhia Energética de São Paulo – CESP. CESP Série Pesquisa e Desenvolvimento, 84.
- Valdez-Moreno, M.; Ivanova, N. V.; Elías-Gutiérrez, M.; Contreras-Balderas, S.; Hebert, P. D. N. 2009. Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. Journal of Fish Biology, 74:377–402.
- Vitule, J. R. S., S. C. Umbria & J. M. R. Aranha. 2006. Introdução de espécies, com ênfase em peixes de ecossistemas continentais. Pp. 217-229. In: Monteiro-Filho, E. L. A. & J. M. R. Aranha (Org.). 1 ed. Curitiba, M5 Gráfica e Editora.
- Ward, R. D.; Zemlak, T. S.; Innes, B. H.; Last, P. R. e Hebert, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transaction Royal Society. 360:1847–1857.
- Willis, S. C., Farias, I. P., & Ortí, G. 2013. Multi-locus species tree for the Amazonian peacock basses (Cichlidae: *Cichla*): Emergent phylogenetic signal despite limited nuclear variation. Molecular Phylogenetics and Evolution, 69(3): 479–490.

- Wong, E. H. K.; Shivji, M. S. & Hanner R. H. 2009. Identifying sharks with DNA barcodes: assessing the utility of a nucleotide diagnostic approach. *Mol. Ecol. Res.*, 9: 243-256.
- Xiang, Q. Y., M. Moody, D. E. Soltis, C. Fan, & P. S. Soltis. 2002. Relationships within Cornales and circumscription of Cornaceae: matK and rbcL sequence data and effects of outgroups and long branches. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 24: 35-57.

5.1.1- Normas da Revista Neotropical Ichthyology

NEOTROPICAL ICHTHYOLOGY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS - March 2015

SCOPE AND POLICY

Neotropical Ichthyology is the official journal of the Sociedade Brasileira de Ictiologia (SBI). It is a peerreviewed periodical that publishes original articles on Neotropical freshwater and marine fish in the areas of Biochemistry, Biology, Ecology, Ethology, Genetics, Molecular Biology, Physiology and Systematics. Submitted manuscripts must be relevant contributions within their specific research area and must provide clear theoretical foundations of the subject, description of the objectives and/or hypotheses under consideration, in addition to sampling and analytical designs consistent with the proposal. Descriptive original works of high quality and relevance will be considered for publication. Casual observations, scientific notes or studies merely descriptive not associated with relevant theoretical issues will not be considered. Editor and Section Editor of the area will evaluate the submitted manuscript to determine if its content is suitable for publication in the journal Neotropical Ichthyology. The journal is open for submissions to all researchers on Neotropical ichthyofauna. Payment of publication costs may be required if none of the authors is a member of the SBI. Submission of manuscripts

Manuscripts must be submitted as digital files at <http://mc04.manuscriptcentral.com/ni-scielo>. With each new manuscript submission, authors must include a cover letter with a statement that it constitutes original research and is not being submitted to other journals. In multi-authored papers, author responsible for submission must declare in the cover letter that all coauthors are aware and agree with the submission. All coauthors and respective mailing addresses and e-mails must be registered in the appropriate forms along with manuscript submission. During the submission, indicate the area of Ichthyology (Biochemistry and Physiology, Biology, Ecology, Ethology, Genetics and Molecular Biology or Systematics) to which the manuscript is referable. During the submission, indicate three possible referees (name, institution, country, and e-mail). Manuscripts that are not formatted according to instructions to authors will be returned to authors. Please, use the checklist bellow to review your manuscript before submission. Each item of the checklist must be filled and the file must be sent as supplemental file for review when submitting the manuscript. Only items not applicable for the article must be kept empty. Manuscripts submitted out of format, without some required file or in poor English will be returned without review.

FORM AND PREPARATION OF MANUSCRIPTS

Text must be submitted in English. Text must be in MS-Word or rtf file formats. Figures and tables must be uploaded separately as individual files. Do not duplicate information in the text, Figures and Tables. Submit only Figures and Tables that are strictly necessary. Supplementary files such as appendices, videos and others can be uploaded already formatted, as pdf or video files, and will be available only in the on line version. In taxonomic papers check also: [Neotropical Ichthyology taxonomic contribution style sheet](#).

Manuscript must contain the following items, in bold, unnumbered, not using pages break, in the cited order: Title, Abstract (in English), Resumo or Resumen (in Portuguese or Spanish), Keywords, Running Head, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (optional), and References.

CHECKLIST FOR FORMATTING RULES

Please, be sure you have checked all the items carefully

TITLE Title is presented in bold and lower case. In the title, subordinate taxa are separated by “:” as follows: “(Siluriformes: Loricariidae)”. New taxa names are not given/listed in title or abstract. Ex. “ A new species of loricariid catfish from the rio Ribeira de Iguape basin, Brazil (Ostariophysi: Siluriformes)”.

Title presents the scientific names (instead vernacular names) with authorship and year of description of the species, if applicable, and higher taxonomic categories in parentheses. Title reflects the contents of the paper.

AUTHORS

Only initial of authors names are in uppercase. First name of authors is not abbreviated. Superscript numerals are used to identify multiple addresses. The names of the last two authors of the manuscript are separated by “and”.

Ex. George S. Myers¹, Carl H. Eigenmann² and Rosa S. Eigenmann^{1,2}

AUTHORS ADDRESSES

Footnotes are not used.

Full mailing addresses and e-mail of all authors are provided, including institution name, ZIP codes, cities, states and countries. Corresponding author is informed by adding (corresponding author) after the email address. Superscript numerals are used to identify multiple addresses. Names of Institutions and Departments are in the original spelling and not translated to English. RUNNING HEAD Provided suggestion for the running head up to 50 characters.

ABSTRACT

It is concise, presented in English and do not contain new taxa names or authorship.

RESUMO or RESUMEN It is in Portuguese or Spanish. It is an accurate translation of the Abstract in English.

KEYWORDS Five keywords are provided in English and in alphabetic order. Keywords do not repeat title words or expressions, or include Neotropical, that is the name of the Journal. Keywords mentions key of identification, if applicable.

TEXT

Text pages do not include headers, footers, or footnotes (except page number).

- Text is aligned to the left, not fully justified. All text is in Times New Roman font size 12. Text is not hyphenated. Lines are not numbered. The font “symbol” is used to represent the following characters: $\chi \mu \theta \omega \varepsilon \rho \tau \psi \upsilon \iota \omicron \pi \alpha \sigma \delta \phi \gamma \eta \phi \kappa \lambda \Xi \beta \nu \cong \Theta \Omega \Sigma \Delta \Phi$

- Species, genera, and Latin terms (et al., in vitro, in vivo, vs., i.e, e.g.) are in italics. Scientific names are cited according to the ICZN (<http://iczn.org/iczn/index.jsp>). Authorship is given at the first reference of a species or genus. Spelling, current valid names and authorship of species have been checked in the Catalog of Fishes at <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>.

- Latin terms presented between the generic and specific names (cf., aff., etc., e.g. *Hoplias cf. malabaricus*) are not in italics. The genus name is always fully spelled in first appearance in the text, in the beginning of a sentence and at least once in the figure and table caption(s).

There are no underlined words.

Abbreviations used in the text are listed under

Material and Methods, except for those in common use (e.g., min, km, mm, kg, m, sec, h, ml, L, g). Measurements use the metric system A list of institutional acronyms is given in Material and Methods section OR a reference to a published paper with a list of acronyms is given in Material and Methods section. A list of catalog numbers of voucher specimens is furnished. Reference(s) for species identification and classification used is(are) provided. Geographic descriptors (rio, igarapé, arroio, córrego) are given in lower case, except when referring to a locality name (e.g., Municipality of Arroio dos Ratos, State of Rio Grande do Sul).

ACKNOWLEDGMENTS

Acknowledgments are concise and include both first and last names of persons. Names of Sponsor Institutions are listed in their original spelling and not translated to English.

TABLES

Tables are numbered sequentially in Arabic numerals according to the order of citation in the text Tables are cited in the text using the following formats: Table 1, Tables 1-2, Tables 1, 4. In Table caption, the word Table, its respective number and final dot after the number are in bold. Ex. “Table 1., and must end in period. Tables are constructed in cells using lines and columns, and not “tab” or “space”. Table caption is self-explicative and presenting, if applicable, at least once the genus name spelled out. Tables do not contain vertical lines or footnotes [content of footnotes must be included in the caption]. Captions are listed at the end of the manuscript, in the following format: Table 1. Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma speculiferum*. Approximate locations where tables should be inserted must be indicated along the right margin of the text.

FIGURES

Figures are numbered sequentially in Arabic numerals according to their citation in the text. Figures are cited in the text using the following formats: Fig. 1, Figs. 1-2, Fig. 1a, Figs. 1a-b, Figs. 1a, c. Citations of subsections of the figures are indicated by not capital letters both in the figure and caption. Citations of figures from cited articles are cited using the same formats as figures published in the present article, but not capitalized: e.g., according to the figs. 2b of Vari & Harold (2001). In Figure caption, the word Fig., its respective number and final dot after the number are in bold. Ex. “Fig. 1.” and must end in period. Figures are of high quality and definition. Figures are submitted as Figure files. Figures are not being submitted as images inserted in Word files. Text included in graphs and pictures have a font size compatible with reductions to page width (175 mm) or column width (85 mm). Composed figures are prepared to fit either the page (175 mm) or column width (85 mm).

Illustrations include either a scale or reference to the size of the item in the figure caption. Objects or illustrations are not included in the figure caption. Replace with text (e.g. “black triangle”) or represent its meaning in the figure itself. A list of figure captions is presented at the end of the manuscript file in the following format: Fig. 1. _____ Approximate locations where figures should be inserted are indicated along the left margin of the text.

REFERENCES

References are cited in the following formats in the text: Eigenmann (1915, 1921) or (Eigenmann, 1915, 1921; Fowler, 1945, 1948) or Eigenmann & Norris (1918) or Eigenmann *et al.* (1910a, 1910b), always in chronological order after alphabetical order in case of more than one author cited. References do not include abstracts, technical reports or undergraduate monographs. Master Thesis or Ph.D. dissertations are listed only if necessary. References are not formatted with “tab” or “space”. References are rigorously ordered alphabetically. References published by two or more authors are listed in alphabetic order of the first author surname, then of second author surname, and successively. Journal names are given in full, not abbreviated. Italic or bold are not used for books titles and journals.

References rigorously match text citations.

Books are listed in the following formats:

Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). 1998. Phylogeny and classification of Neotropical fishes. Porto Alegre, Edipucrs, 603p.

Graça, W. J. & C. S. Pavanelli. 2007. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. Maringá, Eduem, 241p.

Chapters are listed in the following format:

Campos-da-Paz, R. & J. S. Albert. 1998. The gymnotiform “eels” of Tropical America: a history of classification and phylogeny of the South American electric knifefishes (Teleostei: Ostariophysi: Siluriphysi). Pp. 401-417. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). Phylogeny and classification of Neotropical fishes. Porto Alegre, Edipucrs.

Thesis/Dissertations are listed in the following format:

Langeani Neto, F. 1996. Estudo filogenético e revisão taxonômica da família Hemiodontidae Boulenger, 1904 (sensu Roberts, 1974) (Ostariophysi, Characiformes). Unpublished Ph. D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, 171p.

Articles are listed in the following format:

Vari, R. P., C. J. Ferraris Jr. & M. C. C. de Pinna. 2005. The Neotropical whale catfishes (Siluriformes: Cetopsidae: Cetopsinae), a revisionary study. Neotropical Ichthyology, 3: 127-238. Internet sources are listed in the following format: Author(s). 2002.

Title of website, database or other resources,

Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access – dd Month yyyy, e.g. 20 August 2013).

Softwares available online are listed in the following format:

Author(s). 2003. Title of the Software (Version) [Software], Publisher name and location (if indicated). Available from <http://www.xxxx/> (Date of access – dd Month yyyy, e.g. 20 August 2013).

Further information Contact Editor at neoichth@nupelia.uem.br

5. 2 - Artigo científico II

Artigo científico a ser encaminhado a Revista
Neotropical Ichthyology.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

Aspectos da biologia reprodutiva e suas relações com os caracteres morfométricos de *Cichla monoculus* em reservatórios do rio São Francisco

Sandra Cristina Soares da Luz¹, Renata Triane Felix², Paulo José Duarte-Neto³, William Severi¹ e Maria Raquel Moura Coimbra¹

¹ Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manuel de Medeiros, Dois Irmãos, CEP: 52171-900 Recife/Pernambuco (PE), Brasil. (SCSL) sandracruz7@hotmail.com, (WS) wseveri@gmail.com (corresponding author), (MRMC) maria.rmcoimbra2@ufrpe.br

² Departamento de Morfologia, UFRPE, Recife/PE, Brasil. (RTF) renatatifelix@gmail.com

³ Departamento de Estatística e Informática, UFRPE, Recife, PE, Brasil. (PJDN) pjduarteneto@gmail.com

Resumo

Várias espécies de tucunaré foram introduzidas em lagos e reservatórios brasileiros ao longo de décadas, com o intuito de aumentar a produção pesqueira e incrementar a pesca esportiva. No Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso, bacia do rio São Francisco, foi indentificada *Cichla monoculus*, sendo que esta espécie apresenta diversos morfotipos que poderiam estar relacionados com o estágio de maturação gonadal. Para verificar se existe tal relação, foi investigada a biologia reprodutiva de *C. monoculus* e caracterizados seus estádios gonadossomáticos (I, II, III e IV), os quais foram correlacionados aos dois padrões de coloração cinza e amarelo observados. A proporção sexual de 1,3:1 (fêmeas:machos) e uma redução no tamanho de primeira maturação para ambos os sexos foram observadas. Os indivíduos apresentaram um longo período reprodutivo, tendo os valores do fator de condição (K) seguido a mesma tendência, com pico nos meses chuvosos para a região. Através da análise morfométrica não foi possível observar correlações entre os estádios maturacionais, ou entre os sexos, tampouco com relação à forma ou à coloração. Mesmo não havendo diferença significativa, foi possível observar dois padrões entre as cores, indicando diferenças nos marcos anatômicos em relação à posição da boca, à disposição da nadadeira dorsal e ao formato da cabeça (pela posição do final do opérculo). O morfotipo “cinza” exibiu um perfil corporal mais fusiforme, com a parte dorsal mais rebaixada e a ventral arqueada, e posição da boca relativamente inferior em comparação ao morfotipo “amarelo”. Acredita-se que os morfotipos encontrados estejam relacionados à plasticidade fenotípica que os ciclídeos apresentam em resposta ao ambiente.

Palavras-chave: morfometria geométrica, plasticidade fenotípica, tucunaré

Introdução

Cichla monoculus é uma espécie endêmica do rio Amazonas (bacia Amazônica e sub-bacia Tocantins-Araguaia) (Sampaio *et al.*, 2000; Kullander & Ferreira, 2006), introduzida em várias bacias e açudes do Brasil, principalmente por programas de peixamento de hidrelétricas e órgãos governamentais para pesca esportiva, controle biológico de outras espécies e como recurso econômico e alimentar para as populações ribeirinhas (Petrere Júnior 1996; Orsi & Agostinho, 1999; Nascimento *et al.* 2001; Sales, 2001; Chellappa *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2006; Kullander & Ferreira, 2006; Briñez *et al.*, 2013).

A ocorrência de *C. monoculus* está descrita para o rio Paranapanema (PR) (Orsi & Agostinho, 1999), lagos da bacia do rio Doce (MG) (Latini & Petrere Jr., 2004), reservatório de Lajes (RJ) (Santos *et al.*, 2001) e rio Grande (SP/MG) (Braga, 2001). No reservatório da hidrelétrica de Itaipu e nas planícies de inundação adjacentes (PR/MS) (Agostinho, 1994; Agostinho *et al.*, 2005), vários morfotipos que se assemelham a *C. monoculus* foram encontrados, tornando sua identificação duvidosa. A introdução deste peixe também foi relatada em reservatórios do semiárido brasileiro, como em um açude do Rio Grande do Norte (Câmara *et al.*, 2002), sendo considerada uma das espécies amazônicas mais bem adaptadas ao clima da região, contribuindo com 40% da produção pesqueira (Abreu & Silva, 1987). Na bacia do São Francisco, a espécie foi citada pela primeira vez na represa de Três Marias (MG), região do Alto rio São Francisco, em 1980 por Sato & Godinho (1988) e, posteriormente, na mesma represa por Sato & Godinho (1999), Gomes & Verani (2003) e Thé *et al.* (2003), bem como no reservatório de Itaparica (submédio São Francisco) (Barros, 2004).

O comportamento reprodutivo das espécies de *Cichla* foi observado no ambiente natural (Fontenele, 1950; Zaret, 1980; Magalhães, 1996; Câmara, 2002; Câmara, *et al.*, 2003; Gomeiro & Braga, 2004; Souza *et al.*, 2005; Gomiero *et al.*, 2009), incluindo comportamento de corte, cuidado parental e formação de ninho por ambos os sexos. Além da adesividade dos ovos, após a eclosão, as larvas possuem órgãos adesivos que auxiliam a fixação ao substrato. No período reprodutivo, os machos apresentam dimorfismo sexual, formando uma gibosidade (protuberância) na região frontal da cabeça (pós-occipital) pelo acúmulo de tecido adiposo.

Análises morfométricas, padrão de coloração e proporções corpóreas são usualmente utilizados na identificação de peixes, como os *Cichla*, cuja chave

taxonômica com 15 espécies, é baseada nestes caracteres (Kullander & Ferreira, 2006). Entretanto, dificuldades na taxonomia deste gênero são relatadas por diversos autores (Oliveira *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2008; Carvalho *et al.*, 2009), com descrição de interpretações dúbias, a exemplo de *Cichla kelberi* (Kullander & Ferreira, 2006) e *Cichla piquiti* (Kullander & Ferreira, 2006), que foram identificados erroneamente como *Cichla monoculus* Spix, 1831 e *Cichla ocellaris* Steindachner, 1801, no rio Paraná (Oliveira *et al.*, 2006). Aliás, *C. monoculus* foi por muito tempo descrito como *C. ocellaris* (Fontenele, 1950; Val & Almeida-Val, 1995).

A morfometria geométrica é capaz de descrever e localizar mais claramente as regiões de mudanças na forma e, sobretudo de reconstruir graficamente estas diferenças, através de marcos anatômicos (Bookstein, 1991, Cordeiro-Estrela & Fornel, 2015). Esta técnica propicia a interpretação e comparação dos padrões de variação de caracteres quantitativos e entre parâmetros biológicos subjacentes às relações morfológicas entre indivíduos, na discriminação entre grupos intraespecíficos ou populações geográficas ou mesmo diferenciação entre sexos (Viana *et al.*, 2006; Nunes, 2008; Franssen, 2011; Araújo *et al.* 2012; Fabrin *et al.*, 2014; Reiss & Grothues, 2015), principalmente quando os caracteres morfológicos são semelhantes, como nos ciclídeos.

Como os ciclídeos desenvolveram um alto grau de plasticidade fisiológica que lhes garante a manutenção de populações nos ambientes em que são introduzidos (Val & Almeida-Val, 1995; Val *et al.*, 1996), eles tendem a se adequar às novas situações ecológicas, com grande vantagem sobre outras espécies.

O estudo da biologia reprodutiva de *Cichla monoculus* é fundamental para o entendimento dos ciclos biológicos, permitindo entender a dinâmica dessa população no ecossistema aquático e a diversidade de táticas envolvidas que influenciam na estratégia dos indivíduos no seu ambiente. O objetivo desse trabalho foi avaliar a existência de correlação entre os estádios maturacionais de *Cichla monoculus* e sua morfologia externa, que justifique os padrões morfométricos encontrados entre seus indivíduos.

Material e Métodos

A área de estudo compreendeu os reservatórios do Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso, localizado no submédio São Francisco, formado pelos aproveitamentos hidrelétricos de Moxotó, PA I, II, III e PA IV (**Fig. 1**).

Foram capturados 482 exemplares adultos de *Cichla*, amostrados mensalmente, entre agosto de 2012 e julho de 2013, junto a pescadores da região. Cada indivíduo foi devidamente fotografado, etiquetado e anotados seus dados merísticos, morfológicos e morfométricos. Após a identificação por análise molecular (Luz et al., no prelo), resultando na espécie *Cichla monoculus*, os indivíduos foram separados visualmente por padrão de coloração amarelo e cinza, atribuída como coloração predominante em mais de 50% do corpo do animal.

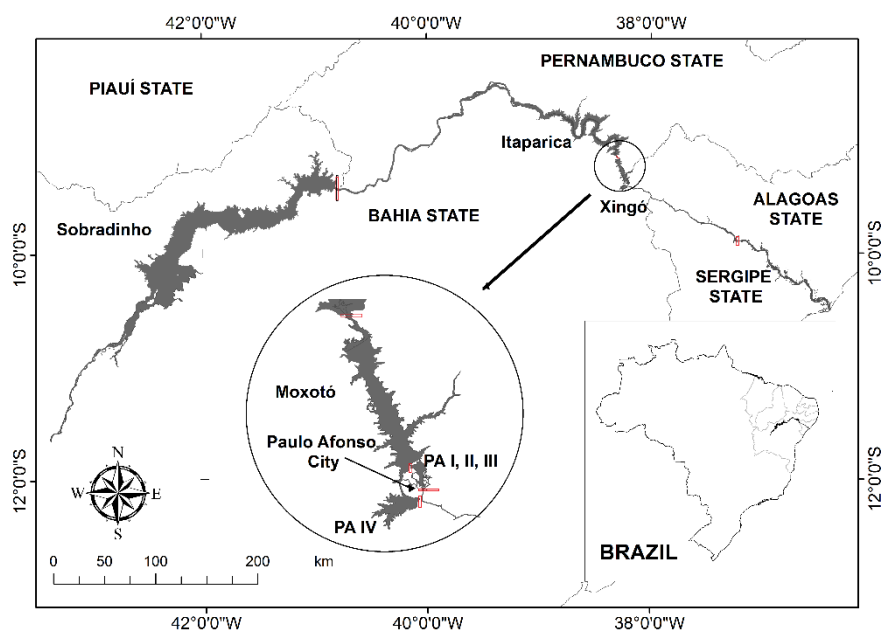


Fig. 1. Mapa da área de amostragem, com destaque para o Complexo de Paulo Afonso (BA) e sua posição na bacia do rio São Francisco.

Biologia reprodutiva

Em laboratório, foram aferidos o peso total (PT) em gramas e o comprimento padrão (CP) em milímetros de cada exemplar. As gônadas foram inspecionadas para identificação do sexo e estágio maturacional (Vazzoler, 1996 - modificado) e, em seguida, pesadas. Os exemplares que não tiveram o sexo e o estágio maturacional determinados visualmente foram submetidos a análise histológica, mediante coloração com Hematoxilina/Eosina Floxina.

Foram avaliadas, ainda, a estrutura da população por composição em sexo e comprimento, bem como a proporção sexual, através da relação do número total de machos e fêmeas para todos os meses de coleta e entre as classes de comprimento, foram avaliadas aplicando-se o teste não paramétrico de qui-quadrado ($p > 0,05$) (Mendes, 1999), para a frequência de ambos os sexos.

A relação gonadossomática (RGS) e o cálculo do fator de condição (K) foram analisados separadamente para machos e fêmeas, sendo $RGS = (PG/PT) \times 100$ e $K = PT/CP^b$, assumindo b como coeficiente angular da regressão peso-comprimento (Vazzoler, 1996). O período reprodutivo foi estabelecido através da relação entre os valores médios de RGS e a distribuição mensal da frequência dos estádios maturacionais e do fator de condição (Vazzoler, 1996).

A determinação do tipo de desova baseou-se na distribuição das classes de diâmetro de ovócitos encontrados em todos os estádios de maturidade sexual das fêmeas (Vazzoler, 1996). Imagens dos estádios, caracterizados através dos cortes histológicos, foram digitalizadas e analisadas através do software ImageTool (versão 2.0) para Windows (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, TX, USA). A fecundidade foi determinada pelo método gravimétrico, mediante a contagem de ovócitos de fêmeas maduras, baseada numa alíquota de peso de 0,1 g de cada par de ovários, usada para medição e contagem sob estereomicroscópio. O número total de ovócitos (N) foi calculado com base na equação $N = (n \cdot Wg)/w$, sendo n (número de ovócitos na alíquota retirada), Wg (peso total dos ovários) e w (peso conhecido da alíquota) (Vazzoler, 1996), e a fecundidade expressa em relação ao comprimento ($FRC = N/CP$) e ao peso ($FRP = N/PT$).

O comprimento médio de primeira maturação sexual (L50) foi estimado por meio do ajuste de uma curva logística à frequência relativa de indivíduos maduros em cada classe de comprimento (CP), de acordo com a fórmula: $Mf = 1/[1 + \exp(a + b \cdot CP)]$, onde Mf é a fração dos indivíduos que se encontram aptos à reprodução (Fonteles-Filho, 1989). O ajuste dos pontos foi feito através do método de máxima verossimilhança (*maximum likelihood*).

Dados merísticos, morfométricos e estatística linear

Foram selecionados 113 indivíduos de *Cichla monoculus* para a análise morfométrica, sendo 77 fêmeas e 36 machos, de acordo com a integridade do peixe (nadadeiras completas e escamas), segundo os caracteres necessários para as análises.

Foram definidas nove medidas corpóreas longitudinais, tomadas em milímetros (mm) e onze dados para contagem merística, sendo 77 fêmeas e 36 machos, como descrito nas **Fig. 2** e **Tabela 1**.

Os dados morfométricos foram logaritimizadas a fim de normalizar a distribuição da variância e os conjuntos, transformados (Lleonart *et al.*, 2000), para retirar o efeito alométrico, utilizando-se a fórmula de correção do efeito do tamanho, $Y^*_i = Y_i (X_0/X_i)^\beta$, em que Y^*_i = medida morfométrica padronizada para cada indivíduo i ; Y_i = i -ésima observação da medida morfométrica Y ; X_0 = comprimento total (CT) médio de toda a amostra; X_i = comprimento total do indivíduo i ; e β = coeficiente alométrico, obtido pela linearização da equação de Huxley & Teissier (1936): $\log Y_i = \log \alpha + \beta \log X_i$, utilizando todos os indivíduos.

Foram utilizados os testes de Mann-Whitney ou t-student (dependendo da normalidade dos dados) para verificar as diferenças de médias entre os exemplares e a técnica de análise de componentes principais (PCA) para avaliar a variação morfométrica dentro do grupo e sua relação entre os grupos (Reis, 1988). As análises foram conduzidas no Programa Statistica 6.0.

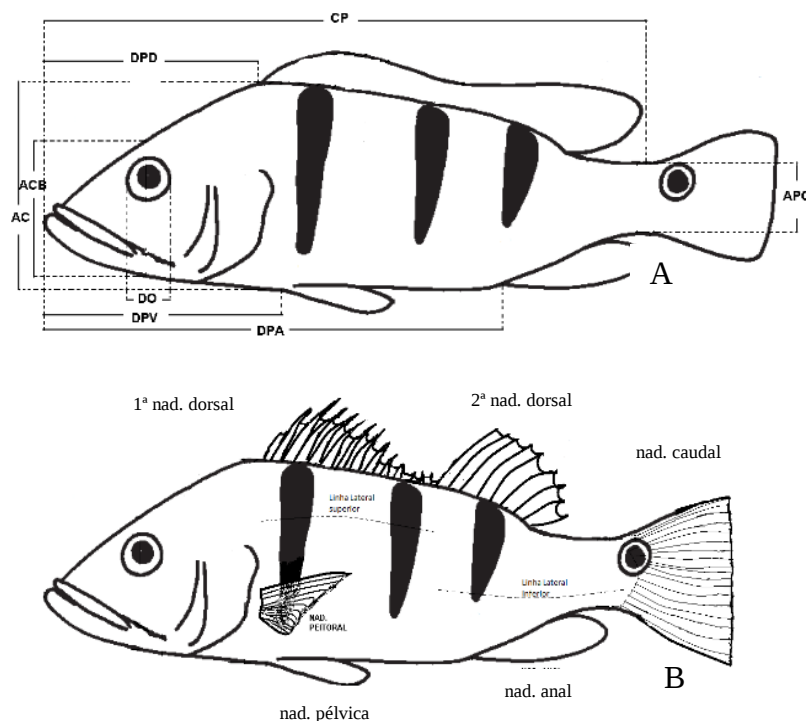


Fig. 2. Esquema das medidas longitudinais (A) e dados merísticos de *Cichla* (B).

Tabela 1. Descrição das medidas morfométricas e dados merísticos analisados de *Cichla monoculus* no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso.

Descrição dos dados merísticos		Descrição das medidas longitudinais	
1ªdors.	Nº de espinho da 1ª nadadeira dorsal	CP	Comprimento padrão
2ªdors.	Nº de espinho da 2ª nadadeira dorsal	AC	Altura do corpo
2ªdors.	Nº de raios da 2ª nadadeira dorsal	APC	Altura do pendúculo
R.cald.	Nº de raios nadadeira caudal	ACB	Altura da cabeça
R.anal	Nº de raios nadadeira anal	DO	Diâmetro do olho
R.pélv.	Nº de raios nadadeira pélvica	DI	Distância interorbital
R. peit.	Nº de espinhos + raios nadadeira peitoral	DPD	Distância pré-dorsal
EPC	Escamas do pendúculo caudal	DPV	Distância pré-ventral
LLA	Linha lateral anterior	DPA	Distância pré-anal
LLP	Linha lateral posterior		
E1	Linha lateral mediana		

Morfometria Geométrica

Foram separados 76 indivíduos, dentre os 113 amostrados, que foram selecionados segundo critérios de preservação morfológica do peixe e, posteriormente, qualidade das fotos. Os exemplares foram digitalizados por câmara Fujifilm Finepix s2980, acoplada em base fixa para obter uma altura padrão de 50 cm e diminuir as distorções entre as fotografias. Foram escolhidos 14 marcos anatômicos, utilizando alguns já usados por Reiss & Grothues (2015) na diferenciação das formas de *Cichla kelberi*. Também foram acrescentados marcos na região da cabeça e nadadeira peitoral, a fim de verificar se existe variação na forma anterior do corpo. Os indivíduos foram verificados quanto ao sexo, estágio gonadal (I, II, III e IV) e padrão de coloração (cinza e amarelo), sendo 22 fêmeas e 14 machos cinza e 31 fêmeas e 9 machos amarelos.

Os marcos anatômicos foram pontuados nas seguintes regiões: 1. região anterior do crânio; 2. região posterior do osso da mandíbula; 3. extremidade do opérculo; 4. inserção superior da nadadeira peitoral; 5. inserção inferior da nadadeira peitoral; 6. inserção anterior da nadadeira dorsal; 7. inserção posterior da nadadeira dorsal; 8. região mediana superior do pedúnculo caudal; 9. região mediana inferior do pedúnculo caudal; 10. inserção posterior da nadadeira anal; 11. inserção anterior da nadadeira anal; 12. inserção anterior da pélvica; 13. região na cabeça acima da linha mediana do olho; e 14. início da segunda nadadeira dorsal (**Fig. 3**).

O Programa TPSUtil (TPS Utility Program), versão 1.60, foi utilizado para criar um único arquivo de imagem de todos os exemplares, enquanto as digitalizações dos marcos anatômicos e a determinação das medidas foram conduzidas no algoritmo TPSDIG2, versão 2.18 (Rohlf, 2010). Já para a determinação do consenso médio dos indivíduos, suas coordenadas e deformações parciais e relativas da Morfometria Geométrica, utilizou-se o programa MorphoJ (Klingenberg, 2011). Tais análises de deformações parciais e relativas consistem na utilização de marcos anatômicos que permitem identificar as variações de forma entre as estruturas morfológicas homólogas nos diferentes exemplares, independentemente do tamanho das estruturas, eliminando parte da influência ambiental (Bookstein, 1991, Rohlf & Marcus 1993, Rohlf, 2000).

Para a verificação da formação ou não de grupos homogêneos, aplicou-se a análise de componentes principais e análise discriminante, empregando a distância de Mahalanobis. Nesta última análise, os indivíduos são classificados como pertencentes aos grupos de acordo com a menor distância entre eles e os centróides dos grupos. Posteriormente, as análises de validação cruzada são utilizadas para a verificação da eficiência das equações geradas, a partir das características extraídas, para classificar corretamente os indivíduos dentro de seus respectivos grupos (Stone, 1978).

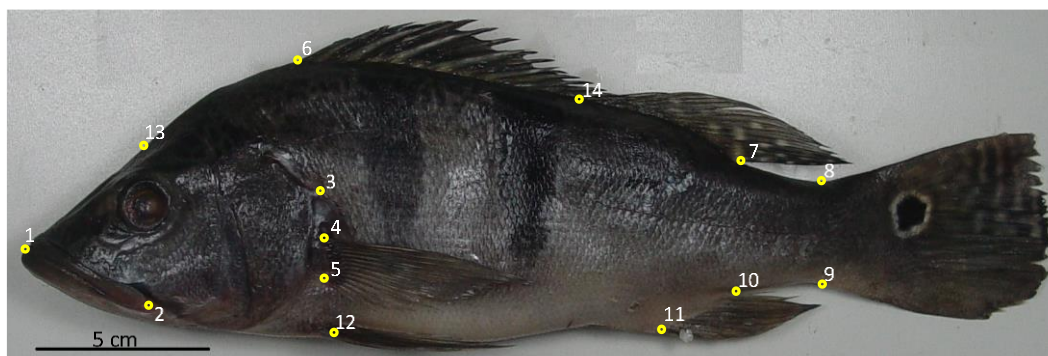


Fig. 3. Delimitação dos marcos anatômicos dos *Cichla* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA, submédio rio São Francisco.

Resultados

Foi analisado um total de 378 tucunarés, sendo 217 fêmeas e 161 machos. O comprimento padrão das fêmeas variou de 211 a 316 mm (média 254,78 mm) e dos machos, de 185 a 313 mm (média 264 mm), sendo a maior abundância nas classes de 115,0 a 135,0 mm para ambos os sexos (Figura 4).

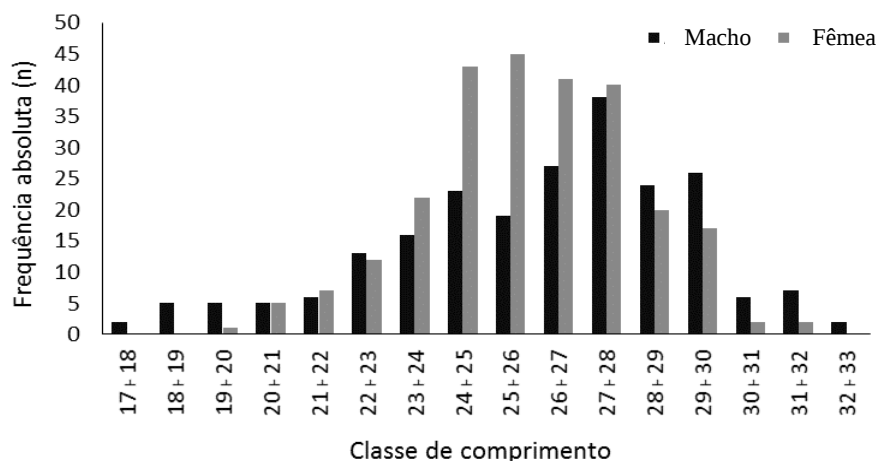


Fig.4: Distribuição por classe de tamanho de machos e fêmeas de *Cichla monoculus* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

Não houve diferença significativa na abundância entre os sexos para todos os indivíduos amostrados durante o período analisado (χ^2 calculado = 2,19 < χ^2 tabelado = 3,84), com proporção sexual total de 1,3 fêmeas para um macho. Com relação à análise mensal, foi observada diferença significativa ao longo do ano, sendo novembro e dezembro de 2012 e janeiro e junho de 2013, os meses com predominância de fêmeas, à exceção de julho de 2013, quando os machos predominaram (**Tabela 2**).

Tabela 2: Frequências mensais absoluta (n) e relativa (%) e nível de significância de proporção sexual (χ^2) de *Cichla monoculus* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

Meses	Frequência absoluta (n)		Frequência relativa (%)		χ^2
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	
Out/12	34	24	58,62	41,38	2,97
Nov/12	16	9	64,00	36,00	7,84*
Dez/12	29	9	76,32	23,68	27,70*
Jan/13	28	10	73,68	26,32	22,44*
Fev/13	9	12	42,86	57,14	2,04
Mar/13	12	14	46,15	53,85	0,59
Abr/13	21	29	42,00	58,00	2,56
Mai/13	23	18	56,10	43,90	1,49
Jun/13	27	28	49,09	50,91	0,03
Jul/13	19	31	38,00	62,00	5,76*
Ago/13	25	26	49,02	50,98	0,04
Set/13	14	14	50,00	50,00	0,00
Total	257	224	53,43	46,57	0,47

*Diferença significativa para $\chi^2 > 3,84$

O tamanho médio de primeira maturação (L_{50}) de fêmeas e machos foi estimado em 200 e 164,80 mm, respectivamente. Devido à falta de fêmeas imaturas na amostra, o

tamanho de primeira maturação foi estimado através do menor exemplar em início de maturação sexual (Fig. 5).

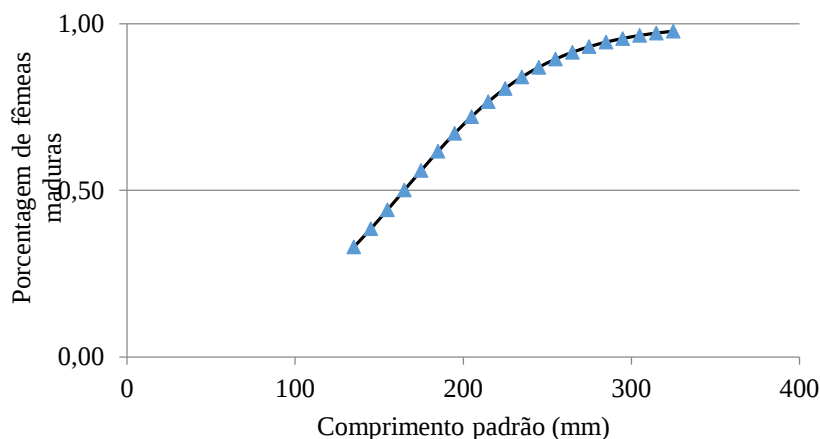


Fig. 5: Distribuição do tamanho médio do comprimento padrão (L_{50}) das fêmeas maduras *Cichla monoculus* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

Os estádios em maturação, maduro e desovado foram frequentes durante todo o período analisado para ambos os sexos, com menor frequência de machos maduros entre janeiro e março. A ocorrência de indivíduos em todos os estádios maturacionais, principalmente maduro e desovado, mostrou que esta espécie desova ao longo de todo o ano.

As relações gonadossomáticas apresentaram menores valores em novembro ($RGS_{\text{médio}} = 0,246$ e $0,036$ fêmeas/machos) e picos em janeiro ($RGS_{\text{médio}} = 5,93$ para as fêmeas) e fevereiro ($RGS_{\text{médio}} = 0,239$ para os machos), sendo observado um sincronismo entre os sexos. A RGS apresentou queda entre janeiro e março em ambos os sexos. Os valores médios do fator de condição (K) foram analisados separadamente para machos e fêmeas, em todo o período analisado. Ambos apresentaram valores mais elevados de K em março, decaindo a partir desse mês, mantendo-se baixos até setembro. Os valores médios da RGS foram relacionados com os valores médios de K , observando-se que seguiram uma mesma tendência, com picos no início do ano para ambos os sexos, apresentando um longo período reprodutivo (abril a janeiro).

Para o cálculo da fecundidade absoluta (FA) foram utilizadas 46 fêmeas maduras. A fecundidade absoluta de *C. monoculus* variou de 3.943 a 8.677 ovócitos, com média de 6.441,03 ovócitos ($dP = 105,20$), considerando os ovócitos vitelogênicos com diâmetros de 702,0 a 2.904,0 μm

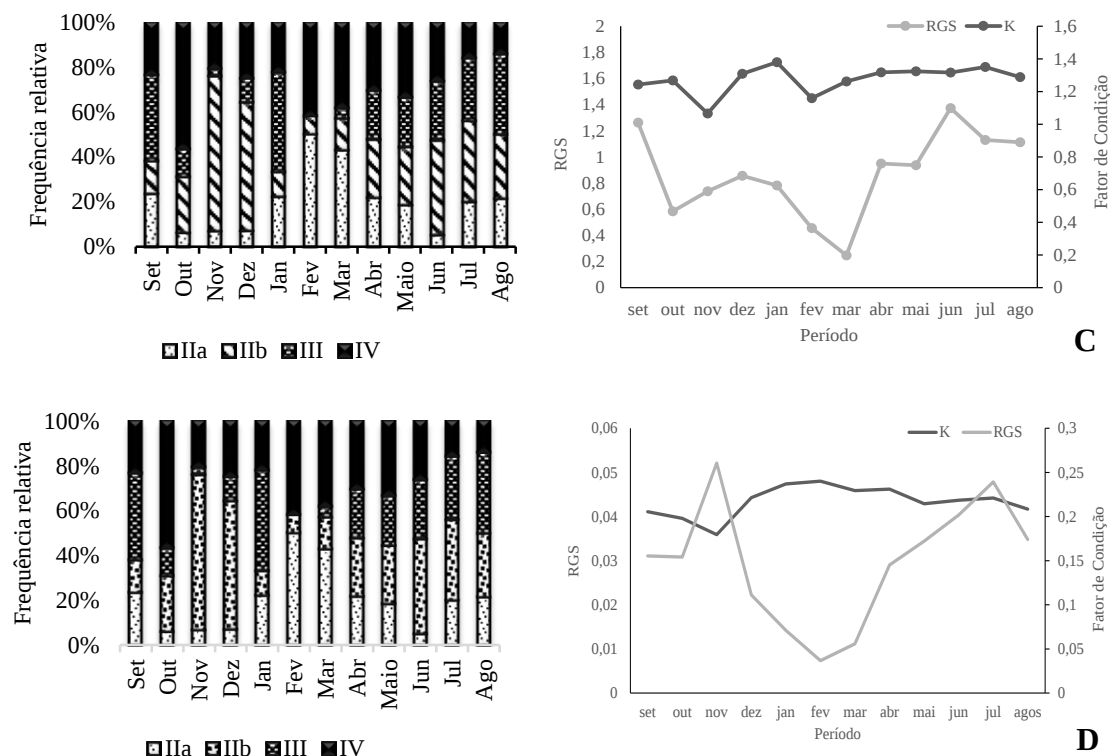


Fig. 6: Distribuição mensal da frequência relativa (%) dos estádios maturacionais de fêmeas (A) e machos (B); relação gonadosomática e fator de condição de fêmeas (C) e machos (D) de *Cichla monoculus* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

Relações morfométricas

Foram utilizados dados de 112 indivíduos, sendo 18 machos (CP 170 – 293 mm) e 27 fêmeas (CP 215 – 292 mm) com coloração cinza e 17 machos (CP 214 – 313mm) e 50 fêmeas (CP 200 – 296 mm) com coloração amarela. As amostras foram analisadas por razões morfométricas proporcionais entre o comprimento padrão (CP) e as oito medidas corpóreas (AC, APC, ACB, DO, DI, DPD, DPA e DPV) dos indivíduos amostrados e para *Cichla monoculus* descritas por Kulander e Ferreira (2006).

As razões morfométricas foram testadas quanto aos morfotipos por padrão de coloração (cinza e amarela) e quanto ao sexo dos indivíduos amostrados e quanto às espécies *Cichla monoculus*, *C. kelberi*, *C. piquiti* e *C. temensis* descritas por Kulander e Ferreira (2006) (**Tabela 3**). Verificou-se que não houve diferenças significativas para as sete variáveis analisadas individualmente e em relação ao sexo, aos morfotipos e às quatro espécies já descritas na literatura. Os caracteres merísticos se sobrepõem entre as espécies de *Cichla*, só apresentando diferenciação para o número de escamas das linhas

laterais superior e inferior e da linha mediana, quando confrontado com os dados da literatura para *C. monoculus*.

Quanto à análise de componentes principais, onde é possível subsidiar a seleção dos caracteres que melhor discriminam os morfotipos analisados, não foi observada a formação de grupos. Os quatros primeiros componentes principais explicam 83,68% da variação total (**Tabela 4**).

Tabela 3: Valores mínimo, máximo e média dos dados morfométricos, proporções corporais em relação a CP e dados merísticos dos morfotipos amarelo e cinza e de *Cichla monoculus*, *C. kelberi*, *C. piquiti* e *C. temensis* já descritas na literatura (Kullander & Ferreira, 2006). *p* corresponde à diferença significativa entre as razões. As abreviaturas dos dados morfométricos e merísticos constam da Tabela 1.

Espécies/Grupos		Morfotipo “Amarelo”	Morfotipo “Cinza”	<i>Cichla</i> <i>monoculus</i>	<i>Cichla</i> <i>kelberi</i>	<i>Cichla</i> <i>temensis</i>	<i>Cichla</i> <i>piquiti</i>	KW-H/ <i>P</i>
N		68	45	35	10	31	20	
CP	Mín.	172,0	44,3	48,1	45,5	65,2	48,1	
	Máx.	315,2	343,9	275,5	375,0	298,0	275,5	
	Média	261,3	200,5	212,0	193,1	192,6	212,0	
ACB	Mín.	21,1	21,2	22,0	18,2	20,9	22,0	0,6372
	Máx.	28,8	29,7	25,7	21,8	23,6	25,7	/
	Média	22,6	24,1	23,9	19,9	22,0	23,9	0,4247
APC	Mín.	10,2	9,9	11,3	8,6	10,0	11,3	0,7692
	Máx.	12,5	12,6	12,3	11,3	12,1	12,3	/
	Média	11,2	11,1	11,6	9,9	11,1	11,6	0,3824
AC	Mín.	19,9	27,1	28,7	21,3	20,9	28,7	0,9851
	Máx.	29,6	34,6	33,7	27,3	23,6	33,7	/
	Média	29,8	30,6	32,0	24,5	22,0	32,0	0,3232
DO	Mín.	6,0	6,8	7,4	6,0	6,7	7,4	1,5514
	Máx.	6,8	11,3	11,0	10,5	11,2	11,0	/
	Média	6,3	8,5	8,2	7,8	7,9	8,2	0,2157
DI	Mín.	8,8	7,7	7,9	6,2	6,9	7,9	0,1619
	Máx.	9,6	9,9	9,7	8,0	8,1	9,7	/
	Média	9,2	8,8	8,9	7,0	7,5	8,9	0,6874
Dados Merísticos	1ªdors.	14-16	15-16	15-16	15-16	14-16	15-16	
	2ªdors.	31-33	31-33	32-33	31-33	31-33	32-33	
	R.anal	11-12	10-12	11-12	10-12	11-12	11-12	
	R. peit.	13-14	13-14	13-14	14-16	14-15	13-14	
	LLA	37-51	35-51	40-48		42-56	40-48	
	LLP	32-38	31-39	30-38		32-41	30-38	
	E1	71-81	70-79	76-83	88-109	78-104	76-83	

Tabela 4. Autovalor, variância explicada (%) e variância explicada acumulada (%) dos cinco primeiros componentes principais.

Componentes	Autovalor	Variância Explicada (%)	Variância Explicada (% acumulada)
CP1	2,2206	27,7572	27,7572
CP2	1,9414	24,2679	52,0251
CP3	1,5548	19,4350	71,4601
CP4	0,9777	12,2214	83,6816
CP5	0,6759	8,4484	92,1300

Morfometria Geométrica

A análise para o tamanho do centróide também não apresentou significância para o sexo e os morfotipos ($p = 0,4644$), sugerindo que o tamanho médio dos indivíduos deste estudo não influenciou nas análises quanto à morfologia dos espécimes estudados.

Os resultados da análise de variáveis canônicas também não diferiram significativamente entre os exemplares do estudo, cor e estágio maturacional e cor e sexo. As funções 1 e 2 da análise da variação canônica, representaram 33,20% e 30,18%, respectivamente, com o valor acumulado de 60,38% entre as amostras da função discriminante para cor/ estágio maturacional e 49,21 e 32,31%, com valor acumulativo de 81,53% para cor/sexo. Na distribuição dos exemplares plotados, observou-se a sobreposição dos pontos, demonstrando claramente que os espécimes não se diferenciaram (**Fig 7**). A mesma tendência foi encontrada para a validação cruzada ($p < 0,05$), indicando que não houve interação entre sexos, coloração e entre coloração e estágio gonadal (**Tabela 5**). As taxas de classificação, quando confrontadas com os tipos, mostraram que menos de 50% dos indivíduos foram alocados corretamente (**Tabela 6**). As diferenças morfológicas entre os tipos podem ser visualizadas nos diagramas de dispersão e os ventores de deformação (**Fig. 8**), nos quais observa-se mudanças na orientação da boca (marcos 1 e 2), na disposição do dorso (marcos 6 e 14) e na disposição da nadadeira ventral (marcos 3, 4, 5 e 12). Os peixes com morfotipo amarelo exibiram um perfil mais alto, uma boca mais inferior e a nadadeira anal mais alongada enquanto o morfotipo cinza, possui o tipo mais fusiforme, uma boca mais superior e uma nadadeira anal mais curta.

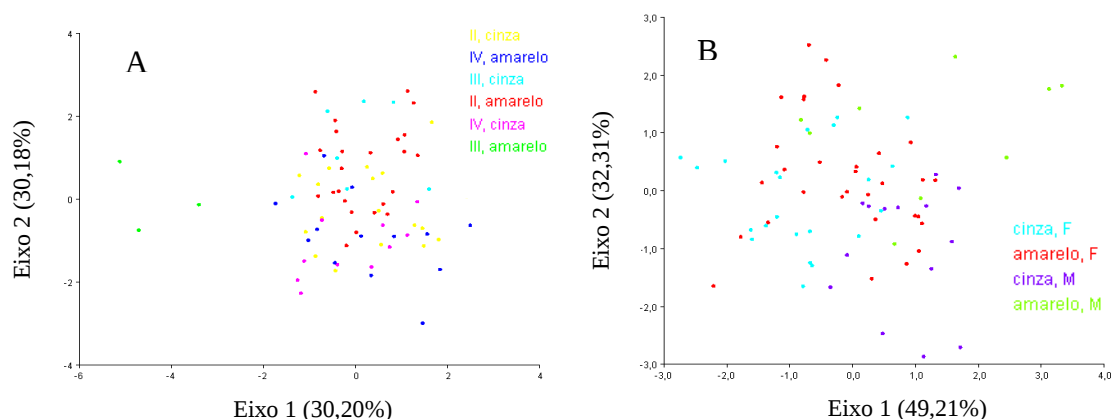


Fig. 7. Diagrama de ordenação da análise de variáveis canônicas (CVA) entre cor e estágio maturacional (A) e entre sexo e cor (B) dos morfotipos de *Cichla* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

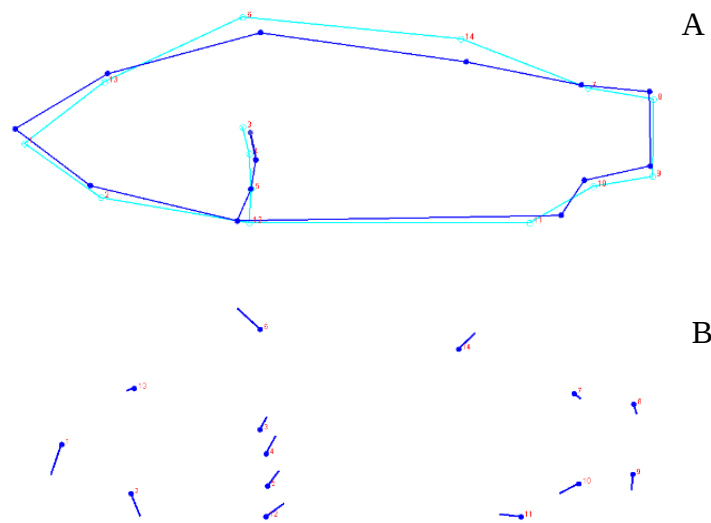


Fig 8: Resultado da classificação por validação cruzada da análise discriminante entre os exemplares de cores amarela e cinza de *Cichla monoculus* (A) e os vetores de deformação representando as alterações na forma do corpo (B). Morfotipo amarelo – linha azul claro: morfotipo cinza – linha azul escura.

Tabela 5: Resultados da distância de Mahalanobis, com os p-valores e t-quadrados das análises entre os morfotipos de *Cichla* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

Tipos	Distância de Mahalanobis	p-valor	t-quadrado
Sexos	1,4725	0,4847	34,7757
Cor	1,0688	0,8970	21,6451
II-III	2,2358	0,4847	40,3762
II-IV	1,4538	0,5915	32,2816
III-IV	3,8880	0,6446	106,7038
II – III x Amarela	15,5594	0,3661	645,5904
II – IV x Amarela	2,5325	0,7161	54,0816
III – IV x Amarela	4,9726	0,9071	60,2715
II – III x Cinza	13,7576	0,5360	953,9299
II – IV x Cinza	4,2910	0,6977	125,7113
III – IV x Cinza	2,2654	0,9965	21,9540
Fêmea x Cor	1,4190	0,9016	25,9095
Macho x Cor	15,6675	0,4270	15,6675

Tabela 6. Resultado da classificação por validação cruzada da análise discriminante entre os sexos (macho e fêmea), coloração (amarela e cinza) e estágio maturacional (I, II, III e IV) dos exemplares de *Cichla monoculus* capturados no Complexo Hidrelétrico de Paulo Afonso – BA.

Tipos		Total	% classificadas Corretamente
Sexo			58,49
	Fêmea-Macho	53 23	47,82
Coloração	Amarela	40	40,0
	Cinza	36	44,0
Est. maturacional X coloração	A-II	24	62,5
	A-III	3	33,3
	A-II	24	58,3
	A-IV	13	38,46
	A-III	3	66,66
	A-IV	13	92,30
	C-II	18	55,55
	C-III	7	14,28
	C-II	18	44,44
	C-IV	11	18,18
	C-III	7	14,2
	C-IV	11	54,54

Discussão

Não foi possível observar diferenciação nas análises morfométricas para os padrões de coloração entre os sexos, indicando que o dimorfismo sexual apresentado pelas espécies de *Cichla* se restringe à gibosidade (protuberância na região frontal) exibida pelo macho, apenas durante o período reprodutivo (Câmara et al., 2002; Chellapa et al., 2003; Souza et al. 2008). A diferença de tamanho entre os sexos é um dimorfismo sexual de ocorrência generalizada entre os peixes, com predomínio de fêmeas nas maiores classes de tamanho (Nikolsky, 1963), o que não foi encontrado entre os indivíduos analisados. Uma mesma espécie pode atingir diferentes comprimentos máximos, dependendo do ambiente onde está estabelecida, como observado por Winemiller *et al.* (2001), tendo a diferença na estrutura da população de três espécies de *Cichla* observadas na Venezuela sido atribuída a fatores ambientais, como disponibilidade de alimento e características do ambiente.

A variação da proporção sexual entre populações e entre diferentes períodos do ano constitui uma adequação que assegura a predominância de fêmeas quando as condições são mais favoráveis à produção de ovos (Nikolsky, 1963). Este parece ser o

caso de *C. monoculus* no presente trabalho que, apesar de não ter apresentado diferença na abundância de machos e fêmeas, houve uma predominância de fêmeas nos meses de maior atividade reprodutiva (novembro, dezembro e janeiro), fato corroborado pelos altos valores do RGS neste período. *Cichla* se reproduz preferencialmente no período chuvoso em seu habitat natural, (Gomieiro & Braga, 2004), embora quando observado em ambiente artificial, como lagos e represas, onde existe pouca variação fluviométrica, se reproduz ao longo de todo o ano (Câmara *et al.*, 2002; Normando *et al.*, 2009). Considerando a dinâmica reprodutiva dos dados encontrados no Complexo de Paulo Afonso, os indivíduos apresentam longo período reprodutivo, observado pela distribuição dos estádios maturacionais, não havendo sincronismo entre machos e fêmeas, mas apresentando picos de desova no final e início do ano.

Variações no fator de condição estão conectadas ao desenvolvimento das gônadas, sendo diretamente proporcional ao RGS (Le Cren, 1951). Valores elevados de K no fim da seca e início das chuvas podem estar relacionados à maior disponibilidade de alimento neste período (Silva & Viana, 2003). É notório que no verão, período de chuvas para a região nordeste do Brasil, há uma maior disponibilidade de alimento, possibilitando aos peixes um acúmulo de reservas, o que reflete numa melhor condição fisiológica. Diante dos resultados apresentados, pode-se inferir que os ambientes nos quais os tucunarés foram introduzidos disponibilizaram condições ideais para sua sobrevivência, como elevada transparência da água, altas temperaturas e ambiente lântico ideais para sua alimentação e reprodução. Adaptações fisiológicas de peixes também foram observadas em ambientes represados, a exemplo de mudança na tática reprodutiva de *Cichla monoculus*, com a alocação de recursos para utilização no crescimento ou na reprodução, em resposta às condições ambientais (Winemiller *et al.*, 2001).

O sucesso desta espécie em reservatórios do nordeste do Brasil é atribuído à capacidade reprodutiva e à plasticidade fenotípica que lhes permite se adaptar às condições climáticas adversas da região (Chellappa *et al.*, 2003). A redução do tamanho de primeira maturação e a variação da fecundidade para algumas espécies pode ser explicada como característica adaptativa, uma vez que essa é considerada uma das táticas adotadas pelas espécies no sentido de recuperar o equilíbrio populacional (Barbieri *et al.*, 2004). Nos reservatórios de Paulo Afonso, os aspectos reprodutivos apresentaram resultados antagônicos em relação aos trabalhos reportados para a espécie na região. A fecundidade registrada para *C. monoculus* em outro reservatório do

Nordeste (Campo Grande/RN) foi de valor médio de 3.960 ovócitos (Chelappa *et al.*, 2003), ou seja, a metade daquele estimado neste estudo. Já Gomiero & Braga (2002) registraram valores bem acima da média considerada para a mesma espécie (17.987 ovócitos). A fecundidade está relacionada ao tamanho do espécime, tendo sido estimado para o gênero, de 7 a 9 mil ovócitos em indivíduos com 45 cm de CP (Soares, 2013).

O mesmo ocorre para o tamanho de primeira maturação (L_{50}), com valores menores para fêmeas e machos, quando comparados aos valores de outras regiões. Por exemplo, em açude do Rio Grande do Norte, o L_{50} foi de 21,4 e 31,2 cm para fêmeas e machos, respectivamente (Câmara *et al.*, 2002); enquanto no reservatório de Volta Grande (MG), foi observado um L_{50} de 21,5 cm para ambos os sexos (Gomiero & Braga, 2002). Esta antecipação do tamanho de primeira maturação dos indivíduos de *Cichla monoculus* no Complexo de Paulo Afonso pode estar atrelada a uma adaptação, em resposta à sobrepesca (Vazoller, 1996). Em vários locais nos quais foi introduzido no Brasil (açudes e reservatórios), o tucunaré ocupa uma posição de destaque na produtividade pesqueira, tornando-se um importante recurso para a pesca profissional, de subsistência e esportiva em diversas regiões do país (Barros, 2004; Santos *et al.*, 2006).

Tais pressões ambientais podem estar causando modificações em parâmetros reprodutivos, como o L_{50} , assim como nos padrões de coloração dos indivíduos de *Cichla monoculus*, que não exibem uma uniformização que possa ser determinada de acordo com a chave de identificação da espécie proposta por Kulander & Ferreira (2006). Deste modo, a identificação tradicional (baseada em caracteres morfológicos e no padrão de coloração) não se mostrou eficaz neste estudo. Dentre as questões envolvidas, existia a possibilidade dos diferentes morfotipos de *Cichla monoculus* serem atribuídos aos diferentes estádios de maturação gonadal. Esta teoria foi corroborada por Reiss *et al.* (2012; 2015), que encontraram uma correlação significativa entre as variações morfológicas e os diferentes padrões de coloração de *Cichla temensis* e com o grau de maturação gonadal e as flutuações fluviométricas sazonais, considerando estes padrões como uma característica sexual secundária. Contudo, os nossos dados não revelaram interação da coloração de *C. monoculus* com o estágio maturacional, sugerindo que as mudanças morfológicas estão associadas apenas às pressões ambientais, antrópicas e/ou aos prováveis agrupamentos de espécimes, que não estariam se misturando devido a seu caráter territorialista, sobretudo durante em período reprodutivo.

Mesmo que caracteres merísticos sejam considerados um caráter taxonômico válido (Figueiredo & Menezes, 1978), as escamas da linha lateral e mediana dos peixes analisados apresentaram sobreposições, não sendo possível a identificação apenas com base nestes caracteres. Variações do número de escamas da linha lateral também foram encontradas para populações de *Astyanax scabripinnis* em dois riachos na bacia do São Francisco, sendo atribuídas ao ambiente (Sá *et al.*, 2004). Essas variações dentro de uma mesma população podem ser atribuídas a genótipos ou ser influenciadas durante a fase larval pela salinidade, concentração de oxigênio dissolvido e, principalmente, temperatura da água, (Strauss & Bond, 1990; Leary *et al.*, 1992).

A influência ambiental e/ou genética são apontadas como causas para a mudança na morfologia dos peixes frente às pressões seletivas (Souza & Barrella, 2009). Indivíduos de uma mesma espécie que habitam diferentes ambientes, ou estão sujeitos a diferentes condições ambientais, frequentemente exibem fenótipos diferentes (Martin, 1949; Gould & Johnston 1972; Brett, 1979; Meyer, 1987; Meyer, 1990). Fato semelhante foi reportado por Bourke *et al.* (1997) que encontraram variações na coloração do corpo e na dimensão das nadadeiras de exemplares de uma espécie de salmão em dois lagos canadenses, com características físicas diferentes.

Em alguns casos, também foram registradas mudanças morfológicas dos peixes introduzidas, ao serem transportados de sistemas fluviais para reservatórios, resultando em modificações fenotípicas, gerando corpos mais altos e cabeças menores em comparação à população de origem, podendo estas alterações serem transmitidas para os descendentes (Haas *et al.*, 2010; Franssen, 2011). Os ciclídeos também têm demonstrado enorme plasticidade frente às variações ambientais, como flutuação do nível hidrológico (lótico para lêntico) e alterações físicas (transparência), acarretando em alteração de seu fenótipo (Meyer, 1987; Wimberger, 1992; Kulander & Ferreira, 2006), a exemplo do “carijó”, tido como um provável híbrido de *Cichla kelberi* e *C. piquiti* (em reservatório do rio Paraná e Tietê, SP), por apresentar um morfotipo intermediário entre as duas espécies. Entretanto, através de ferramentas moleculares, este peixe foi identificado como um morfotipo de *C. piquiti* (Almeida-Ferreira *et al.*, 2011).

Barlow (2000) associa as mudanças do padrão de coloração da família Cichlidae ao comportamento territorialista, de desova, de maturação e de seleção sexual. A coloração é um caráter seletivo para várias espécies de ciclídeos, como aqueles dos lagos Malawi e Victoria (África), onde mais de 500 espécies desta família conviviam em simpatria (Seehausen *et al.*, 1997). A diversidade na cor e no padrão das listras

corporais, além do formato da mandíbula e do corpo têm influência na seleção sexual dos machos pelas fêmeas, contribuindo assim, para o isolamento reprodutivo (Seehausen *et al.*, 1997; Allender *et al.*, 2003; Joo *et al.*, 2013).

Os morfotipos encontrados nos reservatórios de Paulo Afonso, apesar de não apresentarem diferenças significativas quanto aos dados morfométricos e aos estádios maturacionais, apresentam padrões de coloração distintos, também se distinguindo quanto à forma do corpo. O morfotipo amarelo possui um corpo mais alto e a boca mais inferior em relação ao morfotipo cinza.

Com base nos dados expostos, pode-se inferir que os tucunarés de Paulo Afonso estão em processo de radiação adaptativa, seja por pressão ambiental ou como caractere seletivo de coloração corporal (devido ao seu comportamento territorialista). Se os indivíduos com coloração semelhante começarem a se reproduzir de maneira exclusiva, é provável que venham a divergir em espécies futuramente.

Referências

- Abreu, V. L. B. & J. W. B. Silva, 1987. Análise da Produção Pesqueira em cinco açudes públicos administrados pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), período de 1966 a 1985. Bol. Téc. DNOCS Fortaleza Brasil 45 (1/2): 27–50.
- Agostinho A. A.; Pelicice, F. M.; Petry A. C.; Gomes L.C. & Julio Junior, H. F. 2007. Fish diversity in the upper Paraná River basin: habitats, fisheries, management and conservation. *Aquat Ecosyst Health Manag* 10(2):174–186.
- Agostinho, A. A. 1994. Pesquisas, monitoramento e manejo da fauna aquática em empreendimentos hidrelétricos. In: Seminários sobre fauna aquática e o setor elétrico brasileiro, 1:38-61.
- Agostinho, A. A.; Thomaz, S. M. & Gomes, L. C. 2005. Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. *Conservation Biology*, 19(3): 646-652.
- Allender, C. J., Seehausen, O., Knight, M. E., Turner, G. F., & Maclean, N. 2003. Divergent selection during speciation of Lake Malawi cichlid fishes inferred from parallel radiations in nuptial coloration, 100(24).
- Almeida-Ferreira, G. C.; Oliveira, A.V.; Prioli, A. J. & Prioli, S. M. 2011. Spatiogenetic analysis of two invasive species of *Cichla* (Tucunaré) (Perciformes: Cichlidae) in the Paraná river basin. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 33(1):79-85.

- Alves, C. B. M.; Vieira F., Magalhães, A. L. B. & Brito, M. F. G. 2007. Impacts of non-native fish species in Minas Gerais, Brazil: Present situation and prospects. In: Bert, M. T. (Ed.). Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities. Springer, Berlin, 291-314.
- Araújo, A. S. de, Thuane, L., Lima, B. De, Silva, W., & Emília, M. 2012. Características morfométricas-merísticas e aspectos reprodutivos da sardinha de água doce, *Triportheus angulatus* (Osteichthyes: Characiformes) do rio Acauã do bioma Caatinga, 6648: 59–73.
- Barbieri, G.; Salles, F. A.; Cestarolli M. A.; Teixeira-Filho, A. R. 2004 Estratégias reprodutiva do dourado, *Salminus maxillosus* de do curimbatá, *Prochilodus lineatus* no Rio Mogi Guaçu, Estado de São Paulo, com ênfase nos parâmetros matemáticos da dinâmica populacional. Acta Scientiarum. Biological Sciences. Maringá, 26(2): 169-174.
- Barlow, G. W. 2000. The cichlid fishes: nature's grand experiment in evolution. Cambridge, Perseus Books. 352p.
- Barros, A. C. 2004. Evolução de fatores hidrobiológicos no reservatório de Itaparica, rio São Francisco (1987, 1989, 2002). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- Bookstein, F. L. 1991. Morphometric tools for landmark data. Geometry and Biology. New York: Cambridge University Press.
- Bookstein, F. L. 1991. Morphometric tools for landmark data. Geometry and Biology. New York: Cambridge University Press.
- Bourke, P.; Magnan, P.; Rodriguez, M. A. 1997. Individual variations in habitat use and morphology in brook charr. Journal of Fish Biology, 51(4): 783-794.
- Brett, J. R.; Groves, T. D. D. 1979. Physiological energetics. In: Hoar, W. S.; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. (Ed.) Fish physiology VIII. New York: Academic Press, 280-352.
- Briñez, B; Júlio JR., H. F.; Prioli, S. M. A. P.; Maniglia, T. C. & Prioli, A. J. 2013. Molecular identification of *Cichla* (Perciformes: Cichlidae) introduced in reservoirs in Southern Brazil. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 35(2): 233-239.
- Braga, F. M. S. 2001. Reprodução de peixes (Osteichthyes) em afluentes do reservatório de Volta Grande, Rio Grande, Sudeste do Brasil. Iheringia - Série Zoologia, 91(91): 67–74.
- Câmara, M. R., Chellappa, N. T. & Chellappa, S. 2002. Ecologia reprodutiva do *Cichla monoculus*, um ciclídeo amazônico no semi-árido do Rio Grande do Norte. Acta Limnologica Brasiliensia, 14 (2): 9-16.

- Câmara, M. R., N. T. Chellappa & S. Chellappa. 2002. Ecologia reprodutiva do *Cichla monoculus*, um ciclídeo amazônico no semi-árido do Rio Grande do Norte. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 14(2): 9-16.
- Carvalho, D. C.; Oliveira, D. A. A.; dos Santos, J. E.; Teske, P.; Beheregaray, L. B.; Schneider, H. & Sampaio, I. 2009. Genetic characterization of native and introduced populations of the neotropical cichlid genus *Cichla* in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 32(3): 601-607.
- Fabrin, T.; Simone, I.; Prioli, S.; Prioli, A. J. & Gasques, L. 2014. A utilização de marcadores na filogenia dos ciclídeos (Teleostei: Perciformes): uma análise Cienciométrica. *Enciclopédia Biosfera*, 10(18): 3118–3128.
- Fátima, M. de, Sá, P. de. & Sampaio, É. V. 2004. Caracterização morfológica de *Astyanax scabripinnis* em duas populações de riachos da bacia do rio São Francisco, 18(1), 5–16.
- Figueiredo, J. L. & Menezes, N. A 1978. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil II. Teleostei (1). São Paulo, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 110p.
- Fonteles-Filho, A. A. 1989. Recursos pesqueiros. Biologia e dinâmica populacional. Fortaleza, Imprensa Oficial do Ceará, 296p.
- Fontenele, O. 1950. Contribuição para o conhecimento da biologia dos tucunarés (Actinopterygii, Cichlidae), em cativeiro. Aparelho reprodutor. Hábitos de desova e incubação. *Revista Brasileira de Biologia*, 10(4): 503-519.
- Fornel, R. & Cordeiro-Estrela, R. F. 2015. Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. In: Marinho, J. R.; Hepp, L. U.; Fornel, R. (Org.). 1ed. Erechim: EDIFAPES, 101-120.
- Franssen, N. R. 2011. Anthropogenic habitat alteration induces rapid morphological divergence in a native stream fish. *Evolutionary Applications*, 4(6):791–804.
- Franssen, N. R. 2011. Anthropogenic habitat alteration induces rapid morphological divergence in a native stream fish. *Evolutionary Applications*, 4(6): 791–804.
- Gomes, J. H. C. & Verani, J. R. 2003. Alimentação de espécies de peixes do reservatório de Três Marias. Pp. 195- 222. In: Godinho, H.P.; Godinho, A.L. (Org.). Água, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte: PUC Minas.
- Gomiero L. M.; Villares Junior, G. A.; Naous, F. 2009. Reproduction of *Cichla kelberi* Kullander and Ferreira, 2006 introduced into an artificial lake in southeastern Brazil. *Braz. J. Biol* 69(1): 175-183.
- Gomiero, L. M. & Braga, F. M. S. 2004. Feeding of introduced species of *Cichla* (Perciformes, Cichlidae) in Volta-Grande reservoir, river Grande (MG/SP). *Braz. J. Biol.*, 64(4): 787-795.

- Gomiero, L. M., & Braga, F. M. S. 2004. Reproduction of species of the genus *Cichla* in a reservoir in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 64(3B): 613–624.
- Haas, T. C., Blum, M. J., & Heins, D. C. 2010. Morphological responses of a stream fish to water impoundment. *Biology Letters*, 6(6), 803–806.
- Huxley, J. S., and G. Teissier. 1936. Terminology of relative growth. *Nature* 137:780–781.
- Jepsen, D. B., K. O. Winemiller, D. C. Taphorn & D. Rodriguez Olarte. 1999. Age structure and growth of peacock cichlids from rivers and reservoirs of Venezuela. *Journal of Fish Biology*, 55: 433–450.
- Joo, D., Kwan, Y., Song, J., Pinho, C., Hey, J., & Won, Y. 2013. Identification of Cichlid Fishes from Lake Malawi Using Computer Vision, 8(10).
- Klingenberg, C. P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353–357.
- Kullander, S. O. & E. J. G. Ferreira. 2006. A review of the South American cichlid genus *Cichla* with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). *Ichthyol. Explor. Freshw*, 17: 289–398.
- Latini, A. O., M. Petrere Junior. 2004. Reduction of a native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. *Fish Manag Ecol*, 11(2): 71–79.
- Le Cren, E. D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. anim. Ecol.* London 20: 201–219.
- Leary, R. F.; Allendorf, F. W. & Knudsen, K. L. 1992. Genetic, environmental, and developmental causes of meristic variation in rainbow trout. *Acta Zoologica Fennica*, 191:77–93.
- Lleonart, J.; Taconet, M.; Lamboeuf, M. 2006. Integrating information on marine species identification for fishery purposes. *Marine Ecology Progress Series*, 316: 231–238.
- Magalhães, A. L. B., Sato, Y., Rizzo, E., Ferreira, R. M. A.; Bazzoli, N. 1996. Ciclo reprodutivo do tucunaré *Cichla ocellaris* (Schneider, 1801) na represa de Três Marias, MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 48(1):85–92.
- Martin, W. R. 1949. The mechanics of environmental control of body form in fishes. *Publ. Ot. Fish. Res. Lab.*, 70:1–91.
- Mendes, P. P. 1999. Estatística aplicada à aquicultura. Recife, Bagaço, 265p.
- Meyer, A. 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense*. *Evolution*, Lawrence, v. 41, p. 1357–1369.

- Meyer, A. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense*. *Evolution*, Lawrence, v. 41, p. 1357- 1369, 1987.
- Meyer, A.; Kocher, T. D.; Basasibwaki, P. & Wilson, A. C. 1990. Monophyletic origin of Victoria cichlid fish suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature* 347, 550–553.
- Nascimento, F. L.; Catella, A. C. Moraes, A. S. 2001. Distribuição espacial do tucunaré, *Cichla* sp. (Pisces, Cichlidae), peixe amazônico introduzido no Pantanal, Brasil. Corumbá: Embrapa Pantanal, 17p.
- Nunes, J. L. S. 2008. Morfometria Geométrica e Ecomorfologia de Labridae e Pomacentridae do Nordeste do Brasil, 125. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco.
- Oliveira, A. V.; Prioli, A. J.; Prioli, S. M. A. P.; Bignotto, T. S.; Júlio, H. F.; Carrer, H. & Prioli, L. M. 2006. Genetic diversity of invasive and native *Cichla* (Pisces: Perciformes) populations in Brazil with evidence of interspecific hybridization. *Journal of Fish Biology*, 69: 260-277.
- Oliveira, V. F.; Oliveira, A. V.; Prioli, A. J. & Prioli, S. M. A. P. 2008. Obtaining 5S rDNA molecular markers for native and invasive *Cichla* populations (Perciformes - Cichlidae), in Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 30(1): 83-89.
- Orsi, M. L. & Agostinho, A. A. 1999. Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da bacia do Rio Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(2): 557-560.
- Petrere Jr., M. 1985. A pesca comercial no rio Solimões-Amazonas e seus afluentes: análise dos informes do pescado desembarcado no mercado municipal de Manaus (1976-1978). *Ciência e Cultura*, 37(12): 1987-1999.
- Petrere Jr., M. 1996. Fisheries in large tropical reservoirs in South America. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, 2:111-133.
- Reis, S. F 1988. Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. *Revta Bras. Zool.*, 5 (4): 571-580.
- Reiss, P., & Grothues, T. M. 2015. Geometric morphometric analysis of cyclical body shape changes in color pattern variants of *Cichla temensis* Humboldt, 1821 (Perciformes: Cichlidae) demonstrates reproductive energy allocation. *Neotropical Ichthyology*, 13(1): 103–112.
- Reiss, P.; Able, K. W.; Nunes, M. S. & Hrbek, T. 2012. Color pattern variation in *Cichla temensis* (Perciformes: Cichlidae): Resolution based on morphological, molecular, and reproductive data. *Neotropical Ichthyology*, 10(1), 59–70.
- Rohlf, F. J. 2010. tpsDig - Digitize landmarks and outlines - version 2.16. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

- Rohlf, F. J.; Marcus, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. *TREE*, 8:129-132.
- Rohlf, F.J. TPSDig 2.16. Stone Brook New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York, 2010.
- Ruffino, M. L. 2008. Sistema integrado de estatística pesqueira para a Amazônia. *Journal of Aquatic Sciences*, 3: 193–204.
- Ruffino, M. L., Silva Junior, U. L., Soares, E. C., Silva, C. O., Barthem, R. B., Batista, V. S., Estupiñan, G, Isaac, V.J., Fonseca, S. & Pinto, W. 2005. Estatística Pesqueira do Amazonas e Pará - 2002. IBAMA, Manaus, 84 p.
- Ruffino, M. L., Silva Junior, U. L., Soares, E. C., Silva, C. O., Barthem, R. B., Batista, V. S., Isaac, V. J., Fonseca, S. & Pinto, W. 2006. Estatística Pesqueira do Amazonas e Pará - 2003. IBAMA, Manaus, 76 p.
- Sales, L. T. de. 2001. Avaliação dos peixamentos realizados em açudes das bacias hidrográficas dos rios Brígida, Terra Nova, Pajeú e Moxotó (Pernambuco-Passavante. Pro.Br, 90. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 103p.
- Sampaio, A. M. B. de M.; Kubitz, F.; Cyrino, J. E. P. 2000. Relação energia: proteína na nutrição de tucunaré. *Scientia Agricola*, 57(2): 213- 219.
- Santos, G. M.; Ferreira, E. J. G.; Zuanon, J. 2006. Peixes comerciais de Manaus. 1.ed. Manaus, AM: IBAMA/AM, Provárzea, 1: 144p.
- Santos, L. N. dos; Gonzalez, A. F. & Araújo, F. G. 2001. Dieta do tucunaré-amarelo *Cichla monoculus* (Bloch & Schneider) (Osteichthyes, Cichlidae), no Reservatório de Lajes, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18: 191–204.
- Sato, Y. & H. P. Godinho. 1988. A questão do tamanho de primeira maturação dos peixes de Três Marias, MG. Pp. 93-94. In: Associação Mineira de Aquicultura (Ed.). Coletânea de resumos dos encontros da Associação Mineira de Aquicultura (AMA): 1982-1987. Brasília, CODEVASF, 137p.
- Sato, Y. & H. P. Godinho. 1999. Peixes da bacia do rio São Francisco. Pp. 401-413. In: Lowe McConnell, R. H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo, Edusp. 534p.
- Seehausen, O., Alphen, J. J. M. Van, & Witte, F. 1997. Cichlid Fish Diversity Threatened by Eutrophication That Curbs Sexual Selection, 277(September).
- Silva, A. C. & Viana M. S. R. 2003. Época de desova do cangati, *Trachycorystes galeatus* (Linnaeus, 1756), no açude de Pereira de Miranda (Pentecoste – Ceará – Brasil). *Revista de Ciência Agronômica*, 34(1) 5-10.
- Souza, C. E. & Barrella, W. 2009. Atributos ecomorfológicos de peixes do sul do estado de São Paulo. *Revista Eletrônica de Biologia*, 2(1): 1–34.

- Stephen Jay Gould, S. J. & Johnston, R. F. 1972. Geographic Variation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3:457-498
- Strauss, R. E. & Bond, C. E. 1990. Taxonomic methods: morphology. In: Schreck, C. B. & Moyle, P. B. (Eds.) *Methods for fish biology*. Bethesda, American Fisheries Society, 109-140.
- Thé, A. P. G.; E. F. Madi & Nordi, N. 2003. Conhecimento local, regras informais e uso do peixe na pesca do alto- médio São Francisco, Pp. 389-406. In: Godinho, H. P. & Godinho, A. L. (org.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas.
- Val, A. L. & Almeida-Val, V. M. F. 1995. *Fishes of the Amazon and their environment. Physiological and biochemical aspects*. Springer, Heidelberg. 224 pp.
- Val, A. L.; Almeida-Val, V. M. F. & Randall, D. J., 1996. Physiology and biochemistry of the fishes of the peixes teleósteos: teoria e prática Amazon. In: Val, A. L.; Almeida-Val, V. M. F. & Randall, D. J. (eds.) *Physiology and biochemistry of the Fishes of Amazon*, 420p.
- Vazzoler, A. E. A .M. 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem, 169p.
- Viana, A. P.; Frédou, T. & Lucena, F. 2006. Aplicações de técnicas morfométricas no estudo da morfometria de pescada branca, *Plagioscion squamosissimus*, Heckel (1940), Perciformes, Sciaenidae, desembarcada na ilha de Mosqueiro-PA. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, 19:01-12, p.
- Wimberger, P. H. 1992. Plasticity of fish body shape. The effects of diet, development, family and age in two species of *Geophagus* (Pisces: Cichlidae). *Biol. J. Linnean Soc.*, 45: 197-218.
- Winemiller, K. O. 2001. Ecology of peacock cichlids (*Cichla* spp.) in Venezuela. *Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences*, 9:93-112.
- Zaret, T. M. 1980. Life history and growth relationships of *Cichla ocellaris*, a predatory South American cichlid. *Biotropica*, 12:144-157.

5. 2.1- Normas da Revista Neotropical Ichthyology

NEOTROPICAL ICHTHYOLOGY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS - March 2015

SCOPE AND POLICY

Neotropical Ichthyology is the official journal of the Sociedade Brasileira de Ictiologia (SBI). It is a peerreviewed periodical that publishes original articles on Neotropical freshwater and marine fish in the areas of Biochemistry, Biology, Ecology, Ethology, Genetics, Molecular Biology, Physiology and Systematics. Submitted manuscripts must be relevant contributions within their specific research area and must provide clear theoretical foundations of the subject, description of the objectives and/or hypotheses under consideration, in addition to sampling and analytical designs consistent with the proposal. Descriptive original works of high quality and relevance will be considered for publication. Casual observations, scientific notes or studies merely descriptive not associated with relevant theoretical issues will not be considered. Editor and Section Editor of the area will evaluate the submitted manuscript to determine if its content is suitable for publication in the journal Neotropical Ichthyology. The journal is open for submissions to all researchers on Neotropical ichthyofauna. Payment of publication costs may be required if none of the authors is a member of the SBI. Submission of manuscripts

Manuscripts must be submitted as digital files at. With each new manuscript submission, authors must include a cover letter with a statement that it constitutes original research and is not being submitted to other journals. In multi-authored papers, author responsible for submission must declare in the cover letter that all coauthors are aware and agree with the submission. All coauthors and respective mailing addresses and e-mails must be registered in the appropriate forms along with manuscript submission. During the submission, indicate the area of Ichthyology (Biochemistry and Physiology, Biology, Ecology, Ethology, Genetics and Molecular Biology or Systematics) to which the manuscript is referable. During the submission, indicate three possible referees (name, institution, country, and e-mail). Manuscripts that are not formatted according to instructions to authors will be returned to authors. Please, use the checklist bellow to review your manuscript before submission. Each item of the checklist must be filled and the file must be sent as supplemental file for review when submitting the manuscript. Only items not applicable for the article must be kept empty. Manuscripts submitted out of format, without some required file or in poor English will be returned without review.

FORM AND PREPARATION OF MANUSCRIPTS

Text must be submitted in English. Text must be in MS-Word or rtf file formats. Figures and tables must be uploaded separately as individual files. Do not duplicate information in the text, Figures and Tables. Submit only Figures and Tables that are strictly necessary. Supplementary files such as appendices, videos and others can be uploaded already formatted, as pdf or video files, and will be available only in the on line version. In taxonomic papers check also: [Neotropical Ichthyology taxonomic contribution style sheet](#).

Manuscript must contain the following items, in bold, unnumbered, not using pages break, in the cited order: Title, Abstract (in English), Resumo or Resúmen (in Portuguese or Spanish), Keywords, Running Head, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (optional), and References.

CHECKLIST FOR FORMATTING RULES

Please, be sure you have checked all the items carefully TITLE Title is presented in bold and lower case. In the title, subordinate taxa are separated by “:” as follows: “(Siluriformes: Loricariidae)”. New taxa names are not given/listed in title or abstract. Ex. “ A new species of loricariid catfish from the rio Ribeira de Iguape basin, Brazil (Ostariophysi: Siluriformes)”.

Title presents the scientific names (instead vernacular names) with authorship and year of description of the species, if applicable, and higher taxonomic categories in parentheses. Title reflects the contents of the paper.

AUTHORS

Only initial of authors names are in uppercase. First name of authors is not abbreviated. Superscript numerals are used to identify multiple addresses. The names of the last two authors of the manuscript are separated by “and”.

Ex. George S. Myers¹, Carl H. Eigenmann² and Rosa S. Eigenmann^{1,2}

AUTHORS ADDRESSES

Footnotes are not used.

Full mailing addresses and e-mail of all authors are provided, including institution name, ZIP codes, cities, states and countries. Corresponding author is informed by adding (corresponding author) after the email

address. Superscript numerals are used to identify multiple addresses. Names of Institutions and Departments are in the original spelling and not translated to English. RUNNING HEAD Provided suggestion for the running head up to 50 characters.

ABSTRACT

It is concise, presented in English and do not contain new taxa names or authorship.

RESUMO or RESUMEN It is in Portuguese or Spanish. It is an accurate translation of the Abstract in English.

KEYWORDS Five keywords are provided in English and in alphabetic order. Keywords do not repeat title words or expressions, or include Neotropical, that is the name of the Journal. Keywords mentions key of identification, if applicable.

TEXT

Text pages do not include headers, footers, or footnotes (except page number).

- Text is aligned to the left, not fully justified. All text is in Times New Roman font size 12. Text is not hyphenated. Lines are not numbered. The font “symbol” is used to represent the following characters: χ μ θ ω ε ρ τ ψ υ ι $\omicron$ α σ δ ϕ γ η ϕ κ λ $\ni$ ϖ β ν $\cong$ Θ Ω Σ Δ Φ

- Species, genera, and Latin terms (et al., in vitro, in vivo, vs., i.e, e.g.) are in italics. Scientific names are cited according to the ICZN (<http://iczn.org/iczn/index.jsp>). Authorship is given at the first reference of a species or genus. Spelling, current valid names and authorship of species have been checked in the Catalog of Fishes at <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>.

- Latin terms presented between the generic and specific names (cf., aff., etc., e.g. *Hoplias* cf. *malabaricus*) are not in italics. The genus name is always fully spelled in first appearance in the text, in the beginning of a sentence and at least once in the figure and table caption(s).

There are no underlined words.

Abbreviations used in the text are listed under

Material and Methods, except for those in common use (e.g., min, km, mm, kg, m, sec, h, ml, L, g). Measurements use the metric system A list of institutional acronyms is given in Material and Methods section OR a reference to a published paper with a list of acronyms is given in Material and Methods section. A list of catalog numbers of voucher specimens is furnished. Reference(s) for species identification and classification used is(are) provided. Geographic descriptors (rio, igarapé, arroio, córrego) are given in lower case, except when referring to a locality name (e.g., Municipality of Arroio dos Ratos, State of Rio Grande do Sul).

ACKNOWLEDGMENTS

Acknowledgments are concise and include both first and last names of persons. Names of Sponsor Institutions are listed in their original spelling and not translated to English.

TABLES

Tables are numbered sequentially in Arabic numerals according to the order of citation in the text Tables are cited in the text using the following formats: Table 1, Tables 1-2, Tables 1, 4. In Table caption, the word Table, its respective number and final dot after the number are in bold. Ex. “Table 1., and must end in period. Tables are constructed in cells using lines and columns, and not “tab” or “space”. Table caption is self-explicative and presenting, if applicable, at least once the genus name spelled out. Tables do not contain vertical lines or footnotes [content of footnotes must be included in the caption]. Captions are listed at the end of the manuscript, in the following format: Table 1. Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma speculiferum*. Approximate locations where tables should be inserted must be indicated along the right margin of the text.

FIGURES

Figures are numbered sequentially in Arabic numerals according to their citation in the text. Figures are cited in the text using the following formats: Fig. 1, Figs. 1-2, Fig. 1a, Figs. 1a-b, Figs. 1a, c. Citations of subsections of the figures are indicated by not capital letters both in the figure and caption. Citations of figures from cited articles are cited using the same formats as figures published in the present article, but not capitalized: e.g., according to the figs. 2b of Vari & Harold (2001). In Figure caption, the word Fig., its respective number and final dot after the number are in bold. Ex. “Fig. 1.” and must end in period. Figures are of high quality and definition. Figures are submitted as Figure files. Figures are not being submitted as images inserted in Word files. Text included in graphs and pictures have a font size compatible with reductions to page width (175 mm) or column width (85 mm). Composed figures are prepared to fit either the page (175 mm) or column width (85 mm).

Illustrations include either a scale or reference to the size of the item in the figure caption. Objects or illustrations are not included in the figure caption. Replace with text (e.g. “black triangle”) or represent its meaning in the figure itself. A list of figure captions is presented at the end of the manuscript file in the

following format: Fig. 1. _____ Approximate locations where figures should be inserted are indicated along the left margin of the text.

REFERENCES

References are cited in the following formats in the text: Eigenmann (1915, 1921) or (Eigenmann, 1915, 1921; Fowler, 1945, 1948) or Eigenmann & Norris (1918) or Eigenmann *et al.* (1910a, 1910b), always in chronological order after alphabetical order in case of more than one author cited. References do not include abstracts, technical reports or undergraduate monographs. Master Thesis or Ph.D. dissertations are listed only if necessary. References are not formatted with “tab” or “space”. References are rigorously ordered alphabetically. References published by two or more authors are listed in alphabetic order of the first author surname, then of second author surname, and successively. Journal names are given in full, not abbreviated. Italic or bold are not used for books titles and journals.

References rigorously match text citations.

Books are listed in the following formats:

Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). 1998. Phylogeny and classification of Neotropical fishes. Porto Alegre, Edipucrs, 603p.

Graça, W. J. & C. S. Pavanelli. 2007. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. Maringá, Eduem, 241p.

Chapters are listed in the following format:

Campos-da-Paz, R. & J. S. Albert. 1998. The gymnotiform “eels” of Tropical America: a history of classification and phylogeny of the South American electric knifefishes (Teleostei: Ostariophysi: Siluriphysi). Pp. 401-417. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). Phylogeny and classification of Neotropical fishes. Porto Alegre, Edipucrs.

Thesis/Dissertations are listed in the following format:

Langeani Neto, F. 1996. Estudo filogenético e revisão taxonômica da família Hemiodontidae Boulenger, 1904 (sensu Roberts, 1974) (Ostariophysi, Characiformes). Unpublished Ph. D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, 171p.

Articles are listed in the following format:

Vari, R. P., C. J. Ferraris Jr. & M. C. C. de Pinna. 2005. The Neotropical whale catfishes (Siluriformes: Cetopsidae: Cetopsinae), a revisionary study. Neotropical Ichthyology, 3: 127-238. Internet sources are listed in the following format: Author(s). 2002.

Title of website, database or other resources,

Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access – dd Month yyyy, e.g. 20 August 2013).

Softwares available online are listed in the following format:

Author(s). 2003. Title of the Software (Version) [Software], Publisher name and location (if indicated). Available from <http://www.xxxx/> (Date of access – dd Month yyyy, e.g. 20 August 2013).

Further information Contact Editor at neoichth@nupelia.uem.br