

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

Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco
Osteoglossum bicirrhosum Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes:
Osteoglossidae)

Júlia Tovar Verba

Manaus, Amazonas

Setembro, 2012

Júlia Tovar Verba

Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco
Osteoglossum bicirrhosum Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes:
Osteoglossidae)

Dr. Jansen Alfredo Sampaio Zuanon

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

Manaus, Amazonas

Setembro, 2012

BANCA AVALIADORA

Trabalho Escrito

Camila Ribas (INPA) – Parecer: Aprovada

Helder Queiroz (IDSME) – Parecer: Aprovada

William Magnusson (INPA) – Parecer: Aprovada

Defesa Oral

Jorge Ivan Rebelo Porto (INPA) – Parecer: Aprovada

Pedro Ivo Simões (INPA) – Parecer: Aprovada

Sidinéia Aparecida Amadio (INPA) – Parecer: Aprovada

V477

Verba, Júlia Tovar

Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco
Osteoglossum bicirrhosum Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae) /
Júlia Tovar Verba.--- Manaus : [s.n.],2012.
x, 39 f. : il. color.

Dissertação(mestrado) --- INPA, Manaus, 2012

Orientador : Jansen Zuanon

Área de concentração : Ecologia

1. Aruanã branco. 2. Incubação bucal. 3. Acasalamento. 4. Microsatélites.
5. Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus. I. Título.

CDD 19. ed. 597.550415

Sinopse:

Analisamos a ocorrência de múltipla paternidade em aruanã branco amostrando indivíduos do sexo masculino e as respectivas ninhadas durante a fase de cuidado parental, no baixo rio Purus, Amazonas, Brasil. Foram encontradas evidências de múltipla paternidade na espécie, previamente considerada monogâmica, e indicação de possível ocorrência de cuidado cooperativo com a prole pelos machos da espécie.

Palavras-chave: Cuidado parental, Cuidado cooperativo, Microsatélites, Rio Purus, Sistema de acasalamento

Agradecimentos

Agradeço, principalmente, à minha família, por sempre ter apoiado as minhas ideias. Meus pais e irmãos que, mesmo com a distância, sempre estiveram presentes. Também agradeço ao meu vô, tia Suzy, tio, e primos. E à Mindinha, quase da família! Também ao Tuco e à Baby.

Agradeço aos meus orientadores, Dr. Jansen Zuanon e Dra. Izeni Farias.

A todos do Instituto Piagaçu, pelo apoio logístico. Primeiramente, ao Felipe, um dos principais culpados por eu estar na Amazônia. E, especialmente, ao colega “aruanólogo” Zeca, por ter me apresentado esse peixe fascinante! Por ter proporcionado as coletas, me apresentado aos pescadores, enfim, por ter me ensinado o que eu precisava saber em campo. Ao Murilo e ao Renato, parceiros de campo, e ao Boris, pelas dicas nas coletas finais. Aos moradores dos setores Ayapuá, Caua/Cuiuanã e Itapuru da RDS Piagaçu-Purus. À família da dona Georgina, dona Socorro, seu Assis, seu Mário, seu Roque. À família do Mário do Caua. Aos pescadores da equipe do aruanã que participaram dos campos: Zé Chico, Seu Chiquinho, Ezequias, e ao Sonho do Meu Pai.

Aos colegas de laboratório, os Legais do LEGAL, que me ajudaram muito quando eu cheguei, perdida, para trabalhar com genética. Wal, professora nata! Mario, por resolver absolutamente todos os problemas; Aracaju, por ter se tornado uma amiga antes mesmo de colega de trabalho; Jennifer, melhor vizinha, de rua e de bancada! Nicole, por ter me ajudado muito quando eu ainda aprendia o que era PCR. Gabi, Dani, Dani, Natasha, Fabinho, José, Maria, Adriano, por ter feito que a convivência fosse tranquila e divertida.

Ao Programa Macacos Urbanos, de Porto Alegre, pois, sem esse aprendizado, eu não estaria aqui.

Às pessoas que moraram e moram comigo em Manaus, que fizeram e fazem a vida aqui ser muito mais fácil e feliz: Marcelino e Felipe, por ter aberto as portas da casa enquanto eu me estabelecia; Penna, Simone, Leka, Carol, Bel, Lorena e Ju Paca. Aos bichos que sempre vêm me ver quando eu chego em casa e melhoram meu humor, Tucumã, Fidel, Gato, Kaya, Menina, Corô Migulis. Ao Jerê, porque, afinal, no final, sobrevivemos!

Às minhas amigas portoalegrenses que sempre estiveram perto: Jussânia, Camila, Rachel, Lu, Cristina.

Ao Laboratório de Evolução e Genética Animal.

Ao CEUC pela autorização para que o trabalho fosse realizado na RDSPP.

Ao INPA e ao PPG-Eco pelo curso e ao CNPq pela bolsa concedida.

**Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco
Osteoglossum bicirrhosum Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes:
Osteoglossidae)**

Resumo: A monogamia é rara em peixes e está usualmente relacionada a cuidado parental elaborado e prolongado. Entre peixes, o macho é normalmente responsável pelo cuidado parental, e acredita-se que exista uma relação entre esse investimento energético e a certeza da paternidade, mas não quando ocorrem machos oportunistas. O aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* é considerado monogâmico e possui características especiais para o estudo de sistemas de acasalamento e cuidado parental, como o comportamento de incubação bucal realizado pelo macho e formação de agregações de machos durante a fase de cuidado paternal. Utilizando análises de microsatélites, investigamos relações genéticas entre machos e os filhotes encontrados na respectiva cavidade bucal. As amostras foram coletadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus, no baixo rio Purus, Amazonas, Brasil. Foram analisados oito *loci* microsatélites, genotipados a partir de amostras de 14 ninhadas (268 filhotes e 14 machos adultos). Na maioria das ninhadas (11), os resultados sugerem acasalamento monogâmico. Em três ninhadas houve indicações de ocorrência de múltipla paternidade. Em uma delas, os resultados sugeriram que cerca de 50% dos filhotes eram filhos do macho que estava realizando o cuidado, e nas outras duas os resultados indicaram que nenhum dos filhotes analisados eram filhos dos machos que estavam realizando cuidado. O resultado da primeira ninhada pode ser explicado pela ocorrência de machos oportunistas (*sneakers*). Cuidado cooperativo pode explicar a falta de relação entre machos e filhotes nas outras duas ninhadas. Sugerimos que esse cuidado cooperativo pode ocorrer na forma de mistura de ninhadas.

Occurrence of multiple paternity in broods of silver arowana *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)

Abstract: Monogamy is rare in fish and is usually associated with elaborate and prolonged parental care. Among fish, the male is usually responsible for parental care, and it is believed that there is a relationship between this high energetic investment and the certainty of paternity, but not when sneaker males occur. The silver arowana, *Osteoglossum bicirrhosum*, is considered monogamous and has special behavioral traits that allow the study of mating systems and parental care, such as mouthbrooding performed by males and formation of aggregations of males during parental care. Using microsatellite markers, we investigated the genetic relationships between males and the brood found in their oral cavity. Samples were collected on Sustainable Development Reserve Piagaçu-Purus, lower Purus River, Amazonas, Brazil. Fourteen broods were analyzed (268 young and 14 adult males) using eight microsatellite loci. The results indicate that most broods (11) show monogamous mating. Three broods had revealed the occurrence of multiple paternity. In one brood, about 50% of the young were genetically compatible with the male who was performing the parental care, and in the other two the genotypes of parents were not compatible with any of the young. The result of the first clutch may be explained by the interference of a sneaker male, whereas cooperative parental care may explain the lack of relationship between males and pups in the other two broods. We suggest that cooperative care may occur as brood mixing.

Sumário

1. Apresentação	ix
2. Objetivos	ix
3. Capítulo 1 (Manuscrito formatado conforme as normas da revista <i>Acta Amazonica</i>)	x
Resumo	11
Abstract	12
Introdução	13
Material e Métodos	16
Área de estudo	16
Coleta de dados	17
Obtenção de dados genéticos	17
Análise de dados	19
Resultados	20
Discussão	22
Agradecimentos	28
Referências bibliográficas	29
4. Conclusões	36
5. Apêndices	37
Ata de avaliação da aula de qualificação	37
Atas de avaliação do trabalho escrito	38
Ata de avaliação da defesa oral	43

Apresentação

Esta dissertação foi elaborada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia (Ecologia) pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e é composta por um capítulo em formato de artigo, seguindo as normas de formatação da revista *Acta Amazonica*.

Neste estudo foram avaliadas, por meio de análises genéticas, as relações de parentesco em ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae) na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDSPP), no baixo rio Purus. O aruanã branco vem sendo objeto de estudo na região há cerca de sete anos, onde vem sofrendo grande exploração para o mercado de alimentação, e, nos anos anteriores, foi explorado para o comércio de peixes ornamentais. Características comportamentais interessantes vêm sendo apontadas por pescadores residentes da RDSPP, como formação de casais durante a reprodução e a existência de áreas específicas (conhecidas como choqueiros) onde machos se agregam, durante o cuidado parental. Análises genéticas (microsatélites), somadas a estudos comportamentais, podem fornecer respostas refinadas sobre o sistema de acasalamento da espécie e possível ocorrência de cuidado parental cooperativo nos choqueiros.

Objetivos

Objetivo geral:

Esclarecer, através de análise genética, o sistema de acasalamento e cuidado parental do aruanã branco (*Osteoglossum bicirrhosum*).

Objetivos específicos:

1. Determinar se ocorre múltipla paternidade em ninhadas de aruanã branco;
2. Avaliar as relações de parentesco entre as ninhadas e os machos adultos que as carregam na cavidade bucal;
3. Analisar a possível ocorrência de cuidado parental compartilhado pelos machos da espécie;
4. Identificar o sistema de acasalamento empregado pelo aruanã branco.

Capítulo 1

Verba, J.T.; Rabello Neto, J.G.; Farias, I.; Zuanon, J.
2012. Ocorrência de múltipla paternidade em
ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum*
Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)
Manuscrito formatado para *Acta Amazonica*.

1 **Ocorrência de múltipla paternidade em ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum***
2 ***bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)**

3 Júlia Tovar VERBA¹, José Gurgel RABELLO NETO², Izeni FARIAS³, Jansen
4 ZUANON¹

5 ¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Avenida André Araújo, 2936, Aleixo.
6 Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade. CP 478, CEP 69011-970, Manaus, AM,
7 Brasil. E-mail: juliatovarv@gmail.com; zuanon@inpa.gov.br

8 ² Instituto Piagaçu, Rua Uz, 08, Quadra Z, Conjunto Morada do Sol, CEP 69060-095,
9 Manaus, AM, Brasil. E-mail: zeca_ipi@yahoo.com.br

10 ³ Laboratório de Evolução e Genética Animal – Universidade Federal do Amazonas,
11 Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Campus Universitário, Coroado I,
12 Manaus, AM, Brasil. E-mail: izeni_farias@ufam.edu.br

13 **Resumo:** A monogamia é rara em peixes e está usualmente relacionada a cuidado
14 parental elaborado e prolongado. Entre peixes, o macho é normalmente responsável
15 pelo cuidado parental, e acredita-se que exista uma relação entre esse investimento
16 energético e a certeza da paternidade, mas não quando ocorrem machos oportunistas. O
17 aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* é considerado monogâmico e possui
18 características especiais para o estudo de sistemas de acasalamento e cuidado parental,
19 como o comportamento de incubação bucal realizado pelo macho e formação de
20 agregações de machos durante a fase de cuidado paternal. Utilizando análises de
21 microssatélites, investigamos relações genéticas entre machos e os filhotes encontrados
22 na respectiva cavidade bucal. As amostras foram coletadas na Reserva de
23 Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus, no baixo rio Purus, Amazonas, Brasil.
24 Foram analisados oito *loci* microssatélites, genotipados a partir de amostras de 14
25 ninhadas (268 filhotes e 14 machos adultos). Na maioria das ninhadas (11), os
26 resultados sugerem acasalamento monogâmico. Em três ninhadas houve indicações de
27 ocorrência de múltipla paternidade. Em uma delas, os resultados sugeriram que cerca de
28 50% dos filhotes eram filhos do macho que estava realizando o cuidado, e nas outras
29 duas os resultados indicaram que nenhum dos filhotes analisados eram filhos dos
30 machos que estavam realizando cuidado. O resultado da primeira ninhada pode ser
31 explicado pela ocorrência de machos oportunistas (*sneakers*). Cuidado cooperativo pode
32 explicar a falta de relação entre machos e filhotes nas outras duas ninhadas. Sugerimos
33 que esse cuidado cooperativo pode ocorrer na forma de mistura de ninhadas.

34 **Palavras-chave:** Cuidado parental, Cuidado cooperativo, Microssatélites, Rio Purus,
35 Sistema de acasalamento

36

37 **Occurrence of multiple paternity in broods of silver arowana *Osteoglossum***
38 ***bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)**

39 **Abstract:** Monogamy is rare in fish and is usually associated with elaborate and
40 prolonged parental care. Among fish, the male is usually responsible for parental care,
41 and it is believed that there is a relationship between this high energetic investment and
42 the certainty of paternity, but not when sneaker males occur. The silver arowana,
43 *Osteoglossum bicirrhosum*, is considered monogamous and has special behavioral traits
44 that allow the study of mating systems and parental care, such as mouthbrooding
45 performed by males and formation of aggregations of males during parental care. Using
46 microsatellite markers, we investigated the genetic relationships between males and the
47 brood found in their oral cavity. Samples were collected on Sustainable Development
48 Reserve Piagaçu-Purus, lower Purus River, Amazonas, Brazil. Fourteen broods were
49 analyzed (268 young and 14 adult males) using eight microsatellite loci. The results
50 indicate that most broods (11) show monogamous mating. Three broods had revealed
51 the occurrence of multiple paternity. In one brood, about 50% of the young were
52 genetically compatible with the male who was performing the parental care, and in the
53 other two the genotypes of parents were not compatible with any of the young. The
54 result of the first clutch may be explained by the interference of a sneaker male, whereas
55 cooperative parental care may explain the lack of relationship between males and pups
56 in the other two broods. We suggest that cooperative care may occur as brood mixing.

57

58 **Keywords:** Parental care, Cooperative care, Microsatellite analysis, Purus river, Mating
59 system

60

61

62

63

64

65

66

67

68 **Introdução**

69

70 Os peixes têm uma grande diversidade de características reprodutivas, o que os torna
71 um grupo interessante para o estudo da evolução de sistemas de acasalamento
72 (DeWoody *et al.* 2000). Nesse grupo, o sistema de acasalamento parece estar fortemente
73 relacionado com a forma de cuidado parental (Perrone e Zaret 1980). A monogamia, um
74 tipo de sistema de acasalamento raro em peixes, está relacionada principalmente com a
75 ocorrência de cuidado parental elaborado e prolongado, onde o cuidado biparental passa
76 a ser uma necessidade (Trivers 1972).

77 Blumer (1982) considerou que espécies de 89 famílias de peixes desempenham algum
78 tipo de cuidado parental e que, na maioria dessas espécies, essa função é exercida pelo
79 macho. Alguns autores sugeriram que o investimento paterno em cuidado parental está
80 diretamente relacionado com a certeza da paternidade, isto é, quanto maior for a dúvida
81 de que o macho é o pai genético dos filhotes, menor será o seu investimento no cuidado
82 parental (Trivers 1972), apesar de não ser um conceito universalmente aceito (Werren *et*
83 *al.* 1980, Bouwman *et al.* 2005). Trabalhos demonstraram esse fenômeno em aves (e.g.
84 Moller e Cuervo 2000, Peterson *et al.* 2001), peixes (e.g. Neff 2003, Neff e Gross 2001)
85 e invertebrados (Hunt e Simmons 2002). Entretanto, ao contrário do que poderia ser
86 esperado, alguns estudos indicam que, em espécies onde a proporção da paternidade é
87 potencialmente reduzida pela ocorrência de machos oportunistas, não há redução no
88 investimento em cuidado paternal (Ah-King *et al.* 2004).

89 O aruanã branco (*Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829) tem características que o
90 tornam especialmente interessante para estudos de sistema de acasalamento. A espécie

91 pertence a uma linhagem evolutiva que é considerada relictual, cuja maior diversidade é
92 representada por espécies extintas (e.g. Taverne 2009). Possui características
93 morfológicas primitivas (Uyeno 1973) e está incluída na família Osteoglossidae.
94 Pertence a subfamília Osteoglossinae, com outras seis espécies distribuídas na América
95 do Sul, África, Ásia e Austrália (Nelson 2006). Tem o hábito de permanecer na parte
96 superior da coluna d'água, o que facilita a realização de observações comportamentais e
97 a eventual identificação de indivíduos que estão realizando cuidado parental. O cuidado
98 parental é fornecido exclusivamente pelo macho por meio de incubação bucal, de ovos,
99 larvas e alevinos (Goulding 1980), durante cerca de seis semanas (Queiroz 2008). Na
100 fase final de cuidado parental, quando os filhotes são livre-natantes, os mesmos deixam
101 temporariamente o abrigo na boca do macho para se deslocar pelo ambiente e forragear,
102 retornando à cavidade bucal após saciados ou quando ameaçados (Queiroz 2008). A
103 frequência com que os filhotes saem da boca dos machos aumenta progressivamente ao
104 longo do tempo de incubação, até que o saco vitelínico seja completamente absorvido e
105 os filhotes deixem definitivamente a proteção proporcionada pelo macho parental
106 (Queiroz 2008). O sistema de acasalamento do aruanã branco é considerado como sendo
107 monogâmico serial, com a formação de casais em cada estação reprodutiva (Queiroz
108 2008), apesar de não existirem estudos conclusivos sobre o sistema de acasalamento da
109 espécie. Entretanto, em peixes, a monogamia é esperada somente em espécies com
110 incubação oral dos filhotes, quando a proteção da prole por ambos os pais é importante
111 para a sobrevivência da prole (Wittenberger e Tilson 1980), o que não ocorre em
112 aruanã.

113 Outra característica reprodutiva do aruanã branco é a formação de agregações de
114 machos durante o cuidado parental, conhecidas como choqueiros (Rabello Neto 2008).
115 Embora a existência de choqueiros seja comumente mencionada por pescadores e

116 ribeirinhos na Amazônia, as características e funções dessas agregações ainda não são
117 adequadamente compreendidas. Comportamentos gregários durante a reprodução e
118 cuidado parental são descritos para várias outras espécies de vertebrados. O tipo de
119 agregação mais comum envolve indivíduos reprodutivos e não reprodutivos, onde os
120 últimos atuam como ajudantes (Wisenden 1999). Esse tipo de agregação é descrita para
121 cerca de 150 espécies de aves e 25 espécies de mamíferos (Helfman *et al.* 2009), e
122 também para peixes da família Cichlidae (e.g. McKaye e McKaye 1977). Outra forma
123 de agregação são as “creches”, onde os jovens são mantidos reunidos sob o cuidado de
124 alguns indivíduos adultos enquanto os demais forrageiam, com alternância dessas
125 funções pelos adultos. Esse comportamento é bem descrito em diversas espécies de aves
126 (e. g. Pettingill Jr 1960, Kirkwood e Robertson 1997, Carter e Hobson 1988, Yorio *et al.*
127 1996) e em pinípedes (Cassini 1999).

128 No caso do aruanã branco, as possíveis funções das agregações de machos durante a
129 fase de cuidado parental não são conhecidas. Não há informações sobre a eventual
130 ocorrência de troca de guarda dos filhotes pelos adultos (“creches”), ou mistura de
131 filhotes de diferentes pais na cavidade bucal de machos adultos (o que poderia indicar
132 outra forma de cuidado parental cooperativo). Tampouco há informações sobre as
133 relações de parentesco entre os filhotes que compõem uma ninhada e os respectivos
134 machos adultos que as carregam, o que poderia fornecer pistas sobre o sistema de
135 acasalamento da espécie (e sobre a possível ocorrência de cuidado parental
136 cooperativo). De qualquer forma, a formação de choqueiros sugere a existência de
137 relações sociais especiais entre aruanãs adultos.

138 Considerando as características de formação de casais e elevado investimento em
139 produção de oócitos grandes pelas fêmeas e cuidado parental da espécie, consideramos
140 a hipótese de que o aruanã branco seja realmente monogâmico serial, e todos os filhotes

141 de uma ninhada sejam irmãos, apesar da espécie não possuir as características que
142 usualmente levam a monogamia (necessidade de cuidado biparental). O objetivo deste
143 estudo foi identificar o sistema de acasalamento do aruanã branco *Osteoglossum*
144 *bicirrhosum* e as relações de parentesco entre os machos reprodutivos e as respectivas
145 ninhadas carregadas na cavidade bucal por meio de análises de DNA nuclear. Os
146 resultados deste estudo poderão elucidar questões relacionadas às características do
147 sistema de acasalamento e cuidado parental do aruanã branco e contribuir para o manejo
148 da espécie, que é explorada tanto para fins de alimentação humana como para o
149 mercado de peixes ornamentais (Lima e Prang 2008).

150

151 **Material e Métodos**

152

153 **Área de estudo**

154 As coletas foram realizadas em lagos de várzea da Reserva de Desenvolvimento
155 Sustentável Piagaçu-Purus (RDSPP), localizada no baixo rio Purus, estado do
156 Amazonas, Brasil. A região do baixo rio Purus tem seus recursos pesqueiros fortemente
157 explorados. Cerca de 48% da produção total de pesca com redes, desembarcada entre
158 1994 e 2004 em Manaus, foi proveniente da bacia do rio Purus (Fernandes *et al.* 2009).
159 A RDSPP foi criada em 2003, possui 834.245 ha e mais de 4000 moradores. Inclui
160 paisagens heterogêneas, com diversos ambientes alagáveis e grandes áreas de floresta de
161 terra firme. Os lagos de várzea constituem 44% da área da reserva, e são parcialmente
162 cobertos por bancos de macrófitas aquáticas (Instituto Piagaçu 2010).

163 O trabalho foi desenvolvido na região norte da RDSPP, setor Caua/Cuiuanã, onde
164 projetos vêm sendo desenvolvidos em conjunto com os comunitários desde 2005. Nessa
165 região houve forte exploração de filhotes de aruanã branco para fins ornamentais na
166 década de 90 até 2003. Pescadores da área conhecem diversos aspectos
167 comportamentais da espécie e colaboraram durante a escolha dos locais de coleta.

168

169 Coleta de dados

170 As coletas foram realizadas nos lagos Ambé, Preto e Leitão, na área de várzea do setor
171 Caua/Cuiuanã, durante a estação de enchente (fevereiro) dos anos de 2011 e 2012. Por
172 meio da técnica de focagem noturna, foi realizada uma varredura nos lagos indicados
173 pelos pescadores como tendo maiores densidades de aruanãs. Os indivíduos realizando
174 cuidado parental foram procurados ativamente, de canoa, com lanternas. Quando
175 avistados com ovos ou alevinos (identificáveis pela cavidade bucal expandida), os
176 peixes adultos foram coletados com zagaias. Cada peixe capturado foi inspecionado
177 quanto à presença de desova (ovos, larvas ou jovens) na cavidade bucal, que foi
178 coletada e mantida em um saco plástico. Um dos barbilhões mentonianos de cada
179 macho capturado foi cortado, colocado em um saco plástico e mantido junto com a
180 ninhada encontrada na cavidade bucal do indivíduo adulto. As amostras foram
181 conservadas em álcool 96% para posterior análise genética.

182 Obtenção de dados genéticos

183 De cada indivíduo (larva/jovem e barbilhão dos machos adultos) foi retirada uma
184 amostra de tecido, que foi acondicionada em freezer a uma temperatura de -20°C . O
185 DNA foi extraído utilizando o protocolo de cetiltrimetilamonibrometo (CTAB),
186 utilizando uma alíquota de cerca de 100 mg de tecido. A concentração do DNA extraído

187 foi quantificada utilizando *NanoDrop 2000c Spectrophotometer* (Desjardins *et al.* 2009)
188 e amostras com concentrações altas de DNA foram diluídas até uma concentração final
189 de 20 a 30 ng/μl.

190 Foram selecionados oito *loci* de microssatélites de DNA nuclear desenvolvidos por Da
191 Silva *et al.* (2009) para *Osteoglossum bicirrhosum*: Ob_B11, Ob_C01, Ob_D09,
192 Ob_F09, Ob_H09, Ob_C04, Ob_A01 e Ob_G11. Microssatélites são sequências de
193 DNA que contêm elementos curtos e repetitivos, cujos números de cópias variam de
194 acordo com o alelo (DeWoody 2005). São considerados marcadores neutros, pois não
195 sofrem seleção natural. Por serem altamente mutáveis, possuem uma grande
196 diversidade, o que torna os microssatélites interessantes para estudos populacionais. Os
197 *primers* utilizados foram marcados de acordo com o método descrito por Schuelke
198 (2000), que permitiu a leitura no sequenciador ABI 3130xl (Applied Biosystems).

199 O produto da PCR foi conferido para eventual necessidade de diluição e, então, o
200 produto foi preparado para a análise no ABI 3130xl (Applied Biosystems). A
201 preparação foi realizada com 1 μl do produto da PCR, 1 μl de ROX (DeWoody *et al.*
202 2004) e 8 μl de formamida. Os resultados foram analisados por meio do programa
203 GeneMapper v 4.0 (Applied Biosystems), onde os tamanhos dos alelos foram
204 identificados.

205

206 Análise de dados

207 As probabilidades de identidade e de exclusão foram calculadas, para cada ninhada, no
208 programa Genalex v6.41 (Peakall e Smouse 2006). Essas probabilidades variam de zero
209 a um e indicam o quão informativo é o grupo de *loci* utilizado. A probabilidade de
210 identidade fornece uma estimativa da chance de que dois indivíduos não relacionados,

211 retirados da mesma população, terem o mesmo genótipo multilocus. A probabilidade de
212 identidade, quanto mais próxima de zero, indica que o grupo de *loci* é mais informativo,
213 enquanto a probabilidade de exclusão é quanto mais próxima de um.

214 Para verificação de múltipla paternidade, foi realizada contagem manual dos alelos para
215 cada *locus*. A ocorrência de mais de quatro alelos em um *locus* indica presença de
216 múltipla paternidade. Foi verificada também a ocorrência dos alelos do macho adulto
217 nos genótipos dos filhotes. A divisão das ninhadas em grupos-irmãos foi realizada
218 utilizando-se o programa Kinalyzer (Ashley *et al.* 2009). O programa utiliza uma
219 abordagem de otimização combinada para criar os grupos, procurando o número
220 mínimo de grupos possíveis (Jones *et al.* 2010). Para reconstrução de genótipos
221 parentais e identificação do número de pais contribuindo com cada ninhada, utilizamos
222 o programa Gerud 2.0 (Jones 2005). Esse programa faz a reconstrução dos genótipos
223 parentais de uma prole que só contenha irmãos ou meio-irmãos, sem que seja necessário
224 que se conheça um genótipo parental. Assim, ele usa um algoritmo que procura por
225 todos os possíveis genótipos parentais para a ninhada e encontra um número mínimo de
226 genótipos necessário para explicar a matriz de genótipos da prole (Jones *et al.* 2010). As
227 análises no Kinalyzer e Gerud 2.0 foram realizadas utilizando-se apenas os genótipos
228 dos jovens. Posteriormente, os genótipos parentais resultantes da análise do Gerud 2.0
229 foram comparados com os genótipos observados diretamente a partir das amostras de
230 tecido dos machos parentais.

231

232 **Resultados**

233

234 Foram analisadas 14 ninhadas, e o número total de filhotes em cada ninhada variou de
235 57 a 146. Foram utilizados 16 a 20 juvenis de cada ninhada para as análises,
236 selecionados arbitrariamente, além dos machos adultos, totalizando 282 indivíduos
237 (Tabela 1). O tamanho médio dos filhotes por ninhada variou de 1,0 cm a 6,8 cm, da
238 fase embrionária à fase de alevino (Aragão 1984), e todos os indivíduos coletados em
239 uma mesma ninhada estavam no mesmo estágio de desenvolvimento.

240 Não foi possível amplificar todos os *loci* de microssatélites para todos os indivíduos
241 analisados. Para as análises, foram retirados dados de microssatélites específicos ou
242 indivíduos com dados faltantes. Apenas na ninhada N32 todos os indivíduos foram
243 analisados utilizando-se todos os oito *loci* de microssatélites (Tabela 1).

244 O número de alelos em cada um dos oito *loci* de microssatélite variou de dois a sete,
245 com uma média de $4,5 \pm 1,6$ alelos por *loci*. As probabilidades de identidade e de
246 exclusão do conjunto de *loci* em cada ninhada variaram de 0,015 (N9) a 0,175 (N126) e
247 0,689 (N126) a 0,972 (N9), respectivamente (Tabela 1). Em seis ninhadas, a
248 probabilidade de exclusão foi maior que 0,90, o que indica que o conjunto de
249 microssatélites utilizados é bem informativo para essas ninhadas. As outras ninhadas,
250 em que a probabilidade de exclusão indicou um conjunto de *loci* menos informativo,
251 também foram utilizadas nas análises, mas nelas podem estar sendo subestimadas as
252 ocorrências de eventos como múltipla paternidade.

253 Análise de paternidade

254 A verificação manual com contagem dos alelos por *loci* em cada ninhada não
255 demonstrou nenhuma indicação de múltipla paternidade, considerando os padrões
256 mendelianos de herança dos alelos. Contudo, quando verificada a ocorrência de alelos
257 do macho adulto nos filhotes, não foi detectada presença em três ninhadas: na ninhada

258 N10 (N= 124 filhotes, 20 analisados), alguns filhotes não possuíam nenhum alelo
259 compartilhado com o respectivo macho adulto (um filhote para o *locus* Ob_B11 e nove
260 filhotes para o *locus* Ob_H09, representando 45% da ninhada). Na ninhada N14 (N= 57,
261 20 analisados), a diferença ocorreu em seis filhotes para o *locus* Ob_H09 (30%). Na
262 ninhada N32 (N= 79, 20 analisados), três filhotes para o *locus* Ob_B11 e 12 filhotes
263 para o *locus* Ob_H09 não possuíam alelos compatíveis com o macho adulto que
264 carregava aquela ninhada (65%). Nas demais ninhadas, os resultados indicaram a
265 participação de apenas um macho e uma fêmea na fertilização, portanto, um sistema de
266 acasalamento monogâmico.

267 A análise de formação de grupos-irmãos por otimização combinada realizada no
268 programa Kinalyzer indicou a ocorrência de três grupos-irmãos na ninhada N10, e dois
269 grupos nas ninhadas N14 e N32 (Tabela 1).

270 A divisão das ninhadas em grupos irmãos, utilizando a matriz de genótipos de cada
271 ninhada, através do programa Gerud 2.0, indicou a ocorrência de múltipla paternidade
272 nas mesmas ninhadas indicadas pela análise no programa Kinalyzer (Tabela 1).

273 Comparando-se os genótipos parentais, reconstruídos pelo Gerud 2.0 através da matriz
274 de genótipos dos filhotes, com os genótipos dos machos coletados junto com as
275 ninhadas, houve incompatibilidade em duas ninhadas (N10 e N32), indicando que os
276 machos não eram pais genéticos de nenhum dos filhotes analisados naquelas ninhadas.

277 Considerando-se o conjunto de análises genéticas realizadas, a maioria das ninhadas foi
278 fertilizada apenas por um macho e uma fêmea. Os resultados indicam que em três
279 ninhadas múltiplos machos participaram da fertilização, representando 21,4% das 14
280 ninhadas analisadas. Na ninhada N14, cerca de metade dos filhotes (48%) apresentavam

281 genótipos compatíveis com o macho paternal, enquanto a outra metade é compatível
282 com fertilização por outro macho.

283

284 **Discussão**

285

286 Os resultados encontrados indicam que a maioria das ninhadas analisadas (78,6%, 11 de
287 14) foi fertilizada em um sistema de acasalamento monogâmico, envolvendo apenas um
288 macho e uma fêmea. A monogamia é compatível com o sistema de acasalamento
289 inicialmente esperado para a espécie, entretanto, não é esperado para espécies com
290 cuidado uniparental (Wittenberger e Tilson 1980). Além disso, esse tipo de sistema de
291 acasalamento parece ser uma exceção na maioria dos grupos animais (e.g. Kleiman
292 1977, Taylor *et al.* 2003) e, desde o início do uso de análises moleculares para este tipo
293 de estudo, foi demonstrado que muitas espécies socialmente monogâmicas não são
294 geneticamente monogâmicas (e.g. Goossens *et al.*, 1998; Sefc *et al.* 2008; Liebgold *et al.*
295 2006; Ophir *et al.* 2008).

296 Contudo, nossos resultados apresentaram exceções: três ninhadas de 14 (21,4%)
297 indicaram ocorrência de mais de um macho participando na fertilização dos filhotes.

298 A ninhada N14, onde cerca de metade da ninhada parece ser de filhotes do macho
299 parental, e a outra metade, filhotes de outro macho, pode ser vista como um caso típico
300 de múltipla paternidade. Considerando o possível comportamento de formação de casal,
301 é provável que essa fertilização extra-par tenha ocorrido pela interferência de um macho
302 oportunista. Esse macho pode se aproveitar do momento em que o casal se encontra
303 profundamente envolvido no processo de oviposição e fecundação para depositar seus

304 espermatozoides e fecundar alguns oócitos, deixando o conjunto de ovos para que o
305 macho do casal provenha todo o cuidado parental necessário, como descrito para a
306 espécies das famílias Gasterosteidae (*Gasterosteus aculeatus*, Largiàder *et al.* 2001),
307 Cichlidae (*Neolamprologus brevis*, Ota *et al.* 2012) e Gobiidae (*Gobiusculus flavescens*,
308 Mobley *et al.* 2009) . O cuidado paternal pode evoluir em espécies com maior certeza
309 de paternidade, mesmo com a ocorrência de machos oportunistas (Ah-King *et al.* 2004).
310 Neste sentido, parece que o valor do cuidado é tão alto que a estratégia (cuidado
311 parental prolongado, energeticamente dispendioso) resiste mesmo ante a possibilidade
312 da presença de filhotes de outros machos misturados à ninhada. De fato, a existência de
313 machos oportunistas em espécies de peixes é tida como mais uma regra do que uma
314 exceção, já tendo sido registrada em 25 famílias (Taborsky 1994).

315 Existem diferentes formas de atuação de machos considerados oportunistas, pois uma
316 mesma espécie pode possuir diferentes táticas reprodutivas (Taborsky 1994). É possível
317 que, no caso do aruanã, os machos maiores sejam selecionados pelas fêmeas, formando
318 inicialmente os casais e assumindo o cuidado parental dos filhotes, pois indivíduos
319 maiores teriam cavidades bucais com maior volume (e maior espaço para abrigar a
320 ninhada), e, supostamente, melhores condições físicas para defender a prole (Queiroz
321 2008). Neste sentido, machos jovens, de menor tamanho, poderiam utilizar a tática de
322 oportunista como uma forma de buscar sucesso reprodutivo no início da vida
323 sexualmente ativa. Essa estratégia constitui uma hipótese aventada para explicar a
324 ocorrência de machos oportunistas e cópulas extra-par em diversas espécies de peixes,
325 como nas famílias Cichlidae (Ota *et al.* 2012), Gasterosteidae (Largiàder *et al.* 2001),
326 Gobiidae (Jones *et al.* 2001) e Centrarchidae (Gross e Charnov 1980).

327

328 Tabela 1: Número de alelos por *loci*, por ninhada. PI = Probabilidade de identidade; PE = Probabilidade de exclusão. N = Número de filhotes por ninhada; n =
 329 número de filhotes analisados por ninhada. Número de loci de microssatélites utilizados por ninhada. O número de grupos irmãos estimados com uso dos
 330 programas Gerud 2.0 e Kinalyzer.

Ninhada	Locus								PI	PE	N	n	N°loci	Número de grupos irmãos	
	Ob_ B11	Ob_ C01	Ob_ F09	Ob_ A01	Ob_ G11	Ob_ H09	Ob_ C04	Ob_ D09						Kinalyzer	Gerud 2.0
N9	4	3	2	3	2	2	2	3	0,015	0,972	57	19	7	1	1
N10	3	2	2	1	2	3	2	-	0,028	0,954	124	20	6	3	3
N11	3	3	3	1	3	3	2	-	0,018	0,971	136	20	6	1	1
N12	3	3	2	1	2	2	2	-	0,058	0,902	74	20	7	1	1
N13	1	2	2	2	2	2	-	-	0,120	0,759	69	20	6	1	1
N14	3	2	2	2	2	3	2	3	0,021	0,946	57	20	6	2	2
N15	2	2	1	1	2	2	2	-	0,162	0,722	73	17	7	1	1
N16	2	2	2	2	2	-	-	2	0,100	0,800	64	18	6	1	1
N32	4	2	3	1	1	3	2	3	0,028	0,958	79	20	8	2	2
N33	3	3	1	1	2	-	2	3	0,068	0,886	146	19	7	1	1
N34	4	2	2	1	2	-	-	2	0,087	0,843	101	16	6	1	1
N126	2	2	2	1	2	-	-	-	0,175	0,689	91	20	5	1	1
N127	2	2	2	1	3	-	-	-	0,019	0,777	103	20	5	1	1
N134	4	2	2	1	1	-	-	-	0,159	0,797	100	20	4	1	1
Total	5	6	3	4	4	5	2	7			1274	269			

331 O resultado mais intrigante encontrado no presente estudo foi a completa falta de
332 relação genética dos machos que estavam realizando o cuidado parental com os filhotes
333 carregados por eles em duas das ninhadas analisadas (N10 e N32). DeWoody e Avise
334 (2001) propuseram possíveis explicações para esse tipo de evento, como a tomada de
335 um ninho após a morte, abandono ou expulsão do macho original, ou roubo de ovos.
336 Embora essas hipóteses não possam ser descartadas, no presente estudo identificamos
337 outras possibilidades para explicar a ocorrência de casos de completa incompatibilidade
338 de genótipos entre macho parental e filhotes em aruanã branco.

339 A hipótese mais simples (embora não necessariamente a mais parcimoniosa) seria a de
340 subamostragem, ou seja, a amostra analisada de 20 jovens por ninhada (16,13 e 25,32%
341 das ninhadas em questão) casualmente não teria incluído nenhum filhote do macho que
342 estava realizando cuidado parental. Portanto, poderia ser um caso simples de múltipla
343 paternidade, onde apenas indivíduos filhotes de machos oportunistas teriam sido
344 analisados.

345 Uma segunda hipótese se baseia na ocorrência de cuidado parental cooperativo, através
346 da mistura de ninhadas. Comportamentos de cuidado cooperativo são considerados
347 raros em peixes (Taborsky 1994). A mistura de ninhadas pode ocorrer quando os
348 filhotes saem da cavidade bucal dos pais para se alimentar e, no retorno, entram na boca
349 de outros machos. Essa “confusão de família” é especialmente provável de acontecer
350 em espécies que não possuem territórios estáveis (Taborsky 1994), como parece ocorrer
351 no aruanã. Considerando-se o comportamento de agregação dos aruanãs durante o
352 cuidado parental (choqueiros), essa é uma hipótese plausível. Além disso, nas ninhadas
353 em que foi detectada incompatibilidade genética entre o macho e a ninhada, os filhotes
354 estavam em um estágio avançado de desenvolvimento (Aragão 1984), com todas as
355 estruturas bem desenvolvidas e o saco vitelínico em fase final de absorção. Ou seja,

356 estariam em condições de realizar essas saídas para alimentação ocasional. Embora essa
357 situação seja de ocorrência simples, o resultado (investimento energético com cuidado
358 parental de filhotes de outros indivíduos) deveria ser evolutivamente desvantajoso.
359 Neste sentido, é esperado que exista alguma forma de identificação mútua entre pai e
360 filhotes. Assim, erros de identificação (na ausência de cuidados cooperativos pela
361 espécie) deveriam ser pouco frequentes, o que não parece estar de acordo com a taxa
362 observada neste estudo (cerca de 15% das ninhadas analisadas). É importante, também,
363 considerar que a presença dos coletores no ambiente natural pode ter causado uma
364 situação excepcional, onde os filhotes buscaram o abrigo mais próximo.

365 Caso a mistura de família explique o resultado encontrado, provavelmente não existe
366 uma forma muito elaborada de identificação entre pais e filhotes. Neste sentido, uma
367 estratégia evolutivamente estável deveria envolver cuidado cooperativo, onde os
368 indivíduos de uma agregação de machos cuidariam coletivamente dos filhotes (ninhadas
369 completas ou parciais). Nesse caso, a mistura de filhotes, ou mesmo a guarda de
370 ninhadas completas de outros pais não seria fortemente desvantajosa para o indivíduo,
371 pois outro macho estaria desempenhando o mesmo papel com a sua ninhada.

372 É importante salientar que as análises realizadas nos programas Kalyzer e Gerud 2.0
373 indicam que, em cada uma dessas duas ninhadas, todos os filhotes seriam, ao menos,
374 meio irmãos. Esse fato descartaria algumas das hipóteses sugeridas anteriormente. Mas,
375 pelo baixo polimorfismo dos *loci* de microssatélites, é possível que essa indicação seja
376 incorreta, portanto, pode ser que o número de *loci* analisados não seja suficiente para
377 revelar outras relações de parentesco.

378 Sabe-se que em outras espécies de Osteoglossidae a forma de acasalamento e cuidado
379 parental é semelhante à do aruanã branco, com formação de casais e incubação bucal

380 realizada pelos machos (Rowley *et al.* 2008, Suleiman 2003). Isso sugere que esse
381 comportamento pode ter surgido em um ancestral das espécies atuais, considerando-se a
382 distribuição geográfica atual das espécies da família e o longo tempo de existência da
383 linhagem (Kumazawa e Nishida 2000). Na espécie *Arapaima gigas*, o pirarucu,
384 pertencente à mesma ordem do aruanã branco e com ocorrência simpátrica, foram
385 encontradas indicações de múltipla paternidade (Almeida 2006). O cuidado parental
386 também é desempenhado pelo macho, mas não inclui incubação bucal. Características
387 reprodutivas mais específicas, como formação de agregações para cuidado parental e
388 ocorrência de múltipla paternidade, ainda não foram investigadas nas demais espécies
389 de Osteoglossidae.

390 Dentre as amostras analisadas no presente estudo, pode-se afirmar, sem dúvida, a
391 ocorrência de múltipla paternidade em apenas uma ninhada (N14), onde os filhotes não
392 estavam desenvolvidos o suficiente para que nadassem livremente e houvesse mistura
393 de famílias. Em onze ninhadas, a indicação mais forte é que o acasalamento envolveu
394 apenas um casal, e que o macho coletado era geneticamente pai de todos os filhotes
395 encontrados em sua cavidade bucal. E as análises nas ninhadas N10 e N32 podem
396 demonstrar um tipo de cuidado cooperativo.

397 No presente estudo, a ocorrência de eventos de múltipla paternidade e cuidado
398 cooperativo pode estar sendo subestimada, pois as coletas não foram realizadas em
399 choqueiros, e uma maior densidade de indivíduos pode influenciar a ocorrência desses
400 eventos, como sugerido por Mackiewicz *et al.* (2002) para *Lepomis marginatus*.

401 Conclui-se que o sistema de acasalamento do aruanã branco é predominantemente
402 monogâmico serial. Houve uma proporção razoável de fertilizações por mais de um
403 macho, possivelmente não realizadas por escolha da fêmea e, sim, por machos

404 oportunistas. Finalmente, é possível a ocorrência de cuidado cooperativo pelos machos
405 de *Osteoglossum bicirrhosum*, mas são necessários mais estudos de história natural e
406 comportamento da espécie para elucidar essa questão.

407

408 **Agradecimentos**

409 Aos pescadores da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus e ao
410 Instituto Piagaçu pelo apoio logístico. Ao Laboratório de Evolução e Genética Animal
411 pelo apoio durante a fase laboratorial do trabalho. JZ recebe bolsa de produtividade do
412 CNPq (processo 307464/2009-1). Esse trabalho foi realizado a partir da dissertação de
413 mestrado de J.T. Verba no Programa de Pós-Graduação em Ecologia do INPA, com
414 bolsa de estudos do CNPq.

415

416

417 **Referências bibliográficas**

418 Ah-King, M.; Kvarnemo, C.; Tullberg, B.S. 2004. The influence of territoriality and
419 mating system on the evolution of male care: a phylogenetic study on fish. *Journal of*
420 *Evolutionary Biology*. 18(2):371-382.

421 Almeida, Y.S. 2006. Análise de parentesco em filhotes de pirarucu (*Arapaima gigas*
422 Cuvier, 1817), utilizando marcadores microsatélites. Dissertação de mestrado,
423 Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 70pp.

424 Aragão, L.P. 1984. Contribuição ao estudo da biologia do aruanã, *Osteoglossum*
425 *bicirrhosum* Vandelli 1829, do lago Janauaca – estado do Amazonas, Brasil. I –

- 426 Desenvolvimento e alimentação larval (Osteichtys – Osteoglossiformes). *Ciência*
427 *Agronômica*. 15(1/2):7-17.
- 428 Ashley, M.V.; Caballero, I.C.; Chaovalitwongse, W.; Dasgupta, B.; Govindan, P.;
429 Sheikh, S.I.; Berger-Wolf, T.Y. 2009. KINALYZER, a computer program for
430 reconstructing sibling groups. *Molecular Ecology Resources*. 9(4):1127-1131.
- 431 Blumer, L.S. 1982. A bibliography and categorization of bony fishes exhibiting parental
432 care. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 75(1):1-22.
- 433 Bouwman, K.M.; Lessells, C.M.; Komdeur, J. 2005. Male reed buntings do not adjust
434 parental effort in relation to extrapair paternity. *Behavioral Ecology*. 16(3): 499-506.
- 435 Carter, H.R.; Hobson, K.A. 1988 Creching behavior of brandt's cormorant chicks. *The*
436 *Condor*. 90:395-400.
- 437 Cassini, M.H. 1999. The evolution of reproductive systems in pinnipeds. *Behavioral*
438 *Ecology*. 10(5): 612-616.
- 439 Da Silva, T.J.; Hrbek, T.; Farias, I.P. 2009. Microsatellite markers for the silver
440 arowana (*Osteoglossum bicirrhosum*, Osteoglossidae, Osteoglossiformes). *Molecular*
441 *Ecology Resources*. 9(3):1019-1022.
- 442 Desjardins, P.; Hansen, J.B; Allen, M. 2009. Microvolume protein concentration
443 determination using the NanoDrop 2000c Spectrophotometer. *Journal of Visualized*
444 *Experiments*.
- 445 DeWoody, J.A.; Fletcher, D.E.; Wilkins, S.D.; Nelson, W.S.; Avise, J.C. 2000. Genetic
446 monogamy and biparental care in an externally fertilizing fish, the largemouth bass
447 (*Micropterus salmoides*). *Proceedings of the Royal Society B*. 267:2431-2437.

- 448 DeWoody, J.A.; Avise, J.C. 2001. Genetic perspective on the natural history of fish
449 mating system. *The Journal of Heredity*. 92(2):167-172.
- 450 DeWoody, J.A.; Schupp, J.; Kenefic, L.; Busch, J.; Murfitt, L.; Keim, P. 2004.
451 Universal method for producing ROX-labeled size standards suitable for automated
452 genotyping. *Biotechniques*. 37:348-352.
- 453 DeWoody, J.A. 2005. Molecular approaches to the study of parentage, relatedness, and
454 fitness: practical applications for wild animals. *Journal of Wildlife Management*. 69(4):
455 1400-1418.
- 456 Fernandes, V. L. A.; Vicentini, R. N.; Batista, V. S. 2009. Caracterização do uso de
457 malhadeiras pela frota pesqueira que desembarca em Manaus e Manacapuru, Amazonas.
458 *Acta Amazonica*. 39(2):405-414.
- 459 Goossens, B.; Graziani, L.; Waits, L.P.; Farand, E.; Magnolon, S.; Coulon, J.; Bel,
460 M.C.; Taberlet, P.; Allainé, D. 1998. Extra-pair paternity in the monogamous Alpine
461 marmot revealed by nuclear DNA microsatellite analysis. *Behavioral Ecology and*
462 *Sociobiology*. 43:281-288.
- 463 Goulding, M. 1980. The fishes and the forest, explorations in Amazonian natural
464 history. University of California Press, Berkeley, USA.
- 465 Gross, M.R.; Charnov, E.L. 1980. Alternative male life histories in bluegill sunfish.
466 *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 77(11):6937-6940.
- 467 Helfman, G.S.; Collette, B.B.; Facey, D.E.; Bowen, B.W. 2009. The diversity of fishes.
468 2nd Ed. Wiley-Blackwell Publishing, United Kingdom. 720 pp.

- 469 Hunt, J.; Simmons, L.W. 2002. Confidence of paternity and paternal care: covariation
470 revealed through the experimental manipulation of the mating system in the beetle
471 *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology*. 15:784-795.
- 472 Instituto Piagaçu. 2010. Plano de Gestão Reserva de Desenvolvimento Sustentável
473 Piagaçu-Purus – Vol I e II: Versão para consulta pública.
- 474 Jones, A.G.; Walker, D.; Kvarnemo, C.; Lindström, K.; Avise, J.C. 2001. How
475 cuckoldry can decrease the opportunity for sexual selection: Data and theory from a
476 genetic parentage analysis of the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Proceedings of*
477 *the National Academy of Sciences*. 98(16):9151-9156.
- 478 Jones, A.G. 2005. GERUD 2.0: a computer program for the reconstruction of parental
479 genotypes from half-sib progeny arrays with known and unknown parents. *Molecular*
480 *Ecology Notes*. 5(3):708–711.
- 481 Jones, A.G.; Small, C.M.; Paczolt, K.A.; Ratterman, N.L. 2010. A practical guide to
482 methods of parentage analysis. *Molecular Ecology Resources*. 10(1):6-30.
- 483 Kirkwood, R.; Robertson, G. 1997. Seasonal change in the foraging ecology of emperor
484 penguins on the Mawson Coast, Antarctica. *Marine Ecology Progress Series*. 156:205-
485 223.
- 486 Kleiman, D.G. 1977. Monogamy in mammals. *The Quarterly Review of Biology*. 52:39-
487 69.
- 488 Kumazawa, Y.; Nishida, M. 2000. Molecular phylogeny of Osteoglossoids: A new
489 model for Gondwanian origin and plate tectonic transportation of the Asian Arowana.
490 *Molecular Biology and Evolution*. 17(12):1869-1878.

- 491 Largiadèr, C.R.; Fries, V.; Bakker, T.C.M. 2001. Genetic analysis of sneaking and egg-
492 thievery in a natural population of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*
493 L.). *Heredity*. 86:459-468.
- 494 Liebgold, E.B.; Cabe, P.R.; Jaeger, R.G.; Leberg, P.L. 2006. Multiple paternity in a
495 salamander with socially monogamous behaviour. *Molecular Ecology*. 15:4153-4160.
- 496 Lima, A.C.; Prang, G. 2008. Demandas para o Manejo e Conservação do Aruanã
497 Branco, *Osteoglossum bicirrhosum* (Cuvier, 1829), na Região do Médio Rio Solimões,
498 p. 15 – 26. In: Queiroz, H. L. & Camargo, M. (Eds). *Biologia, conservação e manejo*
499 *dos aruanãs na Amazônia brasileira*. IDSM, Tefé, Amazonas.
- 500 Mackiewicz, M.; Fletcher, D.E.; Wilkins, S.D.; DeWoody, J.A.; Avise, J.C. 2002. A
501 genetic assessment of parentage in a natural population of dollar sunfish (*Lepomis*
502 *marginatus*) based on microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 1877-1883.
- 503 McKaye, K.R.; McKaye, N.M. 1977. Communal care and kidnapping of young by
504 parental cichlids. *Evolution*. 31:674-681.
- 505 Mobley, K.B.; Amundsen, T.; Forsgren, E.; Svensson, P.A.; Jones, A.G. 2009. Multiple
506 mating and a low incidence of cuckoldry for nest-holding males in the two-spotted
507 goby, *Gobiusculus flavescens*. *BMC Evolutionary Biology*. 9:6.
- 508 Moller, A.P.; Cuervo, J.J. 2000. The evolution of paternity and paternal care in birds.
509 *Behavioral Ecology*. 11(5):472-485.
- 510 Neff, B.B. 2003. Decisions about parental care in response to perceived paternity.
511 *Nature*. 422:716-719.

- 512 Neff, B.D.; Gross, M.R. 2001. Dynamic adjustment of parental care in response to
513 perceived paternity. *Proceedings of the Royal Society B*. 268: 1559-1565.
- 514 Nelson, J.S. 2006. Fishes of the world. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. 601 pp.
- 515 Ophir, A.G.; Phelps, S.M.; Sorin, A.B.; Wolff, J.O. 2008. Social but not genetic
516 monogamy is associated with greater breeding success in prairie voles. *Animal*
517 *Behaviour*. 75:1143-1154.
- 518 Ota, K.; Aibara, M.; Morita, M.; Awata, S.; Hori, M.; Kohda, M. 2012. Alternative
519 reproductive tactics in the shell-brooding Lake Tanganyika cichlid *Neolamprologus*
520 *brevis*. *International Journal of Evolutionary Biology*. 2012:1-10.
- 521 Peakall, R.; Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population
522 genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6(1):288-295.
- 523 Perrone Jr, M.; Zaret, T.M. 1979. Parental care patterns of fishes. *The American*
524 *Naturalist*. 113(3):351-361.
- 525 Peterson, K.A.; Thusius, K.J.; Whittingham, L.A.; Dunn, P.O. 2001. Allocation of male
526 parental care in relation to paternity within and among broods of the Common
527 Yellowthroat (*Geothlypis trichas*). *Ethology*. 107:573-586.
- 528 Pettingill Jr, O.S. 1960. Crèche Behavior and Individual Recognition in a Colony of
529 Rockhopper Penguins. *The Wilson Bulletin*. 72(3):212-221.
- 530 Queiroz, H.L. 2008. Investimento parental e reprodução do aruanã branco,
531 *Osteoglossum bicirrhosum*, na Reserva Mamirauá, p.119-132. In: Queiroz, H. L. &
532 Camargo, M. (Eds). *Biologia, conservação e manejo dos aruanãs na Amazônia*
533 *brasileira*. IDSM, Tefé, Amazonas.

- 534 Rabello Neto, J.G. 2008. A exploração de filhotes de aruanã preto (*Osteoglossum*
535 *ferreirai*) e do aruanã branco (*Osteoglossum bicirrhosum*) como peixes ornamentais no
536 médio rio Negro, p. 27-40. In: Queiroz, H. L. & Camargo, M. (Eds). *Biologia,*
537 *conservação e manejo dos aruanãs na Amazônia brasileira*. IDSM, Tefé, Amazonas.
- 538 Rowley, J.J.L.; Emmett, D.A.; Voen, S. 2008. Harvest, trade and conservation of the
539 Asian arowana *Scleropages formosus* in Cambodia. *Aquatic Conservation: Marine and*
540 *Freshwater Ecosystems*. 18: 1255-1262.
- 541 Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR
542 fragments. *Nature Biotechnology*. 18:233-234.
- 543 Sefc, K.M.; Mattersdorfer, K.; Sturmbauer, C.; Koblmüller, S. 2008. High frequency of
544 multiple paternity in broods of a socially monogamous cichlid fish with biparental nest
545 defence. *Molecular Ecology*. 17:2531-2543.
- 546 Suleiman, M.Z. 2003. Breeding technique of Malaysian golden arowana, *Scleropages*
547 *formosus* in concrete tanks. *Aquaculture Asia*. 8 (3):11–13.
- 548 Taborsky, M. 1994. Sneakers, satellites, and helpers: parasitic and cooperative behavior
549 in fish reproduction. *Advances in the Study of Behavior*. 23:100p.
- 550 Taverne, L. 2009. On the presence of the osteoglossid genus *Scleropages* in the
551 Paleocene of Niger, Africa (Teleostei, Osteoglossomorpha). *Bulletin de L'Institut Royal*
552 *des Sciences Naturelles de Belgique*. 79: 161-167.
- 553 Taylor, M.I.; Morley, J.I.; Rico, C.; Balshine, S. 2003. Evidence for genetic monogamy
554 and female-biased dispersal in the biparental mouthbrooding cichlid *Eretmodus*
555 *cyanostictus* from Lake Tanganyika. *Molecular Ecology*. 12:3173-3177.


- 556 Trivers, R.L. 1972. Parental investment and sexual selection, p. 1871-1971. In:
557 Campbell, B. (Ed.). *Sexual Selection and the Descent of Man*. Chicago.
- 558 Uyeno, T. 1973. A comparative study of chromosomes in the teleostean fish order
559 Osteoglossiformes. 20(4): 211-217.
- 560 Werren, J.H.; Gross, M.R.; Shine, R. 1980. Paternity and the evolution of male parental
561 care. *Journal of Theoretical Biology*. 82: 619-631.
- 562 Wisenden, B.D. 1999. Alloparental care in fishes. *Reviews in Fish Biology and*
563 *Fisheries*. 9:45-70.
- 564 Wittenberger, J.F.; Tilson, R.L. 1980. The evolution of monogamy: Hypotheses and
565 evidence. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 11:197-232.
- 566 Yorio, P.; Boersma, P.D.; Swann, S. 1996. Breeding biology of the Dolphin Gull at
567 Punta Tombo, Argentina. *The Condor*. 98(2):208-215.
- 568
- 569
- 570
- 571
- 572
- 573
- 574
- 575
- 576
- 577
- 578

CONCLUSÕES


1. Análises de microssatélites demonstram diferenças entre o sistema de acasalamento comportamental e genético em aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum*;
2. O sistema de acasalamento do aruanã branco é predominantemente monogâmico em cada estação reprodutiva, com ocorrência de fertilizações por outros machos em menor incidência;
3. As fertilizações extra par possivelmente são efetuadas por machos oportunistas (*sneaker*);
4. As análises indicaram que o cuidado parental pode ser cooperativo;
5. São necessários estudos comportamentais para responder as questões relacionadas a cuidado cooperativo.

ATAS DE BANCAS AVALIADORAS

Ata de banca avaliadora da aula de qualificação



PG-ECO-INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA



INPA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

AULA DE QUALIFICAÇÃO

PARECER

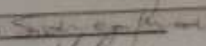
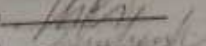
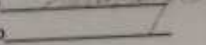
Aluno(a): JÚLIA TOVAR VERBA
Curso: ECOLOGIA
Nível: MESTRADO
Orientador(a): JANSEN ALFREDO SAMPAIO ZUANON

Título

*Agregações reprodutivas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829
(Osteoglossiformes: Osteoglossidae) no baixo rio Purus, AM, Brasil".

BANCA JULGADORA:

<u>TITULARES:</u>	<u>SUPLENTE:</u>
Sidinéia A. Amádio (INPA/CPBA)	Richard Carl Vogt (INPA/CPBA)
Efrem Jorge Ferreira (INPA/CPBA)	Rafael Bernhard (INPA/CPBA)
Edinbergh Oliveira (UFAM)	

	PARECER	ASSINATURA
Sidinéia A. Amádio (INPA/CPBA)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado 
Efrem Jorge Ferreira (INPA/CPBA)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado 
Edinbergh Oliveira (UFAM)	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado 
Richard Carl Vogt (INPA/CPBA)	<input type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado _____
Rafael Bernhard (INPA/CPBA)	<input type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado _____

Manaus(AM), 27 de abril de 2011

OBS: _____

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA PPG-ECO/INPA
Av. Etigênio Sales, 2239 – Bairro: Adrianópolis – Caixa Postal: 478 – CEP: 69.011-970, Manaus/AM.
Fone: (+55) 92 3643-1909 Fax: (+55) 92 3643-1909
site: <http://pg.eco.inpa.gov.br> e-mail: pgeco@inpa.gov.br

Ata de banca avaliadora do trabalho escrito

Avaliador: Camila Ribas



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)

Aluno: Julia Tovar Verba

Orientador: Jansen Zuanon

Co-orientador:

Avaliador: Camila Ribas

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	()	(X)	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(X)	()	()
Metodologia	(X)	()	()	()
Resultados	(X)	()	()	()
Discussão e conclusões	()	(X)	()	()
Formatação e estilo texto	(X)	()	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

(X) **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

() **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Camila Meum Ribas

Manaus

25 de outubro de 2012

Local

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgeecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
DCEC/CBio/INPA
CP 478 69011-970 Manaus AM Brazil

Comentarios:

Ver no arquivo da dissertação.

Comentário Geral: Como a dissertação é apresentada na forma de artigo, ou seja, de forma sucinta, seria necessário haver uma introdução fornecendo mais informações sobre o sistema biológico (comportamento da espécie) e sobre a natureza e modo de análise do marcador utilizado. O ideal é haver uma introdução para a dissertação, que complementa a introdução do artigo, fornecendo mais informações que certamente foram levantadas durante o trabalho de mestrado.

Avaliador: Helder Lima de Queiroz



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: **Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)**

Aluno: **Julia Tovar Verba**

Orientador: **Jansen Zuanon**

Co-orientador:

Avaliador: Helder Lima de Queiroz

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	()	(X)	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(X)	()	()
Metodologia	()	(X)	()	()
Resultados	()	()	(X)	()
Discussão e conclusões	()	()	(X)	()
Formatação e estilo texto	()	(X)	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

- (X) **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)
- () **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)
- () **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)
- () **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

_____ Tefé (AM) _____, _____ 22/09/2012 _____,
 Local Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
 DCEC/CBio/INPA
 CP 478 69011-970 Manaus AM Brazil

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Graduate Program in Ecology



Use this space for comments:

A dissertação é de alto valor científico, com grande relevância e de grande atualidade. A espécie estudada é forte candidata a manejo para fins alimentares e ornamentais, e o conhecimento detalhado da biologia e comportamento reprodutivos é fundamental para subsidiar tal manejo. A hipótese é muito pertinente, e inserida nas investigações mais modernas acerca da ecologia comportamental da reprodução de peixes.

O desenho amostral foi suficiente para responder as perguntas levantadas, e os resultados corroboram a maioria das conclusões apresentadas.

O texto necessita apenas de alguns pequenos ajustes. A aplicação de conceitos ou termos específicos devem ser cuidadosamente revistos, especialmente os de "extra-pair reproduction" e de "sneaking", visando uma aplicação dos termos, e suas versões portuguesas, de forma mais adequada. A maior parte das alternativas possíveis para explicar os resultados obtidos são muito pertinentes, mas devem ser encarados mais como possibilidades do que como de probabilidades. Além do mais, a possibilidade de subamostragem (ou no momento da coleta em campo ou no momento da seleção dos membros de cada prole para serem analisados) é real, e pode ter influenciado de maneira determinante os resultados obtidos.

A possibilidade de cuidado cooperativo na espécie deve ser mais claramente separada da evidência inequívoca de múltipla paternidade de proles. São fenômenos distintos, ainda que um pode implicar no outro.

A principal dificuldade do texto é a inclusão (na Introdução, na Metodologia, nos Resultados e na Discussão) do conceito do "choqueiro", que não é uma ideia ainda consolidada na literatura. Os pescadores tradicionais indicam que estas agregações existem, e dados coletados (mas não publicados) sugerem que estas agregações possuem algum tipo de significado reprodutivo (pois possuem uma diferença significativa nas razões sexuais, e na frequência de machos reprodutivos e guardadores). Entretanto, estas dados nunca foram publicados, não há um reconhecimento dos pares para este fenômeno (ainda que todos nós acreditemos que este fenômeno seja verdadeiro). A inclusão deste conceito no texto reduz a sua possibilidade de publicação, porque abre a possibilidade de questionamento por parte dos revisores. A retirada deste conceito do texto não compromete em nada as investigações realizadas e os resultados obtidos. Sugiro retirar, ou deixar apenas algumas especulações para a Discussão.

Considero o estudo altamente publicável, feitas as devidas alterações. A relevância do tema, e o ineditismo do objeto do estudo abrem a possibilidade de publicar o texto em revistas internacionais mais bem "qualisadas", de maior fator de impacto, o que é altamente recomendável.

Meu parecer é pela aprovação da dissertação, apenas com pequenas alterações e ajustes. Com congratulações à autora e aos seus orientadores.

Envio, juntamente a este formulário, uma versão da dissertação com comentários meus, sob a forma de notas de revisão, em cor diferente.

Avaliador: William Ernest Magnusson



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de dissertação de mestrado

Título: Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)

Aluno: **Julia Tovar Verba**

Orientador: **Jansen Zuanon**

Co-orientador: Izeni Farias

Avaliador: William Ernest Magnusson

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(x)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(x)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	(x)	()	()	()
Metodologia	(x)	()	()	()
Resultados	(x)	()	()	()
Discussão e conclusões	()	(x)	()	()
Formatação e estilo texto	()	()	(x)	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	()	(x)	()

PARECER FINAL

- Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)
- Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)
- Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)
- Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Manaus

15 Nov 2012

Local

Data


Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
 DCEC/CBio/INPA
 CP 478 69011-970 Manaus AM Brazil

Ata banca avaliadora da defesa oral



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA.

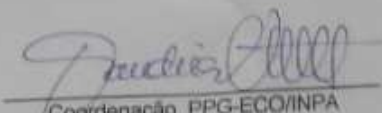
Aos 30 dias do mês de novembro do ano de 2012, às 14:30 horas, na sala de aula do Programa de Pós Graduação em Ciências de Florestas Tropicais-INPA, reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: o(a) Prof(a). Dr(a). **Jorge Ivan Rebelo Porto**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, o(a) Prof(a). Dr(a). **Pedro Ivo Simões**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, e o(a) Prof(a). Dr(a). **Sidinéia Aparecida Amadio**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, tendo como suplentes o(a) Prof(a). Dr(a). **Tomas Hrbek**, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM e o(a) Prof(a). Dr(a). **Daniele Aparecida Matoso**, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, sob a presidência do(a) primeiro(a), a fim de proceder a arguição pública do trabalho de **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de JÚLIA TOVAR VERBA**, intitulado "Ocorrência de paternidade múltipla em ninhadas de aruanã branco *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 (Osteoglossiformes: Osteoglossidae)", orientado pelo(a) Prof(a). Dr(a). **Jansen Alfredo Sampaio Zuanon**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

Após a exposição, o(a) discente foi arguido(a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

APROVADO(A) REPROVADO(A)
 POR UNANIMIDADE POR MAIORIA

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof(a).Dr(a). Jorge Ivan Rebelo Porto _____
 Prof(a).Dr(a). Pedro Ivo Simões _____
 Prof(a).Dr(a). Sidinéia Aparecida Amadio _____


 Coordenação PPG-ECO/INPA