

EVOLUÇÃO DE ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS E TAXAS DE
DIVERGÊNCIA EM POPULAÇÕES DE *POECILIA VIVIPARA*
(TELEOSTEI, POECILIIDAE) NA PLANÍCIE QUATERNÁRIA DA
REGIÃO NORTE FLUMINENSE.

JOSÉ LOUVISE GOMES JUNIOR

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF.
CAMPOS DOS GOYTACAZES -RJ
DEZEMBRO DE 2008

EVOLUÇÃO DE ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS E TAXAS DE
DIVERGÊNCIA EM POPULAÇÕES DE *POECILIA VIVIPARA*
(TELEOSTEI, POECILIIDAE) NA PLANÍCIE QUATERNÁRIA DA
REGIÃO NORTE FLUMINENSE.

JOSÉ LOUISE GOMES JUNIOR

Tese apresentada ao Centro de
Biotecnologia e Biociências, da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em
Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Leandro Rabello Monteiro

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF.
CAMPOS DOS GOYTACAZES -RJ
DEZEMBRO DE 2008

EVOLUÇÃO DE ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS E TAXAS DE
DIVERGÊNCIA EM POPULAÇÕES DE *POECILIA VIVIPARA*
(TELEOSTEI, POECILIIDAE) NA PLANÍCIE QUATERNÁRIA DA
REGIÃO NORTE FLUMINENSE.

JOSE LOUVISE GOMES JUNIOR

Tese apresentada ao Centro de
Biotecnologia e Biociências, da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em
Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 18 de dezembro de 2008

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Veiga de Carvalho (Doutor em Geociências) – UENF

Dr. Marcelo Rodrigues Nogueira (Doutor em Biologia Animal) - UFRRJ

Dr. Mauro José Cavalcanti (Doutor em Ciências Biológicas) - UERJ

Prof. Dr. Leandro Rabello Monteiro (Doutor em Zoologia) -The University of Hull
Orientador

Dedico este trabalho aos meus pais,
José Louvise e Maria de Fátima
Mendes, que com muito amor,
ensinaram-me a contar os meus dias de
maneira a alcançar um coração sábio.

Agradecimentos

A Deus, que debaixo de Tuas mãos me guardou e me guiou. Tu és único e incomparável, Senhor. Minha alma exulta de alegria em Ti.

À minha irmã, Janike Mendes Louvise Gomes, pelo amor e confiança que nos une.

Ao meu orientador Professor Leandro Rabello Monteiro por ter me dado a chance de realizar este trabalho e por ter contribuído na minha formação intelectual e moral. Minha eterna gratidão.

Ao Dr. David Reznick (University of California at Riverside) pelos conselhos e por ter me dado a oportunidade de trabalhar com ele;

À Rachel pela amizade e companheirismo durante estes anos;

Aos meus tios Francisco, Lúcia, Ivete, Maria Amélia e Marilza, meus primos e amigos pelo incentivo;

Ao Sr. Antônio Carlos de Oliveira Pessanha que me ajudou na coleta das amostras; à Taísa por ter me ajudado nas fotografias e no estudo de *common garden*; à Luiggia, ao Douglas, ao Jomar e ao Leon que muito me ajudaram no estudo de *common garden* e nas fotografias dos filhotes;

A Marcelle, ao Fábio e a Natália pela ajuda nas tarefas do laboratório e pela amizade que se cresceu entre nós;

Ao Sérgio Ivan Perez pela discussão de textos e contribuição na minha vida acadêmica e moral

À Professora Ana Paula Madeira Di Benedetto e à Professora Marina Satika Suzuki, que desde da minha graduação fazem parte da minha formação, tanto nas disciplinas quanto na participação de bancas. À Professora Ilana Rosental pelo incentivo na reta final do meu trabalho. Muito obrigado.

Aos Professores Carlos Ramón Ruiz-Miranda e Marina S. Suzuki por aceitarem fazer parte do meu Conselho Acadêmico;

Ao Professor Carlos Eduardo Veiga de Carvalho, por ter participado da banca de defesa deste projeto e por aceitar fazer parte da banca examinadora;

Ao Dr. Mauro José Cavalcanti (UERJ), ao Dr. Marcelo Rodrigues Nogueira (UFRRJ) e ao Dr. Alexandre Gomes Ferreira (Petrobras) por terem aceitado fazer parte da banca examinadora;

Ao curso de Ecologia e Recursos Naturais pela concessão da bolsa de doutorado (Capes) e ao CNPq e a FAPERJ por terem financiado este projeto;

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Sumário

Resumo	VIII
Abstract	X
Índice de Figuras	XII
Índice de Tabelas	XVI
Introdução	1
Objetivo, Hipóteses de trabalho e Justificativa	4
Material e Métodos	
Área de Estudo	6
Métodos de Laboratório	
• <u>Variação espacial nas características reprodutivas</u>	11
• <u>Experimento de ambiente comum</u>	15
• <u>Taxas de divergência entre as populações</u>	18
Resultados	
• <u>Variação espacial nas características reprodutivas</u>	21
• <u>Experimento de ambiente comum</u>	36
• <u>Variação nas taxas de divergência entre as populações</u>	43
Discussão	
• <u>Variação espacial nas características reprodutivas</u>	52
• <u>Experimento de ambiente comum</u>	56
• <u>Variação nas taxas de divergência entre as populações</u>	60
Conclusões	63
Bibliografia	65

Resumo

A teoria da história de vida procura explicar através da análise de estratégias reprodutivas, como uma população se adapta a condições ambientais específicas. As características da história de vida (idade e tamanho de maturação, investimento reprodutivo, sobrevivência e fecundidade) recebem influência intrínseca, como restrições genéticas e permutas adaptativas, e extrínseca como impactos ecológicos que atuam diretamente sobre a sobrevivência e fecundidade dos indivíduos. O peixe guaru (*Poecilia vivipara*) é amplamente distribuído nas lagoas da Região Norte Fluminense e sua tolerância a extremos ambientais é proporcionada pela variação morfológica e reprodutiva entre as populações. As lagoas da Região Norte Fluminense foram formadas recentemente (máx. 4000 anos) e caracterizam-se por estarem sujeitas à influência da salinidade na composição vegetal e ictiofaunística. As lagoas com maior salinidade apresentam margens sem macrófitas e populações reduzidas de peixes piscívoros (predadores de *P. vivipara*). Os locais com baixa salinidade são caracterizados por apresentarem macrófitas em suas margens e pela alta densidade de peixes piscívoros. O objetivo principal deste trabalho é analisar a evolução das estratégias reprodutivas e as taxas de divergência em populações de *Poecilia vivipara* na planície quaternária da Região Norte Fluminense, testando hipóteses relacionadas aos processos evolutivos e à adaptação das populações aos extremos ambientais encontrados na região. Os espécimes foram capturados em 12 locais (8 lagoas) e de cada população foram amostradas aleatoriamente 100 fêmeas em idade reprodutiva. Neste estudo foram medidos o tamanho corporal foi determinado como o tamanho do centróide (uma variável geométrica de tamanho generalizado) ou alternativamente como o peso seco dos indivíduos, a fecundidade (número de embriões), tamanho dos embriões e o investimento reprodutivo (proporção do peso da fêmea determinada pelo peso da ninhada). Os resultados mostraram que as populações variam significativamente nos parâmetros reprodutivos, sendo que os indivíduos de locais com maior salinidade, em geral apresentam maiores tamanhos corporais, maior fecundidade, maiores embriões e menor investimento reprodutivo. As populações apresentam diferentes estratégias

reprodutivas influenciadas diretamente pelos gradientes ambientais. Um experimento foi realizado, onde peixes provenientes de lagoas com diferenças ambientais extremas (salinidades: 0 ppm na Lagoa do Campelo e 30 ppm na Lagoa do Açú) foram criados em ambiente comum. Este permitiu a determinação da base genética da permuta entre reprodução e crescimento. Mesmo sendo criados em água doce, os indivíduos provenientes da lagoa com água salgada apresentaram maior taxa de crescimento, maior idade de maturação e maior tamanho corporal final. Uma comparação dos padrões de divergência observados em laboratório e na natureza sugeriu a existência de efeitos plásticos relativos à salinidade e efeitos genéticos, provavelmente causados por diferenças na pressão de predação nos extremos ambientais (menor predação em água doce). A recente história geológica das lagoas possibilitou o cálculo de taxas de divergência para as características reprodutivas e de crescimento. A comparação das taxas observadas com as esperadas de acordo com um modelo de evolução por deriva genética permitiu inferir a seleção direcional como principal mecanismo evolutivo durante a divergência de estratégias reprodutivas de *P. vivipara* colonizando diferentes ambientes nas lagoas da Região Norte Fluminense.

Abstract

Life history theory explains, through the analysis of reproductive strategies, how a population adapts to specific environmental conditions. The life history characters (e.g. age and size at maturity, reproductive allotment, survival and fecundity) are influenced by intrinsic factors (trade-offs among life-history traits and lineage specific constraints) and extrinsic factors (ecological impacts on survival and reproduction). The livebearing fish guaru (*Poecilia vivipara*) is widely distributed on the lagoons of Northern Rio de Janeiro state, and its tolerance to extreme environmental differences is supported by extensive morphological and reproductive variation among populations. These lagoons were recently formed (max. 4000 years) and present an influence of salinity in the plant and fish community structure. The lagoons with higher salinity have bare margins without macrophytes and a reduced population of piscivorous fish (the main predators of *P. vivipara*). On the other hand, the freshwater sites present higher densities of macrophytes along the margins and abundant piscivorous fish populations. The main objective of this work is to assess the evolution of life history strategies and divergence rates in populations of *P. vivipara* on the quaternary plains of Northern Rio de Janeiro state, testing hypotheses related to evolutionary processes and the adaptation of populations to environmental extremes in the region. The specimens were captured in 12 sites (8 lagoons) and from each population, 100 reproducing females were randomly sampled. The life history traits measured were body size (measured as geometric size or dry weight), fecundity (number of offspring), offspring size and reproductive allotment. The results showed that life history patterns varied significantly among populations. In general, fish from higher salinity sites presented larger body sizes, greater fecundity, larger offspring and smaller reproductive allotment. Different life history strategies were directly influenced by the environmental gradient. A common garden experiment was undertaken, where fish originating from lagoons with extreme environmental differences (salinity 0 ppt at Campelo Lagoon and 30 ppt at Açú Lagoon) were raised in the same environment (freshwater). This experiment allowed for an assessment of the genetic basis of the trade-off observed between reproduction and growth.

Although raised in freshwater, the fish originating from the salt water lagoon presented a larger growth rates, older ages at maturation and larger final body sizes. A comparison of the divergence patterns observed among the captive and natural populations allowed for the identification of plastic phenotypic effects due to salinity and genetical effects, probably caused by differences in predation regimes at the extreme environments (less predation in freshwater). The recent geological history of the lagoons allowed for the calculation of divergence rates for the life history traits. The comparison of observed divergence rates with expected rates according to a model of evolution by genetic drift suggested directional selection as the main evolutionary mechanism acting during the divergence of life history strategies of *P. vivipara* populations colonising different environments in Northern Rio de Janeiro lagoons.

Índice de Figuras

Figura 1. Localização geográfica das lagoas onde as amostras foram coletadas. Os números no mapa são correspondentes aos números das Lagoas na Tabela 1.10

Figura 2. Distâncias utilizadas no cálculo do tamanho do centróide. A bola cinza no centro mostra a média das coordenadas X e Y (centróide), e as setas entre os marcos anatômicos e o centróide indicam as distâncias do marco ao centróide. 1- extremidade anterior da boca; 2- articulação da mandíbula; 3- ponto central da íris do olho; 4- ponto superior esquerdo da abertura do opérculo; 5- ponto do início da abertura do opérculo; 6- ponto superior direito da abertura do opérculo; 7- inserção da nadadeira peitoral; 8- inserção da nadadeira ventral; 9- inserção da nadadeira anal nas fêmeas; inserção do gonopódio nos machos; 10- inserção anterior da nadadeira dorsal; 11- inserção inferior da nadadeira caudal; 12- inserção superior da nadadeira caudal.13

Figura 3. Fotografia mostrando os diferentes estágios embrionários com suas características de representação. **Foto A** – estágio embrionário 2; **Foto B** – estágio embrionário 3; **Foto C** – estágio embrionário 4; **Foto D** – estágio embrionário 5.14

Figura 4. Diagrama box-plot para variação na fecundidade. As linhas horizontais mais grossas representam as medianas, as caixas os intervalos interquartil (25-75%) e as linhas tracejadas representam pontos extremos (outliers). A cor cinza representa locais com salinidade > 0. As chanfraduras nas caixas representam intervalos de confiança para as medianas e servem como um teste gráfico para as diferenças entre as mesmas. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior. 26

Figura 5. Diagrama de dispersão entre a fecundidade e o Tamanho do corpo (tamanho do centróide) para cada população. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior. 27

Figura 6 Diagrama box-plot para variação no tamanho dos embriões. As linhas horizontais mais grossas representam as medianas, as caixas os intervalos interquartil (25-75%) e as linhas tracejadas representam pontos extremos (outliers). A cor cinza representa locais com salinidade > 0. As chanfraduras nas caixas representam intervalos de confiança para as medianas e servem como um teste gráfico para as diferenças entre as mesmas. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior. 29

Figura 7. Diagrama de dispersão entre o tamanho dos embriões e o estágio embrionário em cada população. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior. 30

Figura 8. Diagrama de dispersão para as médias corrigidas de investimento reprodutivo e coeficientes de regressão parciais entre investimento reprodutivo, fecundidade, estágio embrionário e tamanho das fêmeas em relação à salinidade dos locais amostrados. 34

Figura 9. Investimento reprodutivo médio corrigido para as covariáveis fecundidade, estágio embrionário e tamanho das fêmeas, mostrando variação e intervalos de confiança de 95% para cada amostra. . **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior. **35**

Figura 10. Curvas de crescimento de Gompertz para indivíduos criados em ambiente comum (água doce), nascidos de fêmeas capturadas na natureza. **40**

Figura 11. Diagramas *box-plot* para os intervalos de confiança de 95% calculados por *bootstrap* para os parâmetros das curvas de crescimento das duas populações. **40**

Figura 12. Comparação dos intervalos de confiança de 95% para comprimentos assintóticos de populações de laboratório e 95% de confiança baseados em amostras coletadas na natureza. AL - Barra do Açú no cativeiro, AN - Barra do Açú da natureza, CL - Campelo no cativeiro, CN - Campelo da natureza.**41**

Figura 13. Curvas de sobrevivência ajustadas para as populações provenientes das Lagoas do Campelo (azul) e Barra do Açú (vermelho), com respectivos intervalos de confiança de 95%.**42**

Figura 14. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre a fecundidade, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).**45**

Figura 15. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre o tamanho dos embriões, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).46

Figura 16. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre o investimento reprodutivo, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).47

Figura 17. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre o peso seco das fêmeas, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).48

Figura 18. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre os tamanhos assintóticos derivados do modelo de crescimento, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 3.8 (F crítico para 1 e infinitos graus de liberdade).49

Figura 19. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre os pontos de inflexão (como *proxy* para a idade de maturação) derivados do modelo de crescimento, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da

hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 3.8 (F crítico para 1 e infinitos graus de liberdade).50

Figura 20. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre as taxas de crescimento máximo derivadas do modelo de crescimento, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 3.8 (F crítico para 1 e infinitos graus de liberdade).51

Índice de Tabelas

Tabela 1 Pontos de amostragem de <i>Poecilia vivipara</i> em lagoas da região Norte Fluminense e números amostrais (n).	9
Tabela 2. Análise de covariância para a fecundidade usando o tamanho corporal como covariável e local como variável independente.	25
Tabela 3. Análise de covariância para o tamanho dos ovos usando a fecundidade, o tamanho corporal e o estágio embrionário como covariáveis e local como variável independente. O coeficiente de determinação ajustado do modelo é $R^2 = 0.94$	28
Tabela 4. Análise de covariância para o investimento reprodutivo usando a fecundidade, o tamanho corporal (peso seco da fêmea) e o estágio embrionário como covariáveis e local como variável independente. O coeficiente de determinação ajustado do modelo é $R^2 = 0.958$	31
Tabela 5. Coeficientes parciais de regressões múltiplas para cada amostra, de acordo com a análise de covariância. O investimento reprodutivo foi a variável dependente, a fecundidade, o estágio de desenvolvimento e o peso seco da fêmea foram as covariáveis e o local de amostragem a variável independente.	32
Tabela 6. Critérios de Informação Akaike para o ajuste dos modelos de crescimento para cada população.	39

Introdução

A teoria da história de vida ou bionomia procura explicar, através do estudo do ciclo reprodutivo, como uma população se adapta aos agentes de seleção (Stearns, 1992; Stearns 2000; Roff, 2002). O seu estudo é de grande relevância para a compreensão dos processos adaptativos por estar relacionado diretamente com o valor adaptativo (*fitness* – uma combinação entre fecundidade e sobrevivência) dos indivíduos no processo de seleção natural. Desta forma, a evolução das características que compõem a história de vida de uma população e a sua capacidade de ajuste ao meio determinam toda a dinâmica evolutiva de uma população ou da espécie (Stearns, 1992; Stearns 2000; Roff, 2002).

As características que compõem a história de vida (e.g., idade e tamanho de maturação, investimento reprodutivo, sobrevivência e fecundidade) recebem influência intrínseca, como limitações genéticas e permutas adaptativas, no qual uma característica recebe maior investimento energético que outra, e extrínseca como impactos ecológicos (predação) que atuam diretamente sobre a sobrevivência e fecundidade dos indivíduos em diferentes idades, tamanhos e estágios (Stearns e Hoekstra 2000; Stearns 2000). A seleção natural, causada por diferentes agentes em geral, produz uma combinação otimizada de características reprodutivas geneticamente determinadas que maximiza o valor adaptativo dos indivíduos. Essa combinação muitas vezes envolve relações inversas (permutas) ou diretas (potenciação), e é chamada estratégia reprodutiva (Roff, 2002). Assim, o estudo das variáveis da história de vida é fundamental para a compreensão das características reprodutivas ótimas de uma população em um determinado ambiente (Reznick 1985).

A fecundidade é um dos mais importantes parâmetros bionômicos, seja por determinar a capacidade reprodutiva dos indivíduos ou, pela sua conexão com os outros parâmetros da história de vida (como idade e tamanho de maturação) originando permutas (trade-offs) na estratégia reprodutiva dos indivíduos no sentido de maximizar o valor adaptativo. A fecundidade está em muitos organismos (como nos peixes poecilídeos), associada positivamente com o tamanho corporal (Cheong et al., 1884, Constanz 1989; Reznick 1981; Meffe 1985; Machado et al., 2002). O

tamanho dos ovos e o tamanho dos embriões são componentes importantes das estratégias reprodutivas, determinando, em parte, a sobrevivência das ninhadas em algumas espécies (Stearns e Hoekstra 2000). Essas características variam entre populações de uma mesma espécie, refletindo pressões ambientais, e, assim como a fecundidade, são positivamente correlacionadas com o tamanho corporal das fêmeas (Reznick 1981; Meffe 1985; Fletcher e Wootton 1995, Machado et al., 2002; Einum et al., 2003). O investimento reprodutivo é uma medida ecologicamente relevante por ser a variável que determina quanta energia um indivíduo investe na reprodução e por estar inversamente relacionado ao crescimento somático e ao tempo de maturação em algumas populações (Reznick e Miles 1989). O estudo destas características reprodutivas é importante porque elas variam com a idade e com o tamanho corporal do indivíduo (Stearns e Hoekstra 2000).

A variação nas estratégias reprodutivas é importante para o estudo dos processos evolutivos envolvendo populações de uma mesma espécie que vivem em ambientes diferentes e que estão sob diferentes tipos de pressões seletivas (Downhower *et al.*, 2000; Reznick e Miles 1989; Reznick *et al.*, 1990; Reznick *et al.*, 1997; Stearns 2000; Stearns e Hoekstra 2000). Dentro de cada estratégia reprodutiva, a formação de permutas adaptativas (*trade-offs*) é comumente percebida quando uma mudança num parâmetro reprodutivo que, aumenta o valor adaptativo, é acompanhado de uma mudança num outro parâmetro que diminui o valor adaptativo (Stearns, 2000, Roff, 2002). Desta forma, as permutas adaptativas apresentam um papel central nos estudos de história de vida pela sua importância na manutenção das populações em determinados ambientes (Partridge e Harvey, 1985, Reznick, 1985; Stearns, 1989; Stearns, 1992; Stearns, 2000, Roff, 2002). Entre as relações de permutas adaptativas mais comumente verificadas estão aquelas que envolvem: (I) a relação entre a reprodução imediata e a sobrevivência, (II) a relação entre a reprodução ou o crescimento somático, (III) e a relação entre a fecundidade e o tamanho dos ovos (Stearns, 1992; Roff, 2002).

A diferenciação entre populações que ocupam ambientes diferentes pode acontecer como uma resposta imediata do genótipo ao ambiente (plasticidade fenotípica ou norma de reação – Trexler, 1989) ou como uma resposta adaptativa ao longo de gerações (Reznick et al., 1997). Para determinar a natureza da divergência entre populações é necessário separar as diferenças genéticas das ambientais,

mantendo os organismos em um ambiente comum, em experimentos conhecidos como *common garden* (Conover e Schultz, 1997; Arendt e Reznick, 2005).

Uma vez determinada a proporção das contribuições genética e ambiental para a divergência entre populações ocupando diferentes ambientes, é importante procurar compreender o processo evolutivo (deriva genética, seleção natural) por trás da diferenciação. Testes utilizando taxas de divergência têm sido amplamente aplicados em estudos que procuram elucidar as causas e os processos de divergências morfológicas entre populações e espécies (Spicer 1993; Hendry e Kinnison 1999; Kinnison e Hendry 2001; Monteiro e Gomes-Jr, 2005, Peres e Monteiro, 2008). Segundo os modelos neutros de modificação esperada (Lande, 1977; Turelli, 1988), é possível estimar a quantidade de variação esperada para o caso evolutivo mais simples, que é a evolução por deriva genética, de acordo com parâmetros genéticos e populacionais (Spicer, 1993; Monteiro e Gomes-Jr, 2005). Os testes de taxas de divergência mais conhecidos são o de herdabilidade constante de Lande (1977), o teste de equilíbrio mutação-deriva (Turelli et al., 1988) e o delta de Lynch (1990). Estes comparam a variação observada entre espécies ou populações com a variação esperada segundo um modelo de deriva genética, calculada a partir de parâmetros genéticos e demográficos, como herdabilidade, tamanho populacional efetivo, número de gerações transcorrido desde o isolamento, variação aditiva causada por mutação. Quando a magnitude de variação entre grupos observada é maior que a esperada segundo o modelo nulo, o teste sugere a ação da seleção direcional, ao passo que se a magnitude é menor que a esperada, o teste sugere que a seleção estabilizadora é responsável por manter os grupos mais semelhantes que o esperado (Spicer, 1993; Diniz-Filho, 2000). Devido ao fato de que a estimação de alguns parâmetros (como tamanho populacional efetivo, herdabilidade, número de gerações) pode ser problemática em relação a exatidão, recomenda-se a utilização de estimativas conservadoras para o cálculo das taxas de divergências (Turelli et al, 1988; Spicer, 1993; Monteiro e Gomes-Jr, 2005).

Os poecilídeos são considerados um sistema modelo em estudos de história de vida por possuírem características particulares como pequeno tempo de geração, alta fecundidade, fecundação interna e diversos níveis de viviparidade (Abney e Rakocinski, 2004; Downhower et al., 2000; Jennions e Telford 2002; Reznick et al., 1990). O guaru *Poecilia vivipara* (Bloch e Schneider, 1801) apresenta pequeno porte

(aproximadamente de 2 a 5 cm de comprimento), é facilmente encontrado em ambientes lênticos e rasos. Estes animais são onívoros, alimentando-se de pequenos invertebrados e algas (Bizerril e Primo, 2001). Esta espécie está distribuída por toda a costa Atlântica da América do Sul, e são encontrados em grande número próximo às margens das lagoas, canais e rios da Planície Quaternária do Norte Fluminense. Os indivíduos de *P. vivipara* apresentam um acentuado dimorfismo sexual, onde os machos possuem um órgão especializado para a fecundação interna chamado gonopódio, formado a partir da nadadeira anal, além de serem menores (e em algumas populações mais coloridos) que as fêmeas. As populações de *P. vivipara* apresentam o tamanho corporal médio positivamente correlacionado com o grau de salinidade do ambiente onde vivem (Bizerril e Primo, 2001; Gomes-Jr e Monteiro, 2008). Apesar de alguns trabalhos abrangendo diferenças morfológicas, já terem mostrado que as populações de *P. vivipara* diferenciam-se na forma e tamanho corporal, tanto entre lagoas como dentro das lagoas (Monteiro et al., 2003; Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2008), trabalhos envolvendo diferenças reprodutivas são ainda escassos com esta espécie. Gomes-Jr e Monteiro (2007) mostraram que a fecundidade está diretamente correlacionada com o tamanho corporal e o tamanho dos embriões é positivamente associado com a fecundidade e com o tamanho das fêmeas. Contudo, devido ao seu grande poder de dispersão e tolerância a variações ambientais, o guaru torna-se um bom modelo para estudos sobre possíveis adaptações locais.

Objetivos, Hipóteses de trabalho e Justificativa

A compreensão dos mecanismos evolutivos envolvidos na divergência de estratégias reprodutivas em peixes apresenta uma relevância acadêmica e aplicada, pois o conhecimento gerado pode ser utilizado na elaboração de técnicas de manejo pesqueiro (Reznick e Ghalambor, 2005; Edeline et al., 2007) otimizadas. O objetivo principal deste trabalho é analisar a evolução das estratégias reprodutivas e as taxas de divergência em populações de *Poecilia vivipara* (Teleostei, Poeciliidae) localizadas na planície quaternária da Região Norte Fluminense, tendo em vista os extremos ambientais (principalmente relacionados à salinidade) experimentados

pelas diferentes populações. Estudos prévios (Monteiro et al., 2003; Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2007; 2008) mostraram diferenças morfológicas e reprodutivas associadas aos gradientes de salinidade entre e dentro das lagoas, as quais foram interpretadas principalmente como possíveis resultados tanto de plasticidade causada pela salinidade diretamente (através de alterações metabólicas modificando padrões de crescimento – Boeuf e Payan, 2001), quanto indiretamente por diferenças na pressão de predação (menos predadores em lagoas mais salgadas).

Para elucidar os processos evolutivos responsáveis pela divergência entre populações é necessário inicialmente uma análise mais abrangente da estrutura de variação nas estratégias reprodutivas entre populações habitando diferentes ambientes e testar a hipótese de que as diferenças nas estratégias possam ser preditas pelo ambiente. Por exemplo, populações de locais com maior salinidade estariam menos expostas a predadores e apresentariam maiores taxas de crescimento, tamanho médio dos adultos e fecundidade. Por outro lado, o investimento reprodutivo médio seria maior nas populações provenientes de locais com menor salinidade e mais expostas à ação de predadores. A análise da evolução das estratégias reprodutivas foi feita através da quantificação das seguintes características da história da vida: fecundidade, tamanhos dos ovos e investimento reprodutivo. O estudo das estratégias reprodutivas permitirá a identificação de permutas adaptativas, como também a identificação de estratégias de vida diferentes adotadas pelas populações para maximizar o valor adaptativo.

Um passo importante é determinar até que ponto as diferenças observadas são resultado de diferenças genéticas entre as populações ou normas de reação em relação a um fator ambiental (como as diferenças de metabolismo causadas pela salinidade). A contribuição genética e ambiental para a divergência entre as populações ocupando ambientes extremos foi avaliada a partir de um experimento de ambiente comum. No caso das diferenças fenotípicas observadas serem resultado de diferenças genéticas entre populações, podemos prever que os padrões de diferenciação entre médias para as populações de laboratório devem se manter iguais aos da natureza para os parâmetros medidos (como crescimento ou tamanho corporal).

A geologia da Região Norte Fluminense é conhecida em detalhe suficiente para a determinação das idades de formação das diferentes lagoas. Esta informação permite a estimativa de taxas de divergência (velocidade de modificação) para os parâmetros reprodutivos medidos. Testes estatísticos baseados na comparação das taxas de divergência foram utilizados para a inferência de possíveis mecanismos evolutivos. Os modelos de evolução neutra permitem a estimativa de uma divergência máxima esperada se o processo evolutivo responsável pela modificação foi a deriva genética. Por outro lado, podemos prever que se a taxa de divergência é significativamente maior que a esperada pelo modelo nulo, a seleção direcional pode ser invocada como processo evolutivo principal (desde que as diferenças entre populações sejam geneticamente determinadas). Quando a taxa de divergência é menor que a esperada pelo modelo nulo, assume-se que as populações encontram-se em picos adaptativos há um elevado número de gerações e a seleção estabilizadora não permitiu que a divergência continuasse em taxa constante.

Material e Métodos

Área de estudo

A planície Quaternária localizada no Norte Fluminense foi formada no Holoceno com a deposição de sedimentos provenientes do Rio Paraíba do Sul e do mar, através de movimentos regulares do nível do mar causados por modificações paleoclimáticas (Martin et al., 1997). A movimentação marinha causada por recuos e avanços do nível do mar associada com a deposição de sedimentos trazidos com os braços do Rio Paraíba do Sul formou um delta intralagunar, originando um grande número de lagoas interconectadas e amplamente distribuídas na planície, muitas das quais, eram antigos braços do rio principal. No entanto, com as obras de drenagem do Departamento Nacional de Obras de Saneamento (DNOS) na década de 50, muitas lagoas e braços do rio desapareceram ou sofreram redução em seu tamanho e fluxo de água, fazendo com que muitas lagoas perdessem o contato entre si ou com o mar após o fechamento das barras (Primo et al., 2002).

As lagoas costeiras da região Norte Fluminense são caracterizadas por

possuírem pequena extensão e largura (exceção para a Lagoa Feia que está entre as maiores lagoas de água doce do Brasil), pouca profundidade, temperaturas elevadas na maior parte do ano e diferenças marcantes na composição ictiofaunística influenciada pela salinidade (Suzuki et al., 1998; 2002; Primo et al., 2002). As Lagoas Feia, de Cima e do Campelo são as mais antigas nesta região e possuem origens relacionadas com o desenvolvimento do delta do Rio Paraíba do Sul, em direção ao sul pela deposição de sedimentos aluvionais, iniciando há aproximadamente 4000 anos (Martin et al., 1997; Soffiati 1998). Estas lagoas possuem largos bancos de macrófitas ao redor das margens e embora possuam grande extensão, o ambiente dentro delas é homogêneo (provavelmente pela distância e comunicação limitada com o mar). A composição ictiofaunística dessas lagoas é marcadamente de água doce (Bizerril e Primo, 2001). Nestas lagoas, as populações de *P. vivipara* co-existem com a traíra (*Hoplias malabaricus*), que é considerada a sua principal predadora (Mazzoni e Iglesias-Rios, 2002). As lagoas do Comércio e da Praia, (localizadas ao norte da foz do Rio Paraíba do Sul) apresentam água doce e uma composição ictiofaunística própria desse tipo de ambiente. Estas lagoas foram formadas pelo fechamento de braços do Rio Paraíba do Sul e não apresentam influência marinha, embora estejam localizadas próximas ao oceano (Martin et al., 1997; Soffiati 1998).

Após o período de formação inicial e crescimento do delta por deposição de sedimentos aluvionais na direção Norte-Sul, houve um deslocamento do braço principal do rio, que passou à direção Oeste-Leste e continuou o crescimento da planície nesta direção (por deposição de sedimentos marinhos). As lagoas próximas à costa são mais recentes, aproximadamente 3000 anos ou menos, e a maioria originada através do abandono dos antigos braços de rio no delta (Primo et al., 2002). A Lagoa do Açú é uma lagoa costeira formada pelo Rio Iguaçu, o qual era conectado à Lagoa Feia há aproximadamente 3000 anos. A localização costeira destas lagoas (separadas do mar por uma barra de areia que é aberta artificialmente), provoca a influência da salinidade nas lagoas gerando um gradiente salino da barra em direção ao interior com diferenças ambientais tanto abióticas (salinidade, oxigênio dissolvido, nutrientes, produtividade [Suzuki et al., 1998; Chagas e Suzuki, 2005]) quanto na estrutura da vegetação e da ictiofauna (Bizerril e Primo, 2001). A região da barra destas lagoas apresenta um alto nível de salinidade,

nenhuma vegetação marginal e comunidade ictiofaunística característica de áreas estuarinas (Bizerril e Primo 2001). O interior dessas lagoas apresenta baixa salinidade e composição vegetal caracterizada pela macrófita *Typha dominguensis*. As Lagoas de Grussai e de Iquipari possuem suas barras abertas artificialmente no período de cheia das lagoas e dessa forma elas entram em contato direto com o mar. A grande complexidade de habitats e a composição ictiofaunística das lagoas (Bizerril e Primo 2001; Primo et al., 2002) originam um mosaico ambiental que influencia a divergência morfológica e reprodutiva entre as populações da espécie *P. vivipara* nesta região (Gomes-Jr e Monteiro, 2007; 2008).

Com exceção da Lagoa de Cima, todos os locais amostrados estão localizados dentro da Planície Quaternária. Com o intuito de obter uma descrição detalhada da variação das estratégias reprodutivas em diferentes ambientes, foram coletadas amostras em 12 locais para a realização de comparações tanto dentro como entre gradientes ambientais (Tabela-1 e Figura-1) em 8 lagoas: na barra e na Ponte Maria da Rosa (interior) na Lagoa do Açú , na barra e no interior na Lagoa de Grussai, na barra e no interior na Lagoa de Iquipari (Novembro de 2000), uma amostra na Lagoa do Campelo (Julho de 2001), uma amostra na Lagoa de Cima (Abril de 2002), duas amostras na Lagoa Feia (Maio de 2002), uma amostra na Lagoa do Comércio e outra na Lagoa da Praia ambas, em Gargaú (Novembro de 2002). Os termos populações, locais e amostras são utilizados correntemente no texto como sinônimos de populações estatísticas, visto que não temos dados genéticos que confirmem quais amostras corresponderiam a uma mesma população biológica intercruzante. A utilização de outras ferramentas (como a morfometria geométrica) tem demonstrado consistentemente que existem diferenças de tamanho e forma do corpo significativas, mesmo entre indivíduos coletados em diferentes locais dentro de uma mesma lagoa, e que estes correspondem a populações estatísticas diferentes (Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2008).

Tabela 1 Pontos de amostragem de *Poecilia vivipara* em lagoas da região Norte Fluminense e números amostrais (n).

N°	Local	Sigla	n	Salinidade (ppm)
1	Açu-Barra	AB	93	30,5*
2	Açu-Interior	AI	95	13*
3	Grussai-Barra	GB	41	7*
4	Grussai-Interior	GI	84	2,3*
5	Iquipari-Barra	IB	60	11,1*
6	Iquipari-Interior	II	93	1,7*
7	Campelo	CA	96	0
8	Lagoa Feia – Pesque-Pague	PP	57	0
9	Lagoa Feia - Ponta Grossa	PG	90	0
10	Lagoa da Praia	P	75	0
11	Lagoa do Comércio	CO	95	0
12	Lagoa de Cima	CI	47	0

N°=número

*Médias obtidas a partir de séries temporais (M. S. Suzuki, dados não-publicados)

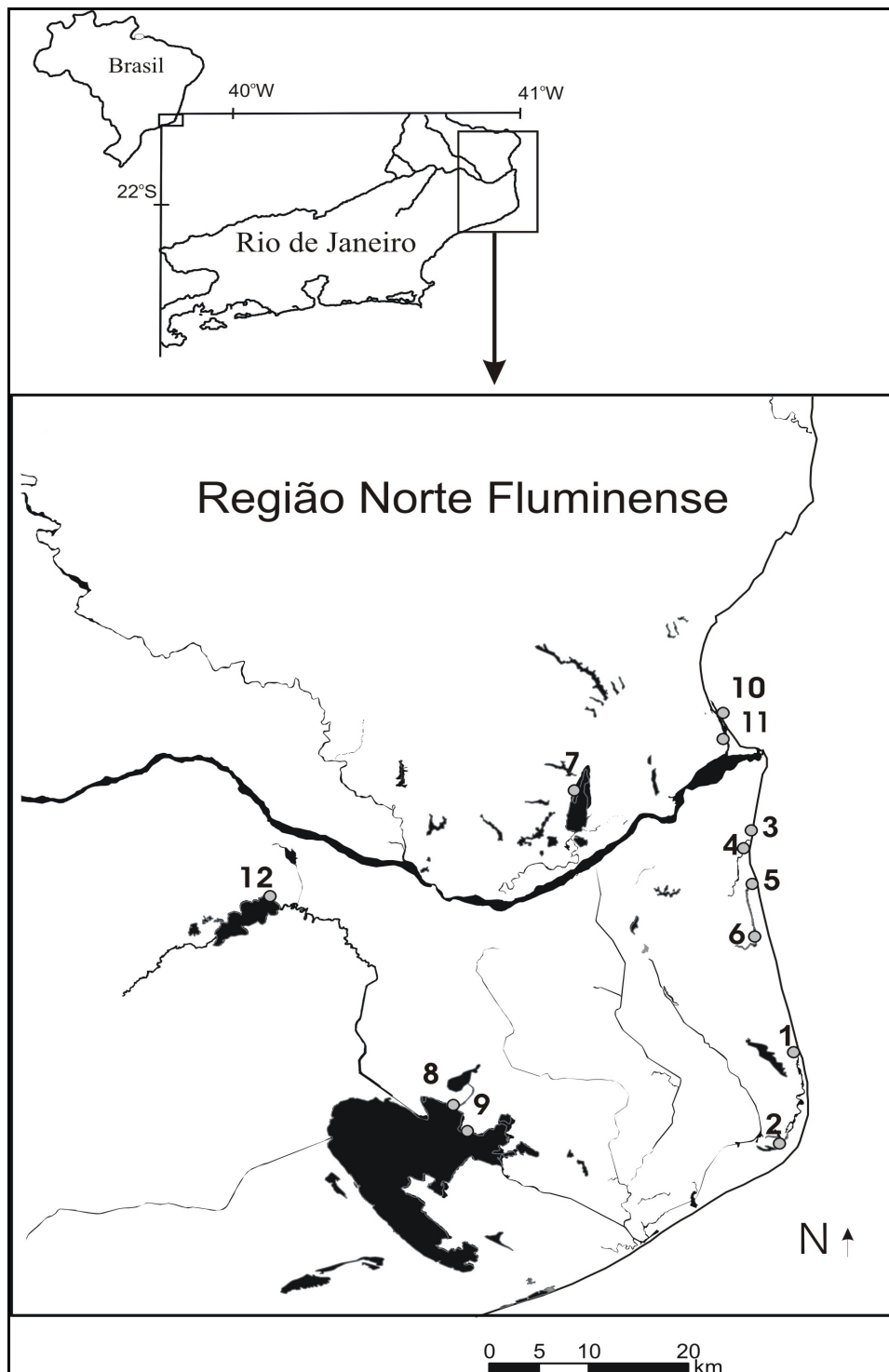


Figura 1. Localização geográfica das lagoas onde as amostras foram coletadas. Os números no mapa são correspondentes aos números das Lagoas na Tabela 1.

Métodos de Laboratório

● Variação espacial nas características reprodutivas

Os espécimes foram capturados com o auxílio de uma rede de arrasto de malha fina (tela de mosquito) e sacrificados em sacos plásticos com água em meio ao gelo. No laboratório, eles foram separados por sexo e fixados em formaldeído (10%) durante 24 horas numa bandeja. Logo após, eles foram acondicionados em álcool a 70% para conservação. Foram amostradas aleatoriamente 100 fêmeas de cada população (mas apenas as fêmeas grávidas foram utilizadas no estudo – Tabela 1), as quais foram fotografadas por uma câmera de alta resolução (Pixera Professional; Pixera Corp., San Jose, CA, U.S.A.) e 12 marcos anatômicos (Figura 2) foram digitalizados em cada fotografia utilizando o programa TPSDig (Rohlf, 1998). O tamanho corporal foi calculado através do tamanho do centróide, definido como a raiz quadrada da soma dos quadrados das distâncias de cada marco ao centróide da configuração de pontos (Bookstein, 1991). O centróide da configuração é encontrado pela média das coordenadas x e y dos marcos anatômicos (Monteiro e Reis, 1999). Embora o tamanho do centróide não seja uma medida de tamanho corporal muito comum nos trabalhos de história de vida, ele fornece uma medida mais generalizada de tamanho que o comprimento padrão (Bookstein, 1991; Monteiro e Reis, 1999).

Em seguida, as fêmeas foram dissecadas para contagem dos ovos ou embriões para estimativa da fecundidade. O estágio de desenvolvimento dos embriões foi determinado de acordo com a padronização proposta por Haynes (1995) e Cabral (1999), com modificações para *P. vivipara* em um microscópio estereoscópico Zeiss. Foram reconhecidos os seguintes estágios: (1) ovos opacos não fertilizados; (2) presença apenas de vitelo e coloração âmbar, sem estruturas embrionárias visíveis em microscópio estereoscópico; (3) presença de estruturas embrionárias visíveis em microscópio estereoscópico, pequena pigmentação esbranquiçada na parte dorsal do embrião, olhos não formados completamente; (4) olhos já formados e uma intensa pigmentação, pouca quantidade de vitelo restante;

(5) embrião todo formado, pouca ou nenhuma quantidade de vitelo restante, completa pigmentação e olhos totalmente formados. Somente foram usadas neste estudo fêmeas que possuíam ninhadas com estágios embrionários identificados como 2, 3, 4 e 5 por serem consideradas grávidas (Figura 3).

Para determinação do tamanho médio dos ovos e embriões foram selecionados 5 ovos ou embriões de cada fêmea e medidos com uma ocular milimetrada em um microscópio estereoscópico. Para a comparação do tamanho dos ovos e embriões entre diferentes populações, removendo efeitos maternos e intrínsecos, foi montado um modelo linear de análise de covariância relacionando o tamanho médio dos embriões com a população, covariando com o estágio embrionário, o tamanho da fêmea e o número de ovos ou embriões carregados.

Os pesos individuais das fêmeas e das ninhadas foram obtidos através da secagem dos mesmos em uma estufa a 70°C durante 24 horas. Após a secagem, as amostras foram pesadas em balança de precisão $\pm 0,1$ mg para obtenção do peso seco das fêmeas e de seus embriões. Para o cálculo do investimento reprodutivo (IR) foi utilizada a seguinte fórmula:

$$IR = PE/(PF+PE)*100,$$

onde, PE corresponde ao peso seco dos embriões e PF corresponde ao peso somático seco da fêmea (Reznick e Endler, 1982; Jennions e Telford, 2002).

Uma análise de covariância foi usada para testar a significância das diferenças em investimento reprodutivo entre locais amostrados, ajustando estatisticamente para a covariância com o tamanho corporal da fêmea, fecundidade (número de ovos; embriões) e estágio de desenvolvimento embrionário da ninhada (Sokal e Rohlf, 1995).

A identificação de permutas e associações entre diferentes variáveis foi realizada a partir do estudo das correlações entre as variáveis entre populações, e da construção de modelos lineares de regressão (Sokal e Rohlf, 1995) que contemplam a associação parcial entre variáveis de história de vida e ambientais, a fim de determinar fatores intrínsecos e extrínsecos associados à evolução das estratégias de história de vida das populações de *P. vivipara* durante a formação da planície quaternária.

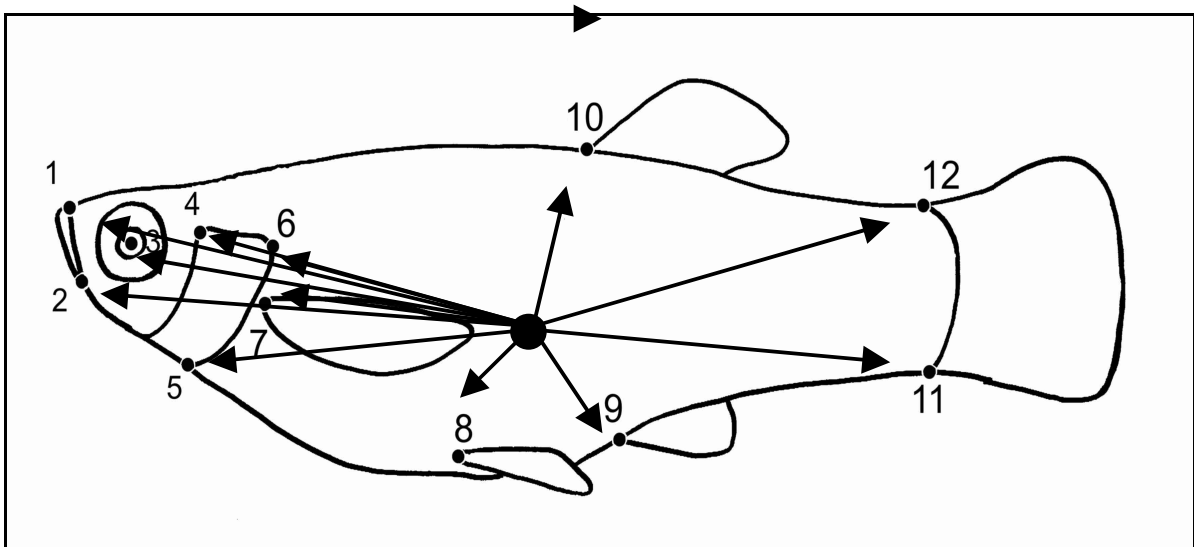


Figura 2. Distâncias utilizadas no cálculo do tamanho do centróide. A circunferência preta no centro mostra a média das coordenadas X e Y (centróide), e as setas entre os marcos anatômicos e o centróide indicam as distâncias do marco ao centróide. 1- extremidade anterior da boca; 2- articulação da mandíbula; 3- ponto central da íris do olho; 4- ponto superior esquerdo da abertura do opérculo; 5- ponto do início da abertura do opérculo; 6- ponto superior direito da abertura do opérculo; 7- inserção da nadadeira peitoral; 8- inserção da nadadeira ventral; 9- inserção da nadadeira anal nas fêmeas; inserção do gonopódio nos machos; 10- inserção anterior da nadadeira dorsal; 11- inserção inferior da nadadeira caudal; 12- inserção superior da nadadeira caudal.

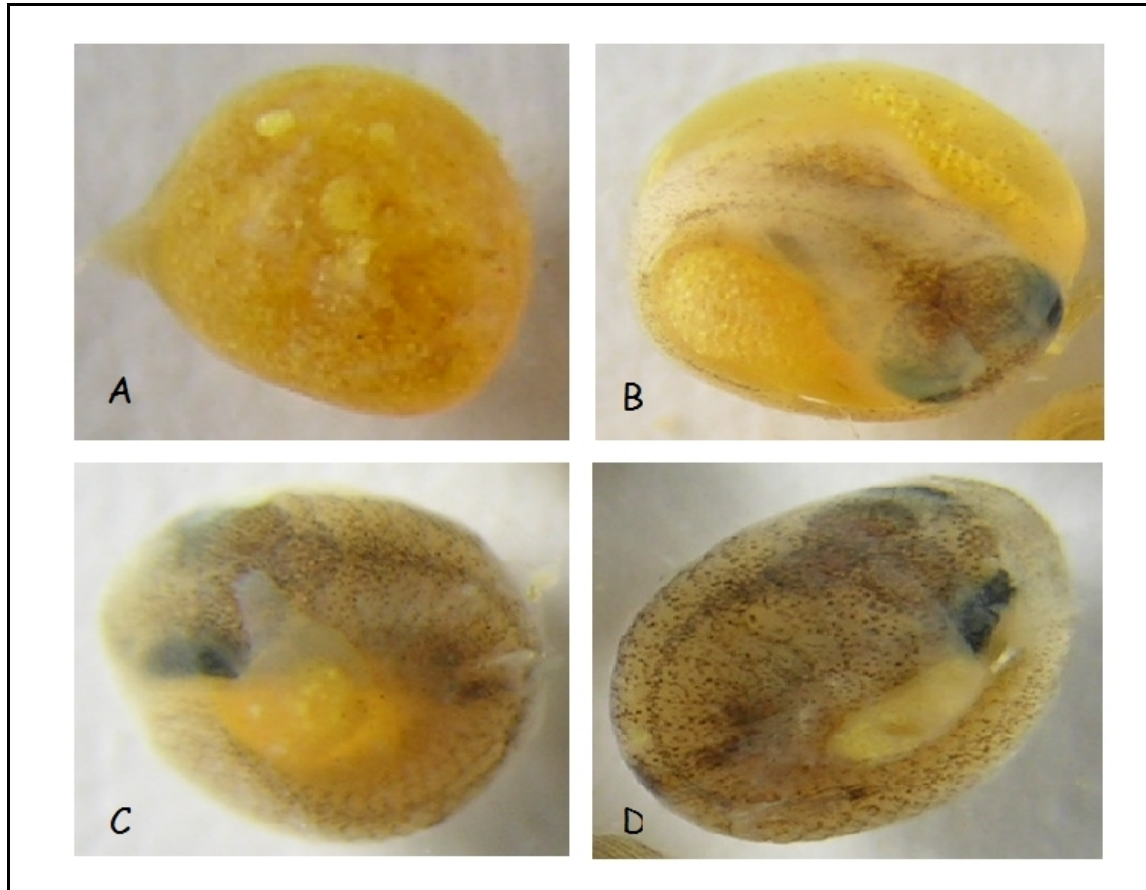


Figura 3. Fotografia mostrando os diferentes estágios embrionários com suas características de representação. **Foto A** – estágio embrionário 2; **Foto B** – estágio embrionário 3; **Foto C** – estágio embrionário 4; **Foto D** – estágio embrionário 5.

● Experimento de ambiente comum

As coletas das fêmeas grávidas foram realizadas nas lagoas do Açú (barra) e do Campelo (pontos 1 e 7 da Figura 1), que possuem salinidades médias anuais em torno de 30 e 0 ppm, respectivamente. As fêmeas foram trazidas para o laboratório e colocadas em caixas maternidade até o nascimento das ninhadas. No caso das fêmeas coletadas na Lagoa do Açú, os animais foram colocados em água da própria lagoa e aclimatados em água doce durante uma semana, por meio de trocas da água original até que a salinidade fosse 0. Após o nascimento, o número total de filhotes foi registrado e apenas um número máximo de 10 indivíduos por ninhada foi mantido para o estudo de crescimento (de modo a padronizar a densidade dentro dos aquários). O número total de ninhadas correspondeu a 93 (43 provenientes de fêmeas da Lagoa do Campelo e 50 provenientes de fêmeas da barra da Lagoa do Açú)

A criação dos indivíduos analisados procedeu-se em dois sistemas de aquários com aproximadamente 1500 litros cada. Os sistemas de circulação de água eram compostos por 15 aquários interconectados por tubos de PVC com circulação impulsionada por uma bomba submersa com capacidade de 5000 litros/hora. Cada aquário era dividido por paredes de vidro em 4 compartimentos, de modo que as ninhadas permanecessem fisicamente isoladas, mas compartilhando a mesma água, que era recolhida em um filtro e novamente recirculada. Nos dois sistemas de aquários os animais foram mantidos em água doce, de modo a padronizar o ambiente e evidenciar as diferenças genéticas entre indivíduos de diferentes populações. O experimento inverso não foi possível pelo fato da infra-estrutura existente não possibilitar a manutenção de animais em água salobra ou salgada. As ninhadas provenientes de diferentes populações foram misturadas nos dois sistemas para evitar que diferenças aleatórias nas características ambientais dos dois sistemas causassem diferenças espúrias nos parâmetros de crescimento, permitindo uma comparação das curvas entre populações (Hurlbert, 1984). A divisão entre sistemas foi realizada de modo a misturar as ninhadas ao máximo (O sistema 1 abrigou 21 ninhadas da Lagoa do Campelo e 25 da Lagoa do Açú, enquanto o sistema 2 abrigou 22 ninhadas da Lagoa do Campelo e 25 da Lagoa do Açú). Os animais foram alimentados duas vezes por dia *ad libitum* com ração para peixes

ornamentais (Alcon Basic®). A fim de minimizar a manipulação e o estresse dos animais, durante o primeiro mês de crescimento, os animais foram fotografados em uma placa de Petri milimetrada uma vez por semana de modo a medir o comprimento padrão (da extremidade anterior até a inserção da nadadeira caudal). Após o primeiro mês, as fotos passaram a ser tomadas em intervalos de 15 dias. Como é impossível identificar indivíduos nas ninhadas, todos os animais foram medidos e um comprimento médio de ninhada foi utilizado como unidade de observação. Cada ninhada foi acompanhada até 201 dias (ou até que não restasse mais nenhum indivíduo vivo) de modo a determinar os parâmetros de crescimento para cada ninhada

As variáveis idade (t) e comprimento padrão médio (CP) das ninhadas foram ajustadas a três modelos de crescimento: linear, von Bertalanffy e Gompertz (Zelditch et al., 2003). O modelo linear representa a situação mais simples, em que a relação entre comprimento padrão e idade pode ser descrita como uma linha reta:

$$CP(t) = a + bt$$

onde a representa o intercepto e b o coeficiente angular da reta. Neste modelo simples, a taxa de crescimento (o parâmetro b) é constante por todo o período. Os modelos de crescimento não-lineares incorporam a idéia de que a taxa de crescimento não seja constante, mas que deve diminuir ao longo do tempo. O modelo de von Bertalanffy incorpora a taxa de crescimento decrescente, mas esta decresce ao longo de todo o período a partir de uma taxa inicial máxima:

$$CP(t) = A * [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

onde A é o comprimento assintótico médio (uma média de tamanho dos indivíduos adultos da população), k é uma constante de crescimento e t_0 é a idade do início do crescimento. O modelo de Gompertz também é não-linear, mas além do decréscimo da taxa de crescimento com a idade, este modelo incorpora um pouco mais de complexidade, tendo em vista que é sigmoideal e a variação da taxa de crescimento é inicialmente no sentido de incremento até que se atinja um ponto de máxima taxa de crescimento, que é chamado ponto de inflexão. Este ponto separa o crescimento em duas fases: uma de aceleração e outra de desaceleração do crescimento (em geral interpretado como o início da maturação sexual, quando as mudanças hormonais

diminuem a taxa de crescimento). O modelo de Gompertz:

$$CP(t) = Ae^{-e^{-k(t-t_0)}}$$

permite o cálculo do ponto de inflexão como

$$I = \frac{A}{e}$$

e da taxa de crescimento máximo (a taxa de crescimento no ponto de inflexão) como

$$\mu = kI$$

A determinação do modelo mais apropriado para descrever o crescimento dos indivíduos neste experimento foi realizada a partir da comparação dos critérios de informação Akaike para os diferentes modelos ajustados (linear, von Bertalanffy e Gompertz). O critério de Akaike é calculado a partir da verossimilhança logaritimizada (log-likelihood) do modelo, penalizando pelo número de parâmetros utilizados:

$$AIC = -2 \ln(L) + 2P$$

onde $\ln(L)$ corresponde à verossimilhança logaritimizada do modelo e P corresponde ao número de parâmetros. Este critério elimina a tendência observada quando os mesmos dados são usados para o cálculo da verossimilhança e dos parâmetros (Zelditch et al., 2003), tornando a comparação de modelos com diferentes números de parâmetros mais justa. Na comparação, os modelos com melhor ajuste apresentam os menores valores do AIC.

A comparação estatística das curvas de crescimento foi realizada a partir dos intervalos de confiança para os comprimentos assintóticos, os pontos de inflexão e as taxas de crescimento máximo por uma reamostragem *bootstrap* com 10000 repetições para cada população. Associado aos dados de crescimento, foi também observada a sobrevivência dos animais provenientes das duas populações. As curvas de sobrevivência ajustadas aos dados foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas a partir de um teste log-rank de Mantel-Haenszel. Todas as análises estatísticas foram realizadas no R- System (www.r-project.org).

- Taxas de divergência entre populações.

A velocidade de modificação dos parâmetros reprodutivos foi medida através das taxas de divergência entre as populações, e utilizada na verificação do processo evolutivo responsável pela variabilidade. Neste sentido, é necessário escolher entre dois modelos propostos para estimar taxas de divergência esperadas pela evolução neutra: o modelo de herdabilidade constante de Lande (1977; 1979) e o modelo de equilíbrio mutação-deriva (Turelli et al., 1988). Ambos objetivam determinar as taxas esperadas pelo modelo nulo da deriva genética aleatória (Spicer, 1993). Desta forma, quando a divergência é mais rápida que o esperado pela deriva genética, sugere-se a seleção direcional como processo responsável pelo padrão observado. Por outro lado, quando a divergência ocorre mais devagar que o esperado pela deriva, sugere-se que o processo de seleção estabilizadora não permitiu que as populações se diferenciassem em taxa constante segundo o modelo neutro.

A determinação de qual modelo é mais apropriado para cada estudo é feita comparando o tempo de divergência entre as populações (t - medido em gerações) com o tamanho populacional efetivo (N_e). Desta forma, se t é menor que $N_e/5$, o modelo de herdabilidade constante é mais apropriado ao passo que, se t é maior que $4N_e$, o modelo de equilíbrio mutação-deriva é mais apropriado (Spicer, 1993). O teste de herdabilidade constante é utilizado comumente em populações que divergiram em um curto período de tempo, enquanto, o modelo de equilíbrio mutação-deriva é mais indicado na comparação de espécies que estejam separadas há muito tempo.

A planície localizada no Norte Fluminense foi formada recentemente por movimentos marinhos e pela deposição de sedimentos pelo Rio Paraíba do Sul. Neste estudo, a lagoa mais antiga é a Lagoa do Campelo, com aproximadamente 4000 anos, ao passo que as lagoas mais costeiras (por exemplo, as Lagoas de Iquipari e Grussai) são as mais jovens, com aproximadamente 1500 anos. Reznick et al., (1997) estimaram, através de uma tabela de vida para *Poecilia reticulata*, que o número de gerações por ano era de 1,74. Considerando que a lagoa mais antiga possui 4000 anos e que o número de gerações pode ser de aproximadamente 2 gerações por ano, estima-se que o limite máximo de gerações é de 8000 gerações

passadas desde o isolamento da população do Campelo em relação as outras populações. O número mínimo de gerações é mais difícil de ser calculado devido à conexão entre as lagoas até 1950 (quando ocorreram as obras de drenagem pelo DNOS) e que possivelmente encerrou o fluxo gênico entre as populações.

O tamanho populacional efetivo (N_e) pode ser calculado a partir do tamanho populacional total (N), já que as menores taxas N_e/N vão de 0,5 a 0,1 (Spicer, 1993; Nunney, 1996; Frankham, 1995). No nosso caso, podemos estimar, a partir da variância padronizada da fecundidade das fêmeas (0,42 embriões por ninhada) que a relação mais conservadora entre N_e/N é 0,3 (Nunney, 1996). Estimativas de densidade preliminares sugerem que o tamanho populacional total dentro das menores lagoas esteja em torno de 1.000.000 de indivíduos, o que permite assumir um N_e mínimo de 300.000 em cada lagoa. Levando em consideração apenas a população somada de duas lagoas, a relação t/N_e é $8000/600000 = 0,13$, menor que 0,2, o que nos levou a utilizar o modelo de herdabilidade constante (Lande, 1979; Spicer, 1993; Diniz-Filho, 2000).

Os testes de taxas evolutivas e de divergência entre populações são baseados na premissa de que sob evolução neutra (ou deriva genética) uma característica fenotípica tem uma média esperada numa geração t que se aproxima da distribuição normal na qual a média é igual ao valor fenotípico na *geração* $t = 0$, e a variância é proporcional a $(\sigma^2 h^2 t / N_e)$, onde σ^2 é a variância fenotípica da característica (dentro das populações), h^2 é a herdabilidade da característica, e N_e é o tamanho efetivo populacional (Lande, 1977, Turelli et al., 1988). Neste modelo, o desvio esperado da média poderá aumentar com altas herdabilidades, variâncias fenotípicas, e o número de gerações passadas. Grandes tamanhos populacionais efetivos tendem a diminuir a variação esperada. Se a variação observada estiver dentro do intervalo esperado pelo modelo nulo, aceita-se a hipótese de evolução neutra (Lande, 1977, Turelli et al., 1988). O teste estatístico para a seleção direcional causando divergência evolutiva segue uma distribuição F com $n-1$ graus de liberdades no numerador (n = número de de populações estudadas) e infinitivos graus de liberdade no denominador. A estatística para o teste da seleção direcional no modelo da herdabilidade constante é:

$$F = \frac{S^2_{\bar{z}(t)}}{\sigma^2 h^2 t / N_e}$$

onde a diferença entre as populações é medida por um quadrado médio entre as populações estudadas

$$S^2_{\bar{z}(t)} = \frac{\sum_{i=1}^n [\bar{z}_i(t) - \bar{\bar{z}}(t)]^2}{n-1}$$

onde $\bar{\bar{z}}(t)$ corresponde a média geral de todas as populações e $\bar{z}_i(t)$ corresponde à média de cada população i após t gerações de divergência..

A variância fenotípica dentro dos grupos σ^2 para cada parâmetro reprodutivo (fecundidade, tamanho dos embriões, investimento reprodutivo e peso seco das fêmeas) foi obtida através do quadrado médio residual de uma análise de variância classificando por local de amostragem. Uma comparação também foi realizada com os valores dos parâmetros de crescimento para as duas populações do experimento de ambiente comum. Neste caso, a variância fenotípica foi calculada a partir dos erros padrão associados a cada um dos parâmetros de crescimento. Como os animais foram criados no mesmo ambiente, consideramos que as diferenças nas curvas de crescimento reflitam apenas diferenças genéticas entre as populações e permitam uma avaliação mais focalizada da importância da seleção natural como processo evolutivo (livre de interferência da plasticidade fenotípica). O último parâmetro a ser calculado é a herdabilidade (h^2). O cálculo da herdabilidade como a proporção de variância genética aditiva relativa à variação fenotípica necessita grandes amostras e custosos experimentos (Lynch e Walsh, 1998). Pelo fato de ser dependente também do componente ambiental de variação, a herdabilidade é um parâmetro variável entre as populações em diferentes ambientes e dentro das populações em diferentes períodos (Falconer e Mckay, 1996). Uma herdabilidade média de 0.28 baseada nas características reprodutivas de *Gambusia affinis* (Mousseau e Roff, 1987), a qual foi usada como valor de referência neste estudo.

Como estamos trabalhando com intervalos e estimativas, a inferência dos processos evolutivos foi realizada a partir de um processo iterativo em que a estatística F foi calculada para um intervalo de parâmetros do modelo (particularmente a herdabilidade [$h^2 = 0.1$ a 0.9] e o tamanho populacional efetivo [$N_e = 1000$ a 100.000], pois são os que apresentam maior incerteza na estimação). Uma superfície quadrática foi ajustada aos valores de F calculados para uma combinação de parâmetros dentro do intervalo utilizado. A comparação com o valor crítico da distribuição teórica permitiu a determinação dos valores de herdabilidade e tamanho populacional necessários para que as diferenças observadas entre populações possam ser explicadas pelo processo neutro de deriva genética.

Resultados

● Variação espacial nas características reprodutivas

Os parâmetros reprodutivos estudados (fecundidade, tamanho dos embriões, investimento reprodutivo) apresentaram diferenças médias significativas entre as populações, tanto entre como dentro das lagoas (ANOVAS, $P < 0.00001$, para todas as variáveis). Os maiores valores para fecundidade foram encontrados na Lagoa do Açú (barra e interior), Lagoa do Comércio e Interior de Iquipari, enquanto os menores valores encontrados foram nas populações da barra da Lagoa de Grussaí e na Lagoa de Cima. Dentro das lagoas, no geral, as populações do interior das lagoas apresentaram maior fecundidade do que as populações da barra (exceção na Lagoa do Açú que tiveram medianas similares; Figura 4).

Embora a fecundidade esteja associada com o tamanho corporal em todas as lagoas, a relação entre estas duas variáveis não é a mesma para todos os locais, como indicado pela interação significativa entre Tamanho da fêmea:Local na ANCOVA (Tabela 2), significando que, em determinadas populações, como nas Lagoas do Campelo e na Lagoa de Iquipari (barra e interior), ocorre um maior aumento na fecundidade em relação ao tamanho corporal do que em populações presentes na Lagoa de Cima e na Lagoa Feia (Figura 5). A diferença nos valores dos coeficientes de regressão (4.45 a 19.4) indica que, dependendo do local, o mesmo

aumento no tamanho corporal pode ter um forte efeito na fecundidade.

O tamanho dos embriões variou significativamente entre as populações (ANOVA, $F=86.493$, $P> 0,0001$) e está associado com o tamanho da fêmea, com a fecundidade, com o estágio de desenvolvimento embrionário e com o local (Tabela 3). Os maiores embriões foram encontrados nas populações presentes na Lagoa do Açú (barra e interior) e na barra da Lagoa de Grussai, ao passo que as populações presentes nas Lagoas de Cima, do Campelo e Feia apresentaram os menores embriões (Figura 6). Os termos de interação entre a variável independente (local) e as covariáveis fecundidade e tamanho corporal não foram significativos, embora tenha sido significativa a interação entre o estágio de desenvolvimento embrionário e o local. Este resultado indica que o desenvolvimento embrionário em algumas populações pode ser mais acelerado do que em outras dependendo do local. A diferença observada entre os coeficientes de regressão mostra que as populações possuem diferenças marcantes na taxa de desenvolvimento dos embriões (Figura 7). As populações presentes na Lagoa do Açú (barra e interior) apresentaram os maiores coeficientes de regressão enquanto as populações presentes na Lagoa do Campelo e na Lagoa Feia (Pesgue-Pague) apresentaram os menores coeficientes. A diferença nos valores dos coeficientes de regressão (2.0 a 8.7) indica que as populações possuem diferentes taxas de desenvolvimento embrionário, em algumas populações (como no caso da Lagoa do Açú) mais aceleradas do que em outras.

O investimento reprodutivo foi significativamente associado com a fecundidade, o estágio embrionário, o tamanho corporal (peso seco da fêmea) e o local de origem de cada população (Tabela 4). O modelo explica uma alta proporção (95.8%) da variação no investimento reprodutivo (IR). Os termos de interação entre as covariáveis e o local foram significantes indicando que a relação entre o investimento reprodutivo e as covariáveis não é a mesma para todas as populações. Desta forma, o modelo linear precisa ser interpretado como derivando regressões separadas para cada grupo e as médias corrigidas para os efeitos das variáveis podem ser comparadas após o ajuste para as regressões múltiplas dentro dos grupos.

Os coeficientes parciais da regressão multivariada mostram a relação entre o investimento reprodutivo e cada uma das covariáveis (fecundidade, estágio de desenvolvimento embrionário e peso seco da fêmea) como se mantendo as outras

constantes (por isso coeficientes parciais) (Tabela 5). A relação mais estável foi entre investimento reprodutivo e fecundidade. Apesar dos coeficientes de regressão serem estatisticamente diferentes entre locais (Tabela 4), todas as amostras apresentam coeficientes positivos e significativos. Isto significa que, independente do tamanho das fêmeas, os indivíduos com maior fecundidade apresentam maior IR. As amostras coletadas em locais com menor salinidade apresentam os maiores coeficientes entre IR e fecundidade (Figura 8), mas também apresentam coeficientes baixos e, portanto, a relação não é estatisticamente significativa ($P > 0.05$).

A relação entre o investimento reprodutivo e o estágio de desenvolvimento embrionário não é significativa em todas as amostras (Tabela 5). Os coeficientes de regressão significativos (para as amostras de Açú Interior, Campelo, Iquipari Interior, Ponta Grossa e Pesque e Pague) são todos negativos. Isto sugere que, independente da fecundidade e do tamanho das fêmeas, quanto mais adiantado o estágio de desenvolvimento embrionário menor o investimento reprodutivo observado. Esta redução certamente se dá pela redução da massa de vitelo durante o desenvolvimento dos embriões, como esperado pelo padrão reprodutivo lecitotrófico desta espécie. Os coeficientes significativos foram observados em locais com salinidade muito baixa ou igual a 0 (Figura 8), mas a relação com a salinidade também não foi significativa ($P > 0.05$).

Os coeficientes de regressão parciais entre IR e o peso seco das fêmeas foram todos significativos e negativos, apesar de serem estatisticamente diferentes entre amostras (Tabelas 4 e 5). Em geral, as maiores fêmeas apresentaram menores valores de IR, e a relação foi mais acentuada nas lagoas do Campelo e Feia (Pesque e Pague) Apesar dos maiores coeficientes (em valores absolutos) serem observados em locais de água doce (Figura 8), a relação com a salinidade não foi estatisticamente significativa.

As médias corrigidas do investimento reprodutivo variaram significativamente entre as populações amostradas (ANOVA) ($F=75.856$; $P<0.0001$). As populações presentes nas lagoas do Campelo e Feia (Pesque-Pague) apresentaram as maiores médias para o investimento reprodutivo, ao passo que as menores médias foram observadas nas lagoas do Açú, Grussaí e de Cima. Dentro das Lagoas de Iquipari, Grussai e Açú, as populações do interior apresentaram valores médios maiores do que as populações presentes na barra (Figura 9).

Apesar de, estatisticamente, a relação entre o investimento reprodutivo e a salinidade não ter sido significativa ($P > 0.05$), há uma tendência de diminuição deste parâmetro reprodutivo com o aumento da salinidade nas populações amostradas (Figura 8). Populações presentes em ambientes salobros (ou com algum nível de salinidade) tendem à diminuição no investimento reprodutivo.

A fecundidade e o tamanho dos embriões possuem uma correlação positiva com os níveis de salinidade de cada lagoa. O investimento reprodutivo possui uma relação inversa com a salinidade (embora essa correlação não tenha sido estatisticamente significativa). O tamanho corporal também influencia positivamente os parâmetros reprodutivos. As populações que possuem os maiores tamanhos corporais também possuem as maiores médias para a fecundidade e tamanho dos embriões.

Tabela 2. Análise de covariância para a fecundidade usando o tamanho corporal como covariável e local como variável independente.

	Df	S.S	Mean Sq	F value	Pr(>F)
T.C	1	54632	54632	916.9777	< 2.2e-16 ***
Local	11	30937	2812	47.2054	< 2.2e-16 ***
T.C:Local	11	5104	464	7.7875	6.141e-13 ***
Resíduos	831	49510	60		

T.C=Tamanho Corporal

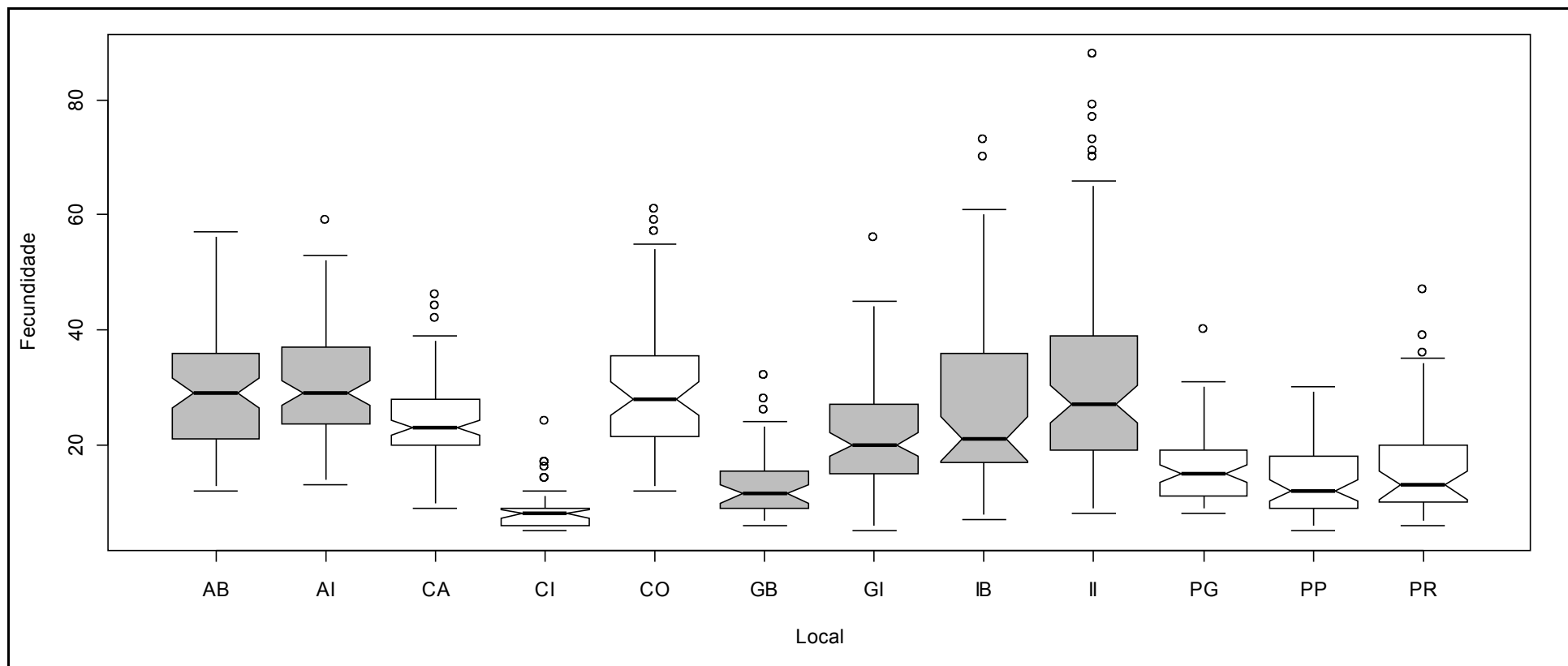


Figura 4. Diagrama box-plot para variação na fecundidade. As linhas horizontais mais grossas representam as medianas, as caixas os intervalos interquartil (25-75%) e as linhas tracejadas representam pontos extremos (outliers). A cor cinza representa locais com salinidade > 0. As chanfraduras nas caixas representam intervalos de confiança para as medianas e servem como um teste gráfico para as diferenças entre as mesmas. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior.

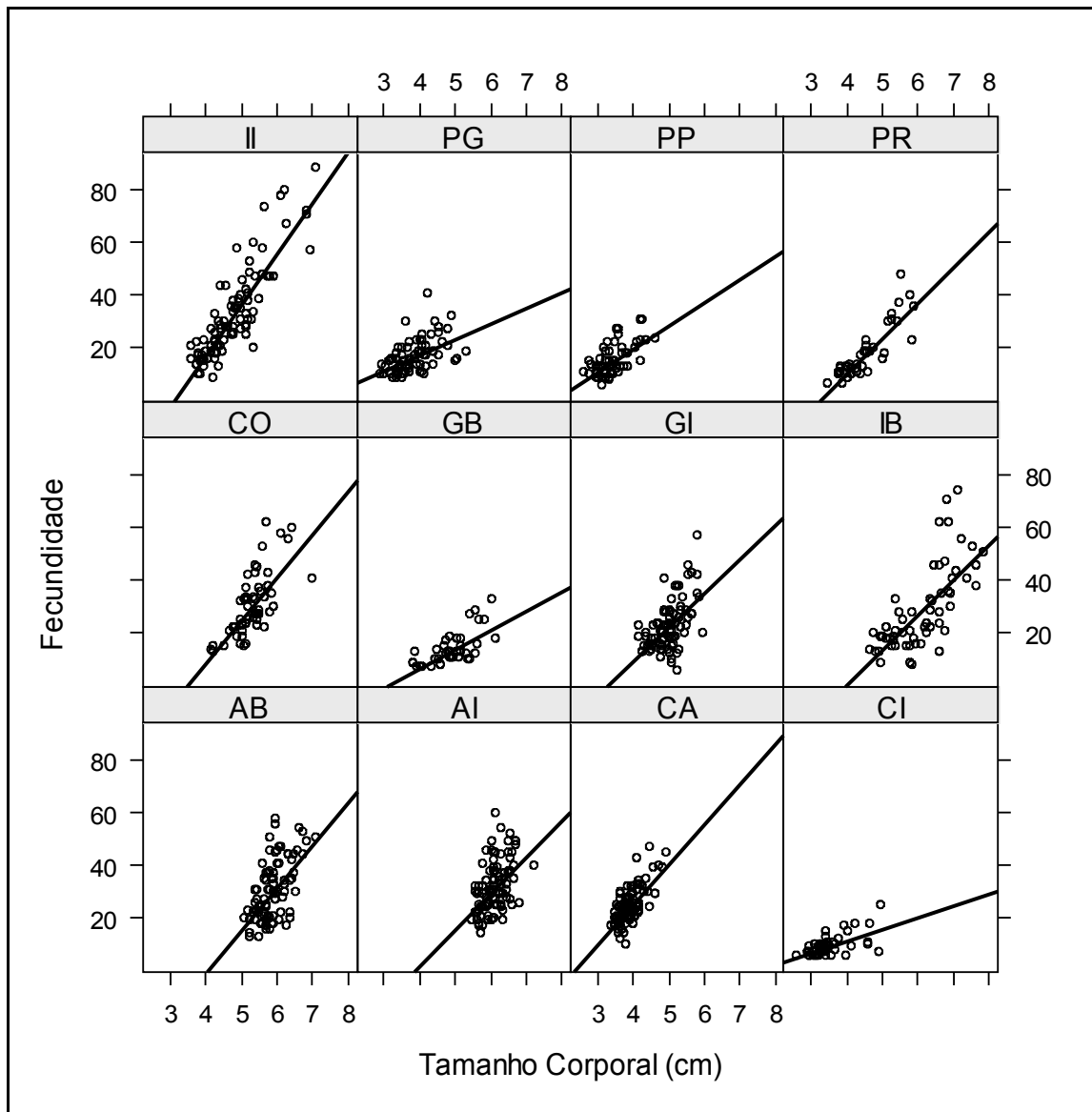


Figura 5. Diagrama de dispersão entre a fecundidade e o Tamanho do corpo (tamanho do centróide) para cada população. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior.

Tabela 3. Análise de covariância para o tamanho dos ovos usando a fecundidade, o tamanho corporal e o estágio embrionário como covariáveis e local como variável independente. O coeficiente de determinação ajustado do modelo é $R^2 = 0.94$

	Df	SS	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Fec	1	3109.0	3109.0	267.0686	<2e-16 ***
E. Embr	1	25043.6	25043.6	2151.2651	<2e-16 ***
T.C	1	10323.7	10323.7	886.8118	<2e-16 ***
Local	11	6567.5	597.0	51.2864	<2e-16 ***
Fec:Local	11	168.5	15.3	1.3156	0.2105
E.Embr:Local	11	4038.1	367.1	31.5344	<2e-16 ***
T.C:Local	11	139.2	12.7	1.0873	0.3683
Resíduos	807	9394.6	11.6		

FEC.= Fecundidade; T.C=Tamanho Corporal; E.Embr=Estágio Embrionário.

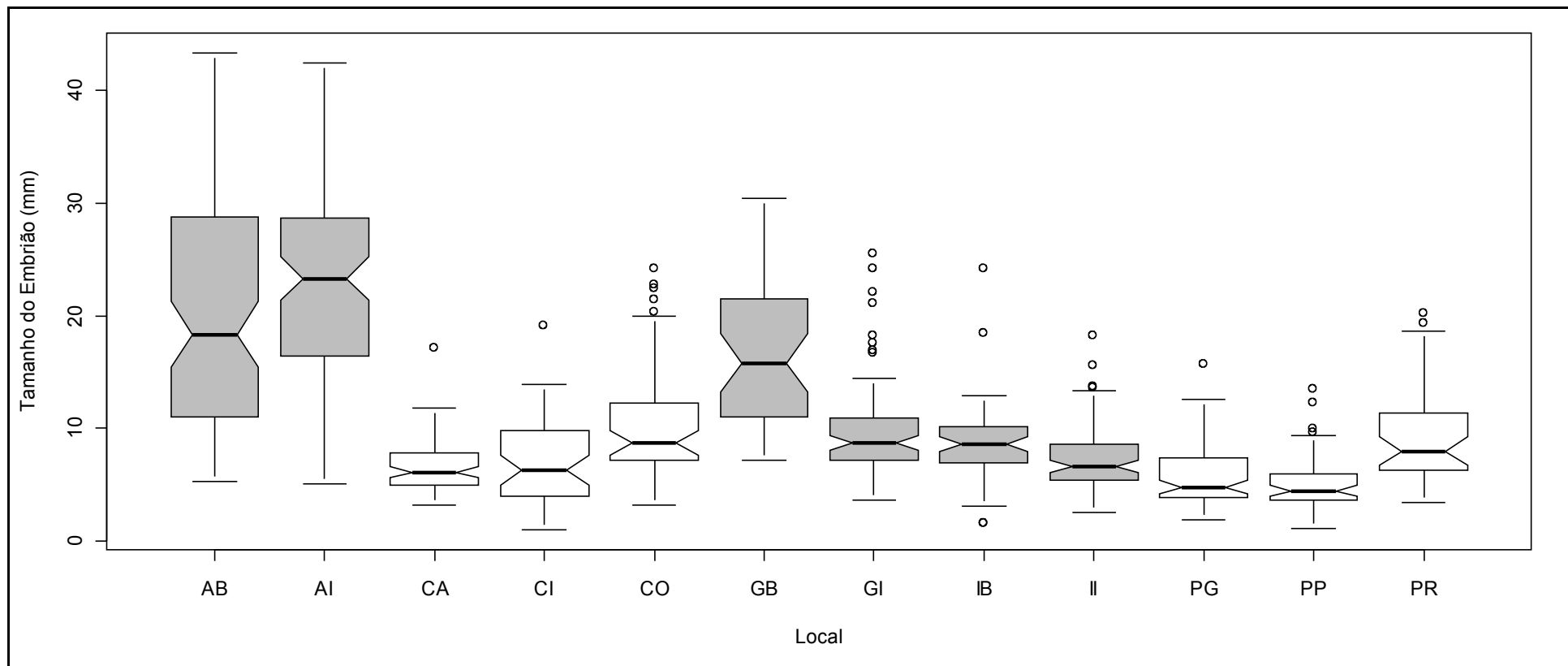


Figura 6 Diagrama box-plot para variação no tamanho dos embriões. As linhas horizontais mais grossas representam as medianas, as caixas os intervalos interquartil (25-75%) e as linhas tracejadas representam pontos extremos (outliers). A cor cinza representa locais com salinidade > 0. As chanfraduras nas caixas representam intervalos de confiança para as medianas e servem como um teste gráfico para as diferenças entre as mesmas.. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior.

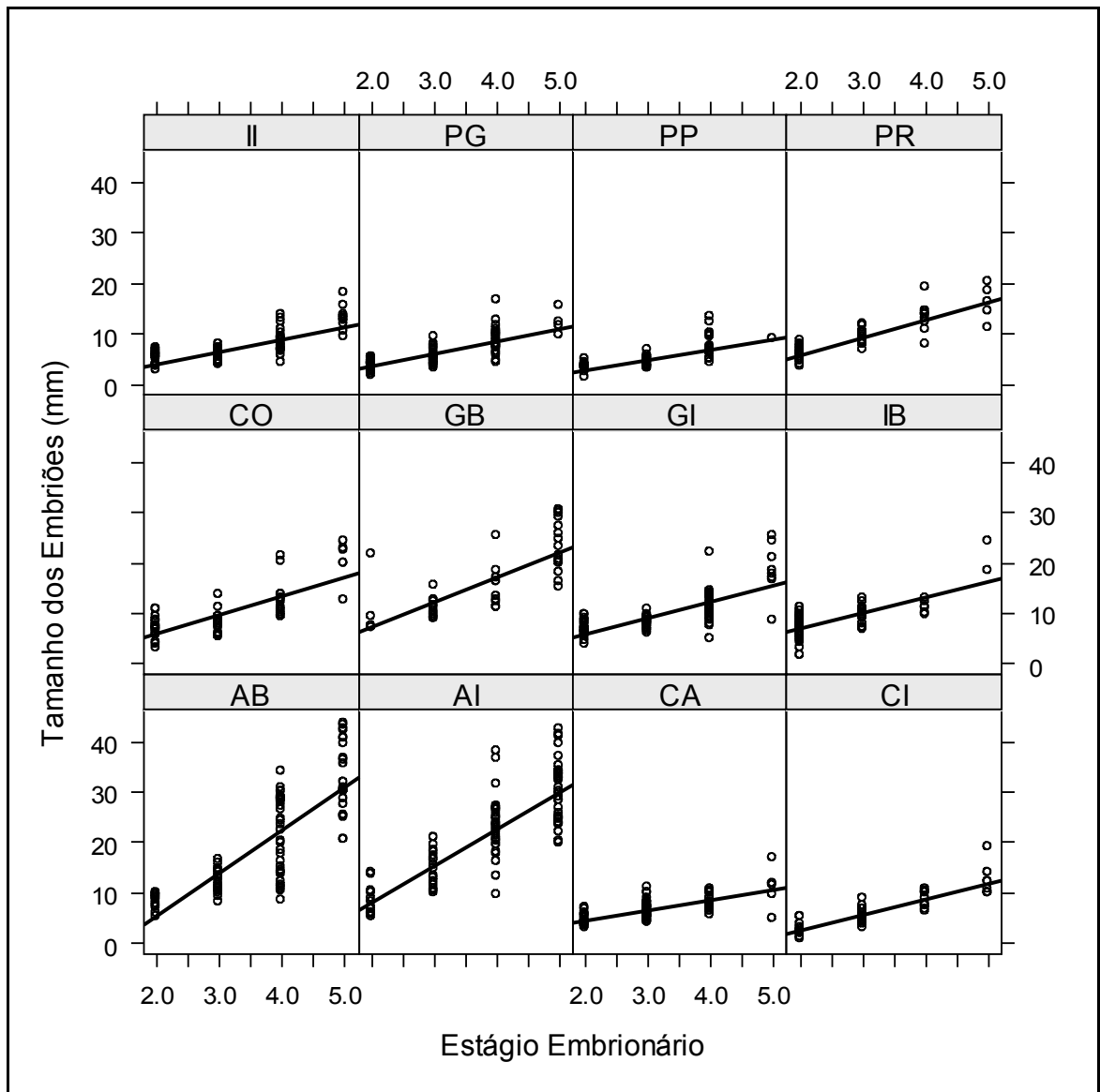


Figura 7. Diagrama de dispersão entre o tamanho dos embriões e o estágio embrionário em cada população. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior.

Tabela 4. Análise de covariância para o investimento reprodutivo usando a fecundidade, o tamanho corporal (peso seco da fêmea) e o estágio embrionário como covariáveis e local como variável independente. O coeficiente de determinação ajustado do modelo é $R^2 = 0.958$

	D.F.	SS	Mean Sq	F. value	Pr(>F)
FEC	1	1797,0	1797,0	220,65	< 2,2e-16 ***
E.Embr.	1	934,1	934,1	114,7	< 2,2e-16 ***
T.C	1	8724,6	8724,6	1071,29	< 2,2e-16 ***
Local	11	6102,3	554,8	68,12	< 2,2e-16 ***
Fec:Local	11	443,9	40,4	4,96	1,684e-07 ***
E.Embr:Local	11	1309,3	119,0	14,62	< 2,2e-16 ***
T.C:Local	11	847,5	77,0	9,46	3,024e-16 ***
Resíduos	879	7158,6	8,1		

FEC.= Fecundidade; T.C=Tamanho Corporal; E.Embr=Estágio Embrionário.

Tabela 5. Coeficientes parciais de regressões múltiplas para cada amostra, de acordo com a análise de covariância. O investimento reprodutivo foi a variável dependente, a fecundidade, o estágio de desenvolvimento e o peso seco da fêmea foram as covariáveis e o local de amostragem a variável independente.

	b parcial	Erro Padrão	t	P
AB				
Fecundidade	0.21265	0.03365	6.319	< 0.0001
Estágio Des.	-0.15469	0.30031	-0.515	0.6066
Peso Fêmea	-8.19364	3.59803	-2.277	0.023032
AI				
Fecundidade	0.22024	0.0344	6.402	< 0.0001
Estágio Des.	-0.77637	0.2777	-2.795	0.0053
Peso Fêmea	-14.59038	3.67693	-3.968	< 0.0001
CA				
Fecundidade	0.43972	0.05809	7.570	< 0.0001
Estágio Des.	-2.42089	0.34535	-7.010	< 0.0001
Peso Fêmea	-110.1783	12.79361	-8.612	< 0.0001
CI				
Fecundidade	0.54503	0.13993	3.895	0.000106
Estágio Des.	0.49371	0.40476	1.220	0.222916
Peso Fêmea	-36.44397	9.47830	-3.845	0.000130
CO				
Fecundidade	0.23779	0.04496	5.288	< 0.0001
Estágio Des.	-0.65937	0.37320	-1.767	0.077636
Peso Fêmea	-20.21156	4.85318	-4.165	< 0.0001
GB				
Fecundidade	0.39226	0.11287	3.475	0.000537
Estágio Des.	0.70191	0.43006	1.632	0.103044
Peso Fêmea	-15.76055	7.10411	-2.219	0.026798
GI				
Fecundidade	0.23351	0.04459	5.237	< 0.0001
Estágio Des.	-0.29052	0.36098	-0.805	0.421163
Peso Fêmea	-17.53341	5.55234	-3.158	0.001649
IB				

Fecundidade	0.31837	0.03766	8.454	< 0.0001
Estágio Des.	-0.63931	0.46624	-1.371	0.170695
Peso Fêmea	-21.24562	2.87717	-7.384	< 0.0001
II				
Fecundidade	0.31490	0.02906	10.838	< 0.0001
Estágio Des.	-1.66849	0.31054	-5.373	< 0.0001
Peso Fêmea	-34.95125	3.85718	-9.061	< 0.0001
PG				
Fecundidade	0.21898	0.03744	5.849	< 0.0001
Estágio Des.	-1.79711	0.32335	-5.558	< 0.0001
Peso Fêmea	-17.91908	3.13140	-5.722	< 0.0001
PP				
Fecundidade	0.65105	0.07907	8.234	< 0.0001
Estágio Des.	-3.54055	0.50591	-6.998	< 0.0001
Peso Fêmea	-80.17057	14.32594	-5.596	< 0.0001
PR				
Fecundidade	0.41848	0.08026	5.214	< 0.0001
Estágio Des.	0.95045	0.50352	1.888	0.059435
Peso Fêmea	-42.90340	8.54972	-5.018	< 0.0001

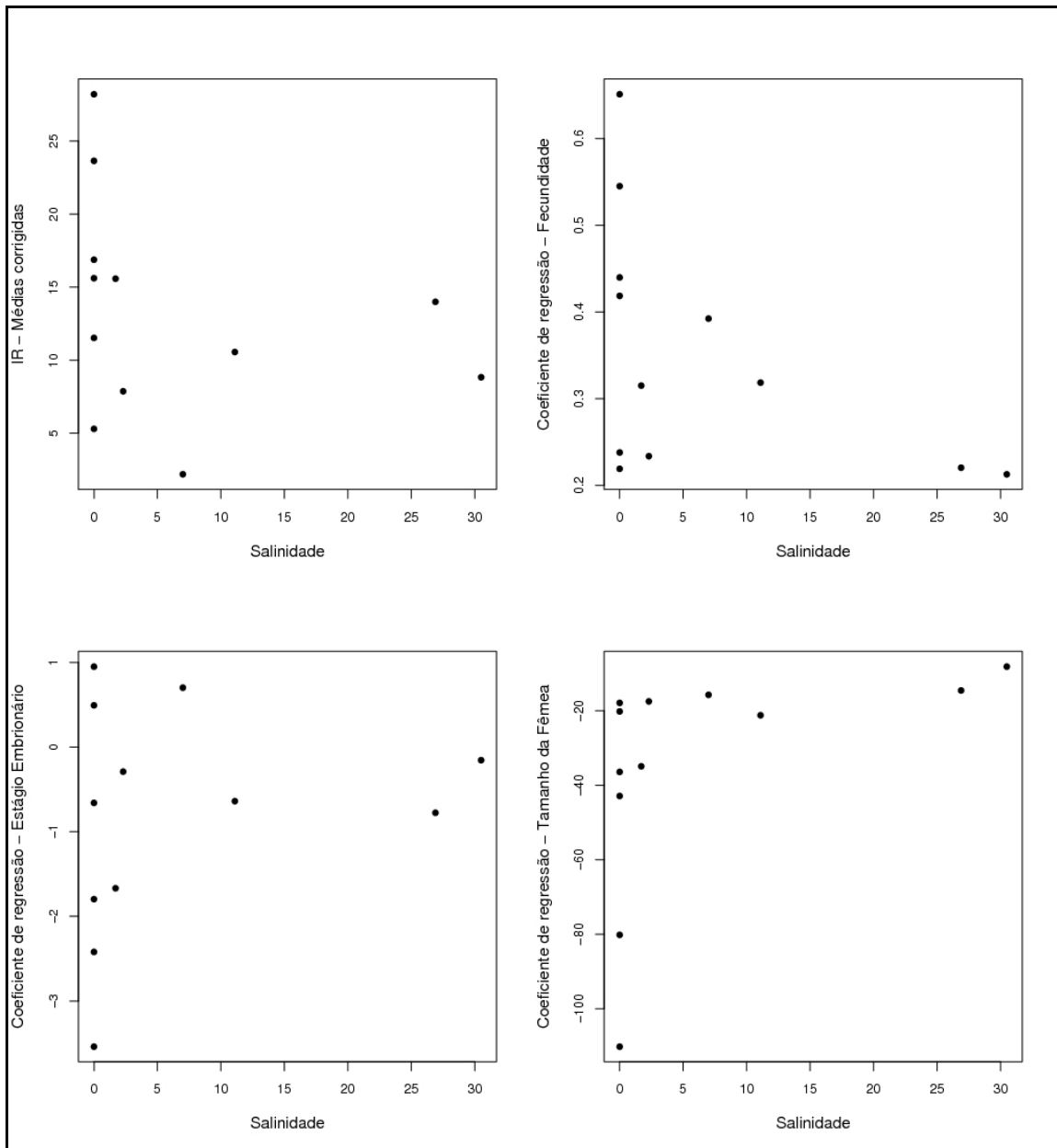


Figura 8. Diagrama de dispersão para as médias corrigidas de investimento reprodutivo e coeficientes de regressão parciais entre investimento reprodutivo, fecundidade, estágio embrionário e tamanho das fêmeas em relação à salinidade dos locais amostrados.

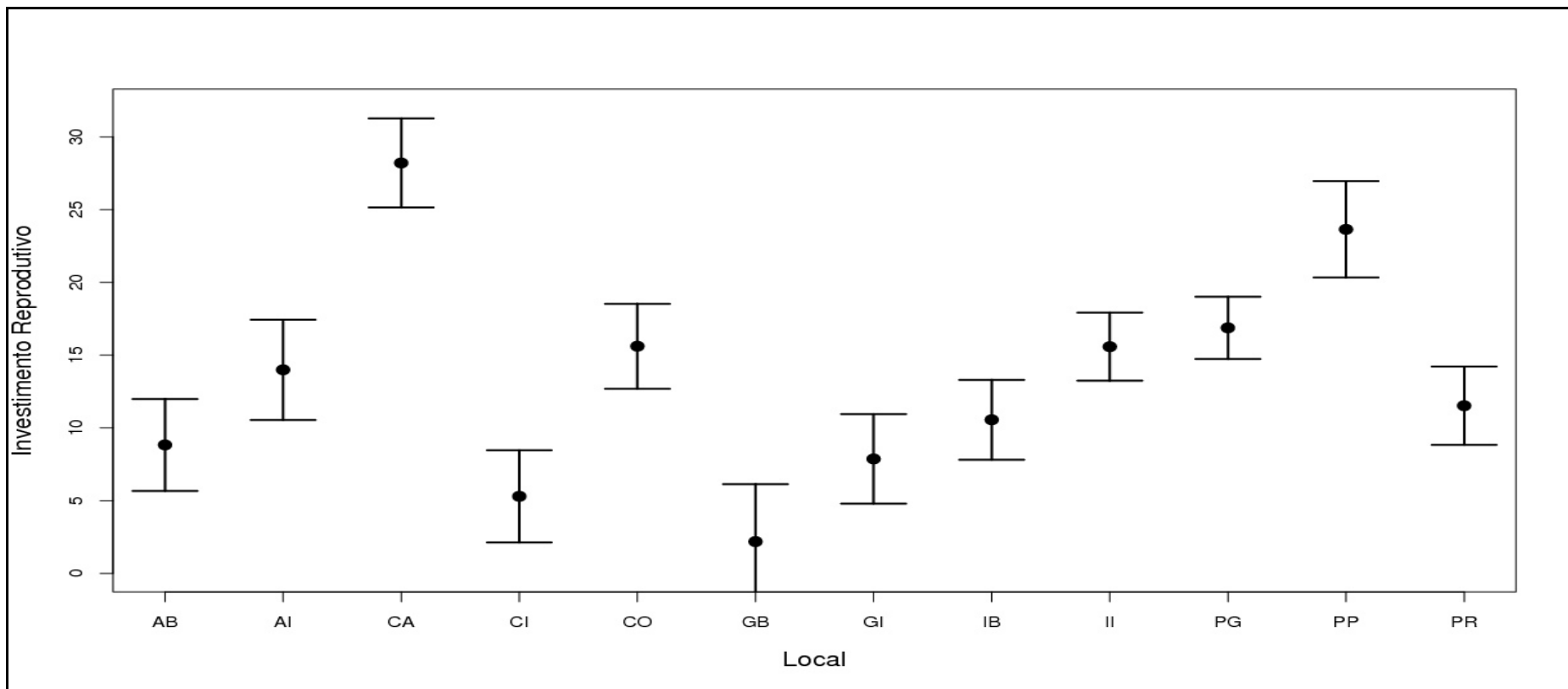


Figura 9. Investimento reprodutivo médio corrigido para as covariáveis fecundidade, estágio embrionário e tamanho das fêmeas, mostrando variação e intervalos de confiança de 95% para cada amostra. **AB**=Lagoa do Açú Barra; **AI**=Lagoa do Açú Interior; **CA**=Lagoa do Campelo; **CI**=Lagoa de Cima; **CO**=Lagoa do Comércio; **PP**=Lagoa Feia- Pesque-Pague; **PG**=Lagoa Feia- Ponta Grossa; **PR**=Lagoa da Praia; **GB**=Grussai Barra; **GI**=Grussai Interior; **IB**=Iquipari Barra; **II**=Iquipari Interior.

Experimento de ambiente comum

Os parâmetros de crescimento podem ser quantificados por curvas obtidas através de modelos, permitindo uma análise comparativa interpopulacional. Os modelos de crescimento permitem ainda a inferência de padrões inerentes às populações, como a existência de desaceleração do crescimento desde o nascimento (modelos não lineares) ou mesmo a idade em que a desaceleração começa a ocorrer.

Diferentes modelos foram ajustados aos dados de idade e comprimento padrão obtidos para as duas populações: regressão linear, em que a relação entre comprimento e idade é descrita por uma linha reta (a taxa de crescimento não varia); von Bertalanffy, em que a relação entre as variáveis é não-linear, mas a taxa de crescimento apenas decresce ao longo do tempo, a partir de um máximo inicial; e Gompertz, em que a relação é não-linear, mas inicialmente a taxa de crescimento aumenta até um ponto de máximo (inflexão), a partir do qual a mesma começa a decrescer. A comparação dos modelos a partir de um critério de informação (Akaike Information Criterion) mostrou que o melhor ajuste obtido (o menor valor do critério) foi para o modelo de crescimento de Gompertz (Tabela 6), sugerindo uma aceleração do crescimento inicial até o ponto de inflexão, a partir do qual há uma desaceleração do crescimento. As curvas de Gompertz ajustadas permitem uma comparação direta do crescimento das duas populações (Figura 10), assim como uma comparação mais específica dos parâmetros, como o tamanho assintótico (uma medida do tamanho médio esperado para a população de adultos, baseada na curva de crescimento), a taxa máxima de crescimento e o ponto de inflexão (idade em que ocorre o máximo de crescimento, interpretada como o provável início da maturação sexual). As curvas mostram uma diferença significativa nos padrões de crescimento entre as duas populações, mesmo sendo os indivíduos criados em um ambiente comum (no caso, a água doce).

A população da Barra do Açu mostra um crescimento acelerado em relação à população da Lagoa do Campelo, atingindo um maior comprimento assintótico. Esta observação é confirmada pelas comparações diretas entre parâmetros das duas

curvas (Figura 11). Os intervalos de confiança obtidos a partir de uma reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) dos dados mostram a ausência de sobreposição dos comprimentos assintóticos (média ~29mm para a população da Barra do Açu e ~19mm para a população da Lagoa do Campelo) e dos pontos de inflexão (média ~11 dias para a Barra do Açu e ~7 dias para a Lagoa do Campelo). A taxa de crescimento máximo mostra alguma sobreposição dos intervalos totais, mas os intervalos de 95% de confiança não se sobrepõem (limite inferior para a Barra do Açu = 0,1906; limite superior para a Lagoa do Campelo = 0,1773). Estes resultados sugerem diferenças genéticas entre as populações, que persistem mesmo quando os animais são criados em um ambiente comum. A plasticidade fenotípica na natureza não deve ser descartada, no entanto, tendo em vista que as diferenças nos valores médios de comprimento assintótico (~10 mm) são menores que as diferenças nas médias de comprimento padrão observadas na natureza (Figura 12), que se aproximam de 20 mm. Além disso, as populações criadas em laboratório apresentam médias significativamente menores que as observadas na natureza (Figura 12).

A diferença observada entre os indivíduos provenientes da Barra do Açu e criados no laboratório em relação aos da natureza é aproximadamente o dobro daquela observada para os indivíduos do Campelo. Estas comparações sugerem que as diferenças genéticas e a plasticidade fenotípica influenciam as diferenças de tamanho corporal de maneira balanceada (50%-50%). Esta interpretação decorre do fato da diferença observada no laboratório (predominantemente genética) corresponde à metade da diferença observada na natureza (misturando diferenças genéticas e plásticas). As diferenças observadas entre os indivíduos criados no laboratório e os coletados na natureza, no entanto, certamente refletem diferenças ambientais (não mensuradas) além das diferenças de salinidade. Estas diferenças não mensuradas podem ser causadas principalmente por diferenças qualitativas de alimentação (alimentos para peixes ornamentais x dieta mais diversificada na natureza), ou aspectos qualitativos da água. Como esperado, a maior diferença de comprimento médio (na comparação laboratório x natureza) é observada em relação aos indivíduos da Barra do Açu, tendo em vista que estes experimentaram diferenças de salinidade da água, enquanto os indivíduos provenientes da Lagoa do

Campelo não experimentaram esta modificação.

O efeito da diferença de salinidade pode ser sentido também na análise de sobrevivência (Figura 13), onde o grupo de indivíduos provenientes da Barra do Açu apresenta, a partir de 20 dias de idade, uma sobrevivência menor que o grupo da Lagoa do Campelo. As curvas de sobrevivência são estatisticamente diferentes (Qui-quadrado = 14,8, g.l. = 1, $P = 0,000119$). As diferenças de sobrevivência sugerem uma adaptação local às condições de salinidade, em que os indivíduos provenientes de lagoas de água doce já apresentam um metabolismo “regulado e otimizado” para as condições da água.

Tabela 6. Critérios de Informação Akaike para o ajuste dos modelos de crescimento para cada população.

Modelo	Barra do Açú	Campelo
Linear	747,666	2446,636
von Bertalanffy	625,671	1038,262
Gompertz	622,221	1025,601

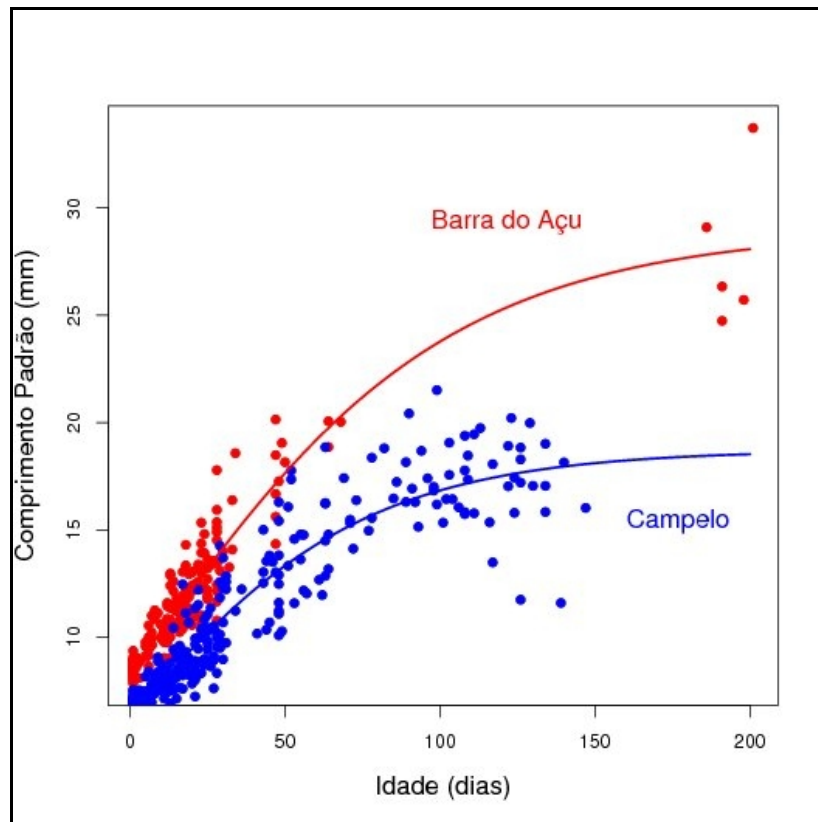


Figura 10. Curvas de crescimento de Gompertz para indivíduos criados em ambiente comum (água doce), nascidos de fêmeas capturadas na natureza.

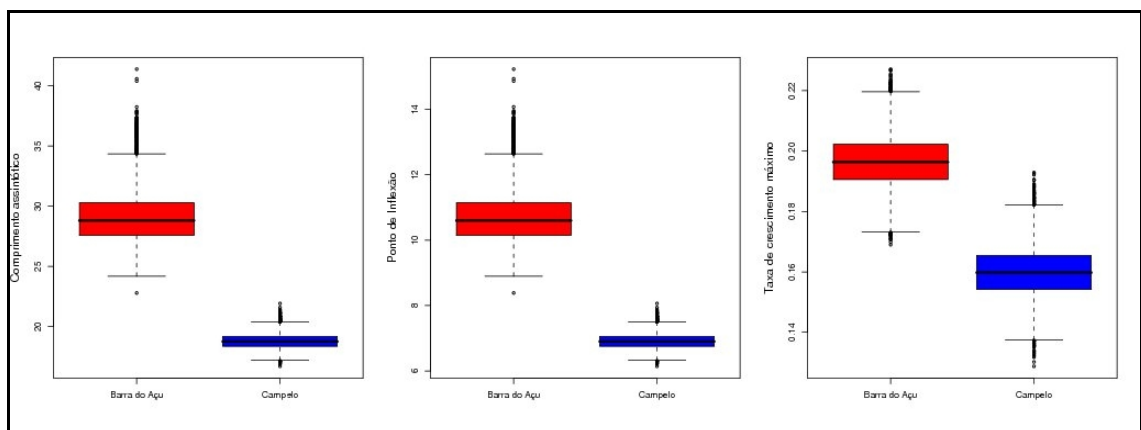


Figura 11. Diagramas *box-plot* para os intervalos de confiança de 95% calculados por *bootstrap* para os parâmetros das curvas de crescimento das duas populações.

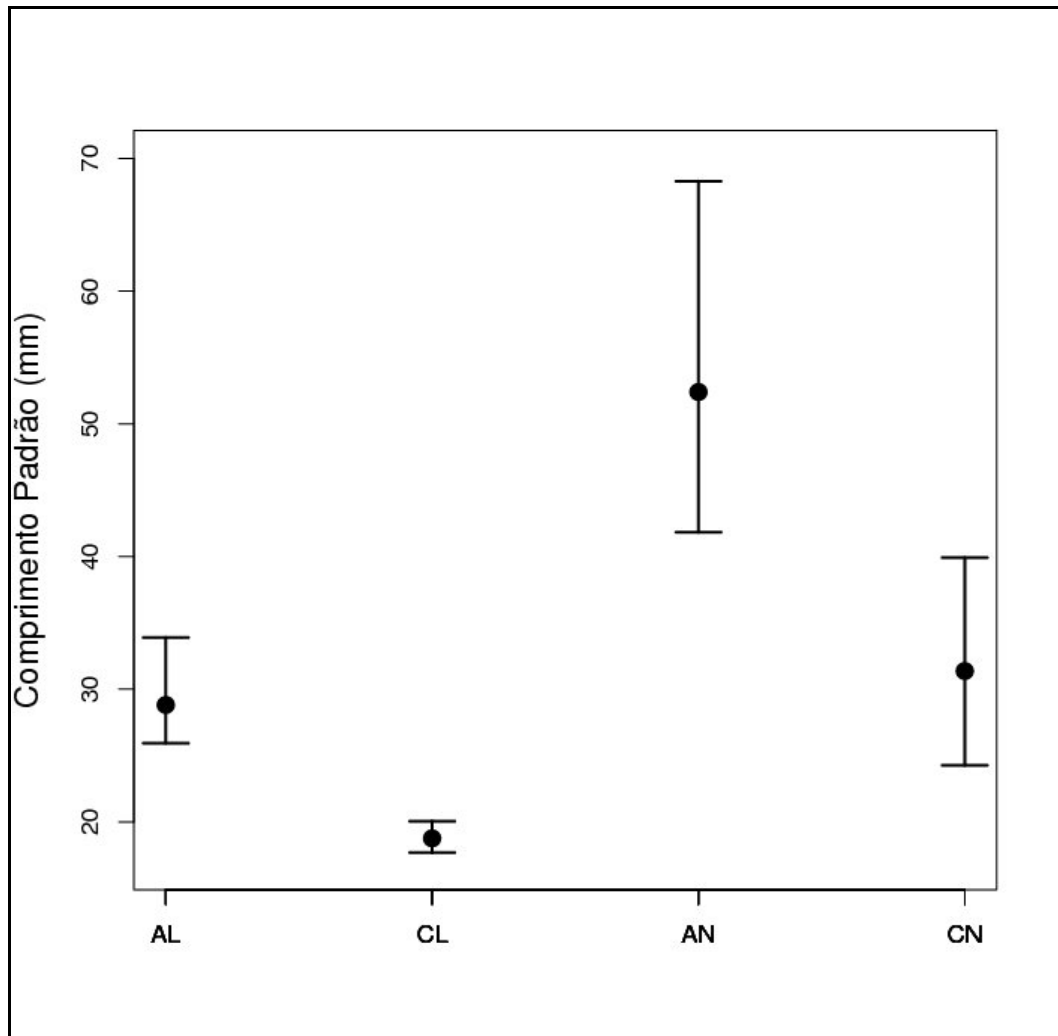


Figura 12. Comparação dos intervalos de confiança de 95% para comprimentos assintóticos de populações de laboratório e 95% de confiança baseados em amostras coletadas na natureza. AL - Barra do Açu no cativeiro, AN - Barra do Açu da natureza, CL - Campelo no cativeiro, CN - Campelo da natureza.

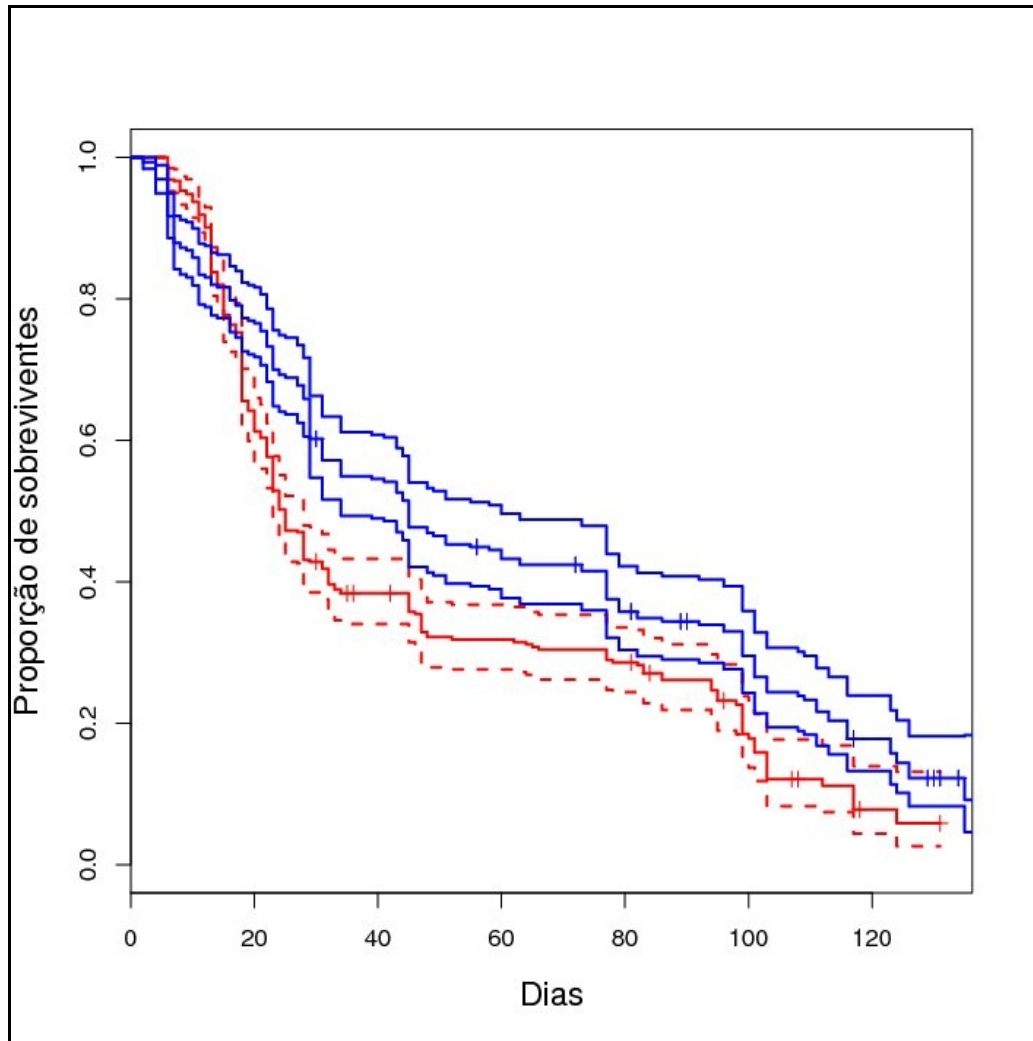


Figura 13. Curvas de sobrevivência ajustadas para as populações provenientes das Lagoas do Campelo (azul) e Barra do Açú (vermelho), com respectivos intervalos de confiança de 95%.

- Variação nas taxas de divergência entre populações.

Os resultados encontrados através da aplicação do modelo da herdabilidade constante indicam que a variação nas variáveis reprodutivas entre populações na natureza é muito grande para que seja explicado somente pela hipótese da evolução neutra. Para todas as variáveis, a seleção direcional foi sugerida como causa da divergência entre as populações. O valor crítico para o F unicaudal para aceitação do modelo neutro da deriva genética com um alfa de 0.05 foi de 1.788, $(n-1)=11$ graus de liberdade no numerador e infinitos graus de liberdades no denominador. Estes valores críticos foram usados para a inferência da combinação dos parâmetros que causariam a aceitação da deriva genética.

As variáveis reprodutivas estudadas foram a fecundidade, o tamanho dos embriões, o investimento reprodutivo e o peso seco da fêmea. Para a quantidade de variação encontrada entre as populações na natureza, a deriva genética somente seria aceita com a herdabilidade próxima de 0.8 e com o tamanho máximo efetivo populacional de aproximadamente 20000 para fecundidade (Figura 14), 10000 para o tamanho dos embriões (Figura 15), 10000 para o investimento reprodutivo (Figura 16) e < 10000 para o peso seco das fêmeas (Figura 17). Estes tamanhos populacionais efetivos são baixos demais para serem realistas, mesmo para as estimativas mais conservadoras. A herdabilidade de 0.8 tampouco é realista para variáveis reprodutivas, pois estas em geral apresentam uma influência ambiental maior que variáveis morfológicas. Um aumento considerável na influência ambiental, reduzindo a herdabilidade para um valor próximo das estimativas da literatura para variáveis bionômicas ($h^2 \sim 0.3$) faria com que os testes fossem ainda mais significativos, exigindo tamanhos populacionais efetivos menores que 5000 para aceitar a hipótese de deriva genética. Estes resultados mostram que as variáveis reprodutivas mostram uma variação consistentemente maior que a esperada por evolução neutra, mas o processo de seleção natural somente pode ser invocado se houver um componente de variação genética aditiva significativo (herdabilidade > 0). Caso a herdabilidade real seja igual a 0, a plasticidade fenotípica nos diferentes

ambientes deveria ser invocada para explicar a magnitude da variação entre populações.

A comparação dos parâmetros dos modelos de crescimento resultantes do experimento em ambiente comum, mostra também uma grande magnitude de variação entre grupos comparada com o esperado por deriva genética. Os parâmetros comparados foram comprimento assintótico, ponto de inflexão (como *proxy* para a idade de maturação) e a taxa máxima de crescimento (observada no ponto de inflexão). As médias e as variâncias foram calculadas pela distribuição da reamostragem *bootstrap* para cada população experimental. Neste caso, apenas duas populações foram comparadas: uma proveniente da Lagoa do Campelo (água doce) e uma proveniente da Lagoa do Açú (água salgada), sendo que ambas foram criadas em água doce no laboratório. Para todos os parâmetros de crescimento das populações em ambiente comum, os resultados foram ainda mais significativos que para as populações da natureza.

Para visualizar o resultado das superfícies de tendência, o intervalo de tamanho populacional efetivo considerado foi entre 0 e 10000 apenas. Mesmo para as herdabilidades mais altas, as diferenças entre médias dos parâmetros de crescimento é tão grande relativa aos erros padrão, que seriam necessários tamanhos populacionais efetivos menores que 2000 indivíduos para a aceitação da deriva genética (Figuras 18, 19 e 20). Uma vez que a variação ambiental é padronizada, é esperado que as diferenças genéticas se sobressaiam. Mesmo as diferenças absolutas entre as médias sendo maiores entre as populações da natureza (Figura 12), a redução das variâncias dentro dos grupos causada pela padronização do ambiente faz com que o teste seja mais significativo que nas comparações entre populações naturais. Este resultado sugere que as diferenças entre as populações têm um componente genético significativo, e os experimentos de ambiente comum possibilitaram inferir a maior importância da seleção natural comparada à plasticidade fenotípica no estabelecimento dos padrões de divergência entre populações de *P. vivipara* nas lagoas do Norte Fluminense.

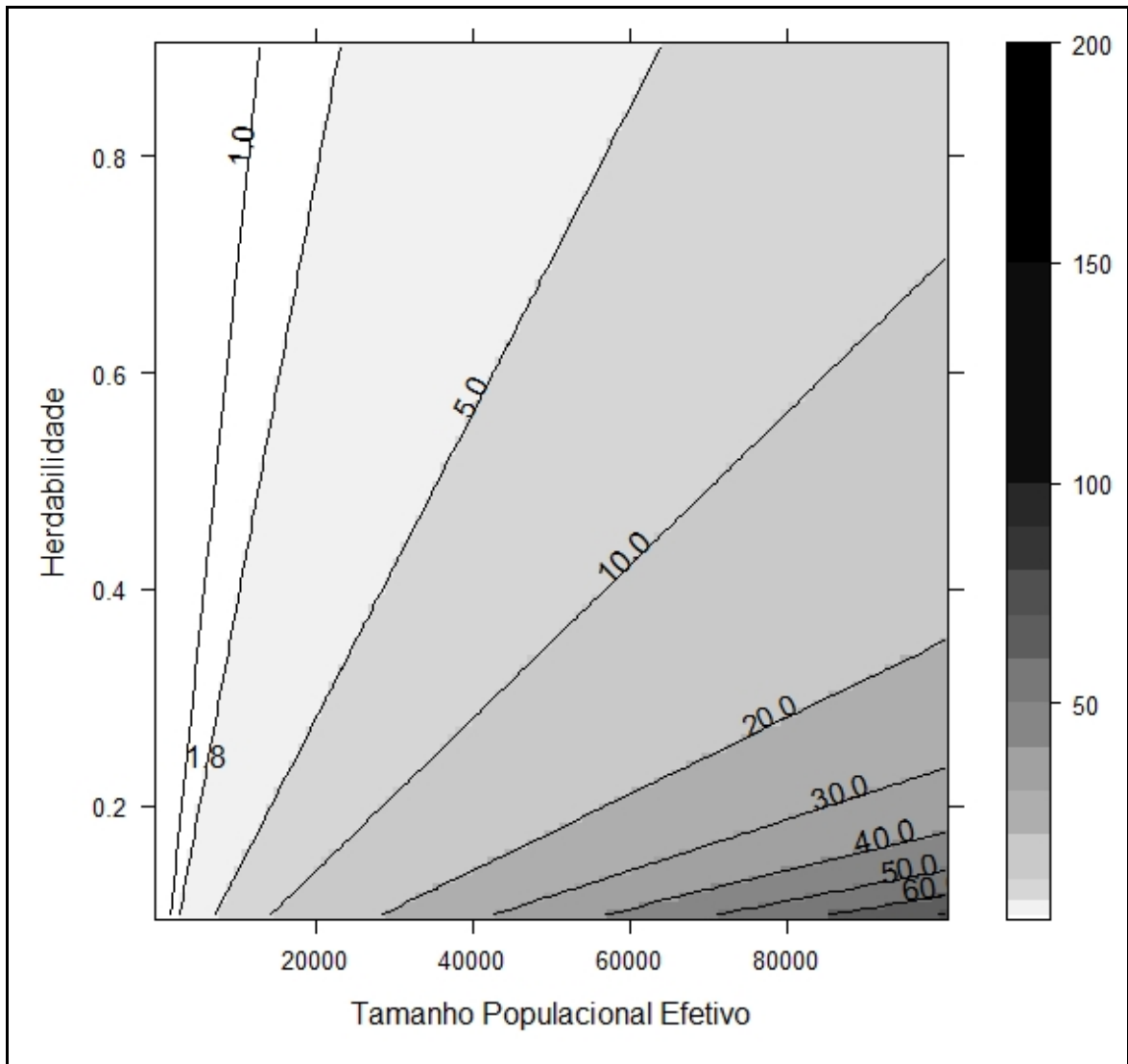


Figura 14. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre a fecundidade, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).

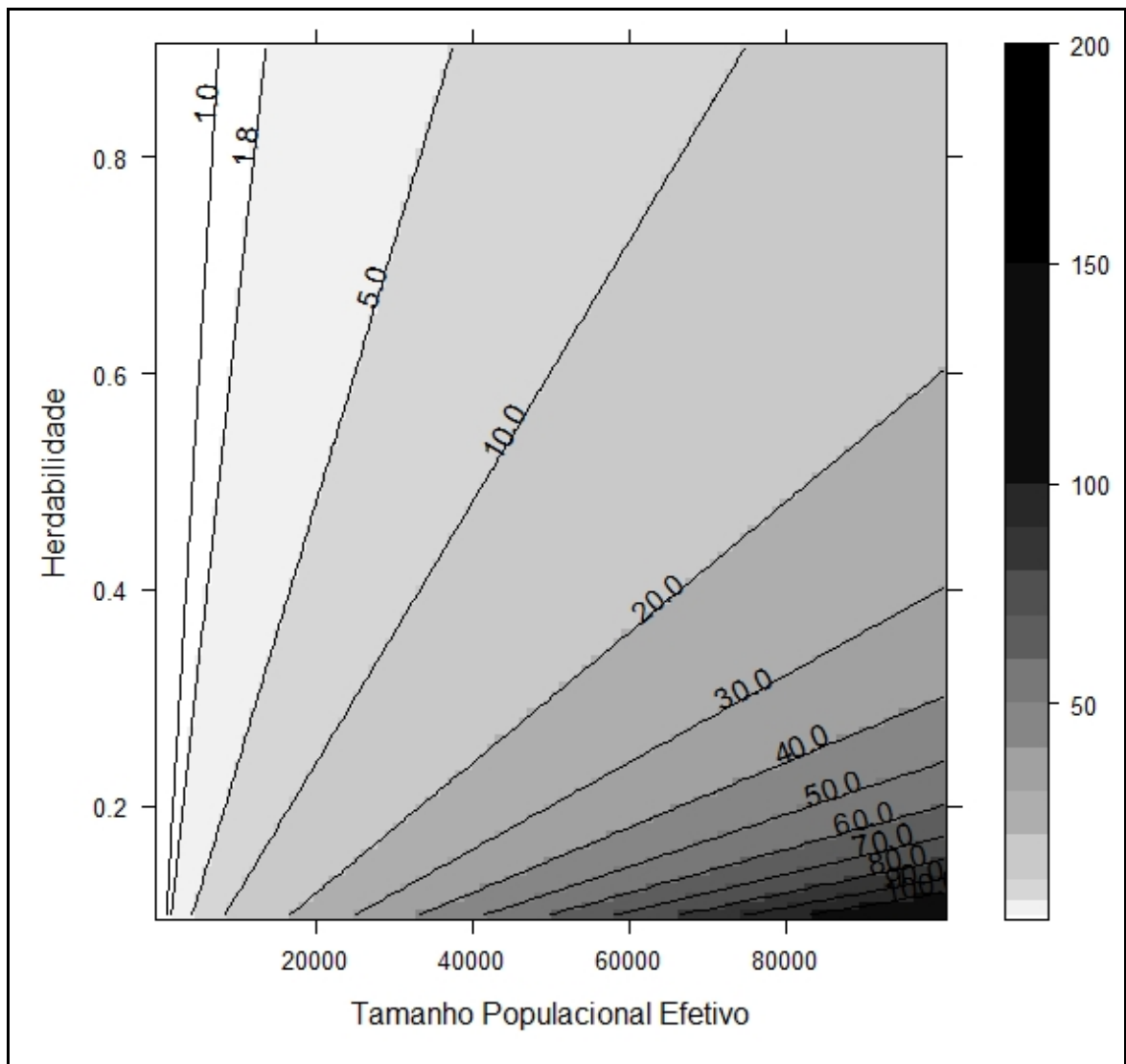


Figura 15. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre o tamanho dos embriões, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).

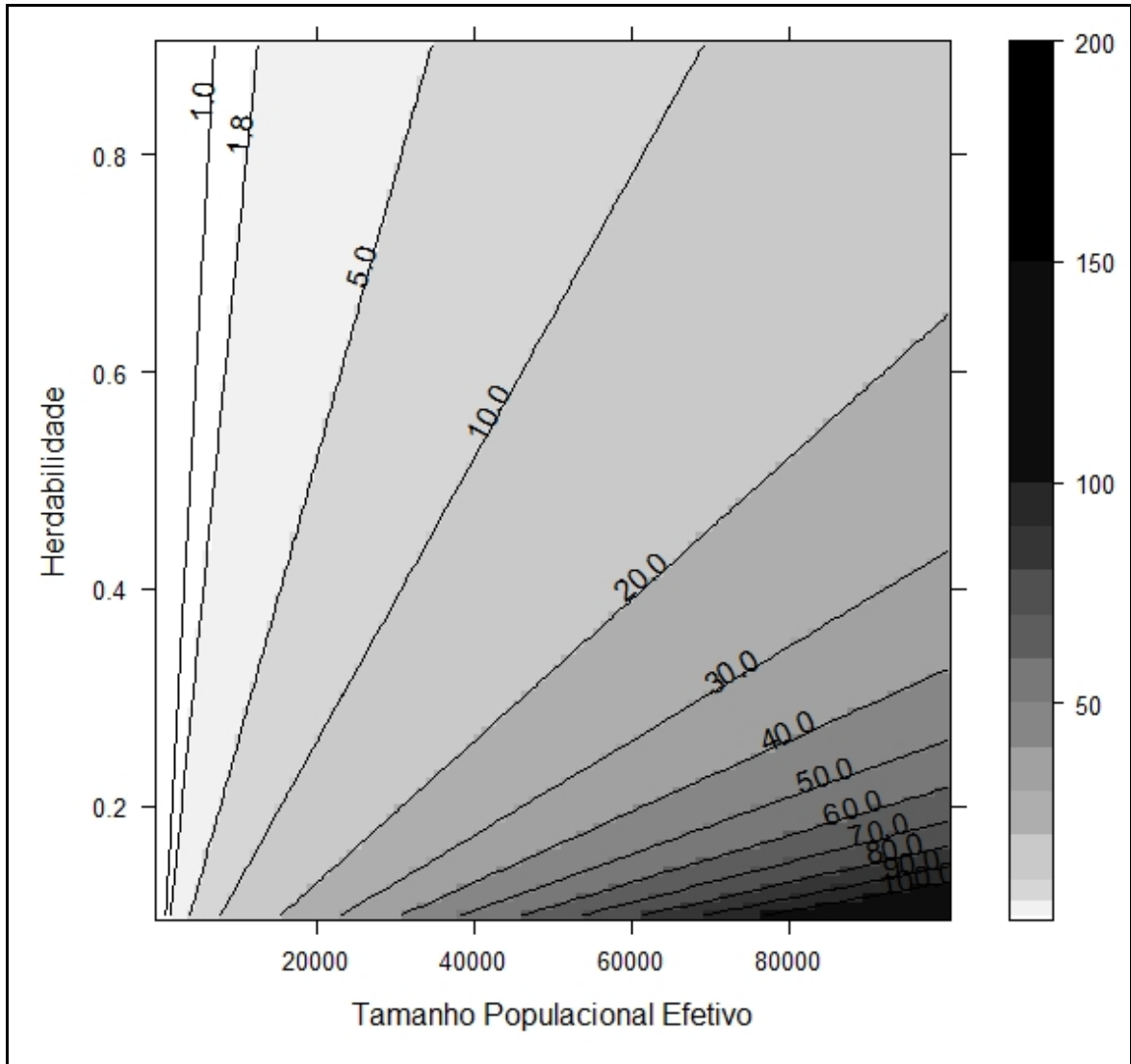


Figura 16. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre o investimento reprodutivo, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).

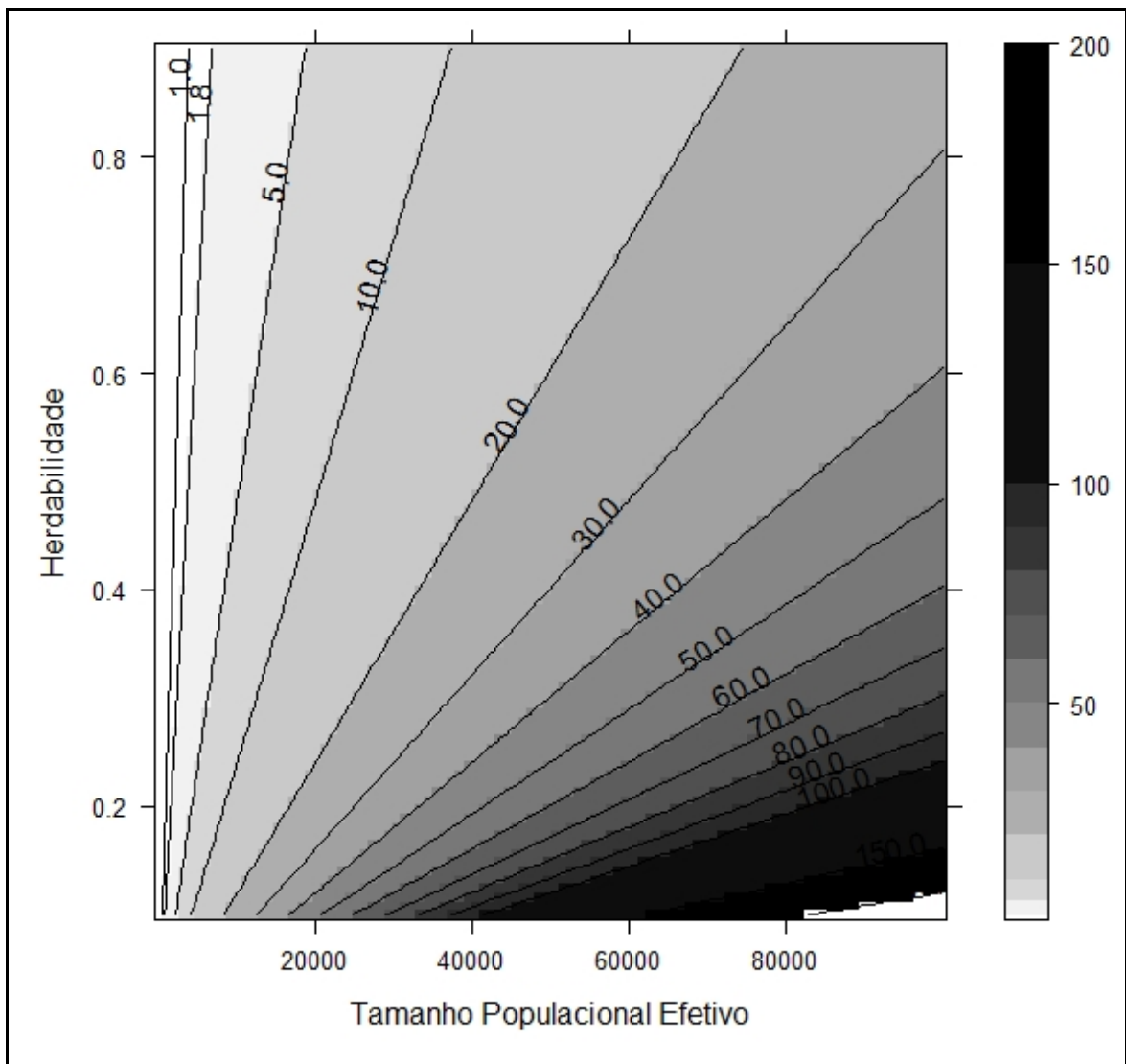


Figura 17. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre o peso seco das fêmeas, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 1.8 (F crítico para 11 e infinitos graus de liberdade).

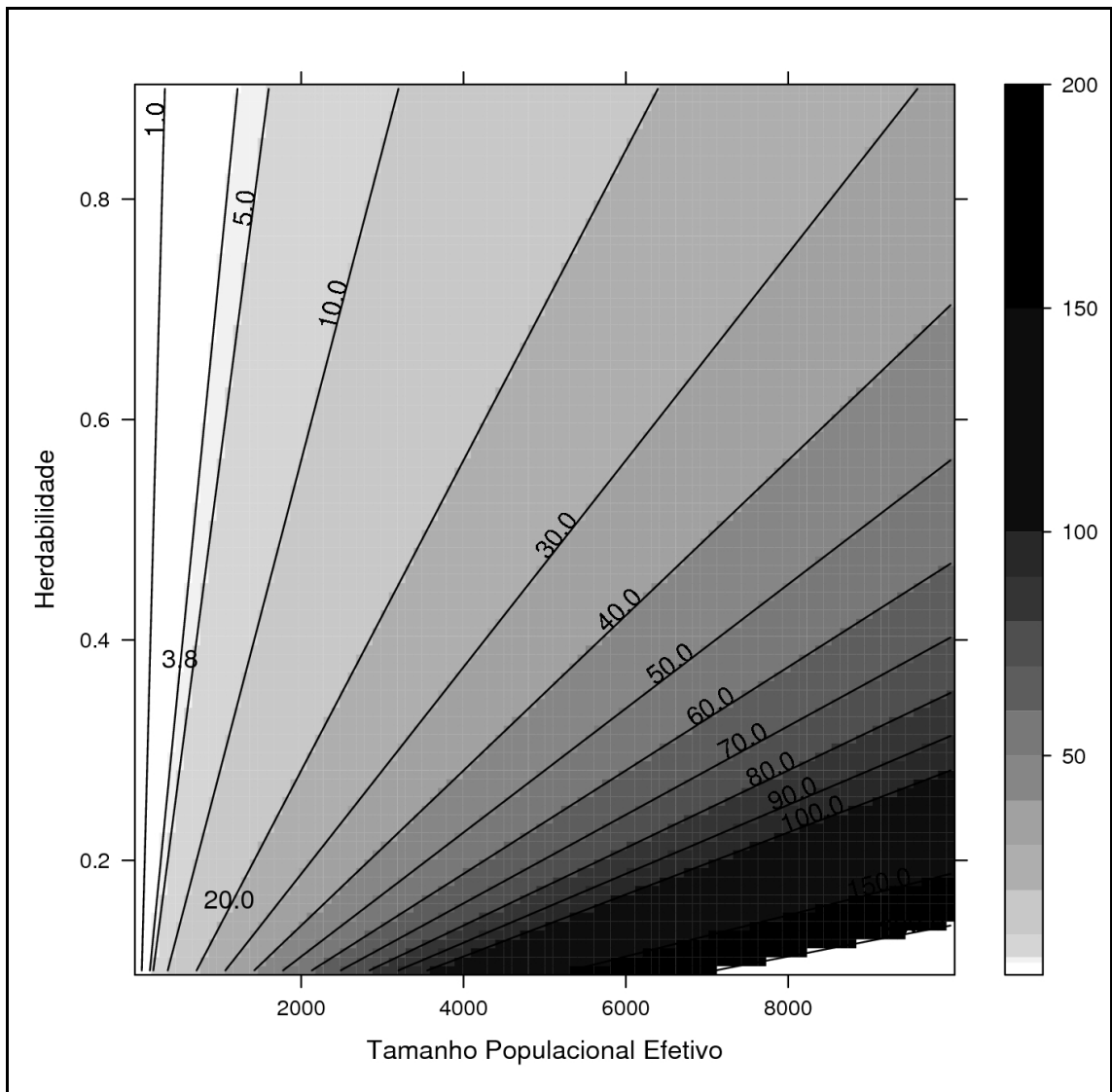


Figura 18. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre os tamanhos assintóticos derivados do modelo de crescimento, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 3.8 (F crítico para 1 e infinitos graus de liberdade).

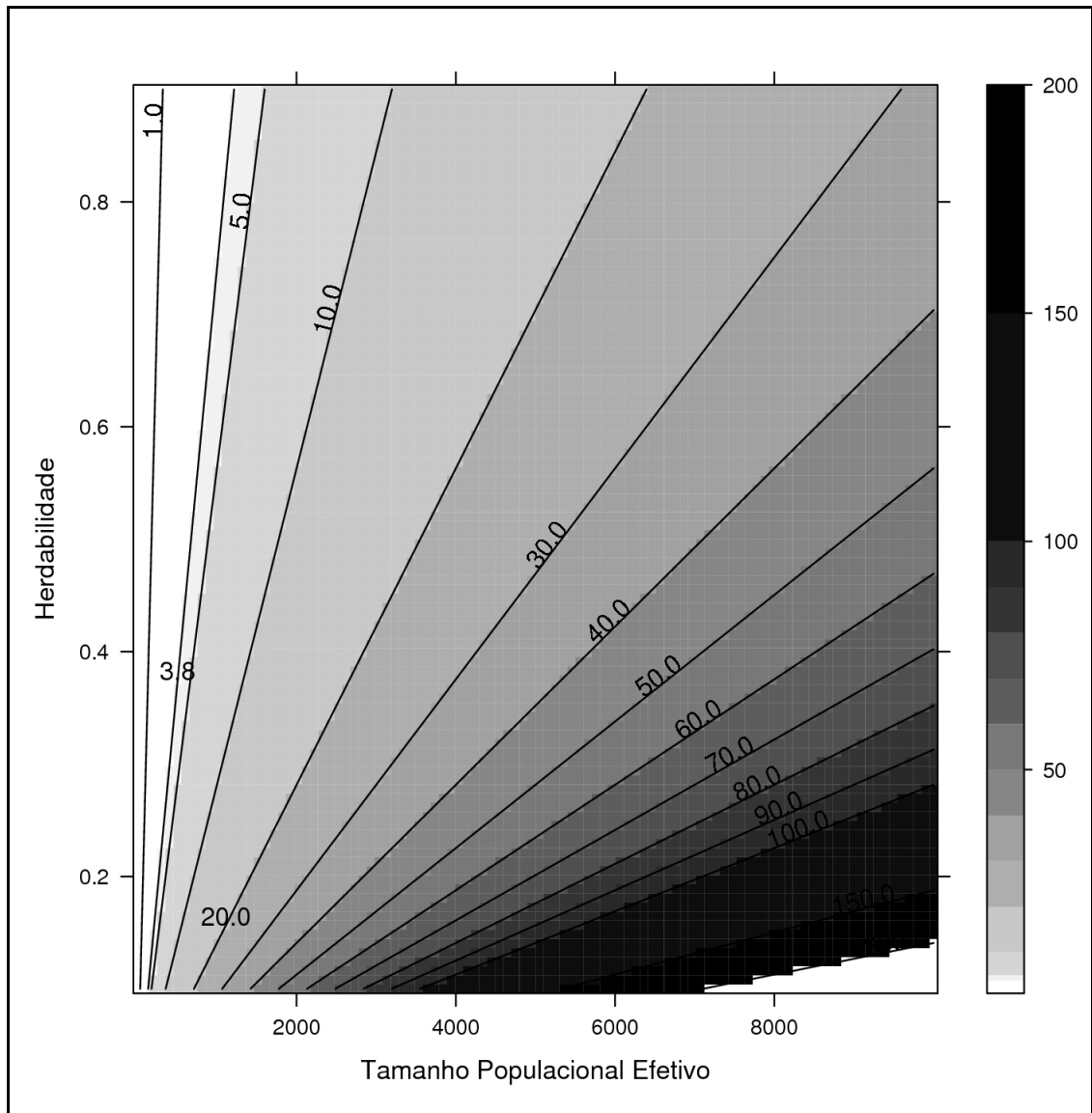


Figura 19. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre os pontos de inflexão (como *proxy* para a idade de maturação) derivados do modelo de crescimento, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 3.8 (F crítico para 1 e infinitos graus de liberdade).

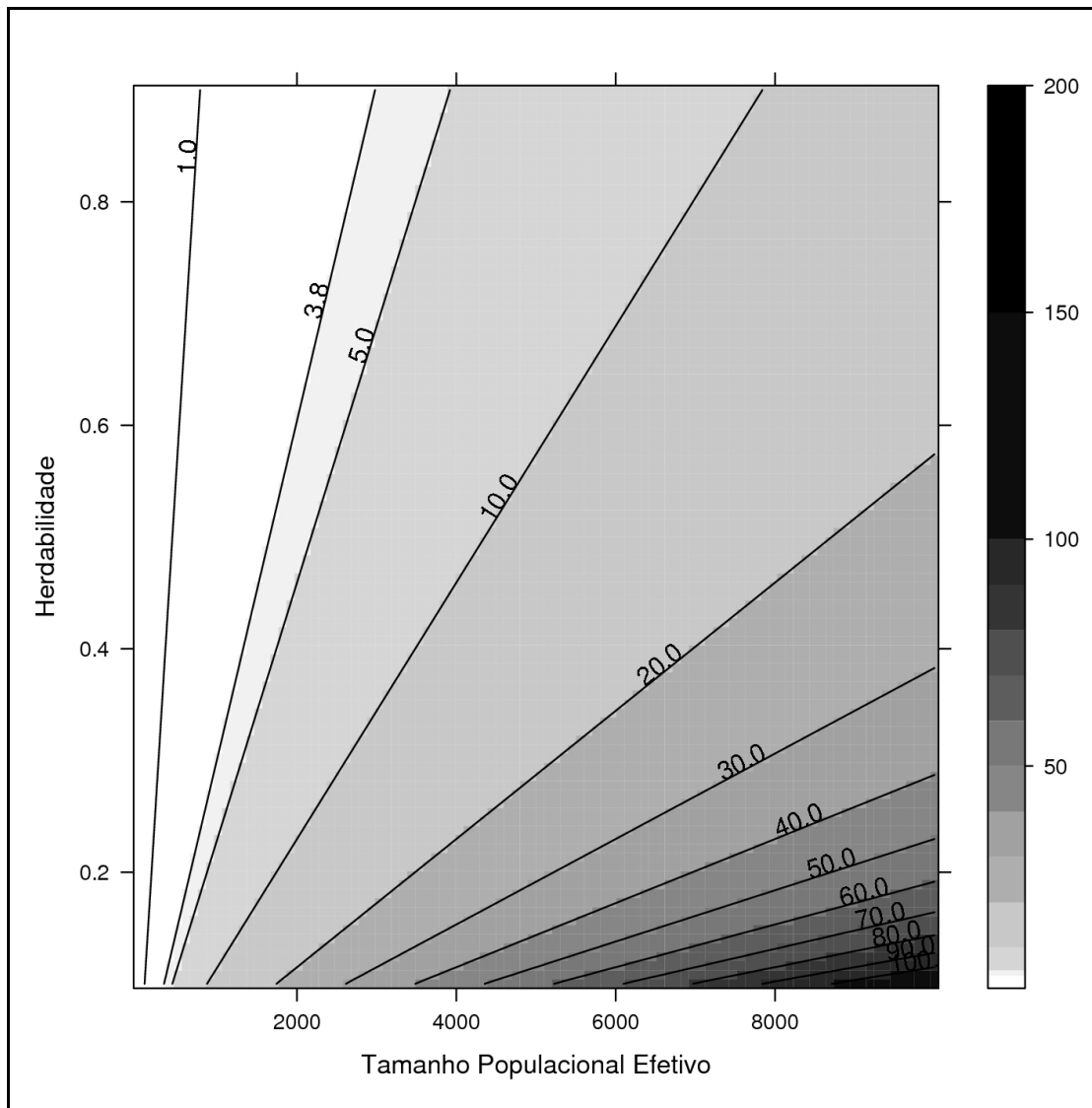


Figura 20. Superfície de tendência para o teste de seleção direcional sobre as taxas de crescimento máximo derivadas do modelo de crescimento, de acordo com os intervalos de tamanho efetivo populacional e herdabilidade (o número de gerações é fixado em 8000). A região de aceitação da hipótese nula da deriva genética corresponde à linha de contorno de 3.8 (F crítico para 1 e infinitos graus de liberdade).

Discussão

● Variação espacial nas características reprodutivas

Os peixes poecilídeos são amplamente estudados por exibirem uma variedade de respostas morfológicas (Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2008) e de padrões de história de vida causadas fundamentalmente pelos fatores ambientais, por seleção ou plasticidade (Stearns e Sage, 1980; Reznick e Endler, 1982; Reznick e Miles, 1989; Johnson e Belk, 2001; Abney e Rakocinski, 2004). Devido à alta capacidade de dispersão e à tolerância a extremos ambientais, os indivíduos de *P. vivipara* habitam uma gama de ambientes nas lagoas costeiras do Norte Fluminense (Bizerril e Primo, 2001; Gomes-Jr e Monteiro, 2007; 2008), proporcionando um sistema modelo oportuno para estudos sobre divergência evolutiva entre estratégias reprodutivas.

As características que compõem a história de vida são consideradas boas indicadoras dos processos evolutivos por estarem envolvidas diretamente com o processo de seleção natural e conseqüentemente com a adaptação de uma população ou espécie em um dado local (Stearns, 1992; Stearns 2000; Roff, 2002). A variação nos parâmetros reprodutivos de *P. vivipara* está intimamente associada ao local de origem de cada uma delas e ao ajuste que cada população fez para obter sucesso sobre as pressões ambientes. A adoção de diferentes estratégias reprodutivas entre as populações indica fortemente a pressão seletiva e o ajuste para maximizar o valor adaptativo dos indivíduos.

Estudos com história de vida em outras espécie de poecilídeos comumente mostram que a predação é o principal agente causador das diferenças nos padrões reprodutivos entre as populações (Reznick et al., 1990; Reznick et al., 1996; Downhower et al., 2000; Jennions e Telford, 2002; Johnson e Belk, 2001). Estes estudos mostram que populações que co-ocorrem com predadores possuem maior fecundidade, menores embriões, maior investimento reprodutivo e

tamanho corporal menor na maturação em relação às populações livres de predadores (Reznick e Endler 1982, Reznick et al., 1996; Johnson e Belk, 2001). As populações de guarus de água doce co-habitam com a traíra (*Hoplias malabaricus*), a qual é considerada a principal predadora de *P. vivipara* (Mazzoni e Iglesias-Rios, 2002), além de ser exclusivamente de água doce, portanto ausente em locais de águas salobras (Garcia et al., 2003). Durante algumas coletas realizadas nas lagoas de água doce (principalmente na Lagoa do Campelo), foram capturados alguns desses predadores em estágio juvenil no mesmo micro-ambiente onde *P. vivipara* foi coletada. Estudos envolvendo as duas espécies mostraram que *P. vivipara* é um dos principais itens na alimentação de juvenis de *Hoplias malabaricus* e que a densidade populacional de ambas está correlacionada (Winemiller, 1989; Mazzoni e Iglesias-Rios, 2002). Desta forma, as populações de *P. vivipara* presentes em água doce estão provavelmente sujeitas a uma maior pressão de predação que as populações que habitam locais com água salobra ou salgada. Embora as populações de água doce apresentem tanto menores valores para fecundidade, como também para tamanho dos embriões, elas possuem os maiores valores para o investimento reprodutivo, indicando uma estratégia reprodutiva de maior investimento na reprodução do que no crescimento somático. Estudos com outras espécies de poecilídeos, comparando populações com e sem pressão de predadores, encontraram os mesmos padrões de variação nos parâmetros reprodutivos.

A salinidade é uma das características abióticas mais variáveis das lagoas do Norte Fluminense, com grande influência tanto na estrutura vegetal (Chagas e Suzuki, 2005; Suzuki et al., 1998, 2002) como na composição ictiofaunística das lagoas (Bizerril e Primo, 2001), além de formar um gradiente salino que diminui da barra em direção ao interior nas lagoas com direta influência marinha (Chagas e Suzuki, 2005; Suzuki et al., 1998, 2002). O aumento da salinidade pode apresentar influência positiva no tamanho corporal através da redução da taxa metabólica basal, no aumento da taxa de conversão de alimentos e na otimização das trocas osmóticas, além de estar diretamente relacionada com o período de incubação e com a taxa de desenvolvimento embrionário em algumas espécies de peixes (Boeuf e Payan, 2001). Embora a salinidade tenha um efeito direto nas

diferenças de tamanhos corporais médios entre as populações de *P. vivipara* (Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005, Gomes-Jr e Monteiro, 2008), os efeitos sobre os parâmetros reprodutivos são provavelmente indiretos através do tamanho corporal. As maiores médias para fecundidade e tamanho dos ovos foram encontradas em locais salinos ou salobros, onde as populações de *P. vivipara* apresentam os maiores tamanhos corporais, indicando a influência direta do tamanho corporal nos parâmetros reprodutivos. Alguns estudos mostraram que em poecilídeos a fecundidade é positivamente associada ao tamanho corporal (Meffe, 1985; Reznick e Miles, 1989; Leips e Travis, 1999; Jennions e Telford, 2002). O mesmo padrão foi observado para *P. vivipara*, pois apesar das populações apresentarem diferentes relações entre o tamanho corporal e a fecundidade, em todas as amostras a relação é positiva.

As diferenças nas variáveis reprodutivas entre populações presentes em distintos ambientes podem refletir a existência de estratégias reprodutivas divergentes, maximizando o valor adaptativo dos indivíduos (Reznick, 1981; Reznick, 1985; Reznick e Endler, 1982; Stearns, 2000; Stearns e Hoekstra, 2000; Roff, 2002). Relações de permutas adaptativas (*tradeoffs*) são comumente observadas nas populações dependendo do tipo de estratégia reprodutiva adotada pelas mesmas (Stearns, 2000; Roff, 2002). Neste estudo, as populações presentes em água doce apresentaram maiores médias para o investimento reprodutivo, embora apresentem tamanhos corporais relativamente menores que as populações habitando água salgada. Dentro de todas as amostras também foi observado um padrão em que as maiores fêmeas apresentavam menor investimento reprodutivo, mostrando que o balanço entre crescimento e reprodução é muito variável, e pode ser rapidamente selecionado, modificando a estratégia reprodutiva de acordo com pressões seletivas imediatas. A pressão de predação em algumas lagoas de água doce determina um maior valor adaptativo para os indivíduos que crescem menos, reproduzem mais cedo e investem mais energia na reprodução, ao passo que em lagoas com menor pressão de predação, os indivíduos selecionados são os que reproduzem mais tarde, devotando maior energia à obtenção de maior tamanho corporal (que resulta em maior fecundidade e filhotes maiores com maior chance de sobrevivência –

Gomes-Jr e Monteiro, 2007). Populações presentes em água salobra, embora apresentando maiores tamanhos corporais médios, apresentaram uma relação menor entre a fecundidade e o investimento reprodutivo. Esta associação nestas lagoas pode refletir uma outra estratégia reprodutiva na qual, com a ausência de predadores, as fêmeas podem investir mais no crescimento somático e numa reprodução tardia.

A relação entre a fecundidade e o tamanhos dos embriões pode ser também considerada uma permuta adaptativa já que em algumas populações o aumento da fecundidade é acompanhado pela diminuição dos tamanhos dos embriões. Neste estudo, diferentes relações entre a fecundidade e o tamanho dos ovos foram observadas entre os locais e uma possível permuta adaptativa pode ser vista entre os parâmetros como consequência da população co-ocorrer ou não com predadores. Alguns estudos mostram que populações que estão sob pressão de predadores possuem maior fecundidade e menores tamanhos de embriões (Reznick, 1981; Reznick e Endler, 1982; Reznick, 1985). Embora esta relação tenha como consequência a diminuição da probabilidade de sobrevivência dos filhotes, as fêmeas de populações que co-ocorrem com predadores possuem um intervalo entre gestações menor que as populações sem predadores na tentativa de maximizar o valor adaptativo. Neste estudo, as populações com maiores fecundidades e tamanhos corporais são as mesmas que possuem as maiores médias para tamanhos corporais, mas em contra partida o menor investimento reprodutivo. Estas relações mostram que apesar das maiores fecundidades e tamanhos dos embriões estas populações investem mais no crescimento somático do que na reprodução (como observado pela direta influência do corpo nos parâmetros reprodutivos) possibilitando o sucesso no ambiente no qual elas vivem.

A relação entre o investimento reprodutivo e o estágio embrionário de uma maneira geral para as populações de *P. vivipara* é negativa. A tendência de diminuição do peso do embrião com o desenvolvimento embrionário é comum nas espécies lecitotróficas de poecilídeos e se caracteriza pela nutrição do embrião ao longo do desenvolvimento a partir de uma reserva limitada de vitelo (Thibault e Schultz, 1978; Reznick, 1981; Meffe, 1985). Desta forma, a relação entre peso da

fêmea e da ninhada tende a diminuir com o avanço do desenvolvimento embrionário. Isto se deve ao fato do fornecimento de energia (reserva de gordura) para a produção de vitelo acontecer apenas uma vez no estágio inicial da gestação. As fêmeas tendem a aumentar seu peso corporal ao longo do desenvolvimento, ao passo que os embriões perdem vitelo e diminuem o peso da ninhada. A diminuição progressiva do investimento reprodutivo com o avanço da gestação está baseada nessa relação de perda e ganho de energia de ambas as partes.

As diferenças nos padrões de história de vida entre as populações de *P. vivipara* são consistentes com aquelas encontradas entre populações sob diferentes pressões de predação. Apesar dos efeitos indiretos da salinidade nos parâmetros reprodutivos através do tamanho corporal, nenhuma evidência concreta sobre a influência direta da salinidade nos padrões de história de vida dos poecilídeos foi observada. Stearns e Sage (1980) mostram que o tamanho dos embriões e o esforço de reprodução é menor em populações de *Gambusia affinis* presentes em água doce, quando comparadas com populações de água salgada. No entanto, Brown-Peterson e Peterson (1990) mostraram que populações da mesma espécie que habitam ambientes com água doce apresentaram maior esforço reprodutivo que as populações de água salgada. Em um outro estudo, também com *G. affinis*, Abney e Rakocinski (2004) não encontraram nenhuma relação clara de interferência de fatores ambientais (incluindo a salinidade) nos padrões de história de vida. O experimento de ambiente comum discutido na próxima seção elucida alguns aspectos da influência ambiental sobre a divergência em padrões de crescimento com conseqüências reprodutivas entre populações de *P. vivipara*.

Experimento de ambiente comum

As variáveis ligadas à história de vida são em grande parte influenciadas pelos padrões de crescimento (Snelson, 1989). Em peixes juvenis, o suprimento energético é utilizado exclusivamente para o crescimento somático. Após a maturação sexual, a energia é revertida para a reprodução. Contudo, o

crescimento pode continuar numa taxa reduzida, mesmo após à maturidade, num processo denominado crescimento indeterminado (Cichorí, 1999; Boeuf e Payan, 2001; Snelson, 1989).

A salinidade pode ter efeito positivo ou negativo sobre o crescimento, dependendo de balanços entre as taxas metabólicas basais, alteração na capacidade de conversão de alimentos e estímulos hormonais (Boeuf e Payan, 2001). A salinidade (ou sua ausência) pode inibir o crescimento quando aumenta os custos com manutenções osmóticas (Cardona, 2000; Wuenschel et al., 2001), mas pode estimulá-lo em salinidades intermediárias, onde a osmorregulação torna-se reduzida (Hickman et al., 2002).

A pressão de predação sobre adultos, como discutido anteriormente, pode selecionar indivíduos que investem mais energia na reprodução, abreviando a idade da primeira reprodução (Johnson, 2001) e com prejuízo nas taxas de crescimento, no tamanho corporal, na fecundidade e no tamanho dos filhotes. Os padrões de crescimento podem refletir em grande parte diferentes pressões de predação, pois a redução de taxas de crescimento pode estar associada com a redução da vulnerabilidade a predadores (Lankford et al., 2001; Munch e Conover, 2003). Por outro lado, ambientes com maior pressão de predação sobre filhotes podem selecionar indivíduos com altas taxas de crescimento que atingem um certo tamanho mínimo mais rapidamente (Arendt e Reznick, 2005). Um padrão semelhante pode ser observado em ambientes com diferenças na produtividade primária (crescimento mais rápido em alta produtividade e mais lento em baixa produtividade – [Arendt e Reznick, 2005])

A tolerância de *P. vivipara* extremos ambientais foi fundamental na colonização das lagoas na Planície Quaternária do Norte Fluminense. As populações de *P. vivipara* ocupam todas as lagoas desta região e apresentam diferenças na forma e tamanho corporal, sendo maiores os indivíduos que ocupam as lagoas com os maiores níveis de salinidade. Este padrão de variação no tamanho corporal também é observado nos gradientes de salinidade dentro das lagoas (Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2007; Gomes-Jr e Monteiro, 2008). As diferenças no tamanho corporal médio dessas populações são ocasionadas por modificações na taxa de

crescimento ou na idade de maturação sexual (onde ocorre uma desaceleração do crescimento). Estas modificações podem ser causadas exclusivamente por diferenças de salinidade da água (Trexler, 1989), por pressão de predação em diferentes ambientes (Johnson 2001) ou pela disponibilidade de alimentos determinada por diferenças de produtividade primária do ambiente. Tendo em vista a associação entre estes três fatores em populações naturais (Locais com maior salinidade apresentam menos predadores mas são menos produtivos [Chagas e Suzuki, 2005; Suzuki et al., 2002]), faz-se necessária a realização de experimentos onde os indivíduos provenientes de lagoas com diferentes ambientes (e provavelmente diferentes pool gênicos) são criados em um ambiente comum (Conover e Schultz, 1997). Este tipo de experimento é conhecido na literatura como “*common garden*”, a partir de sua origem em experimentos com vegetais.

Os resultados do experimento mostram claras diferenças nos padrões de crescimento entre as populações provenientes de lagoas com diferentes ambientes. A barra da Lagoa do Açú apresenta alta salinidade, baixa produtividade e ausência do principal predador de adultos de *P. vivipara*. A Lagoa do Campelo, por outro lado, apresenta água doce, maior produtividade (M. S. Suzuki, comunicação pessoal) e alta densidade de predadores. Mesmo crescendo em um ambiente comum (água doce), os animais provenientes da Lagoa do Açú apresentaram uma maior taxa de crescimento com um ponto de inflexão mais tardio que os animais provenientes da Lagoa do Campelo. Como resultado, os tamanhos assintóticos finais foram maiores em média na Lagoa do Açú. Apesar da maior taxa de crescimento, a mortalidade entre os indivíduos provenientes da Lagoa do Açú foi maior, o que pode ter sido resultado direto do crescimento acelerado (Munch e Conover, 2003) e uma adaptação local às condições de salinidade, em que os indivíduos provenientes de lagoas de água doce já apresentam um metabolismo “regulado e otimizado” para as condições da água.

O padrão observado permite elucidar alguns pontos em relação à discussão anterior sobre a variação espacial em populações naturais. Primeiramente, a diferença de tamanho entre indivíduos provenientes das duas lagoas apresenta um componente genético significativo, ao lado de um

componente de plasticidade fenotípica, cada um sendo responsável por aproximadamente metade da diferença entre médias observada na natureza. A resposta fenotípica plástica pode então ser interpretada como uma influência direta da salinidade sobre o crescimento (maiores indivíduos em maior salinidade), intermediada por diferenças nas taxas metabólicas basais, alteração na capacidade de conversão de alimentos ou estímulos hormonais (Boeuf e Payan, 2001). Por outro lado, as diferenças genéticas entre os indivíduos são responsáveis pelas diferenças observadas entre as populações no laboratório. Este padrão sugere a existência de um padrão seletivo determinado pelas pressões de predação ou pelas diferenças de produtividade, em que o crescimento estaria “otimizado” para as condições ambientais locais.

As diferenças esperadas pela pressão de predação seriam de um maior crescimento, tamanho final e ponto de inflexão (idade de maturação) na população exposta à menor intensidade de predação (Reznick et al., 1990; 1997; Johnson, 2001). Tendo em vista que este padrão de crescimento aumenta a vulnerabilidade à predação (Lankford et al., 2001; Munch e Conover, 2003) e reduz as chances do indivíduo se reproduzir. Esta predição se ajusta bem aos resultados observados, onde o padrão de crescimento ótimo para ambiente com alta pressão de predação foi observado nos indivíduos da Lagoa do Campelo. Por outro lado, o crescimento otimizado para ambientes com baixa produtividade crônica seria uma taxa de crescimento mais lenta, minimizando os custos do crescimento (Arendt e Reznick, 2005). Como a barra da Lagoa do Açú seria um local menos produtivo em comparação à Lagoa do Campelo, se o crescimento estivesse otimizado para produtividade, deveríamos encontrar uma menor taxa de crescimento entre os indivíduos provenientes da Lagoa do Açú. Esta inversão de padrões sugere a predação como o principal fator determinante das diferenças genéticas no crescimento entre as duas populações. O processo de seleção natural, no entanto, deve ser diretamente contrastado com modelos de deriva genética para testar a possibilidade de evolução neutra, como discutido na próxima seção.

- Taxas de divergência entre populações.

As populações de *P. vivipara* habitam uma gama de ambientes tanto entre como dentro das lagoas que influenciam diretamente a variação morfológica (Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2008) e reprodutiva (Gomes-Jr e Monteiro, 2007). Estudos prévios abrangendo a variação morfológica entre as populações mostraram grandes diferenças em relação ao tamanho e à forma corporal influenciadas pelo meio (Neves e Monteiro, 2003; Monteiro e Gomes-Jr, 2005; Gomes-Jr e Monteiro, 2008). Monteiro e Gomes (2005) mostraram que a amplitude de variação morfológica entre as populações não poderia ser explicada pelo modelo neutro da deriva genética e o mecanismo de seleção direcional foi sugerido como causador da variação morfológica entre as populações desta região. A predação como agente principal de seleção foi proposto posteriormente por Gomes-Jr e Monteiro (2008) em uma comparação com um paradigma ecomorfológico para poecilídeos. A variação nos parâmetros reprodutivos entre os ambientes e entre lagoas mostra claramente a influência do meio nos padrões de história de vida das populações e conseqüentemente a influência do meio nos processos de divergências entre elas

Os poecilídeos são amplamente utilizados em estudos evolutivos de transposição entre populações que habitam diferentes ambientes pela sua alta plasticidade fenotípica e pelas suas características reprodutivas que tornam-os capazes de sobreviver em ambientes com variações extremas. Em um experimento desenvolvido com a *Poecilia reticulada*, na qual indivíduos de populações de *guppies* que co-ocorriam com predadores foram transpostos para um local sem predação, Reznick et al. (1997) mostraram que após 11 anos de experimento, as mudanças nos parâmetros reprodutivos foram altamente significativas. Esse estudo mostrou ainda que a taxa de evolução fenotípica foi altamente significativa e similar àquelas encontradas em estudos de seleção artificial, além de 4 a 7 ordens de magnitude maiores que as encontradas para o registro fóssil (Reznick, et al., 1997).

As diferenças reprodutivas entre as populações de *P. vivipara* são

marcadamente influenciadas pelo meio onde cada uma está inserida. A magnitude de variação observada entre as populações, associada com a estimativa conservadora dos parâmetros (tamanho populacional efetivo, herdabilidade e o número de gerações) foi grande demais para que a deriva genética possa ser considerada o único processo responsável pela divergência entre as populações. Como a variação foi maior que a esperada pelo modelo neutro, o mecanismo de seleção direcional pode ser sugerido como principal responsável pela variação entre as populações. Neste caso, mesmo entre populações presentes em diferentes ambientes numa mesma lagoa, onde o fluxo gênico pode existir através da migração dos machos (Magurran e Phillip, 2001), as populações tendem a apresentar diferenças reprodutivas significantes. Os resultados dos testes de taxas de divergência realizados com os modelos de crescimento para as populações criadas em ambiente comum no laboratório foram ainda mais significativos que para as populações naturais, o que diminui a possibilidade de plasticidade fenotípica e aumenta a força do argumento da seleção natural como principal força evolutiva por trás da diversificação entre populações de *P. vivipara*.

As características reprodutivas dos poecilídeos colaboram para a ocorrência de uma rápida divergência entre as populações. Muitos estudos mostram que, dependendo da pressão ambiental (principalmente predadores) as populações possuem estratégias reprodutivas diferentes nas quais a uma maior devoção de energia para a reprodução pode ser fundamental para a sobrevivência e estabelecimento da população em um determinado ambiente. O tempo de geração destes indivíduos também colabora para a maximização das divergências entre as populações em curto espaço de tempo. Desta forma, as diferenças nos parâmetros reprodutivos podem ser passadas rapidamente de uma geração para outra intensificando as diferenças entre as populações.

O presente estudo mostrou que as populações possuem grande diferenças reprodutivas que são, em sua grande maioria, provocadas pelo meio, seja por plasticidade fenotípica ou pela seleção de características favoráveis. Estudos futuros serão importantes para comparar a magnitude das diferenças reprodutivas entre as populações com a intensidade do fluxo gênico medido por marcadores genéticos entre populações, principalmente entre diferentes ambientes na mesma

lagoa. Estudos de transposição populacional a longo prazo e experimentos futuros também contribuirão para a verificação mais detalhada da plasticidade fenotípica para diferentes variáveis ambientais e do tempo de adaptação das populações ao meio (Reznick, et al., 1997). Durante a formação das lagoas costeiras na planície quaternária Norte Fluminense, as populações de *P. vivipara* passaram por modificações morfológicas e reprodutivas que as qualificam para sobreviver em ambientes com diferenças extremas e a seleção natural atua de forma a intensificar as diferenças nas estratégias reprodutivas através do favorecimento de características associadas aos maiores valores adaptativos.

Conclusões

1 – As estratégias reprodutivas variaram significativamente entre as populações estudadas, tanto entre lagoas como dentro das lagoas e são marcadamente influenciadas pelas características do meio (predação nas lagoas com água doce e a salinidade indiretamente através do tamanho corporal).

2 - A fecundidade está positivamente associada com o tamanho corporal, embora a intensidade dessa associação não seja a mesma para todas as populações. O tamanho dos embriões variou entre as populações e está associado positivamente com o tamanho das fêmeas, a fecundidade e o estágio embrionário. Em populações habitando locais com maior salinidade, o desenvolvimento embrionário é mais acelerado e os embriões são em média maiores, independente do estágio embrionário.

3 - O investimento reprodutivo variou largamente entre as populações e está associado com o tamanho das fêmeas (peso seco), a fecundidade, o estágio embrionário e o local de origem de cada população. Os maiores valores para o investimento reprodutivo foram observados em locais com água doce, provavelmente associados a uma maior pressão de predação.

4 - A salinidade pode interferir de maneira indireta nos parâmetros reprodutivos, seja através do tamanho corporal (correlacionado com aumento da fecundidade), como também através da influência na composição icitiofaunística das lagoas (maior abundância de peixes piscívoros em locais de água doce) ou por adaptações fisiológicas.

5 – As populações desenvolveram diferentes estratégias reprodutivas para se ajustar às pressões do meio, como mostrado pela relação de permuta adaptativa entre reprodução e crescimento. As populações habitando água doce apresentam em média maior investimento na reprodução do que no crescimento somático.

6 – A pressão dos predadores pode interferir diretamente na variação dos parâmetros reprodutivos entre as populações. Em locais de água doce com maior abundância de predadores, os indivíduos de menor tamanho e com reprodução precoce são selecionados, ao passo que em locais sem predação são selecionados aqueles indivíduos com reprodução tardia e que deixam mais descendentes (e cujos filhotes apresentam maior tamanho e probabilidade de sobrevivência).

7 – As diferenças entre populações isoladas em ambientes extremamente diferentes apresentam um componente genético significativo, como evidenciado pelo experimento de ambiente comum. Além do efeito de plasticidade fenotípica causado pela salinidade, que aumenta a variação nos parâmetros de crescimento dentro e entre as populações, o padrão de divergência nas curvas de crescimento é compatível com seleção por predadores em indivíduos adultos.

8 – A taxa de divergência nas características reprodutivas entre populações foi grande demais para ser atribuída a um mecanismo evolutivo neutro, como a deriva genética. O mesmo padrão foi observado para o tamanho corporal e as diferenças genéticas nos parâmetros de crescimento. O mecanismo de seleção direcional é sugerido como processo causador da variação reprodutiva entre as populações.

Bibliografia

- Abney, M.A., Rakocinski, C.F. (2004). Life-history in Caribbean gambusia, *Gambusia puncticulata puncticulata* (Poeciliidae) from the Cayman Islands, British West Indies. *Environ Biol Fish*, 70: 67-79,.
- Arendt, J.D., Reznick, DN. (2005). Evolution of juvenile growth rates in female guppies (*Poecilia reticulata*): predator regime or resource level? *Proc. R. Soc. B.*, 272: 333-337.
- Bizerril, C.R.S.F., Primo, P.B.S. (2001). *Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro*. FEMAR-SEMADS, Rio de Janeiro. 417p.
- Bouef, G., Payan, P. (2001). How should salinity influence fish growth? *Comp Biochem Phys C*, 130: 411-423..
- Bookstein F.L. (1991). *Morphometric Tools for Landmark Data. Geometry and Biology*. Cambridge University Press, New York, 999 p.
- Brown-Peterson, N., Peterson, M.S. (1990). Comparative life-history of female mosquitofish, *Gambusia affinis*, in tidal fresh-water and oligohaline habitats. *Environ Biol Fish* 27: 33–41.
- Cabral, J.A., Marques, J.C. (1999). Life history, populations dynamics and production of eastern mosquitofish, *Gambusia holbrooki* (Pisces, Poeciliidae), in rice fields of the lower Mondego River Valley, western Portugal. *Acta Oecologica*, 20: 607-620.
- Cardona, L. (2000). Effects of salinity on the habitat selection and growth performance of Mediterranean Flathead Grey Mullet *Mugil cephalus* (Osteichthyes, Mugilidae). *Estuar Coast Shelf S*, 50: 727-737.
- Chagas, G.G., Suzuki, M.S. (2005). Seasonal hydrochemical variation in a tropical coastal lagoon (Açu Lagoon, Brazil). *Braz J Biol*, 65: 597–607.
- Cheong, R.T., Henrich, P., Farr, J.A., Travis, J. (1984). Variation in fecundity and its relationship to body size in population of the least killifish, *Heterandria formosa* (Pisces: Poeciliidae). *Copeia*, 3: 720-726.
- Cichorí, M. (1999). Growth after maturity as a sub-optimal strategy. *Acta Oecologica*, 20, 25-28.

- Conover, D. O., Schultz, E. T. (1997). Natural selection and the evolution of growth rate in the early life history: what are the trade-offs? In: Chambers, R. C.; E. A. Trippel (eds.) *Early life history and recruitment in fish populations*. London, Chapman and Hall, pp. 305-332
- Constanz, G.D. (1989). Reproductive biology of the poeciliids fishes. In Meffe, G.K. & Snelson, F.F, Jr. (eds). *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*. Englewood Cliffs: Prentice Hall p. 33-50
- Diniz-Filho, J.A.F. (2000). *Métodos filogenéticos comparativos*. Holos Editora, Ribeirão Preto, 162 p.
- Downhower, J.F., Brown, L.P., Matsui, M.L. (2000). Life history variation in female *Gambusia hubbsi*. *Environ Biol Fish* 59: 415-428.
- Edeline, E., Carlson, S.M., Stige, L.C., Winfield, I.J, Fletcher, J.M., James, J.B., Haugen, T.O., Vøllestad, L.A., Stenseth, N.C. (2007). Trait changes in a harvested population are driven by a dynamic tug-of-war between natural and harvest selection. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104, 15799–15804.
- Einum, S., Fleming, I.A., Cote, I.M., Reynolds, J.D. (2003). Population stability in salmon species: effects of population size and female reproductive allocation. *J Anim Ecol*, 72: 811-821.
- Falconer D.S., Mackay T.F.C. (1996) *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Group, Harlow Essex, 464 pp.
- Fletcher, D.A., Wootton. R.J. (1995). A hierarchical response to differences in ration size in the reproductive performance of female three-spined sticklebacks. *J Fish Biol*, 46: 657-668.
- Frankham, R. (1995). Effective population size/adult population size ratios in wildlife - A review. *Genet Res*, 66:95-107.
- Garcia, A.M., Raseira, M.B., Vieira, J.P., Winemiller, K.O., Grimm A.M. (2003). Spatiotemporal variation in shallow-water freshwater fish distribution and abundance in a large subtropical coastal lagoon. *Environ Biol Fish*, 68:215-228.
- Gomes-Jr, J.L., Monteiro, L.R. (2007). Size and fecundity variation in populations of *Poecilia vivipara* Block & Schneider (Teleostei; Poeciliidae) inhabiting an environmental gradient. *J Fish Biol* 71: 1799–1809.

- Gomes-Jr, J.L., Monteiro, L.R. (2008). Morphological divergence patterns among populations of *Poecilia vivipara* (Teleostei Poeciliidae): test of an ecomorphological paradigm. *Biol J Linn Soc*, 93: 799–812.
- Haynes, J.L. (1995). Standardized classification of Poeciliid development for life-history studies. *Copeia*: 147-154.
- Hendry, A.P, Kinnison, M.T. (1999). The pace of modern life: Measuring rates of contemporary microevolution. *Evolution* 53: 1637-1653.
- Hickman, R.W.; Redfearn, P.; Tait, M.J. (2002). Novel effects of salinity and water reuse on growth of juvenile New Zealand turbot, *Colistium nudipinnis* (Waite 1910), a potential aquaculture species. *Aquac Res*, 33: 1009-1018.
- Hurlbert, S. H. (1984). Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecol Monogr*, 54: 187-211. 1984.
- Jennions, M.D., Telford S.R. (2002). Life-history phenotypes in populations of *Brachyrhaphis episcopi* (Poeciliidae) with different predator communities. *Oecology*, 132: 44-50
- Johnson, J.B. (2001). Adaptive life-history evolution in the livebearing fish *Brachyrhaphis rhabdophora*: genetic basis for parallel divergence in age and size at maturity and a test of predator-induced plasticity. *Evolution*, 55: 1486-1491.
- Johnson, J.B. Belk, M.C. (2001). Predation environment predicts divergent life-history phenotypes among populations of the livebearing fish *Brachyrhaphis rhabdophora*. *Oecology*, 126: 142-149.
- Kinnison, M.T., Hendry A.P. (2001) The pace of modern life II: from rates of contemporary microevolution to patterns and processes. *Genetica* 112-113: 145–164.
- Lande, R. (1977). Statistical tests for natural selection on quantitative characters. *Evolution*, 31: 442-444.
- Lande, R. (1979). Quantitative genetic analysis of multivariate evolution, applied to brain: Body size allometry. *Evolution*, 33:402-416.
- Lankford, T.E., Billerbeck, J.M., Conover, D.O. (2001) Evolution of intrinsic growth and energy acquisition rates. II. Trade-offs with vulnerability to predation in

- Menidia menidia*. *Evolution*, 55: 1873-1881.
- Leips, J. & Travis, J. (1999). The comparative expression of life-history traits and its relationship to the numerical dynamics of four populations of the least killifish. *J Anim Ecol*, 68: 595–616.
- Lynch, M. (1990). The rate of morphological evolution in mammals from the standpoint of the neutral expectation. *Am. Nat.*, 136: 727-741.
- Lynch, M., Walsh, B. (1998). *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer, Sunderland, 980 pp.
- Machado, G., Giaretta, A.A., Facure, K.G. (2002). Reproductive cycle of a population of the guaru, *Phallocerus caudimaculatus* (Poeciliidae), in southeastern Brazil. *Studies of Neotropical Fauna and Environmental*, 37: 15-18.
- Magurran, A.E. & Phillip, D.A.T. (2001). Evolutionary implications of large-scale patterns in the ecology of Trinidadian guppies, *Poecilia reticulata*. *Biol J Linn Soc*, 73, 1–9.
- Martin, L., Suguio, K., Dominguez J.M.L., Flexor, J. M. (1997) *Geologia do quaternário costeiro do litoral Norte do Rio de Janeiro e do Espírito Santo*. CPRM, Belo Horizonte. 112p
- Mazzoni, R.; Iglesias, R. (2002) Distribution patterns of two fish species in a coastal stream in Southeast Brazil. *Braz J of Biol*, 62:171-178.
- Meffe, G. K. (1985) Life history patterns of *Gambusia marshi* (Poeciliidae) from Cuatro Ciénegas, México. *Copeia*, 4: 898-905.
- Monteiro L.R., Reis, S.F. (1999). *Princípios de Morfometria Geométrica*. Holos Editora, Ribeirão Preto, 188 p
- Monteiro, L. R., Guillermo, L. H., Rivera, L. A. (2003). Shape spaces metrics and linear model for evolutionary rates. In Mondaini, R. (Org.) *Proceedings of the Second Brazilian Symposium on Mathematical and Computational Biology*. Rio de Janeiro, v. 1, p. 179-207.
- Monteiro, L.R.; Gomes-Jr, J.L. (2005) Morphological divergence rate tests for natural selection: uncertainty of parameter estimation and robustness of results. *Genet Mol Biol*, 28: 345-355.
- Mousseau, T.A., Roff, D.A. (1987). Natural selection and the heritability of fitness

- components. *Heredity* 59:181-197.
- Munch, S.B., Conover, D.O. (2003). Rapid growth results in increased susceptibility to predation in *Menidia menidia*. *Evolution*, 57: 2119-2127.
- Neves, F.M., Monteiro, L.R. (2003). Body shape and size divergence among populations of *Poecilia vivipara* in coastal lagoons of Southeastern Brazil. *J Fish Biol*, 63: 928-941.
- Nunney L (1996). The influence of variation in female fecundity on effective population size. *Biol J Linn Soc Lond*, 59:411-425.
- Partridge L., Harvey, P.H. (1988). The Ecological Context of Life History Evolution. *Science*:241 (4872): 1449 – 1455.
- Perez, S.I. Monteiro, L.R. (2008). Non-random factors in modern human morphological diversification: a study of craniofacial variation in southern South American populations. *Evolution*, in press.
- Primo, P.B.S., Bizerril, C.R.S.F., Soffiati, A. (2002). *Lagoas do Norte Fluminense- Perfil Ambiental*. Rio de Janeiro: SEMADS. 148p
- Reznick, D.N. (1981). "Grandfather effects": the genetics of interpopulation differences in offspring size in the mosquito fish. *Evolution* 35: 941-953.
- Reznick, D.N., Endler, J.A. (1982). The impact of predation on life history evolution in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Evolution*, 36: 160-177.
- Reznick, D.N. (1985) Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos*, v. 44, p. 257-267.
- Reznick, D.N., Miles, D.B. (1989) A review of life history patterns in poeciliid fishes. In Meffe, G.K. & Snelson, F.F, Jr. (eds). *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 125-148.
- Reznick, D.N., Bryga, H., Endler, J.A. (1990) Experimentally induced life-history evolution in a natural population. *Nature*, 346: 357-359.
- Reznick, D.N., Callahan, H., Lauredo, R. (1996). Maternal effects on offspring quality in poeciliid fishes. *Am Zoo*, 36: 147-156.
- Reznick, D.N., Shaw, F.H., Rodd, F.H. Shaw, R.G. (1997) Evaluation of the rate of evolution in natural populations of guppies (*Poecilia reticulata*). *Science*, 275: 1934-1937.
- Reznick, D.N., Ghalambor, C. K. (2005). Can commercial fishing cause evolution?

- Answers from guppies. *Can J Fish Aquat Sci*, 62: 791-801.
- Roff, D.A. (2002). *Life History Evolution*. Sunderland, MA, Sinauer Associates. 465p.
- Roff, D.A., Mousseau, T.A. (1987). Quantitative genetics and fitness: lessons from *Drosophila*. *Heredity*, 58:103-118.
- Rohlf, F.J. (1998). *TPSDig. Version 1.17*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook.
- Snelson, F.F., Jr. (1989). Social and environmental control of life history traits in poeciliid fishes. In Meffe, G.K.; Snelson, F.F., Jr. (eds). *Ecology and evolution of livebearing fishes*. Englewood Cliffs: Prentice Hallp. 149-161.
- Soffiati, A. (1998). Aspectos históricos das lagoas do Norte do Estado do Rio de Janeiro. In Esteves, F. A. (ed). *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé, RJ*. Rio de Janeiro: NUPEM-UFRJ. p. 1-35.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1995). *Biometry*. New York, Freeman. 880p.
- Spicer, G.B. (1993). Morphological evolution of the *Drosophila virilis* species group as assessed by rate tests for nature selection in quantitative traits. *Evolution* 47: 1240-1254.
- Stearns, S.C. & Sage, R.D. (1980). Maladaptation in a marginal population of the mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Evolution* 34, 65–75.
- Stearns, S.C. (1989). Trade-offs in life-history evolution. *Funct Ecol*, 3: 259-268.
- Stearns, S.C. (1992). *The Evolution of Life Histories*. Oxford: Oxford University Press. 264p.
- Stearns, S.C. (2000). Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften*, 87: 476-486.
- Stearns, S.C., Hoekstra, R.F. (2000). *Evolution: an introduction*. New York, Oxford University Press. 381p
- Suzuki, M.S.; Ovalle, A.R.C.; Pereira, E.A. (1998). Effects of sand bar openings on some limnological variables in a hypertrophic tropical coastal lagoon of Brazil. *Hydrobiologia* 368: 111-122.
- Suzuki, M.S., Figueiredo, R.O., Castro, S.C., Silva, C.F., Pereira, E.A., Silva, J.A,

- Aragon, G.T. (2002). Sand bar opening in a coastal lagoon (Iquipari) in the northern region of Rio de Janeiro State: hydrological and hydrochemical changes. *Braz J Biol*, 62: 51–62.
- Thibault, R.E.; Schultz, R.J. (1978). Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution*, 32 (2): 320-333.
- Trexler, J.C. (1989). Phenotypic plasticity in poeciliid life histories. In: Meffe, A.; Snelson, F. F. (eds.). *The ecology and evolution of poeciliid fishes (Poeciliidae)*. New Jersey: Prentice Hall, p. 201-213.
- Turelli M, Gillespie J.H, Lande R. (1988) Rate tests for selection on quantitative characters during macroevolution and microevolution. *Evolution* 42: 1085–1089.
- Winemiller, K.O. (1989) Ontogenetic diet shifts and resource partitioning among piscivorous fishes in the Venezuelan llanos. *Environ Biol Fish*, 26: 177-199.
- Wuenschel, M.J., Jugovich, A.R., Hare, J.A. (2004). Effect of temperature and salinity on the energetics of juvenile gray snapper (*Lutjanus griseus*): implications for nursery habitat value. *J Exp Mar Biol Ecol*, 312: 333-347.
- Zelditch, M.L., Lundrigan B.L., Sheets, H.D., Garland, T., Jr. (2003). Do precocial mammals develop at a faster rate? A comparison of rates of skull development in *Sigmodon fulviventer* and *Mus musculus domesticus*. *J Evolution Biol*, 16, 708-720.