



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

YANNE ALVES MENDES

**ECOLOGIA REPRODUTIVA DE DOIS CICLÍDEOS AMAZÔNICOS EM
PERÍODOS PRÉ E PÓS BARRAMENTO**



Belém

2020

YANNE ALVES MENDES

**ECOLOGIA REPRODUTIVA DE DOIS CICLÍDEOS AMAZÔNICOS EM PERÍODOS
PRÉ E PÓS BARRAMENTO**



Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ecologia da Universidade Federal do Pará como
requisito parcial para obtenção do título de Doutor
em Ecologia.

Área de concentração: Ecologia.

Linha de Pesquisa: Ecologia de Organismos e
Populações.

**Orientadora: Maria Auxiliadora Pantoja
Ferreira**

Belém

2020

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

M538e Mendes, Yanne Alves.
ECOLOGIA REPRODUTIVA DE DOIS CICLÍDEOS
AMAZÔNICOS EM PERÍODOS PRÉ E PÓS BARRAMENTO /
Yanne Alves Mendes, Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira . — 2020.
55 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia,
Belém, 2020.

1. biologia reprodutiva, . 2. peixes,. 3. gametogênese, . 4.
Geophagus, . 5. barragem. I. Título.

CDD 574.522209811

YANNE ALVES MENDES

**ECOLOGIA REPRODUTIVA DE DOIS CICLÍDEOS AMAZÔNICOS EM PERÍODOS
PRÉ E PÓS BARRAMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal do Pará
como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ecologia pela Comissão Julgadora
composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA:

Prof^a Dr^a Maria Auxiliadora Pantoja Ferreira (Presidente)

Universidade Federal do Pará

C.V: <http://lattes.cnpq.br/1832728101486131>

Prof^o. Dr^o. Thiago Bernardi Vieira (Membro Interno)

Universidade Federal do Pará, campus Altamira

C.V: <http://lattes.cnpq.br/5106382132269394>

Prof. Dr^a. Simone do Socorro Damasceno Santos (Membro Externo)

Universidade Federal do Pará

CV: <http://lattes.cnpq.br/4573238690293498>

Prof. Dr. Bruno da Silveira Prudente (Membro externo)

Universidade Federal Rural da Amazônia

CV: <http://lattes.cnpq.br/0790796091423878>

Prof^a. Dr^a. Rossineide Martins da Rocha (Membro Externo)

Universidade Federal do Pará

C.V: <http://lattes.cnpq.br/4371300451793081>

Prof^o. Dr^o. Tiago Magalhães da Silva Freitas (Membro Suplente)

Universidade Federal do Pará, campus Marajó-Breves

C.V: <http://lattes.cnpq.br/5148299236654901>

Dedico minha tese à Deus, primeiramente, e à minha mãe, Dona Joana. Sem Eles eu não teria conseguido. Minha eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu preciso agradecer à Deus por se fazer presente. Obrigada Meu Deus, pois sem a Tua ajuda eu não teria conseguido perseverar e mesmo nos momentos mais difíceis Tu me mostraste o caminho e fortaleceste minha fé.

Agradeço à Universidade Federal do Pará (UFPA) e PPGECO pelo suporte durante meu trabalho.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa.

Gostaria de agradecer a Prof^ª Dr^ª Rossineide Rocha por todo apoio físico, aprendizado, pela confiança e amizade desprendidas ao longo dos anos no laboratório. Muito Obrigada, Professora a Sra é muito especial!

Ceguei ao Laboratório de Histologia meados de 2010 e ali fui recebida pela Professora M^a Auxiliadora P. Ferreira que me orientou desde o PIBIC até agora meu Doutorado. Cresci, amadureci e aprendi muito, mas muito sob a atenção da minha orientadora, uma segunda mãe, uma amiga. Professora muito obrigada por exatamente tudo! Muito obrigada por me permitir crescer ali e por dedicar tempo e carinho durante esse aprendizado.

Eu jamais poderei esquecer dos meus 'best', meus amigos da vida. Renata, Juliana e Ivana, eu sou muito feliz e agradecida por ter vocês como amigas, confidentes, pessoas maravilhosas em minha vida! Nossa amizade e parceria transcende horizontes. Amo vocês! Nando, Breninho, Molica muito obrigada por tudo! Gicelle e Liziane, amigas, muito obrigada por todo carinho, parceria e aprendizado.

Agradeço ao Grupo de pesquisa em histologia de organismos aquáticos (GPHEA) por toda ajuda, carinho, risadas, comemorações. Lia, nossa eterna técnica. Yuri, Pibic master. Ingrid, Andrews, João, Felipe, Alex e Najla, muito obrigada pela amizade e parceria. Ivan e Leila, muito obrigada pela imensa ajuda e suporte físico durante as coletas de campo, amigos sem a ajuda de vocês eu não teria conseguido, muito obrigada!

Gostaria de agradecer a todos da equipe do Projeto de Monitoramento da Ictiofauna do rio Xingu 2012-2013 e 2018-2019.

Agradeço também imensamente ao Professor Luciano Montag que sempre contribuiu com meu trabalho e confiou no meu potencial. Muito obrigada, prof^o!

Agradeço aos professores Tommaso Giarrizzo e Marcelo Andrade apoio logístico e pela ajuda durante a escrita do primeiro artigo.

Toda família é igual, mas a minha é diferente e eu posso provar! Muito obrigada a todos os meus familiares que rezaram por mim e comigo, que me motivaram e se alegraram com minhas conquistas. Sou grata por tudo. Viva o grupo de orações 'Semeadores'.

Agradeço aos meus avós, Sr. Rainério e Dona Neuza, que mesmo não entendendo muito o que estudo, sempre me ligavam cheios de orgulho, saudosos, e oravam durante a ligação desejando sempre o melhor em minha vida.

Agradeço ao meu Pai, Sr. Edilberto, pelo apoio e mesmo mais distante agora, ainda torce por mim e pelo meu crescimento. Obrigada, Pai!

Agradeço ao meu irmão, Yuri por todo apoio, e por todas as vezes que assistiu minhas apresentações mesmo não entendendo nada sobre o assunto (rsrsrsrs).

Serei eternamente grata à minha mãe, Dona Joana, por ser minha melhor amiga, por sempre fazer questão de acompanhar cada passo em minha vida, por chorar comigo, mas também sorrir, e como sorrimos. Mãe, eu não tenho palavras que resumam toda gratidão, amor e respeito que tenho pela Senhora. Saiba que todas as minhas conquistas são suas, pois sempre foste meu pilar. És a pessoa pela qual eu luto e sinto muito orgulho. Muito obrigada, Mãe!

Agradeço ao meu noivo, Luan Gonçalves, que se fez presente mesmo estando longe. Obrigada, amor por todo apoio. Te amo!

Agradeço imensamente a todos e todas que me ajudaram e torceram por mim. Deus abençoe cada um de vocês. Muito obrigada!

“Todo cientista é um ser ingênuo, pois se preocupa obsessivamente com a busca pela verdade e não percebe quão poucas pessoas se importam com ela. Mas a verdade existe. Ela está lá! A verdade não se importa com o que queremos. Não se importa com nossos governos, ideologias, religiões. Ela ficará lá, à espera para sempre”

Valery Legasov

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
ORGANIZAÇÃO DA TESE.....	12
Objetivos da Tese.....	12
1 - INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO 1 – Sedentary fish as indicators of changes in the river flow rate after impoundment	17
CAPÍTULO 2 – Oogênese e expressão de PCNA e Vitelogenina em <i>Geophagus</i> nativos da bacia Amazônica em períodos pré- e pós-barramento de Hidrelétrica.....	30
4 – CONCLUSÃO GERAL.....	50
5 – PUBLICAÇÕES DURANTE O DOUTORADO.....	51
6 – REFERÊNCIAS.....	52

RESUMO

A instalação de barragens hidrelétricas provoca alterações físicas nos rios, criando ambientes a montante e jusante, e gera consequências na história de vida das espécies, em especial na reprodução de peixes. Nesse contexto, o objetivo desta tese foi analisar a biologia reprodutiva de espécies sedentárias *Geophagus argyrostictus*, endêmica e *Geophagus altifrons*, maior abrangência, no trecho médio do rio Xingu, em períodos pré (2012-2013) e pós barramento (2018-2019) de acordo com a vazão do rio nas estações de seca e cheia. Assim, esta tese foi organizada em dois capítulos. O primeiro objetivou investigar o efeito da vazão do rio, em períodos pré e pós barramento, sobre a biologia reprodutiva de populações de *G. argyrostictus* e *G. altifrons* através dos traços da história de vida das espécies. Os dados revelaram a oscilação da vazão do rio entre os períodos e trechos de estudo, menor em ambos os trechos pós barramento, principalmente à jusante. Em consequência, houve interferência negativa nos diferentes traços de história e vida das espécies, como: massa e comprimento das espécies, fator de condição, índice gonadossomático, frequência de indivíduos imaturos e comprimento da primeira maturidade sexual das espécies, principalmente em *G. argyrostictus* no período pós barramento. O segundo capítulo objetivou descrever a oogênese de *G. argyrostictus* e *G. altifrons* em períodos pré e pós barramento através da microscopia de luz, eletrônica de varredura e imunoperoxidase para PCNA e vitelogenina. Foi observado que *G. argyrostictus* apresentou oócitos com maiores diâmetros e complexo envoltório folicular mais espessa quando comparado ao *G. altifrons*. Porém, os oócitos de ambas as espécies foram menores no período pós-barramento. Mediante aos resultados observados, os nossos estudos indicam que há um intenso e negativo efeito sobre a reprodução das espécies desde o nível populacional até celular, podendo resultar em processos de extirpação. Assim, ressaltamos fortemente a importância de entender os riscos e desenvolver estratégias para o monitoramento contínuo, sobretudo de espécies endêmicas, e desenvolver estratégias para manejo dos peixes em rios com barragem.

Palavras-chave: biologia reprodutiva, gametogênese, *Geophagus*, peixes, barragem.

ABSTRACT

The placement of hydroelectric dams provokes physical alterations on rivers, creating environments upstream and downstream, and can have consequences on life history of species, especially on fish reproduction. In this context, the objective of this thesis was to analyze the reproductive biology of the sedentary species *Geophagus argyrostictus*, endemic, and *Geophagus altifrons*, with wider distribution, on the middle stretch of the Xingu river, in the pre (2012-2013) and post (2018-2019) impoundment periods according to flow rate on the dry and flood stations. Thus, this thesis was organized in two chapters. The first aimed to investigate the effect of river flow rate on the reproductive biology of *G. argyrostictus* and *G. altifrons* populations through the species life history traits, in pre- and post-impoundment periods. The data revealed the oscillation of the river flow rate between the periods and sectors of the study, which was smaller in both stretches after the dam, mainly downstream. Consequently, there was negative interference in the different life history traits, such as: length and mass of species, condition factor, gonadosomatic index, frequency of immature individuals, and length at first sexual maturity of both species, especially in *G. argyrostictus* on the post impoundment period. The second chapter sought to describe the oogenesis of *G. argyrostictus* and *G. altifrons* in pre- and post-impoundment periods through light microscopy, scanning electron microscopy and immunoperoxidase for PCNA and vitellogenin. It was observed that *G. argyrostictus* had oocytes with larger diameter and thicker radiate zone when compared to *G. altifrons*. However, the oocytes of both species were smaller in the post damming period. Through the observed results, our studies indicate that there is an intense and negative effect on the reproduction of species from the populational to the cellular level, that may result on extirpation processes. Therefore, we strongly highlight the importance of understanding the risks and developing strategies for the continuous monitoring and management of fish in dammed rivers, specially of endemic species.

Keywords: reproductive biology, gametogenesis, *Geophagus*, fish, dam.

ORGANIZAÇÃO DA TESE

Objetivos da Tese

Com a presente tese, tenho por objetivo analisar e comparar a ecologia reprodutiva de duas populações de *Geophagus* do rio médio rio Xingu, nos períodos pré e pós-barramento da Usina Hidrelétrica Belo Monte. Assim, a tese foi organizada em dois capítulos:

2.1 – Capítulo 1: Sedentary fish as indicators of changes in the river flow rate after impoundment

Neste primeiro capítulo apresentamos dados sobre a ecologia reprodutiva de dois *Geophagus* sedentários em períodos pré e pós-barramento do rio Xingu. Para tal, foram avaliados traços da história, tais como: proporção sexual, relação massa-comprimento, fator de condição alométrico (K), índice gonadossomático (IGS), frequência dos estádios e tipo de desova, comprimento onde 50% dos indivíduos são reprodutivos (L_{50}).

O manuscrito foi aceito na Revista Ecological Indicators – 06/2021, Qualis A1 - CAPES.

2.2 - Capítulo 2: Análise comparada e temporal da estrutura ovariana, oogênese e expressão para PCNA e vitelogenina em *Geophagus* nativos da bacia Amazônica

Este capítulo teve por objetivo descrever a estrutura ovariana e a oogênese em duas espécies de ciclídeos associando a dois distintos períodos, pré- e pós-barramento.

O manuscrito será submetido à Animal Reproduction Science – 01/2021, Qualis A2 - CAPES.

1 – INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento populacional e econômico da população mundial tem implicado em uma maior demanda por energia. Neste sentido houve uma intensidade na busca por diferentes fontes como, energia solar, eólica, biomassa, gás, carvão natural, nuclear, fósseis e hidrelétricas (Zarfl et al. 2015). Em se tratando de Usinas hidrelétricas (UHs), alguns países ainda fazem uso deste tipo de alternativa para obtenção de energia (Lees et al. 2016; Prado et al. 2016).

Por um lado, as construções de UHs atuam como fonte de energia renovável, geração de novos empregos e um custo operacional menor (Kareiva, 2012). No entanto é sabido que as usinas hidrelétricas têm um alto potencial de intervir na natureza, pois promovem severos impactos sobre os rios e seus componentes e por isso vêm sendo amplamente estudados (Adams et al. 1985; Yang et al. 2008; Zarfl et al. 2015; Lima et al. 2017; Wu et al. 2019; Schmidt et al. 2020; Wang et al. 2020). No Brasil estima-se que cerca de 60% da energia é oriunda de UHs e pelo menos 416 barragens estão em planejamento ou em operação na bacia Amazônica (Cummings et al. 1995; Finer & Jenkins, 2012; Ansar et al. 2014; Zarfl et al. 2015; Winemiller et al. 2016).

Dentre os impactos que as UHs podem promover no ambiente, destaca-se os efeitos negativos ao ambiente, como fragmentação do rio criando um “novo” ambiente acima, à montante, e abaixo do reservatório, à jusante. Ainda são observadas alterações hidrológicas em nível de água, vazão dos rios, promovem a entrada de espécies exóticas que podem competir com as espécies nativas, criação de barreiras físicas visíveis e invisíveis, bloqueio de rotas de migração, modificações nos processos biogeoquímicos. Uma outra condição é a perda de biodiversidade, perda de serviços ecossistêmicos, interferência sobre as atividades de pesca e sobre as populações humanas locais (Nilsson et al. 2005; Poirier, 2012; Gao et al. 2013; Zhang et al. 2015; Fitzgerald et al. 2018).

Um dos maiores problemas ambientais que estes empreendimentos podem causar é o bloqueio de rotas migração reprodutiva através da barreira física instalada que afeta diretamente muitas espécies migradoras conforme ressaltado por muitos pesquisadores (Barthem et al. 1991; Agostinho et al. 2007; Antonio et al. 2007; Godinho et al. 2008; Cella-Ribeiro et al. 2015). Todavia, pouco se investiga dos efeitos sobre espécies sedentárias que acabam sendo subestimados. Nesse contexto, são limitadas as informações sobre a resposta das populações de peixes sedentários a esse novo cenário, sobretudo em rios recentemente barrados (Carvajal-Quintero et al. 2017).

Dentre as maiores UHs do Brasil, destaca-se atualmente a de Belo Monte situada na Volta grande do médio rio Xingu, município de Altamira (Camargo et al. 2015) (Figura 1). O rio Xingu apresenta sazonalidade marcada com períodos acentuados de cheia e seca. Este rio apresenta geomorfologia complexa que resulta em uma heterogeneidade ambiental (Figura 2), caracterizado

por pequenos canais entrelaçados, rochas, cachoeiras e corredeiras que formam microhabitats únicos que contribuem para ocorrência de espécies endêmicas. Estima-se que pelo menos 63 espécies só ocorrem no rio, sendo 26 destas espécies endêmicas da região da Volta Grande, a qual é considerada única do ponto de vista ecológico em virtude de agregar importante biodiversidade (Sabaj-Pérez, 2015; Fitzgerald et al. 2018).



Figura 1: Vista Frontal da Usina Hidrelétrica Belo Monte, Sítio Pimental, Rio Xingu, Altamira, Pará.



Figura 2: Rio Xingu, Altamira, Pará. **A** – Trecho médio do rio Xingu. **B** – Pedrais. **C** – Correderias e Cachoeiras.

Há relatos que a UH Belo Monte seja considerada uma opção mais sustentável, pois possui a característica de ser do tipo fio d'água, onde a área alagada abrange cerca de 478km², considerada menor quando comparada com outras usinas da região Amazônia, reduzindo as estruturas das barragens e a dimensão dos alagamentos. No entanto os impactos sobre o ambiente podem estar sendo subestimados, como exemplo a perda de vazão do rio, perda de inúmeros habitats essenciais para alimentação e reprodução das espécies e conseqüentemente perda considerável da biodiversidade de espécies endêmicas presentes no local (Pelicice et al. 2017; Perônico et al. 2019).

Entre os representantes da ictiofauna do rio Xingu, encontra-se a família Cichlidae, pertencente à ordem dos Cichliformes (Nelson et al. 2016), considerada uma das mais diversas e importantes

economicamente na Amazônia com cerca de 27 espécies comercializadas para finalidade ornamental e alimentar (Pereira, 2010). As espécies são onívoras e ocupam ambientes lênticos dos rios, mas também têm indivíduos reofílicos bem adaptados. Nesta família, encontra-se o gênero *Geophagus* Heckel, 1840, conhecidos como “carás” ou “acarás”, onde duas espécies de hábito sedentário compõem a ictiofauna do rio Xingu. A espécie, *Geophagus argyrostictus* Kullander, 1991 (Figura 3A) considerada endêmica ao Xingu, sem estudos morfológicos, comportamentais e reprodutivos; e a espécie *Geophagus altifrons* Heckel, 1840 (Figura 3B) cuja distribuição ocorre na América do Sul, sobretudo em rios da Bacia Amazônia. Pouco se sabe sobre o gênero, os conhecimentos são restritos ao modo reprodutivo distinto e variado com forte territorialismo e cuidado parental (Chellappa, 2000).

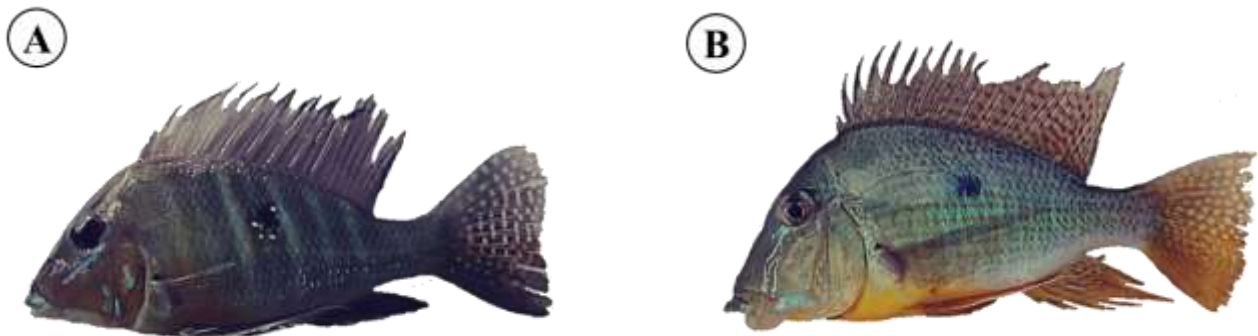


Figura 3: Exemplos de *Geophagus* amostrados no médio rio Xingu, Altamira, Pará. **A** – *Geophagus argyrostictus*. **B** – *Geophagus altifrons*.

Há várias ferramentas de amplo uso nas pesquisas que podem proporcionar o conhecimento e avaliação do modo de vida das espécies para conservação e manejo. Por exemplo, os estudos sobre o padrão de crescimento da população através de uma relação massa-comprimento, que é amplamente utilizada na biologia pesqueira (Froese, 2006); estudos sobre medidas indiretas para saber as reservas energéticas estimada através do fator de condição alométrico (Chellappa et al. 1995); estudos em reprodução através do tipo de desova, índice gonadossomático e proporção sexual (Rossoni et al. 2010); e estudos com comprimento de primeira maturidade sexual (L_{50}). Todos esses dados subsidiam informações únicas e importantes sobre como as populações naturais ocorrem em termos de distribuição e como utilizam o habitat para crescimento e reprodução, essenciais no ciclo de vida de um animal.

Uma outra abordagem que pode ser realizada é a avaliação da morfologia gonadal nas espécies, com ênfase na oogênese por ser um processo complexo e sensível às flutuações do ambiente. A produção de oócitos exige um grande investimento somático e energético que está intimamente associado com o meio ambiente onde elas habitam, por exemplo as espécies sedentárias apresentam oócitos maiores cujas camadas envoltórias são mais complexas e lhes conferem adesividade, enquanto as migradoras têm oócitos menores com camadas menos complexas e sem adesividade

(Melo et al., 2011; Arantes et al., 2017). Tais especializações dos oócitos são determinantes para garantir o sucesso reprodutivo das espécies e seus diferentes ambientes.

Ambas as ferramentas de estudo aqui apontadas são imprescindíveis para o ciclo de vida das espécies e nos permitem conhecer para então avaliar, uma vez que são sensíveis podendo, portanto, refletir como as espécies respondiam às oscilações ambientais do rio antes e após da instalação da barragem. Desta forma acreditamos que através de uma avaliação temporal (pré- e pós-barramento) podemos de fato entender como o empreendimento está afetando as espécies de peixes.

Baseado nas informações o presente estudo teve a finalidade de investigar os aspectos da ecologia reprodutiva de *G. argyrostictus* e *G. altifrons* pré- e pós-barramento da UHE Belo Monte. Sabendo que as espécies de peixes têm seu ciclo de vida dependente da variação dos níveis de água e em se tratando da bacia Amazônica, os pulsos de inundação das planícies atuam como importante gatilho, especialmente para reprodução que é restrita a períodos específicos no ciclo hidrológico conforme observado em alguns estudos (Freitas et al. 2015; Mendes et al. 2017), sugerimos que as alterações nos parâmetros hidrológicos do rio após a instalação de barragem hidrelétrica pode causar déficits sobre os traços reprodutivos dos *Geophagus* em estudo.

CAPÍTULO 1

Sedentary fish as indicators of changes in the river flow rate after impoundment

Yanne A. Mendes, Renata S. Oliveira, Luciano F.A. Montag, Marcelo C. Andrade, Tommaso Giarrizzo, Rossineide M. Rocha, Maria Auxiliadora P. Ferreira

Este capítulo foi escrito seguindo as instruções do periódico “Ecological Indicators”, Qualis A1 – CAPES 2020, Fator de Impacto 4.229, Cite Score 7.6.

Situação atual: aceito.

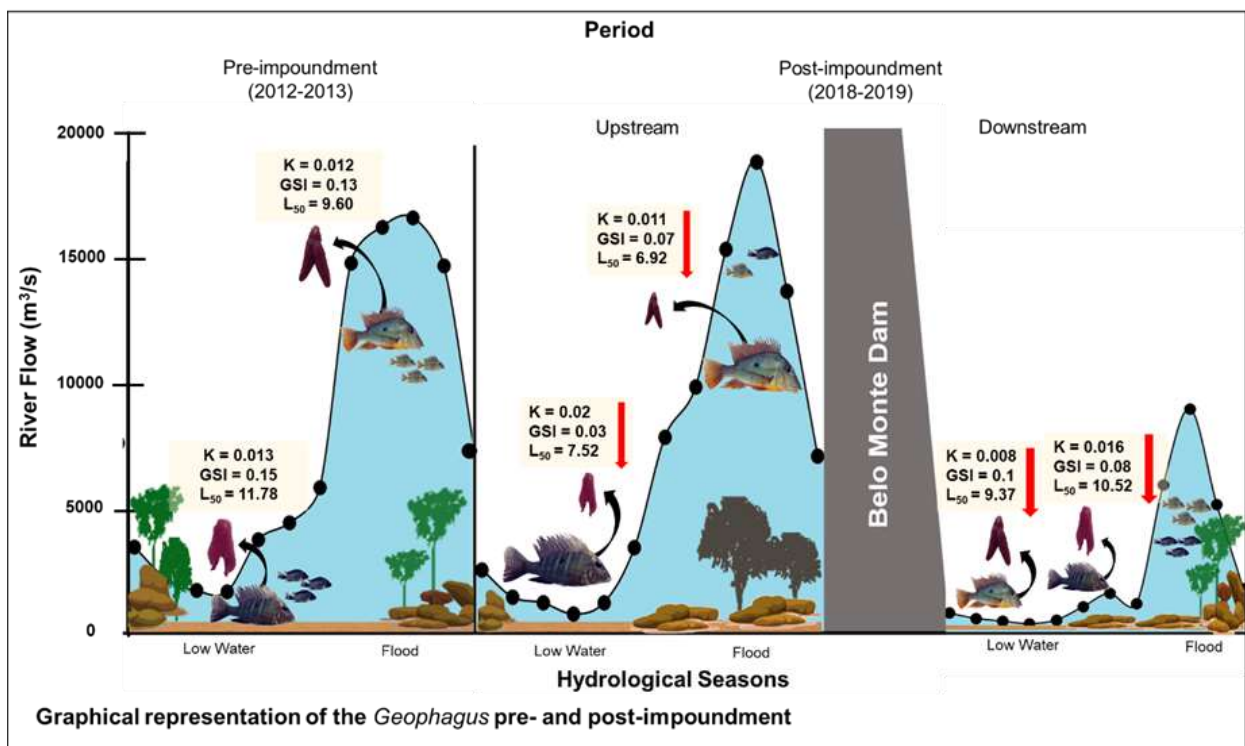
Link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470160X2100131X>

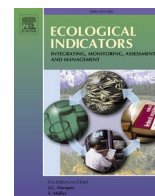
ECOLOGICAL INDICATORS							
Editorial Manager							
HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW							
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS • PRIVACY							
Role: Author Username: y.a.mendes@hotmail.com							
Submissions with an Editorial Office Decision for Author Yanne Alves Mendes							
Page: 1 of 1 (1 total completed submissions)				Display 10 results per page.			
Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status	Date Final Disposition Set	Final Disposition
Action Links	ECOLIND-17509	Sedentary fish as indicators of changes in the river flow rate after impoundment.	Jun 22, 2020	Jan 27, 2021	Completed - Accept	Jan 27, 2021	Accept
Page: 1 of 1 (1 total completed submissions)				Display 10 results per page.			

HIGHLIGHTS

- In recent decades, the natural flow of the Amazon basin has been altered by dams
- The fish responses are a good indicator of the current conditions of the river is
- Life history traits of sedentary *Geophagus* pre- and post-impoundment were studied
- The K, GSI, L_{50} and immature individuals were affected
- Sedentary fish were strongly affected by the impoundment, mainly endemic species

GRAPHICAL ABSTRACT





Sedentary fish as indicators of changes in the river flow rate after impoundment

Yanne A. Mendes^{a,*}, Renata S. Oliveira^b, Luciano F.A. Montag^c, Marcelo C. Andrade^d, Tommaso Giarrizzo^d, Rossineide M. Rocha^{b,d}, Maria Auxiliadora P. Ferreira^a

^a Laboratory of Immunohistochemistry and Developmental Biology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

^b Laboratory of Cellular Ultrastructure, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

^c Laboratory of Ecology and Conservation, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

^d Amazon Aquatic Ecology and Fisheries Center, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Amazon
Dam
Fish
Geophagus
Gonadal development
Reproduction
River flow rate

ABSTRACT

The natural flood pulse of the Amazon basin has been altered progressively by the installation of hydroelectric dams, which have had a potentially adverse impact on the local fauna. Fish are sensitive to environmental changes, and one the way to assess how they respond is through the analysis of life history traits, such as growth patterns and reproduction. Here, we evaluated the life history traits of two sedentary cichlids, *Geophagus argyrostictus* and *Geophagus altifrons*, in the middle Xingu River (upstream and downstream sectors) pre- and post-impoundment including the flood and low water hydrological seasons. The mass-length relationship, condition factor (K), gonadosomatic index (GSI), breeding season, gonadal stages, and the length at 50% sexual maturity (L_{50}) were analyzed. Data on river flow rates and the characteristics of the fish were collected during the pre- and post-impoundment periods. Post-impoundment, the discharge of the Xingu decreased in downstream sector. During the pre-impoundment period, the K of *G. argyrostictus* and female *G. altifrons* was lower in the upstream sector in both seasons, but higher in the downstream sector to *G. argyrostictus*. The GSI was lower in the post-impoundment period in both sectors and seasons in *G. argyrostictus*, whereas in the *G. altifrons* females, it was higher in the downstream sector in the low water season, but lower in the upstream sector in both seasons. In *G. argyrostictus*, spawning occurred in a single phase and was restricted to the low water season in both periods, whereas in *G. altifrons*, spawning was multiple. There was a reduction in the frequency of immature individuals in the upstream sector post-impoundment. The L_{50} was lower, principally in the upstream sector, in both species. Our results indicate that the growth patterns and reproduction of the two populations has been impacted, especially in the endemic *G. argyrostictus*. The construction of dams thus appears to place endemic species under a greatest risk of extirpation. These results provide important insights for the improvement of fish resource monitoring and the development of adequate management techniques.

1. Introduction

The natural flood pulse of the rivers of the Amazon basin results in well-defined flood and low water seasons. During the flood season, there is an increase in the input of sediments and nutrients, the depth of the river, and the connectivity of aquatic environments (Santos et al., 2010), fish recruitment, growth, feeding, and reproduction (Azevedo et al., 2010), in particular in the migratory species (Agostinho et al., 2008). During the low water season, river flow rates decrease, and this period is more important for the region's sedentary fish species, which do not

depend directly on the flood pulse or the connectivity of the environments (Scarabotti et al., 2011).

In the past few decades, the natural flood pulse of the Amazon basin has been impacted profoundly by the installation of hydroelectric dams (Stevaux et al., 2009; Oliveira et al., 2018). A large number of dams are operational, under construction or still at the planning stage, due to the enormous diversity and hydrological capacity of the rivers of the Amazon basin (Ansar et al., 2014; Winemiller et al., 2016). In addition to modifying the flood pulse, the dams fragment the rivers, which has a series of impacts, including the suppression of environmental triggers

* Corresponding author.

E-mail address: auxi@ufpa.br (Y.A. Mendes).

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107466>

Received 22 June 2020; Received in revised form 25 January 2021; Accepted 26 January 2021

Available online 17 February 2021

1470-160X/© 2021 The Authors.

Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

(Goulding, 1980), the loss of connectivity, alterations in biogeochemical processes (Maavara et al., 2020), the interruption of reproductive migration routes (Antonio et al., 2007), and the loss of fish diversity, in particular endemic species (Barbosa et al., 2015), with knock-on effects for the local human populations (Cheng et al., 2015; Winemiller et al., 2016).

This scenario arises due to the formation of distinct upstream (reservoir) and downstream sectors. In the upstream sector, the increase in the depth of the river leads to a process of thermal stratification, with a reduction in the concentration of dissolved oxygen and the dispersal of species (Agostinho et al., 2008; Arantes et al., 2010; Wang et al., 2013), in addition to alterations of the flood pulse, river flow rate and low water period, and, in particular, the quality of the water (Manyari and de Carvalho, 2007; Souza-Cruz-Buenaga et al., 2019). In the downstream sector, the river flow rate is reduced, causing more severe and definitive impacts due to the river discharge being controlled on a daily basis, rather than a seasonal cycle. This results in a longitudinal discontinuity in the river (Thomaz et al., 2007), a reduction in feeding grounds (Dewson et al., 2007), and daily and spatial variation in the quality of the water (Mackie et al., 1983; Cortes et al., 2002; Souza-Cruz-Buenaga et al., 2019).

The Xingu is one of the largest tributaries of the Amazon River that has already been impounded. This river has a unique set of geomorphological and seasonal characteristics that have created an immense network of channels, which supports a fish fauna of approximately 450 species (Camargo et al., 2004; Fitzgerald et al., 2018). The Belo Monte dam was constructed in the region known as the Volta Grande. Approximately 10% of the fish species of the Xingu are considered to be endemic, and the Volta Grande region is considered to be an ecologically unique and important area of biodiversity (Sabaj-Perez, 2015; Fitzgerald et al., 2018).

In this scenario, studies that use fish as ecological indicators are a

priority, given that these organisms are ectothermic and are sensitive to changes in the configuration of the river, tending to respond in different ways to environmental disturbance, through changes in their metabolism, growth patterns, condition, recruitment, and reproduction (Li et al., 2013). One of the ways to understand how fish are adapting (or not) to these changes is through the analysis and monitoring of their reproductive biology, based on morphological (i.e., the mass-length relationship and condition factor) and gonadal characteristics (i.e., the gonadosomatic index, length at 50% sexual maturity, season breeding, and gonadal stages), especially in species that lack sexual dimorphism (Dalzochio and Gehlen, 2016). Histological analyses provide an important diagnostic tool here, which supports the ecological studies by describing accurately the gonadal characteristics of the fish, including of the tissue and cellular morphology, as well as sexual dimorphism, providing important insights into the degenerative processes occurring in disturbed environments (Braunbeck et al., 1998). The varying responses of the fish to environmental disturbance means that they can be used as indicators of impacts on the fluvial environment (Whitfield and Elliott, 2002; Dias et al., 2017).

Therefore, the present study focused on two common cichlids found in the Volta Grande – *Geophagus argyrostictus* Kullander, 1991, which is endemic to the Xingu, and *Geophagus altifrons* Heckel, 1840, which is more widespread in the Amazon basin (Kullander, 1998). These species are known as locally as “cará” or “acará”, and were chosen primarily because they are congeners, easily captured, and are abundant on the Xingu river year round. Both species are sedentary, omnivore, adapted to lentic habitats, and sexually monomorphic, with external fecundation, reproduction occurring typically during the low water period, and parental care (Winemiller, 1989; Agostinho et al., 2007a). *Geophagus* is also a prominent cichlid genus due to its commercial value as an ornamental fish (Ramos et al., 2015). While most of the previous studies of the impacts of hydroelectric dams have focused on migratory species

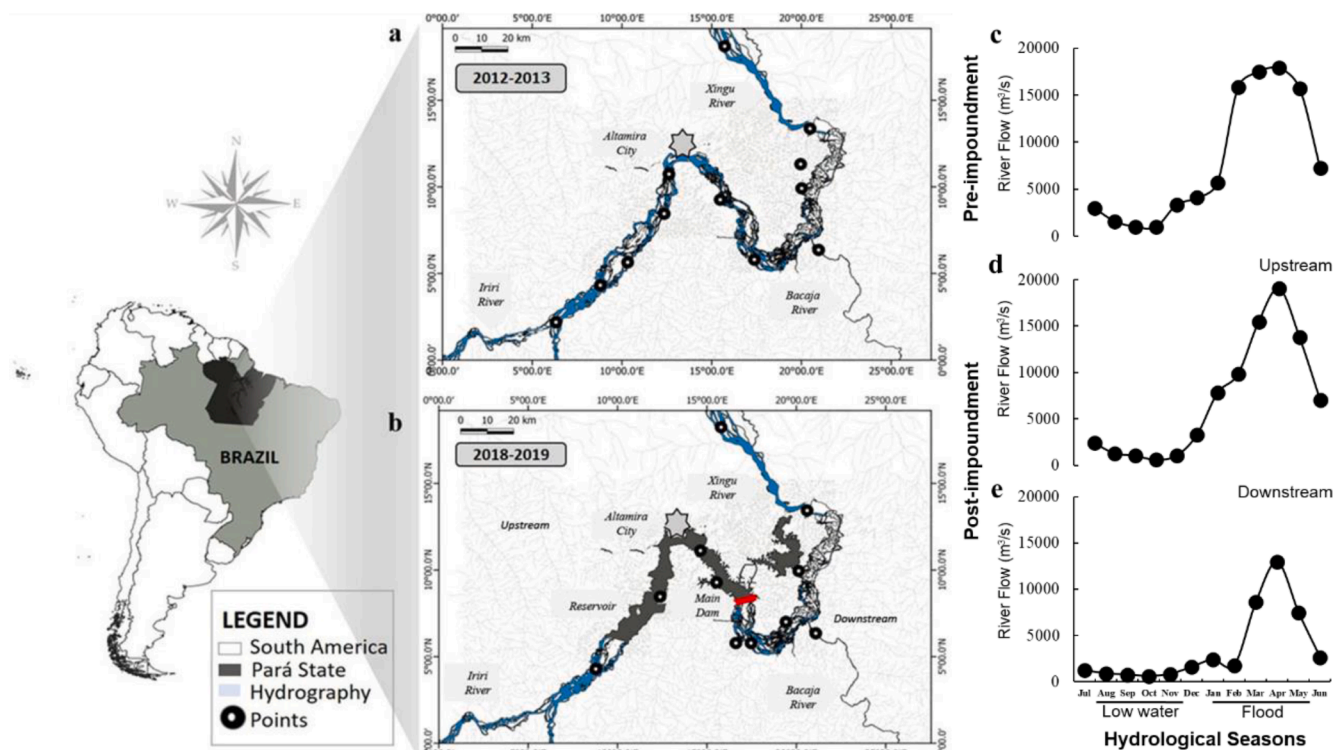


Fig. 1. Sampling points of the *Geophagus* species on the middle Xingu River in the (a) pre-impoundment (2012–2013) and (b) post-impoundment (2018–2019) periods. The Belo Monte dam is shown as a red line in (b). River Flow rate of the Xingu River in the (c) pre-impoundment, (d) post-impoundment (upstream sector), and (e) post-impoundment (downstream sector). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

(Nicola et al., 1996; Agostinho et al., 2007b; Ferguson et al., 2011), little is known of the effects of impoundment on sedentary species, despite the fact that these species are exposed continuously to impacts and may better represent the condition of the local environment.

Given the potential importance of these sedentary fish as ecological indicators, and the potential differences between endemic and non-endemic populations, the aim of present study was to analyze how the study species have responded to changes in the river flow rate patterns of the Xingu River, based on the hypothesis that the modifications in the hydrological cycle (flood and low water seasons) of the river provoked by the Belo Monte dam have had a negative impact on the life history traits of the species. In particular, the study focuses on the reproduction and growth patterns of the two sedentary congeners species, *G. argyrostictus*, which is endemic to the Xingu, *G. altifrons*, at both individual and population levels.

2. Material and methods

2.1. Study area

2.1.1. The Xingu river

The Xingu River is one of the principal clearwater tributaries of the Amazon River, and has a total extension of approximately 2045 km. The principal tributaries of the Xingu are the Iriri, Bacajá, and Bacajá rivers (Barbosa et al., 2015; Kalacska et al., 2020). The region of the Xingu has a hot and humid tropical climate, and the river is environmentally heterogeneous with numerous interconnected channels, waters with a pH varying between 6.2 and 7.0, high concentrations of dissolved oxygen, an annual temperature of between 25 °C and 27 °C (Peel et al., 2007).

In the pre-impoundment period, the Xingu river had high levels of continuity and connectivity, with the fish being distributed throughout the middle Xingu. But following the impoundment, the river has become fragmented through the creation of upstream and downstream sectors, on their side of the dam. The Belo Monte dam was constructed in the region known as Volta Grande, which extends along approximately 130 km (Fitzgerald et al., 2018). The local fish populations are now distributed between the two sectors. The upstream (reservoir) sector extends at least 85 km upriver from the dam and slows more slowly than the original river. The downstream sector, which extends 100 km downriver from the dam, and corresponds to the area of the Volta Grande, is regulated by the discharge from the dam, and its flow rate is considerably slower than that of the original river.

2.2. Abiotic data

2.2.1. River flow

River flow rate data for the Xingu River from the pre-impoundment period (July/2012–July/2013) were obtained from the Brazilian National Waters Agency (ANA), whereas the data for the post-impoundment period (July/2018–July/2019) were provided by the Norte Energia Consortium, the company responsible for the construction and operation of the Belo Monte dam. Based on these data, the study period was divided into two hydrological seasons: a flood season (January–June) and a low water season (July–December).

2.3. Fish sampling

Fish specimens were collected every two months on the middle Xingu River (3° 12' 52" S, 51° 11' 23" W) over one year in each study period, i.e., pre- and post-impoundment (Fig. 1). During the post-impoundment period, the specimens were collected separately in the upstream and downstream sectors (Fig. 1). During both periods, the specimens were collected using cast-nets (1.1 m in height with a 12 mm mesh) and gillnets of varying sizes, with meshes of between 3 cm and 12 cm, which were set in the water for 14 h, between 5p.m and 7 a.m, and checked

every 3 h to avoid losses. At least three gillnets were used at each sampling point and were separated by a distance of 5 km from each other. Adjacent sampling points approximately 40 km apart (Barbosa et al., 2015). All the *Geophagus* specimens collected during the study were deposited at the Altamira campus of the Federal University of Para. The collection of vertebrate specimens was authorized by SISBIO, process number 66012–2.

2.4. Biometry

The animals were anesthetized by immersion in an aqueous solution containing benzocaine hydrochloride (0.1 g.L⁻¹) for 10 min, then weighed, to provide the Body Mass (BM) in grams, and measured to determine the Total Length (TL) in centimeters, before being euthanized. The gonads were extracted through a longitudinal incision in the ventral region of the abdomen and weighed to determine the Gonad Mass (GM) in grams, and immediately fixed in Bouin's solution for 24 h. These procedures were previously approved by the UFPA Committee for the Ethical Use of Animals (CEUA process number 5605211118).

2.5. Microscopy

After fixation, the samples were dehydrated in an increasing series of ethanol (70% to 100%), clarified in xylol, and embedded in paraffin by standard histological techniques (Prophet et al., 1995). Sections of the gonads (5 µm) were extracted in a manual Leica RM2125 microtome and deparaffinized in xylol, hydrated in a decreasing series of ethanol (100% to 70%), washed in water and stained with Hematoxylin (basophilic properties) and Eosin (acidophilic properties). The samples were then analyzed and photographed under a Nikon Eclipse Ci-S H550S photomicroscope attached to a Nikon Digital Sight DS-U3 camera. The maturation stages of the gonads and germ cells were classified according to Mendes et al (2017). The spawning types were adapted from the Núñez and Duponchelle (2009).

2.6. Statistical analyses

The Bioestat 5.0 package (Ayres et al., 2007) and R version 4.0.1 (R Development Core Team, 2020) were used to evaluate the variation in the reproductive traits of *G. argyrostictus* and *G. altifrons* in the flood and low water seasons of the pre- and post-impoundment periods (including the upstream and downstream sectors in the latter period). The Shapiro-Wilk test was first applied to verify the normality of the data, and a 5% significance level was considered for all analyses.

2.6.1. River flow

The variation in the river flow rate of the Xingu River between periods and among seasons was analyzed using the one-way Analysis of Variance (ANOVA) with Tukey's *post hoc* test (Zar, 1999).

2.6.2. Sex ratio

The sex ratio was calculated for the periods and hydrological seasons based on the relative frequency of males and females in the samples. The significance of the deviations in the sex ratio were evaluated using Chi-square (χ^2), based on the null hypothesis that the sex ratio of the population does not differ significantly from 1:1, as proposed by Sokal and Rohlf (1995).

2.6.3. Mass-Length relationship

The body mass-length relationship was determined separately for the different periods and seasons using an equation adapted from that proposed by Huxley (1925):

$$BM = a * TL^b$$

where BM = the body mass; *a* = coefficient of proportionality; TL = the

Table 1

Mass-Length ratios of the *Geophagus* specimens from the middle Xingu River in the pre-impoundment (2012–2013) and post-impoundment (2018–2019) periods. Spp – species; N – number of individuals; TL – total length; BM – body mass; a – coefficient of proportionality; b – allometric coefficient; CI – confidence interval.

Spp	Period	Sector	Hydrological Seasons	Sex	N	TL (cm)	BM (g)	Regression Parameters		CI 95%		R ²	
								a	b	a	b		
<i>Geophagus argyrostictus</i>	Pre		Low Water	F	58	14.63 ± 4.25	45.4 ± 42.78	0.012	3.041	0.009–0.017	2.926–3.156	0.98	
				M	56	15.2 ± 5.85	66.8 ± 55.07	0.014	2.964	0.012–0.018	2.885–3.043	0.99	
			Flood	F	15	11.0 ± 3.85	18.8 ± 15.61	0.019	2.914	0.010–0.037	2.647–3.181	0.99	
				M	16	9.1 ± 3.00	15.5 ± 23.09	0.012	3.048	0.006–0.026	2.716–3.380	0.96	
	Post	Upstream	Low Water	F	29	18.0 ± 4.96	77.0 ± 51.20	0.013	3.026	0.009–0.019	2.893–3.159	0.98	
				M	22	15.76 ± 4.74	75.3 ± 63.54	0.009	3.155	0.003–0.025	2.790–3.520	0.94	
			Flood	F	19	14.0 ± 5.16	51.0 ± 45.26	0.009	3.173	0.004–0.018	2.919–3.427	0.98	
		M		24	14.7 ± 5.55	73.85 ± 65.03	0.008	3.208	0.003–0.019	2.899–3.518	0.95		
		Downstream	Low Water	F	34	10.75 ± 2.26	17.0 ± 13.46	0.016	2.914	0.009–0.029	2.687–3.142	0.95	
				M	22	14.38 ± 4.89	54.7 ± 47.68	0.021	2.843	0.009–0.050	2.519–3.167	0.94	
	Flood		F	27	14.25 ± 3.37	37.0 ± 27.09	0.015	2.960	0.006–0.034	2.652–3.268	0.94		
		M	17	14.53 ± 4.06	45.66 ± 35.33	0.017	2.865	0.009–0.032	2.628–3.103	0.97			
	<i>Geophagus altifrons</i>	Pre		Low Water	F	86	12.6 ± 3.95	42.0 ± 44.69	0.012	3.072	0.009–0.017	2.946–3.198	0.96
					M	63	12.8 ± 5.30	55.5 ± 70.56	0.007	3.299	0.004–0.010	3.147–3.450	0.96
Flood				F	23	13.4 ± 6.54	69.2 ± 90.0	0.009	3.169	0.007–0.013	3.044–3.294	0.99	
				M	19	13.8 ± 5.52	69.0 ± 84.04	0.009	3.193	0.005–0.016	2.982–3.405	0.98	
Post		Upstream	Low Water	F	49	13.73 ± 5.10	54.18 ± 51.43	0.013	3.087	0.008–0.021	2.848–3.207	0.96	
				M	73	12.98 ± 5.10	49.85 ± 52.70	0.015	2.982	0.009–0.024	2.797–3.166	0.93	
			Flood	F	16	16.79 ± 5.09	89.14 ± 56.14	0.007	3.224	0.003–0.017	2.925–3.524	0.97	
		M		23	12.46 ± 5.87	50.19 ± 63.28	0.009	3.181	0.006–0.012	3.039–3.323	0.99		
		Downstream	Low Water	F	16	13.02 ± 2.72	36.71 ± 18.85	0.015	2.993	0.005–0.040	2.610–3.375	0.95	
				M	17	14.04 ± 3.80	53.71 ± 36.78	0.007	3.278	0.003–0.015	3.003–3.553	0.97	
Flood			F	31	12.72 ± 3.01	25.93 ± 20.11	0.007	3.110	0.003–0.018	2.775–3.445	0.92		
M		26	13.56 ± 4.58	45.33 ± 51.60	0.008	3.158	0.004–0.015	2.902–3.414	0.96				

total length; *b* = the allometric coefficient.

The proportional residuals were plotted against the TL to verify possible differences in the growth patterns of the males and females. The coefficients were estimated by linear regression following the log transformation of the body mass (LogBM) and length (LogTL) data. A one-way Analysis of Variance (ANOVA) with Tukey’s *post hoc* test were used to determine whether the body mass and total length of the males and females varied differentially among hydrological seasons and periods. The Kruskal-Wallis procedure with Dunn’s *post hoc* test was applied.

2.6.4. Relative condition factor

The relative condition factor (K) was estimated separately for each sex in each season of the two periods, based on the model proposed by Le Cren (1951), that is,

$$K = \frac{BM}{TL^b}$$

where *b* = the coefficient of allometry, as calculated above.

The relative condition factor of each *Geophagus* species was evaluated using the Analysis of Covariance (ANCOVA) to test differences between the sexes (males and females), periods (pre- and post-impoundment), seasons (low water and flood seasons), and size (total length in centimeters). The ANCOVAs were run in R version 4.0.1 (R Development Core Team, 2020).

2.6.5. Gonadosomatic index

The Gonadosomatic Index (GSI) was estimated by the equation (Nikolsky, 1963):

$$GSI = \frac{(GM) * 100}{BM}$$

where GM = Gonad Mass.

This analysis included only the adult specimens (maturing, mature, spawned/spent, and resting). The GSI values were tested separately to compare periods and seasons using a one-way ANOVA with Tukey’s *post hoc* test (Zar, 1999). The Kruskal-Wallis procedure and Dunn’s *post hoc* test were applied when the data did not satisfy the assumptions for a parametric procedure.

2.6.6. Sexual maturation stages

The sexual maturation stages were plotted on a graph considering the relative frequency of the stages per period and hydrological season.

2.6.7. Length at 50% sexual maturity

The data (frequencies) on the different sexual maturation stages were organized by season and period. The length at 50% sexual maturity (L₅₀) was calculated for the two sexes separately, based on the classification of the gonadal stages of the specimens as non-reproductive (immature) and reproductive (maturing, mature, spawned/spent and resting), considering body length intervals of 1.5 cm. The L₅₀ was estimated using a

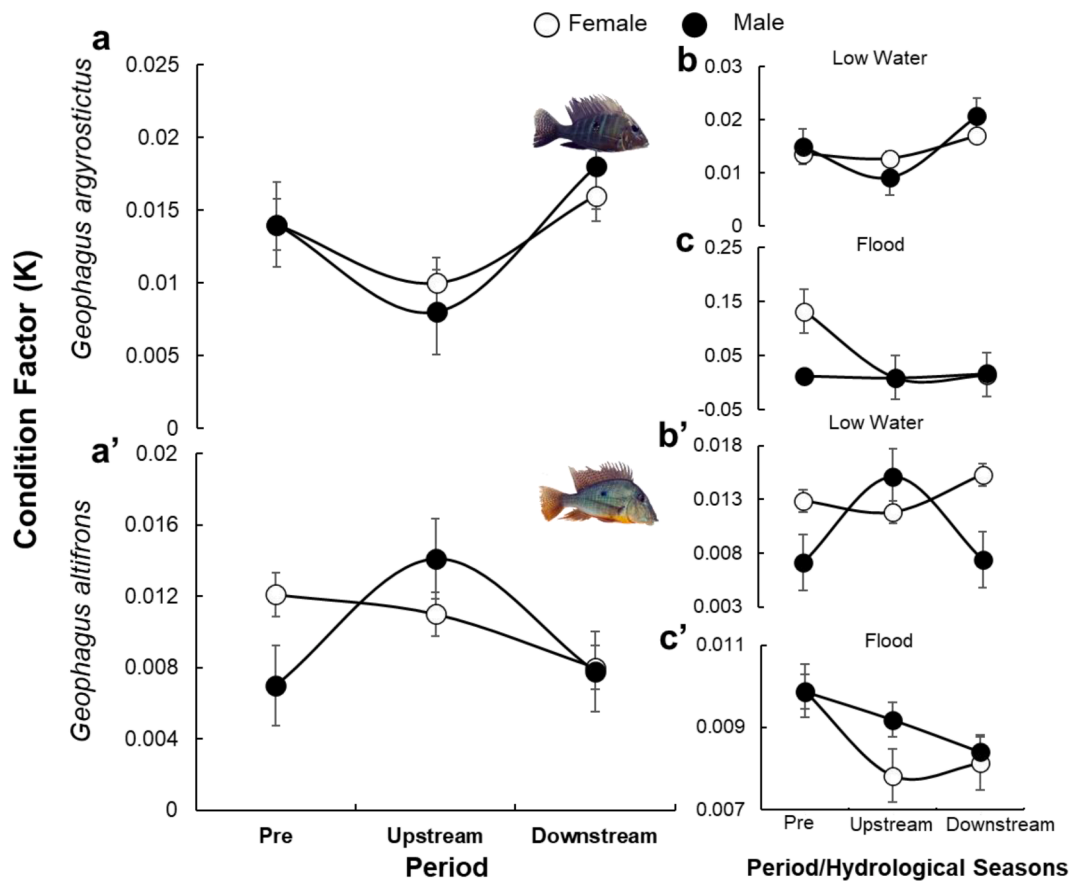


Fig. 2. Relative Condition Factor (K) of the female and male *Geophagus* from the middle Xingu River. Pre-impoundment (2012–2013), Post-impoundment (2018–2019) periods. *Geophagus argyrostictus*: a – K by period. K by Period/Hydrological Seasons; b – low water; c – flood. *Geophagus altifrons*: a' – K by period; K by Period/Hydrological Seasons; b' – low water; c' – flood.

logistic equation,

$$P = \frac{1}{(1 + \text{EXP}(r * TL - L_{50}))}$$

where P = the proportion of reproductive individuals per body length class; r = the velocity of the transition of non-reproductive to reproductive individuals, and L₅₀ = the length at 50% sexual maturity. The values obtained here were adjusted in the solver routine using the nonlinear least-squares method.

3. Results

3.1. River flow

The river flow rate of the Xingu varied significantly between periods and among hydrological seasons (Periods: F = 5.13; D.F = 2; p < 0.05; Hydrological Seasons: F = 56.9; D.F = 3; p < 0.05). The mean annual of river flow rate during the pre-impoundment period was 7837.5 m³/s (range: 1005 – 17890 m³/s) (Fig. 1 c). In the post-impoundment period, it was 6902.2 m³/s (range: 602.5 – 19060) in the upstream sector (Fig. 1 d) and 3472.0 m³/s (range: 601.6 – 12890) in the downstream sector (Fig. 1 e).

3.2. Sex ratio

A total of 339 *G. argyrostictus* specimens were collected during the present study, including 73 females and 72 males during the pre-impoundment period. In the post-impoundment period, 48 females and 46 males specimens were collected in the upstream sector, and 61

females and 39 males were collected in the downstream sector. In the case of *G. altifrons*, a total of 442 specimens were collected, including 109 females and 82 males during the pre-impoundment period. In the post-impoundment period, 65 females and 96 males were collected in the upstream sector, and 47 females and 43 males in the downstream sector. No significant variation in the sex ratio was found in any period in either species. In *G. argyrostictus*, no variation was found between the pre- and post-impoundment periods ($\chi^2 = 0.827$; D.F = 2; p > 0.05) nor in the low water ($\chi^2 = 0.67$; D.F = 2; p > 0.05) or flood seasons ($\chi^2 = 1.24$; D.F = 2; p > 0.05). No significant variation was found in the sex ratio of *G. altifrons* between periods ($\chi^2 = 3.56$; D.F = 2; p > 0.05) nor in the low water ($\chi^2 = 3.55$; D.F = 2; p > 0.05) or flood seasons ($\chi^2 = 1.24$; D.F = 2; p > 0.05).

3.3. The body mass-length relationship

With regard to the morphological features of the fish, both species presented a monophasic pattern of growth in both periods and seasons. The male and female *G. argyrostictus* were significantly smaller (TL and BM) in the flood season in comparison with the low water season in the pre-impoundment period (TL – H = 18.79; D.F = 3; p < 0.05; BM – H = 16.57; D.F = 3; p < 0.05). In the post-impoundment period, however, no variation was found between males and females in the upstream sector in either parameter (TL – F = 0.43; D.F = 3; p > 0.05; BM – F = 0.29; D.F = 3; p > 0.05). In the downstream sector, by contrast, the females were significantly smaller than the males, principally in the low water season (TL – H = 14.68; D.F = 3; p < 0.05; BM – H = 14.27; D.F = 3; p < 0.05). Overall, then the females were significantly smaller in the downstream sector and larger in the upstream sector in the post-impoundment period, in comparison with the pre-impoundment period (TL – H =

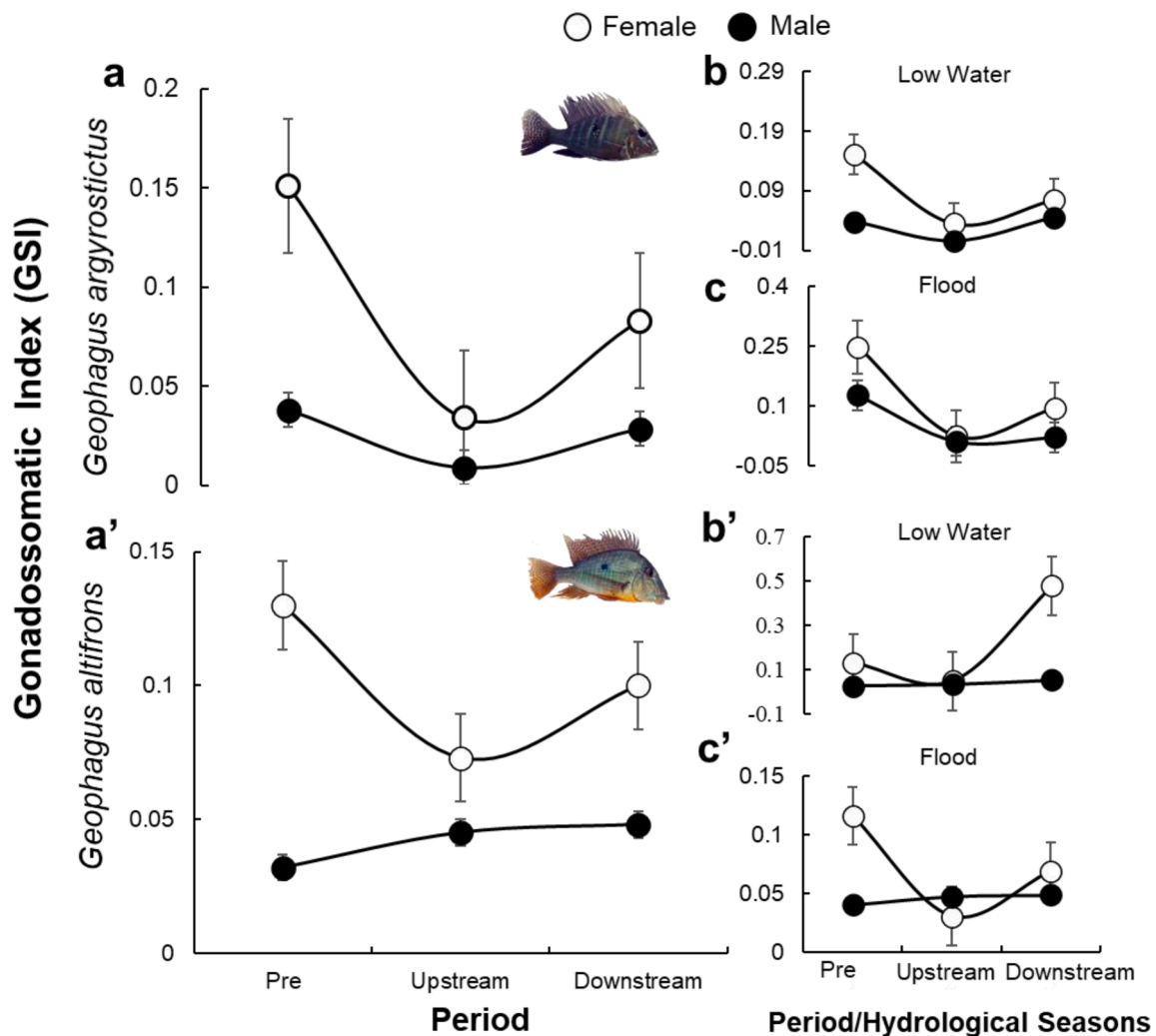


Fig. 3. Gonadosomatic Index (GSI) of the *Geophagus* specimens from the middle Xingu River, in the pre-impoundment (2012–2013) and post-impoundment (2018–2019) periods. *Geophagus argyrostictus*: a – GSI by period; GSI by Period/Hydrological Seasons; b – low water; c – flood. *Geophagus altifrons*: a' – GSI by period; GSI by Period/Hydrological Seasons; b' – low water; c' – flood.

22.98; D.F = 5; $p < 0.05$; BM – H = 22.42; D.F = 5; $p < 0.05$). In *G. altifrons*, by contrast, no significant variation was observed in any of the comparisons (Table 1), between the sexes or periods (pre-impoundment: TL – H = 0.45; D.F = 3; $p > 0.05$; BM – H = 1.23; D.F = 3; $p > 0.05$; post-impoundment: upstream: TL – H = 7.81; D.F = 3; $p > 0.05$; BM – H = 7.08; D.F = 3; $p > 0.05$; downstream: TL – H = 1.20; D.F = 3; $p > 0.05$; BM – H = 5.98; D.F = 3; $p > 0.05$).

3.4. Relative condition factor (K) and Gonadosomatic index (GSI)

The K and GSI values varied significantly between periods and seasons in both species. When compared with the pre-impoundment period, the K value of *G. argyrostictus* (Fig. 2a-c) was lower in the upstream sector and higher in the downstream sector ($F = 114.33$; D.F = 2; $p < 0.05$), although no difference was found ($F = 0.429$; D.F = 1; $p > 0.05$) between seasons (Table 3. Supplementary Material). The GSI was lower in the post-impoundment period in both seasons (females: low water – H = 25.44; D.F = 2; $p < 0.05$; flood – H = 1.95; D.F = 2; $p < 0.05$; males: low water – H = 36.31; D.F = 2; $p < 0.05$; flood – H = 7.37; D.F = 2; $p < 0.05$; Fig. 3a-c).

In *G. altifrons*, the K values of the females in the post-impoundment period were significantly lower in both the upstream and the downstream sectors (Fig. 2a'-c') in comparison with the pre-impoundment period ($F = 38.50$; D.F = 2; $p < 0.05$). No difference was observed (F

= 2.73; D.F = 2; $p > 0.05$) between the hydrological seasons (Table 4. Supplementary Material). The GSI (Fig. 3a'-c') was lower in the upstream sector in both seasons (GSI: low water – H = 15.07; D.F = 2; $p < 0.05$; flood – H = 2.81; D.F = 2; $p < 0.05$). By contrast, the males presented significantly higher GSI values in both sectors and seasons in the post-impoundment period (GSI: low water season – H = 1.47; D.F = 2; $p > 0.05$; flood – H = 0.05; D.F = 2; $p > 0.05$).

3.5. Microscopy

Five ovarian maturation stages were defined for the female gonads, based on the cells types and their organization, as observed in the analyses: immature, maturing, mature, spawned and resting. Four stages of testicular maturation were defined in the males: immature, maturing, mature, and spent (Table 2).

3.6. Relative frequency of the gonadal stages

The analysis of the frequency of the different gonadal stages in the two periods and seasons revealed a marked reproductive synchrony between the males and females in both *G. argyrostictus* and *G. altifrons*. A single phase spawning pattern was observed in *G. argyrostictus* in the low water season in both the pre- and post-impoundment periods (in both the upstream and downstream sectors). In *G. altifrons*, multiple

Table 2

Macroscopic and microscopic description of the gonadal maturation stages during the reproductive cycle of *G. argyrostictus* and *G. altifrons* from the middle Xingu River in the pre-impoundment (2012–2013) and post-impoundment (2018–2019) periods. NO – not observed.

Gonadal Maturation Stages	<i>Geophagus argyrostictus</i> e <i>Geophagus altifrons</i>	
	Ovary	Testes
Immature	Ovaries are filliform and translucent aspect, without evidente vascularization. Histologically, contained oogonias in nests and type I oocyte with basophilic cytoplasm.	Testes are filliform and translucent aspect. Contained small seminiferous tubules with numerous spermatogonia.
Maturing	Ovaries are large and yellowish colour, vascularization and some oocytes evident the naked eye. Histologically, type I, II with basophilic cytoplasm and numerous type III oocytes whose acidophilic cytoplasm contained cortical alveoli and zona radiata.	Testes are voluminous, light-White colour. Contained regular seminiferous tubules with spermatogonia distributed along the tubular wall, spermatocytes and spermatids in cysts and few spermatozoa.
Mature	Turgid and voluminous ovary, strong yellow colour filled with large and evidente oocytes and high vascularization. The ovaries contained numerous type IV oocytes with cytoplasm filled by yolk granules.	Testes are turgid and voluminous with strong white colour. Contained numerous spermatozoa in the tubular lumen.
Spawning/Spent	Ovaries are flaccid aspect, reddish colour due hemorrhagic regions. Contained post-ovulatory and atresic's follicle. Some type I and II oocytes were observed.	Testes are small, flaccid aspect and hemorrhagic regions. Contained semiiferous tubules with residuals spermatozoa .
Resting	Ovaries are similar to the immature stage, but with irregular ovary wall. Contained ovigerous lamellae and visible lumen region with oogonia in nests, type I and II oocytes.	NO

spawning was observed in both seasons in the pre- and post-impoundment periods, in particular in the upstream sector, where a spawning peak was recorded in the flood season. In comparison with the pre-impoundment period, there was a reduction in the frequency of immature individuals in the post-impoundment period in the upstream sector, through a reduction in the numbers of immature individuals. This was especially clear in the low water season, when no immature specimens (of either sex) were collected in either *G. argyrostictus* or *G. altifrons*. In the downstream sector, there was a greater frequency of resting females in both species (Fig. 4).

3.7. The length at 50%sexual maturity (L_{50})

A shift was observed in the length at 50% sexual maturity (L_{50}) in both *G. argyrostictus* and *G. altifrons* between the two study periods. In the pre-impoundment period, the female *G. argyrostictus* reached sexual maturation at a mean body length of 11.78 cm and the males, at 10.46 cm. Similar values were recorded in *G. altifrons*, that is, 9.64 cm in the females and 9.94 cm in the males. There was a reduction in the L_{50} in both species in the post-impoundment period. In the upstream sector, an L_{50} of 7.52 cm was recorded in the female *G. argyrostictus*, and 8.06 cm in the males, while in the downstream sector, the L_{50} was 10.52 cm in the females and 9.52 cm in the males. In *G. altifrons*, there was a reduction in the L_{50} values in both the females (6.92 cm) and the males (4.98 cm) in the upstream sector. In the downstream sector, however, the L_{50} values were similar to those recorded in the pre-impoundment period, that is, 9.37 cm in the females and 9.89 cm in the males (Fig. 5).

4. Discussion

The present study used the life history traits of the two sedentary population of Cichlids, *G. argyrostictus* and *G. altifrons*, as indicators of the changes occurring in the middle Xingu river caused after impoundment. Both *Geophagus* populations were affected intensively by the impoundment, and all the life history traits examined in the study indicated that the populations suffered negatively impacts. The fish of the Amazon basin are influenced primarily by the seasonality of its rivers (Winemiller et al., 2008; Prudente et al., 2015). In an impounded river, however, a cascade of events modifies the hydrological regime, and the physical, chemical, and biological structure of the river (Lima et al., 2017). This has negative impacts on the ecological processes intrinsic, such as their reproduction and growth patterns (Santos et al., 2004; Abdo et al., 2018).

In comparison with the pre-impoundment period, the *G. argyrostictus* and *G. altifrons* females were larger (body mass and total length) in the upstream sector, post-impoundment, and smaller in the downstream sector, although the males did not vary significantly in either body length or mass. This is supported by the shifts observed in the K and GSI values between the different periods in both species. Compared with the pre-impoundment period, the condition factor (K) was significantly lower in the upstream sector in *G. argyrostictus* and lower in the both sectors in the female *G. altifrons*.

This pattern of variation may be related to the energy reserves accumulated during the life cycle of the fish for either growth or reproduction (Schwartzkopf and Cowan-Jr, 2017). These energy reserves, which accumulate in proportion to the availability of resources, result from the interaction between the animal and the environment, and tend to vary considerably between hydrological seasons (Aristizabal, 2007; Espínola et al., 2012). In general, the flood season tends to be the period when feeding resources are more abundant, with a greater investment in growth, given the increased availability of foods such as leaves, fruit, and other types of organic material, derived from the floodplain (Junk, 1997). At low water, by contrast, the aquatic environments become more restricted and predation pressure increases. Given this, it seems likely that the patterns observed in the present study are the result of the greater expenditure of energy by the fish in order to maintain themselves in the water column during foraging.

It is important to note here that the larger size of the *G. argyrostictus* and *G. altifrons* females observed in the upstream sector during the post-impoundment period does not reflect greater energetic wellbeing, given the relatively low K values observed. It thus seems likely that both *G. argyrostictus* and *G. altifrons* became less able to invest in the somatic accumulation of energy necessary for growth and reproduction. Similar findings have been obtained in previous studies of the fish faunas of impounded rivers (Santos et al., 2004; Abujanra et al., 2009).

The *G. argyrostictus* females presented the lowest TL and BM values in the downstream sector, even though the highest K values were also observed in this same sector. The downstream effects of dams tend to be more severe than their upstream effects, and in the specific case of Belo Monte, the modifications have been extreme (Agostinho et al., 2008; Olden and Naiman, 2010), given that the natural discharge of the river has been greatly reduced, and the control of the river flow rate has destabilized the natural cycles of resource availability and competition, which in turn affect animal growth (Agostinho et al., 2008; Arantes et al., 2010; Wohl et al., 2015). Thus, while the animals in the downstream sector may be able to feed adequately, the majority of their energetic reserves appear to be directed to reproduction, rather than growth, reducing the accumulation of length and body mass. Similar negative effects on reproduction patterns have been observed downstream from other dams, and affect particularly endemic fish species, such as *Serrasalmus brandtii* (Bazzoli et al., 2019) and *Schizodon kneri* (Brandão et al., 2017).

The GSI is also clearly associated with the variation in the K values. In *G. argyrostictus* (both sexes) and the female *G. altifrons*, the low K

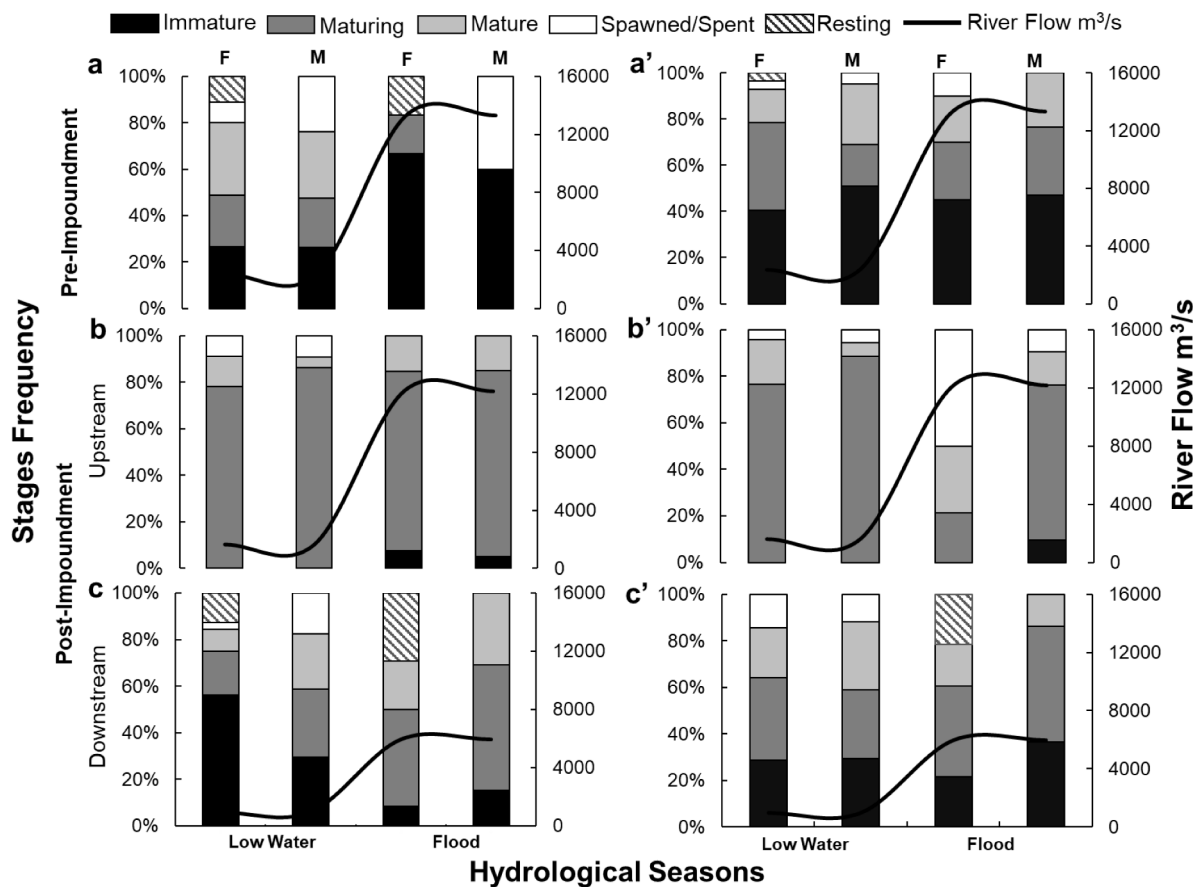


Fig. 4. Relative Frequency (%) of the gonadal maturation stages in the *Geophagus* specimens from the middle Xingu River in the pre-impoundment (2012–2013) and post-impoundment (2018–2019) periods. *Geophagus argyrostictus*: a – pre-impoundment; post-impoundment, b – upstream sector; c – downstream sector. *Geophagus altifrons*: a' – pre-impoundment; post-impoundment, b' – upstream sector; c' – downstream sector. F – Female; M – Male.

values imply a lack of reserves that can be invested in gonadal development, and thus, the low GSI values recorded in these fish. Even so, it is important to note that the *G. altifrons* males presented higher K and GSI values in the post-impoundment period in both river sectors and hydrological seasons in comparison with the pre-impoundment period. This appears to be a common strategy in some fish, when facing adverse conditions, as observed in *Cichla monoculus* (Chellappa et al., 2003). As *G. altifrons* is not endemic to the study area, but ranges over much of the Amazon basin, is a generalist and may be capable of adapting to a wide range of habitats through its phenotypic plasticity, with the males, in particular, being able to adjust to the novel conditions encountered in the study area on the Xingu River.

The description of the gonadal stages is considered to be essential for the understanding of fish reproductive biology, given that it provides precise data on the breeding patterns of a species (Costa et al., 2015; Silva et al., 2016). In the present study, *G. argyrostictus* had a single spawning phase during the low water season, with synchronized reproduction. This synchronization appears to reflect the importance of the low water period for reproduction in this species, as observed in its congener, *Geophagus steindachneri* (Rangel-Serpa and Torres, 2015) and in *Aequidens tetramerus* (Costa and de Fachetti, 2019). In an impacted environment, however, a single spawning phase may be unfavorable, although it is important to note that reproduction involves a considerable energetic investment in this species, and continuous breeding may be energetically wasteful, in particular, during the flood period (Silva et al., 2010). By contrast, *G. altifrons* spawned on multiple occasions in the pre-impoundment period and in the upstream sector in the post-impoundment period, which appears to reflect an opportunistic breeding strategy in this species.

In addition, a low frequency of immature individuals was found in both species in the upstream sector in the post-impoundment period (and in both seasons) in comparison with the pre-impoundment period. This is a common pattern in reservoirs, in particular during the first years after the impoundment, given that these novel environments have a number of features that are unfavorable to the immature fish, such as unstable margins and sparse or absent riparian vegetation in which to seek refuge (Nogueira et al., 2006; Zaniboni-Filho et al., 2008). This means that the reservoir environment is unfavorable for the immature individuals of many species, in particular, cichlids, such as *Geophagus brasiliensis* (Lima et al., 2017). Overall, then, the evidence from the present study indicates that the construction of the dam interfered significantly in the reproductive stages of both study species.

One of the processes observed in both species was the alteration of the L_{50} . In the pre-impoundment period, the *G. argyrostictus* females reached sexual maturity after the males, whereas in *G. altifrons*, the L_{50} was similar in the males and females. In the post-impoundment period, both species presented a reduction in their L_{50} . This process was striking in *G. altifrons*, with a major reduction, of >4 cm, in the size at 50% sexual maturation. The evidence indicates that these species, in particular, the endemic *G. argyrostictus*, are subject to enormous pressures in the reservoir environment, and are thus reproducing at a much smaller body size in order to maintain their stocks.

5. Conclusions

Although some studies have found evidence of the stabilization of fish populations a number of decades after impoundment (Schork and Zaniboni-Filho, 2017; Loures and Pompeu, 2018; Perónico et al., 2019),

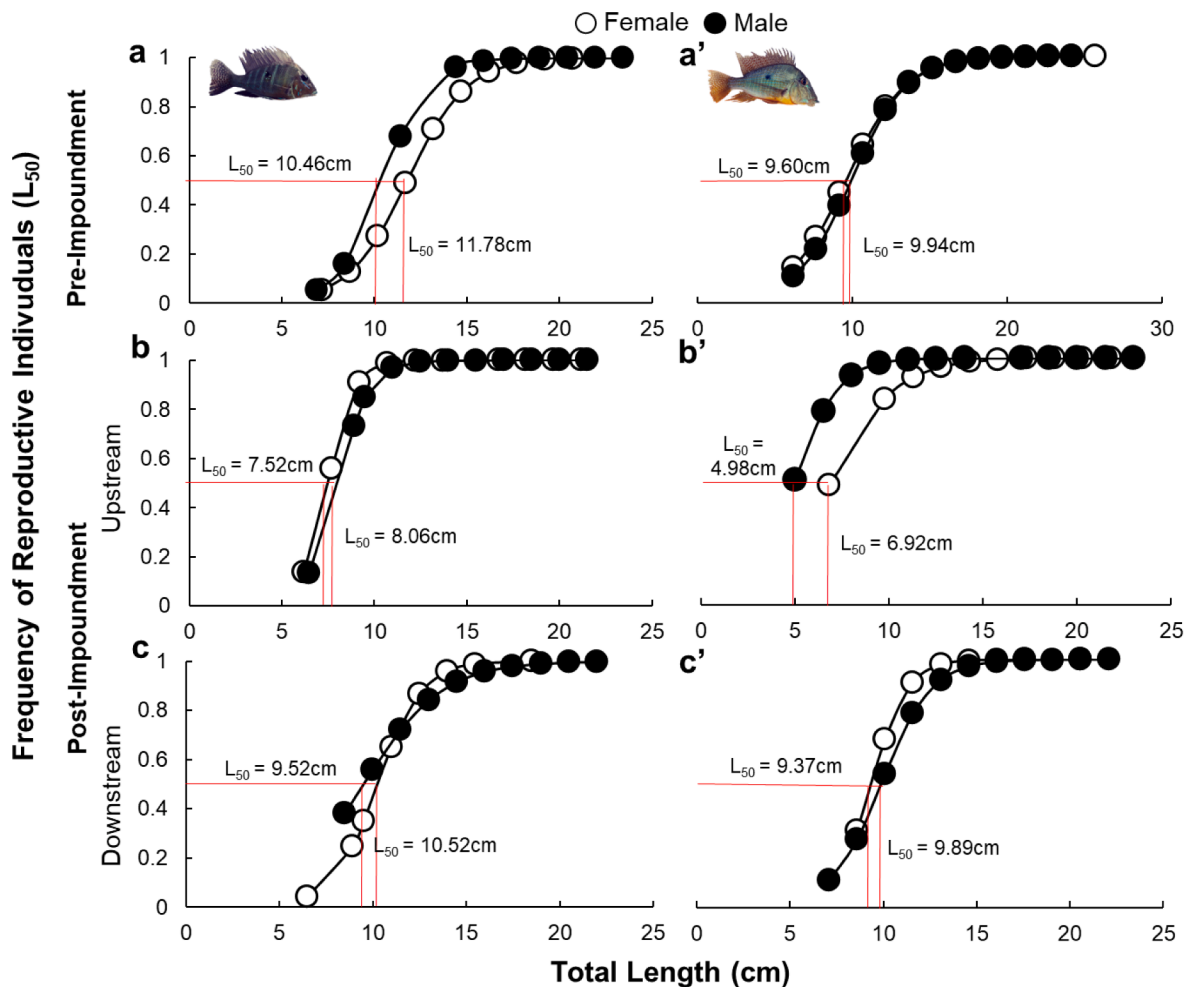


Fig. 5. Frequency of reproductive individuals in the different total length classes (1.5 cm interval) of the *Geophagus* specimens from the middle Xingu River in the pre-impoundment (2012–2013) and post-impoundment (2018–2019) periods, *Geophagus argyrostictus*: a – pre-impoundment; b – post-impoundment, c – upstream sector; *Geophagus altifrons*: a' – pre-impoundment; post-impoundment, b' – upstream sector; c' – downstream sector.

losses are inevitable (Pelicci et al., 2017). Here, we analyzed the status of two *Geophagus* populations in the pre- and post-impoundment periods, and showed that these fish provide an excellent indicator for the identification of the effects of changes in the river on the resident organisms. These responses showed clearly that the life history traits (reproduction and growth pattern) of both populations were compromised by the installation of the hydroelectric dam on the Xingu River, specially the endemic species, *G. argyrostictus*, which is found only in this river, and was affected intensely in the post-impoundment period. The construction of dams appears to place sedentary and endemic species under a greater risk of extirpation. Our results provided important insights into the changes in the environment and the risks for fish populations whose conservation status is unknown, in addition to providing complementary data for the development of better continuous fish monitoring and management strategies for impounded rivers.

Author contributions

Yanne A. Mendes: Conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, writing original draft, writing review and editing; **Renata S. Oliveira:** Methodology and investigation; **Luciano F. A. Montag:** Supervision and visualization; **Marcelo C. Andrade:** Supervision and formal analysis; **Tommaso Giarrizzo:** Supervision and formal analysis; **Rossineide M. Rocha:** Writing review, editing and supervision; **Maria Auxiliadora P. Ferreira:** Project administration, writing original draft, writing review, editing and funding acquisition.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors are grateful to Federal University of Pará and the Institute of Biological Sciences for infrastructure. Y.A. Mendes was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – finance Code 001. Norte Energia provided financial support. The collection of the biological material was authorized by a permit from IBAMA-Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e de Recursos Naturais Renováveis.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107466>.

References

- Abdo, T.F., Marcon, L., Bazzoli, N., 2018. Downstream effects of a large reservoir on the reproductive activity of *Prochilodus hartii* (Pisces: Prochilodontidae). *Anim. Reprod. Sci.* 190, 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.01.013>.

- Prudente, B.S., Ferreira, M.A.P., Rocha, R.M., Montag, L.F.A., 2015. Reproductive biology of the piranha *Serrasalmus gouldingi* (Fink and Machado-Allison 1992) (Characiformes: Serrasalminae) in “drowned” rivers of the Eastern Amazon. *Environ. Biol. Fishes* 98, 11–22. <https://doi.org/10.1007/s10641-014-0232-0>.
- Ramos, F.M., Araújo, M.G., Prang, G., Fujimoto, R.Y., 2015. Ornamental fish of economic and biological importance to the Xingu River. *Braz. J. Biol.* 75 (3 suppl 1), 95–98. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.02614BM>.
- Rangel-Serpa, F., Torres, M., 2015. Reproductive seasonality of *Geophagus steindachneri* Eigenmann & Hildebrand, 1922 (Perciformes: Cichlidae) in a tropical mountain river. *Neotrop. Ichthyol.* 13, 421–430. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20140091>.
- Sabaj-Perez, M., 2015. Where the Xingu Bends and will Soon Break. *Am. Sci.* 103, 395–403. <https://doi.org/10.1511/2015.117.395>.
- Santos, A.B.I., de Freitas Terra, B., Araújo, F.G., 2010. Influence of the river flow on the structure of fish assemblage along the longitudinal gradient from river to reservoir. *Zoologia* 27, 732–740. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702010000500010>.
- Santos, A.F.G.N.D., Santos, L.N.D., Araújo, F.G., 2004. Water level influences on body condition of *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) in a Brazilian oligotrophic reservoir. *Neotrop. Ichthyol.* 2 (3), 151–156. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252004000300007>.
- Scarabotti, P.A., López, J.A., Pouilly, M., 2011. Flood pulse and the dynamics of fish assemblage structure from neotropical floodplain lakes. *Ecol. Freshw. Fish* 20, 605–618. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2011.00510.x>.
- Schork, G., Zaniboni-Filho, E., 2017. Structure dynamics of a fish community over ten years of formation in the reservoir of the hydroelectric power plant in upper Uruguay River. *Brazilian J. Biol.* 77, 710–723. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.17015>.
- Schwartzkopf, B.D., Cowan, J.H., 2017. Seasonal and sex differences in energy reserves of red snapper *Lutjanus campechanus* on natural and artificial reefs in the northwestern Gulf of Mexico. *Fish. Sci.* 83 (1), 13–22. <https://doi.org/10.1007/s12562-016-1037-1>.
- Silva, J.P.d.C., Costa, M.R.d., Gomes, I.D., Araújo, F.G., 2016. Gonadal development and fecundity of the smooth weakfish *Cynoscion leiarchus* (Teleostei: Perciformes: Sciaenidae) in a tropical Brazilian bay. *Zoologia* 33 (6). <https://doi.org/10.1590/s1984-4689zool-20160032>.
- Silva, J.P.A.d., Muelbert, A.E., Oliveira, E.C.d., Fávoro, L.F., 2010. Reproductive tactics used by the Lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguçu River. *Neotrop. Ichthyol.* 8 (4), 885–892. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252010000400019>.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1995. *Biometry: principles and practice of statistics and biological research*, Third ed. W.H. Freeman Company, New York.
- Souza-Cruz-Buenaga, F.V.A., Espig, S.A., Castro, T.L.C., Santos, M.A., 2019. Environmental impacts of a reduced flow stretch on hydropower plants. *Brazilian J. Biol.* 79, 470–487. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.183883>.
- Stevaux, J.C., Martins, D.P., Meurer, M., 2009. Changes in a large regulated tropical river: The Paraná River downstream from the Porto Primavera Dam, Brazil. *Geomorphology* 113 (3–4), 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2009.03.015>.
- Thomaz, S.M., Bini, L.M., Bozelli, R.L., 2007. Floods increase similarity among aquatic habitats in river-floodplain systems. *Hydrobiologia* 579 (1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10750-006-0285-y>.
- Wang, J., Sheng, Y., Gleason, C.J., Wada, Y., 2013. Downstream Yangtze River levels impacted by Three Gorges Dam. *Environ. Res. Lett.* 8 (4), 044012. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/4/044012>.
- Winemiller, K.O., 1989. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. *Oecologia* 81 (2), 225–241. <https://doi.org/10.1007/BF00379810>.
- Winemiller, K.O., Agostinho, A.A., Caramaschi, É.P., 2008. Fish ecology in tropical streams. *Trop. Stream Ecol.* 107–146. <https://doi.org/10.1016/B978-012088449-0.50007-8>.
- K.O. Winemiller P.B. McIntyre L. Castello E. Fluet-Chouinard T. Giarrizzo S. Nam I.G. Baird W. Darwall N.K. Lujan I. Harrison M.L.J. Stiassny R.A.M. Silvano D.B. Fitzgerald F.M. Pelicice A.A. Agostinho L.C. Gomes J.S. Albert E. Baran M. Petrere C. Zarfl M. Mulligan J.P. Sullivan C.C. Arantes L.M. Sousa A.A. Koning D.J. Hoeninghaus M. Sabaj J.G. Lundberg J. Armbruster M.L. Thieme P. Petry J. Zuanon G.T. Vilara J. Snoeks C. Ou W. Rainboth C.S. Pavanelli A. Akama A.v. Soesbergen L. Saenz 351 6269 2016 128 129.
- Whitfield, A.K., Elliott, M., 2002. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: A review of progress and some suggestions for the future. *J. Fish Biol.* 61, 229–250. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2002.2079>.
- E. Wohl S.N. Lane A.C. Wilcox 51 8 2015 5974 5997.
- Zaniboni-Filho, E., Nuñez, A.P.O., Reynalte-Tataje, D.A., Hermes-Silva, S., Meurer, S., 2008. Alterações espaciais e temporais da estrutura da comunidade de peixes em decorrência da implantação do reservatório de Itá (alto rio Uruguai), in: Zaniboni-Filho, E., Nuñez, A.P.O. (Eds.), *Reservatório de Itá: estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna*. UFSC ed, Florianópolis.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey.

CAPÍTULO 2

Oogênese e expressão de PCNA e Vitelogenina em *Geophagus* nativos da bacia Amazônica em períodos pré- e pós-barramento de Hidrelétrica

Yanne A. Mendes; Juliana C. D. Pantoja; Ivana K. S. Viana; Gicelle M^a Farias; Liziane A. B. Gonçalves; Rossineide M. Rocha; Maria Auxiliadora P. Ferreira.

Este capítulo foi escrito seguindo as instruções do periódico “Animal Reproduction Science”, Qualis A1 – CAPES 2020, Fator de Impacto 1.660, Cite Score 3.0.

Situação atual: o artigo se encontra em vias de tradução e será submetido em maio de 2021.

Oogênese e expressão de PCNA e Vitelogenina em *Geophagus* nativos da bacia Amazônica em períodos pré- e pós-barramento de Hidrelétrica

Yanne A. Mendes^{a1}; Juliana C. D. Pantoja^b; Ivana K. S. Viana^b; Gicelle M^a Farias^a; Liziane A. B. Gonçalves^b; Rossineide M. Rocha^b; Maria Auxiliadora P. Ferreira^a.

^aLaboratório de Imunohistoquímica e Biologia do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil ^bLaboratório de Ultraestrutura Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brazil

¹Autor correspondente.

Endereço de E-mail: y.a.mendes@hotmail.com

Resumo

A oogênese nos peixes é um processo que envolve a proliferação, crescimento e maturação celular até o momento da ovulação e depende de fatores endócrinos e ambientais. Em rios barrados por hidrelétricas, tais fatores podem ser modificados e afetar o mecanismo de reprodução das espécies. Neste cenário o presente estudo objetivou descrever a oogênese em duas espécies de ciclídeos nativos da bacia Amazônica, *Geophagus argyrostictus* e *Geophagus altifrons*, associado ao pré- e pós-barramento. Os exemplares foram amostrados no trecho médio do rio Xingu em períodos pré (2012-2013) e pós barramento (2018-2019). Um total de 182 fêmeas de diferentes tamanhos de *G. argyrostictus* e 221 fêmeas de *G. altifrons* foram capturadas. Após biometria, as fêmeas foram eutanasiadas para retirada das gônadas que foram submetidas as técnicas histológicas para microscopia óptica, eletrônica de varredura e imunoperoxidase. Ainda foram mensurados os diâmetros dos oócitos e a espessura da zona radiata. Os ovários apresentaram-se em pares envolvidos por uma túnica albugínea que de acordo com o formato, tamanho, vascularização e organização das células foram definidos os estádios: imaturo, em maturação, maturo, desova e repouso para ambas as espécies e períodos. Observamos redução no diâmetro dos oócitos, em destaque os do tipo IV que em *G. argyrostictus* foi de $572.45\mu\text{m} \pm 207.55$ e *G. altifrons* de $484.0\mu\text{m} \pm 119.74$, no pós-barramento. Ainda foi observado redução na espessura da zona radiata, principalmente em *G. argyrostictus* que no pre-barramento era $5.68\mu\text{m} \pm 0.94$ e no pós-barramento foi de $5.68\mu\text{m} \pm 0.94$, $P < 0.05$. Em ambas as espécies houve maior presença de atresia dos oócitos no período pós-barramento. Imunorreação para anti-PCNA foi mais intenso nos oócitos tipos I e II, enquanto de anti-vitelogenina ocorreu no

citoplasma e células foliculares dos oócitos III e IV. Esses dados sugerem que em virtude das alterações do nível/fluxo do rio, a gônada das espécies estão se ajustando ao novo ambiente, com redução no tamanho médio dos oócitos e da camada adesiva dos ovos, o que pode interferir na reprodução dos animais.

Palavras-chave: barragem hidrelétrica, histologia, oócitos, peixe.

1. Introdução

A oogênese é o processo que se inicia com as células germinativas primordiais (PGCs) a qual originam as oogônias que são diplóides e possuem característica de multiplicação através de sucessivas divisões mitóticas e meióticas originando os oócitos (Guzmán et al., 2014; Lubzens et al., 2016). Os oócitos sofrem modificações morfológicas, bioquímicas e moleculares durante a proliferação, crescimento e maturação até o momento da ovulação (Guraya, 1986; Kagawa, 2013).

Durante a produção dos oócitos são descritos dois tipos de crescimento (Grier et al., 2009; Lowerre-Barbieri et al., 2011): o primário ou pré-vitelogênico onde observamos oócitos tipos I e II; e secundário ou em vitelogênese, caracterizados pelos oócitos tipos III e IV. As diferenças entre as células estão baseadas no volume celular, citoplasma basófilo, presença dos alvéolos corticais; na organização das organelas citoplasmáticas, no conteúdo citoplasmático e nas camadas envoltórias (França et al., 2010; Lubzens et al., 2017; Viana et al., 2018). Nesta fase primária há participação de proteínas como Antígeno Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) que em peixes pode ser um indicador para analisar a remodelagem ovariana durante a maturação oocitária (Korfsmeier, 2002; Melo et al., 2015).

É importante destacar que no crescimento secundário é observado intensa atividade de lipoproteínas precursoras do vitelo, como a vitelogenina que é uma lipoglicofosfoproteína presente nos vertebrados ovíparos. A vitelogenina inicialmente é produzida no fígado e transportada para os ovários através da corrente sanguínea (Babin et al., 2007). No ovário, ela atua como fonte principal das reservas energéticas para o desenvolvimento embrionário até o início da fase larval (Zhang et al., 2015; Hara et al., 2016; Sullivan e Yilmaz, 2018).

Os oócitos em vitelogênese formam gradualmente um complexo envoltório constituído pela zona radiata, células foliculares e teca que se tornam bem evidentes nos oócitos maduro (Viana et al., 2018). Após a desova, a zona radiata permanece e atua na proteção aos ovos (Yamagami et al., 1992) e na adesividade ao substrato (Laale, 1980;). Enquanto, as células foliculares e teca, permanecem nos ovários formando folículo pós ovulatório. Ainda são observados folículos atrésicos que ocorrem

naturalmente no ovário para manutenção da homeostasia (Lowerre-Barbieri et al., 2011) ou em caso do estresse (Grier et al., 2017).

A produção de oócitos exige um grande investimento somático e energético que está intimamente associado com o meio ambiente onde elas habitam por exemplo as espécies sedentárias apresentam oócitos maiores e adesivos, enquanto as migradoras têm oócitos menores e sem adesividade (Melo et al., 2011; Arantes et al., 2017).

Na Amazônia, o rio Xingu se destaca por uma heterogeneidade ambiental o que favoreceu a instalação de hidrelétrica e provocou mudanças no ambiente. Dentre a ictiofauna existente está a ordem dos Cichliformes (Nelson et al., 2016) que são fontes de subsistência e renda para população da região. Assim, destacamos duas espécies, *Geophagus argyrostictus* Kullander, 1991 e *Geophagus altifrons* Heckel, 1840, que apesar de pertencerem ao mesmo gênero e serem sedentários há variações nas características ambientais, *Geophagus argyrostictus* é endêmica do rio Xingu e enquanto *Geophagus altifrons* não é endêmica. A descrição da maturação dos oócitos e a influência do ambiente sobre esse processo não foi descrita.

Nesse estudo testamos as hipóteses (i) As espécies possuem oogênese semelhantes por ser um processo comum e conservado entre membros da mesma família (Bazzoli e Godinho, 1994); (ii) Considerando a influência de fatores ambientais, sugerimos que a oogênese será afetada em ambas as espécies pela instalação da usina hidrelétrica. Baseado nessas informações o presente estudo teve por objetivo descrever a oogênese e expressão de anti-PCNA e anti-vitelogenina em duas espécies de ciclídeos em períodos pré- e pós-barramento.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

O rio Xingu é um dos tributários da margem direita da bacia Amazônica e é caracterizado por uma sazonalidade marcada com períodos acentuados de cheia entre março e maio (descarga de $15,000\text{m}^3\text{s}^{-1}$) e seca entre agosto e outubro (descarga de $2,000\text{m}^3\text{s}^{-1}$) (Buckup e Santos, 2010; Camargo et al., 2015). Este rio destaca-se por sua geomorfologia complexa que resulta em uma heterogeneidade ambiental, caracterizado por pequenos canais entrelaçados, rochas e corredeiras que formam microambientes únicos de uma complexidade de água (Sabaj-Pérez, 2015).

2.2. Amostragem

As coletas foram realizadas com periodicidade bimestral no médio rio Xingu (3°12'52" S, 51°11'23" W), nos períodos que correspondem ao pré-barramento da UHE Belo Monte, julho-2012 a julho-2013 e pós-barramento, julho-2018 a julho-2019.

Em ambos os períodos de coletas, os peixes foram amostrados (SISBIO Processo N° 660122) com uso de tarrafas, malha 12mm e altura 1,10 metros, e redes de emalhe de 3 a 12 nós opostos com exposição de 12h na água. Um total de 182 fêmeas de *G. argyrostictus* e 221 fêmeas de *G. altifrons* foram utilizadas para o estudo. Os animais foram mensurados quanto à massa total em gramas (MT – g) e comprimento total em centímetros (CT – cm). Uma incisão longitudinal na região ventral foi feita para retirada das gônadas, as quais foram mensuradas quanto à massa total em gramas (MG – g) com precisão de 0,001g. Todos os animais foram anestesiados e eutanasiados conforme aprovação pelo Comitê de Ética do Uso de Animais/UFPA (CEUA Processo N° 5605211118).

2.3. Microscopia Óptica (MO)

As gônadas foram fixadas em solução de Bouin por 24h e submetidas as técnicas histológicas de rotina para inclusão em parafina (Prophet et al. 1995). Foram realizados cortes de 5µm de espessura e coloração em Hematoxilina e Eosina. Posteriormente foram analisados e fotografados em fotomicroscópio Nikon Eclipse Ci-S H550S acoplado a uma câmera digital do tipo Nikon Digital Sight DS-U3. Os estádios ovarianos foram classificados de acordo com Mendes et al. 2020.

2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise da microscopia eletrônica de varredura os fragmentos de gônada foram fixados em solução de Karnovsky (paraformaldeído 4%, glutaraldeído 2%). Foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,4 e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% acrescido de 0,8 de ferricianeto de potássio por 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol (30% a 100%) e submetidas à secagem em ponto crítico em dióxido de carbono CO₂. Posteriormente, colocadas em stubs e submetidas à metalização com cobertura de ouro de 10 nm de espessura para análise em microscópio eletrônico de varredura LEO 1430.

2.5. Imunohistoquímica (IH)

Para determinar a expressão do Antígeno Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) e Vitelogenina (Vg), réplicas das lâminas contendo fragmentos do ovário previamente identificado pela microscopia de luz foram desparafinizadas em xilol, reidratadas em séries decrescentes de etanol (100%-70%),

lavadas em solução salina tamponada (PBS) e incubadas em peróxido de hidrogênio a 3% em metanol por 30 minutos. Posteriormente as lâminas foram imersas em tampão citrato de sódio aquecido a 70°C durante 25 minutos e bloqueadas com soro normal de cabra (16210072, Invitrogen, Burlington, ONT, Canada) a 10% por 1 hora. As lâminas foram incubadas por 12h em anticorpo primário policlonal anti-PCNA em coelho (1:200, Abcam, Cambridge, MA, USA) e policlonal antivitelogenina-salmão em coelho (1:50, V01402201, Biosense Laboratories AS, Bergen, Norway). Posteriormente, as lâminas foram lavadas em PBS tween 0,05% (TWEEN 20, 25564, E.M.S., Hatfield, PA.) e pós-incubadas em anticorpo secundário IgG anti-Rabbit conjugado com peroxidase (1:500, Bioamerica, Inc., São Paulo, SP, Brazil) por 2 horas em temperatura ambiente. As amostras foram lavadas em PBS e relevadas em solução de DAB (3,3' diaminobenzidina) (750118, Invitrogen, Burlington, ONT, Canada) por 5 minutos, depois lavadas em água destilada e analisadas e fotografadas em Eclipse Ci-S photomicroscope (Nikon, Japan) attached to a DS-Ri1 digital camera (Nikon, Japan). Para o controle negativo não foi utilizado anticorpo primário e em substituição, as lâminas foram incubadas em PBS.

2.6. Morfometria das células germinativas e zona radiata

Foram selecionadas três fêmeas de cada espécie para cada estágio de maturação ovariana (imaturado, em maturação, maduro, desovado e repouso) nos períodos pré- e pós-barramento. Os diâmetros dos oócitos (I, II, III e IV) foram obtidos com auxílio de um fotomicroscópio Nikon Eclipse Ci-S H550S acoplado a uma câmera Nikon Digital Sight DS-U3 com magnificação de 10X, usando o software NIS-Elements BR (4.00.07-bit). Foram mensurados somente oócitos que apresentaram núcleo visível. Em cada estágio foram mensuradas 150 células de cada tipo oocitário (I, II, III e IV). A espessura da Zona radiata foi obtida através da morfometria da camada somente nos oócitos tipo IV em 100 células de três fêmeas maduras de cada espécie em cada período pré- e pós-barramento.

2.7. Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram organizados e testados quanto a normalidade através de um ShapiroWilk *S-W* usando o pacote estatístico Bioestat 5.3 (Ayres et al., 2007). usando. Posteriormente os dados foram conduzidos para análises equivalentes, conforme descrito abaixo.

Os diâmetros dos oócitos por estágio separadamente entre os períodos de estudo, e entre as espécies através do um teste não paramétrico Mann-Whitney *U* com $P < 0.05$. As espessuras da Zona Radiata obtidas a partir dos oócitos tipo IV no estágio maduro para cada espécie, em cada período e entre as espécies, separadamente, foram testados através de teste Mann-Whitney *U* com $P < 0.05$.

O Índice Gonadossomático *IGS* foi calculado separadamente para cada espécie em cada estágio de maturação ovariana no pré e pós-barramento através da equação $IGS = MG / MT * 100$, onde *MG* é a massa da gônada e *MT* é a massa total de cada animal, e testados separadamente por estágio na espécie entre pré e pós usando o teste não paramétrico Kruskal-Wallis *K-W* seguido de pós-teste de Dunn com $P < 0.05$ (Zar, 1999), e entre as espécies em cada estágio e em cada período separadamente usando teste Mann-Whitney *U* com $P < 0.05$.

3. Resultados

3.1. Características dos ovários e tipos celulares

Os ovários apresentaram-se como órgãos pares envolvidos por uma túnica albugínea com alta vascularização (Figs. 1, 2). Durante a maturação ovariana foram observados diferentes tipos oocitários: I ou pré-vitelogênico, II ou em vitelogênese inicial, III ou em vitelogênese avançada e IV ou vitelogênico. A organização desses tipos oocitários permitiram a classificação de cinco estádios de maturação para as espécies (Fig. 1): imaturo, em maturação, maturo, desovada e repouso.

O estágio imaturo foi caracterizado por um ovário filiforme de aspecto translúcido (Fig. 1A), com predomínio de oócitos tipo I, que apresentaram citoplasma basófilo de aspecto delgado e de núcleo volumoso contendo nucléolos periféricos (Figs. 1B-C; 2B, F; 5). O diâmetro desta célula em *G. argyrostictus*: Pré – $62.87\mu\text{m} \pm 27.52$; Pós – $55.45\mu\text{m} \pm 20.91$ e em *G. altifrons*: Pré – $61.82\mu\text{m} \pm 22.97$; Pós – $56.82 \pm 22.12\mu\text{m}$). Oócito tipo II que apresentou citoplasma acidófilo e núcleo central, cujo diâmetro em *G. argyrostictus*: Pré – $167.41\mu\text{m} \pm 56.55$; Pós – $137.98\mu\text{m} \pm 55.98$ e *G. altifrons*: Pré – $150.64\mu\text{m} \pm 43.63$; Pós – $94.01\mu\text{m} \pm 14.48$), (Figs. 1B-C; 2D, F;5).

As fêmeas em maturação foram caracterizadas por um ovário volumoso e coloração amarelada com rica ramificação de vasos sanguíneos (Fig. 1D). Neste estágio foram observados oócitos tipos I e II descritos anteriormente e predominância de oócito tipo III caracterizado pelo núcleo volumoso com nucléolos distribuídos no seu interior, citoplasma acidófilo contendo grânulos de vitelo e camadas envoltórias de zona radiata (ZR), células foliculares e teca (Figs. 1E-F; 2G-I). O diâmetro do tipo III para *G. argyrostictus*: Pré – $494.17\mu\text{m} \pm 247.70$; Pós – $317.15\mu\text{m} \pm 78.42$ e para *G. altifrons*: Pré – $332.26\mu\text{m} \pm 80.21$; Pós – $363.30 \pm 112.83\mu\text{m}$), (Fig. 5).

No estágio maturo foi observado ovário volumoso de coloração alaranjada e oócitos visíveis a olho nu (Fig. 1G). Os ovários de *G. argyrostictus* continham oócitos tipos I e IV, enquanto *G. altifrons* apresentavam tipos I, II, III e IV. Nas duas espécies houve predominância de oócitos tipo IV que apresentaram maior volume celular e citoplasma preenchido por grânulos de vitelo (Figs. 1HI;

2J-M). Envolvendo esta célula foi observado zona radiata, células foliculares de formato cubóide e teca. O diâmetro do oócito tipo IV em *G. argyrostictus*: Pré – $860.19\mu\text{m} \pm 188.19$; Pós – $572.45\mu\text{m} \pm 207.55$ e em *G. altifrons*: Pré – $538.38\mu\text{m} \pm 174.81$; Pós – $484.0\mu\text{m} \pm 119.74$), (Fig.5).

No estágio desovado o ovário apresentou aspecto flácido e coloração avermelhada em virtude de regiões hemorrágicas (Fig. 1J). Entre as espécies foram observadas diferenças quanto a organização das células no parênquima ovariano. Em *G. argyrostictus* houve a presença de oócitos em atresia (OA), folículos pós ovulatórios (PFO) e alguns tipos I e III (Figs. 1L; 2N). Em *G. altifrons* foi observado OA, PFO e frequência dos oócitos tipos I, II, III e IV (Fig. 1K).

O estágio em repouso o ovário apresentou tamanho reduzido e formato filiforme, contendo pequenas áreas avermelhadas. Microscopicamente foi observado um lúmen e lamelas ovígeras, delimitadas por uma camada delgada de tecido conjuntivo, contendo oócitos tipos I e II (Fig. 1M-O).

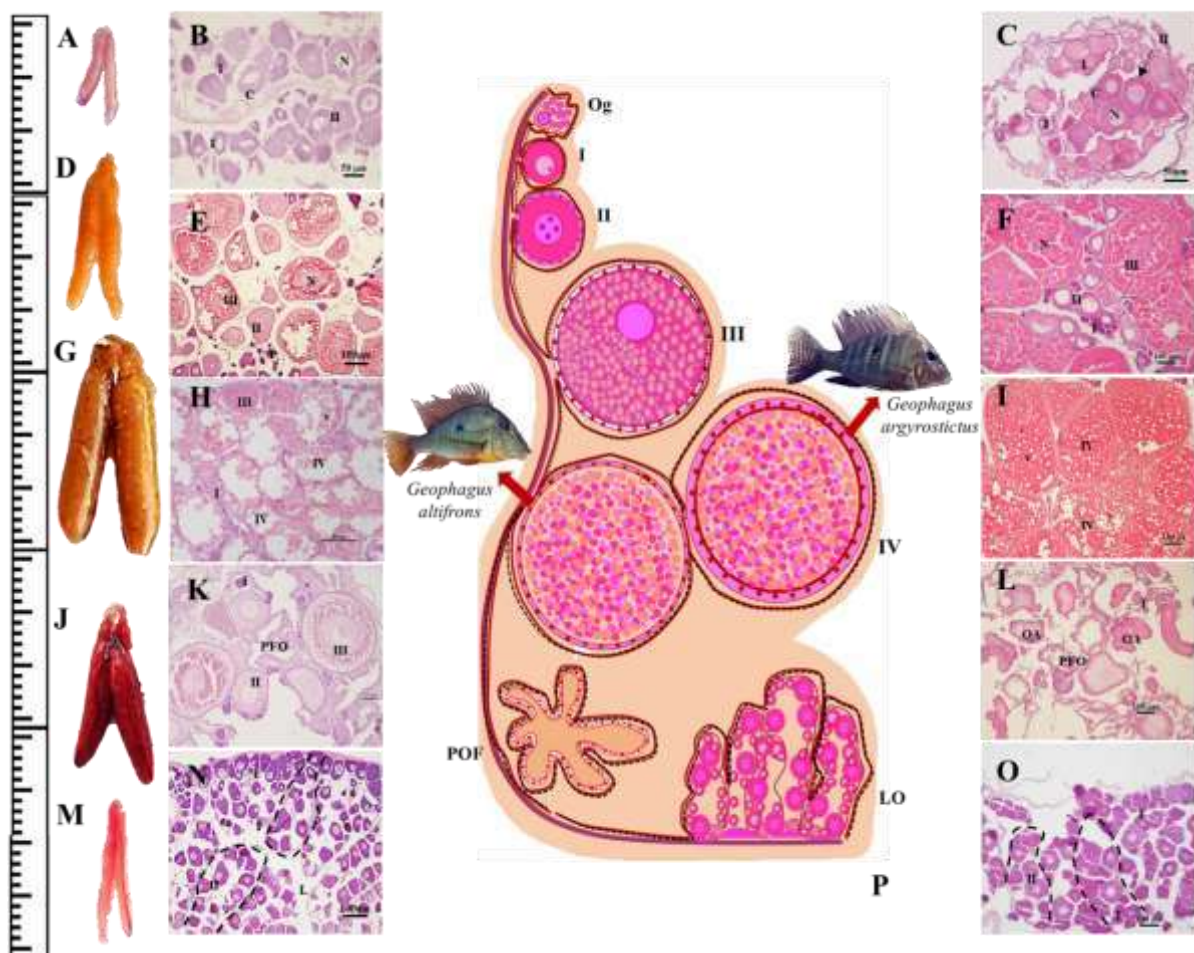


Fig. 1: Aspecto macro e microscópico dos ovários de *Geophagus argyrostictus* e *Geophagus altifrons* do médio rio Xingu. **A-C. Imaturo:** (A) Formato filiforme; (B-C) Presença de oócitos tipos I, II. **DF. Em maturação:** (D) Ovário de coloração amarelada; (E-F) predomínio de oócito tipo III. **G-I.**

Maturo: (G) Aspecto volumoso, coloração alaranjada; (H-I) oócitos tipo IV. **J-L. Desovada:** (J) Ovário flácido com áreas hemorrágicas; (K-L) oócitos tipos I, II, III e folículos pós ovulatórios (FPO). **M-O. Repouso:** (M) Formato filiforme; (N-O) lamelas ovíferas (linha tracejada – LO), oócitos tipos I, II. Lúmen (L) visível. **P.** Desenho esquemático demonstrando a oogênese a partir de ninhos de oogônias (Og) aderidos a lamela ovíferas até oócitos do tipo IV, com formação de FPO e reorganização das lamelas ovíferas.

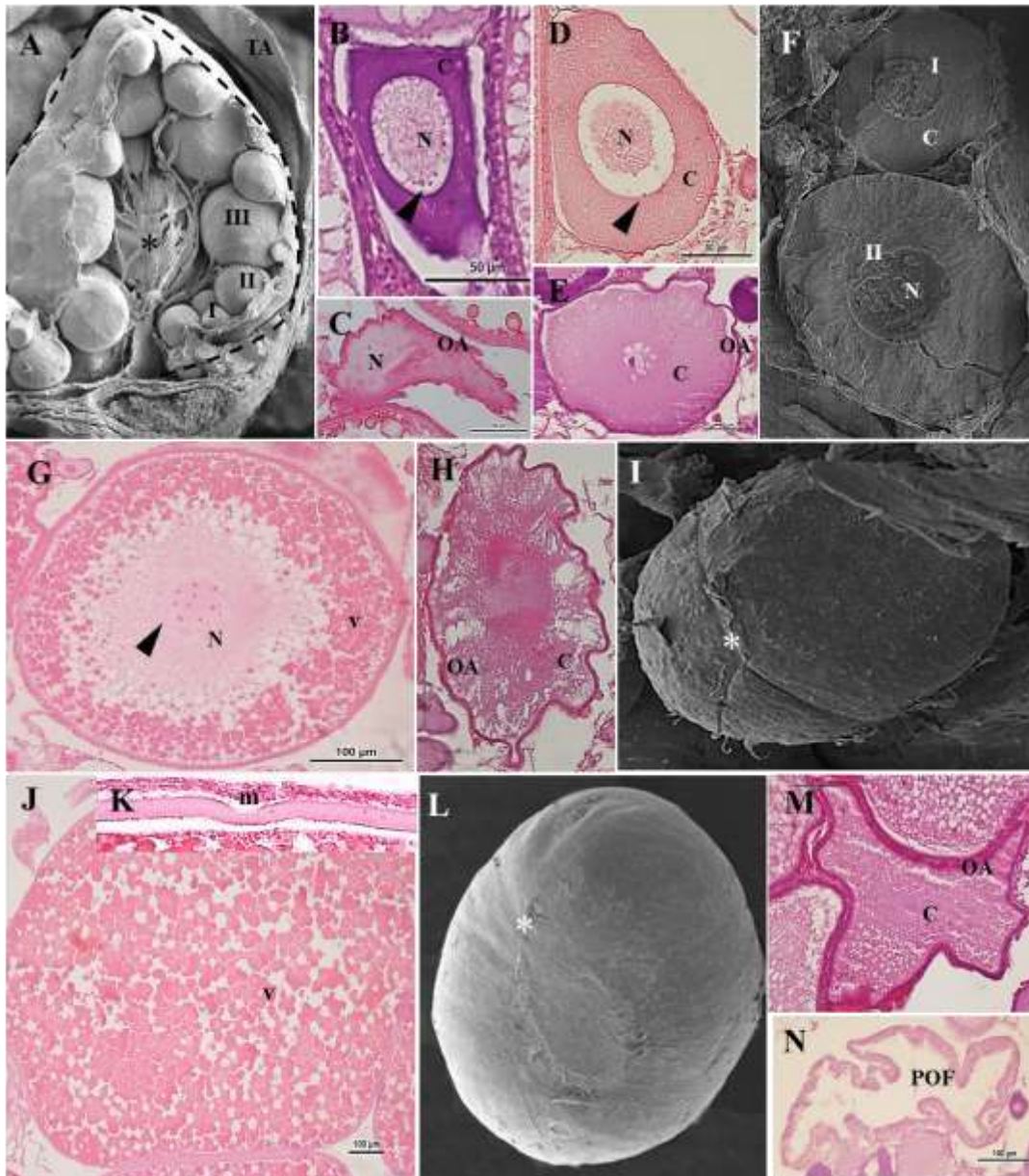


Fig. 2: Fotomicrografia dos tipos oocitários de *Geophagus argyrostictus* e *Geophagus altifrons* do médio rio Xingu no pós-barramento. **A. MEV:** Túnica albugínea (TA) delimitando ovário e lamela ovígera (linha tracejada) com oócitos imersos em uma rede vascular (V). **B.** Oócito tipo I- citoplasma basófilo, núcleo central (N) e nucléolos periféricos (cabeça de seta). **D.** Oócito tipo II de citoplasma basófilo. **J.** Oócito tipo IV com grânulos de vitelo. **K.** detalhe da micrópila (m). **M.** Atresia do oócito IV. **N.** Folículo Pós ovulatório (FPO). **F, I, L. MEV:** Observe a integridade das membranas nuclear e plasmática dos oócitos. **C, E, G, H.** Atresia dos oócitos tipos I, II, III (AO) com núcleo retraído.

3.2. Zona radiata

Diferenças quanto ao desenvolvimento da zona radiata entre os períodos e as espécies em estudo foram observadas em nível ultraestrutural e morfométrico. Em *G. argyrostictus* a zona radiata foi caracterizada por inúmeros canais (Fig. 3B, D). Enquanto em *G. altifrons* de além dos canais, a zona radiata apresentou pequenas projeções citoplasmáticas (Fig. 3C, E). A espessura da zona radiata apresentou valores maiores no pré-barramento *G. argyrostictus* $5.68\mu\text{m} \pm 0.94$ e *G. altifrons* $2.57\mu\text{m} \pm 0.77$, quando comparado para ambas as espécies no pós-barramento, *G. argyrostictus*: $3.17\mu\text{m} \pm 0.61$ e *G. altifrons* $2.18\mu\text{m} \pm 0.53$. Ainda foram observadas diferenças na espessura da zona radiata entre as espécies, sendo maior em *G. argyrostictus* em ambos os períodos de estudo, Pré: $U = 12.72$; $P < 0.05$ – Pós: $U = 12.38$; $P < 0.05$ (Fig. 3F).

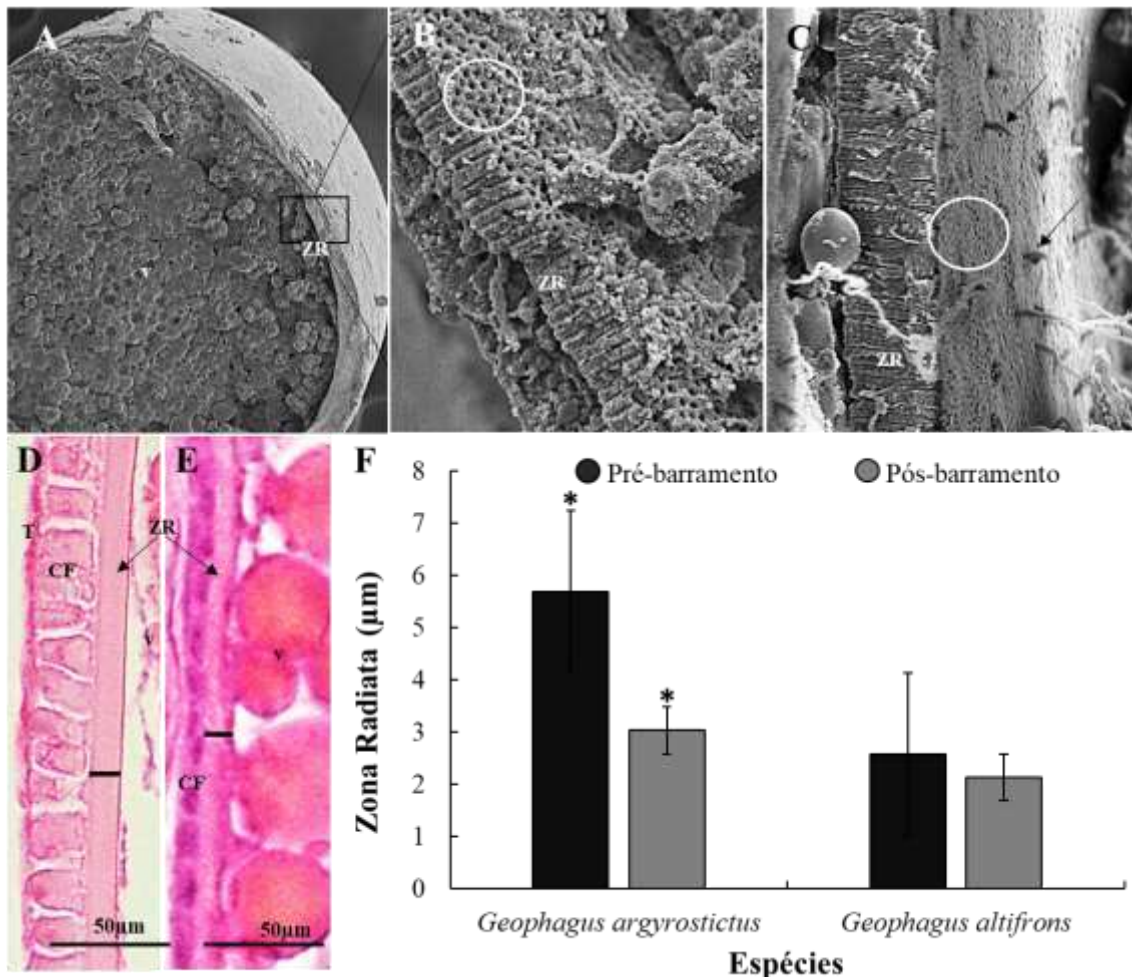


Fig. 3: Fotomicrografia da camada envoltória do oócito tipo IV em *Geophagus argyrostictus* e *Geophagus altifrons* do médio rio Xingu. **A. MEV:** Oócito tipo IV com espessa parede envoltória (retângulo preto). **B, D.** *G. argyrostictus*- detalhe da Zona Radiata (ZR) com presença de numerosos canais (círculo branco), células foliculares (CF) e Teca (T). **C, E.** *G. altifrons*- ZR com canais e pequenas projeções (seta preta). **F.** Análise comparativa da espessura (μm) da ZR (traço preto) pré e pós-barramento do rio. * indica diferenças significativas ($P < 0.05$)

3.3. *Imunoperoxidase*

Durante o desenvolvimento dos oócitos foi observado que anti-PCNA apresentou intensa imunorreação no núcleo dos oócitos tipos I e II, e menor intensidade nos tipos III e IV (Fig. 4A-D). Enquanto, a expressão da anti-vitelogenina ocorreu principalmente no citoplasma e células foliculares dos oócitos III e IV, sendo menos intensa nos oócitos I e II (Fig. 4E-H).

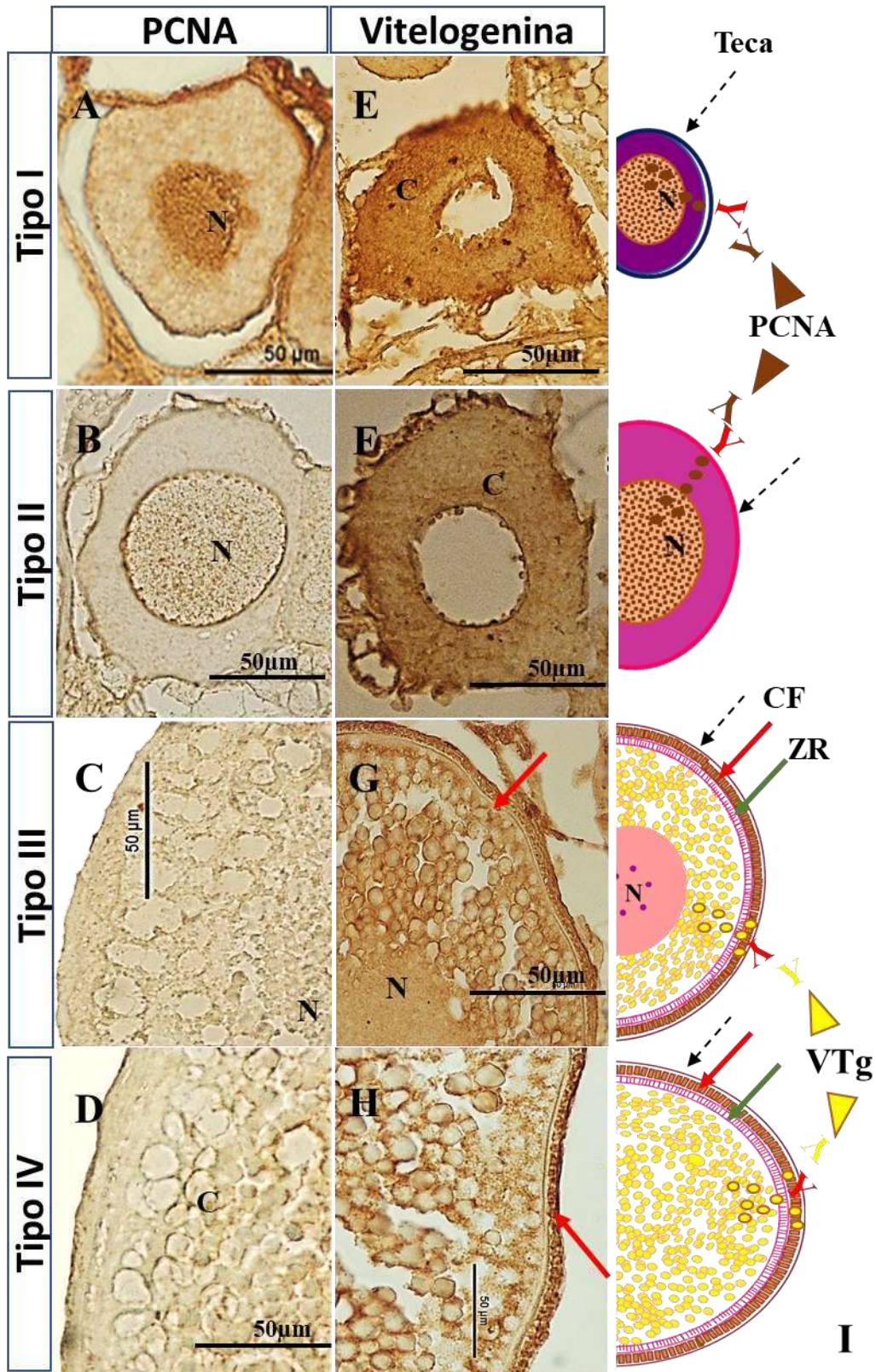


Fig. 4: Imunorreação anti-PCNA e anti-vitelogenin durante a oogênese de *G. argyrostictus* e *G. altifrons* do médio rio Xingu no pós-barramento. A-D. Anti-PCNA. E-H Anti-vitelogenina. A, B. Oócitos tipos I e II, intensa reação nuclear (N). C, D. Oócitos tipos III e IV com fraca imunorreação. E, F. Oócitos tipos I e II com imunorreação nos grânulos citoplasmáticos. F, H. Oócitos tipos III e

IV com intensa imunorreacção nas células foliculares (seta vermelha). I Desenho esquemático mostrando a imunorreacção intensa anti-PCNA nos oócitos tipos I e II e anti-vitelogenina nos oócitos III e IV. Em destaque o aumento gradual da camada envoltória da célula, representadas pela Zona Radiata (seta verde); Célula Folicular (seta vermelha); Teca (seta tracejada).

3.4. Índice Gonadossomático

Quando analisamos a variação do IGS ao longo dos estádios ovarianos entre os períodos de estudo observamos que no pré-barramento havia uma dinâmica marcante no ovário das fêmeas de ambas as espécies, com maior massa no estágio de maduro. Enquanto no pós-barramento foi observado que a dinâmica de maturação e investimento em massa de gônada foi menos intensa e mais homogênea em ambas as espécies de *Geophagus* (Figura 5). A variação do IGS entre as espécies revelou que *G. argyrostictus* apresentou os maiores valores de massa de gônada ao longo dos estádios no pré-barramento ($t = 1.47$; G.L = 157; $P < 0.05$), enquanto *G. altifrons* obteve maior IGS no pós-barramento ($U = 3.41$; $P < 0.05$) (Fig. 5).

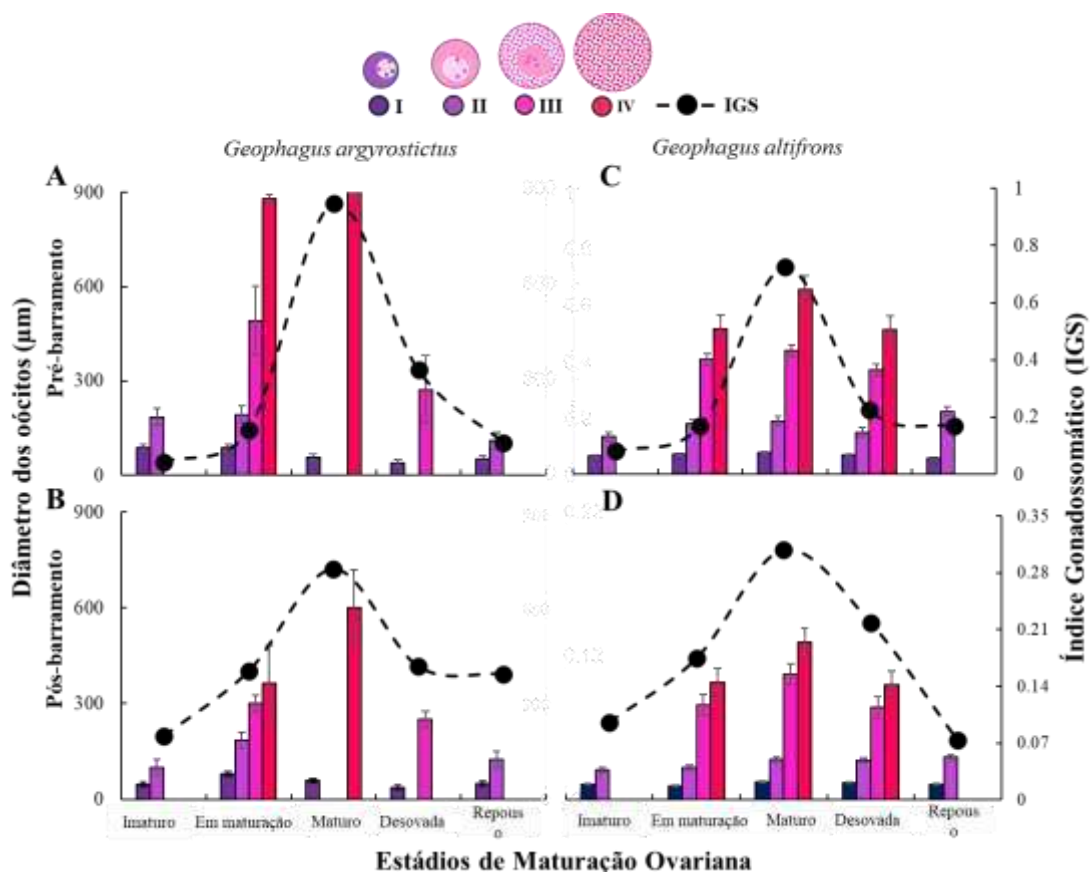


Fig. 5: Relação do diâmetro médio dos oócitos (μm) e Índice Gonadossomático (IGS) ao longo dos estádios ovarianos de duas espécies de *Geophagus* do médio rio Xingu. *G. argyrostictus*: **A.** Pré-barramento. **B.** Pós-barramento. *G. altifrons*: **C.** Pré-barramento. **D.** Pós-barramento.

4 - DISCUSSÃO

Este estudo descreveu e comparou a maturação oocitária em duas espécies de *Geophagus* entre os períodos pré e pós-barramento do rio Xingu. Observamos que o desenvolvimento dos estádios foi semelhante entre as espécies. Porém, o desenvolvimento dos oócitos ocorreu de forma diferenciada entre períodos estudados, sendo maior para ambas as espécies no pré-barramento, e entre espécies *G. argyrostictus* apresentou células maiores.

A morfologia dos ovários representa um importante parâmetro para entender alguns traços de história de vida dos peixes e adaptações ao ambiente (Martins et al., 2011; Arantes et al., 2017). Microscopicamente foram descritos dois tipos de crescimento para os oócitos: primário e secundário que apresentaram uma progressão no tamanho das células e intensa participação de proteínas sendo evidenciadas pela imunoperoxidase. No crescimento primário houve semelhança quanto a morfologia dos oócitos tipos I e II nos estádios imaturo e em maturação entre os *Geophagus*. Nessa fase, ocorre nas células a proliferação de organelas celulares e diferenciação, o que justifica a intensa imunorreação para anti-PCNA, principalmente no núcleo dos oócitos tipos I e II e fraca para antivitelogenina. Resultados semelhantes foram observados em *Prochilodus argenteus* Spix & Agassiz, 1829 (Thomé et al., 2012). Possivelmente nos estágios imaturo e em maturação ocorre intensa atividades de reparo e de revisão do DNA sintetizado, otimizando assim o desenvolvimento e maturação dos oócitos.

O crescimento secundário ou vitelogênico foi caracterizado pelos oócitos tipos III e IV que apresentaram uma menor imunorreação anti-PCNA. Nesta fase os oócitos encontram-se em crescimento em virtude da incorporação de vitelo, observado pela intensa imunorreação antivitelogenina, principalmente nas células foliculares, revelando importante função destas células em sintetizar a vitelogenina e transportar para o interior dos oócitos para acumular o vitelo (Hara et al., 2016). Um aspecto marcante observado durante a maturação oocitária foi a ocorrência da atresia dos oócitos. Estudos demonstraram que em rios barrados, em virtude das possíveis alterações físicoquímica da água, as espécies de peixes tendem a apresentar um elevado índice de atresia oocitária (Arantes et al., 2010; Paschoalini et al., 2013). Esse aspecto sugere ação de um mecanismo endócrino hormonal que podem interferir na oogênese e conseqüentemente na reprodução das espécies.

A relação morfométricas dos oócitos em *Geophagus* do presente estudo foi observado que *G. argyrostictus* apresentou células maiores em todos os estádios de maturação ovariana quando comparado com *G. altifrons*. As diferenças nos diâmetros dos oócitos podem ocorrer dentro de um mesmo gênero, devido a diferenciação na expressão gênica que ocorre nas espécies (Patiño e Sullivan,

2002; Kolm e Ahnesjö, 2005). No pós-barramento em todos os estádios observamos uma redução no diâmetro dos oócitos da espécie, principalmente em *G. argyrostictus* que foi o mais afetado. Embora as espécies possuam o hábito sedentário, as alterações ambientais provocadas pelo pós-barramento comprometeram as reservas nutricionais para garantir a qualidade dos oócitos.

Tal fato pode ser reforçado quando comparamos a zona radiata (ZR) dos oócitos tipo IV entre as espécies, principalmente em *G. argyrostictus* que é endêmico, a camada é mais espessa. Por outro lado, somente *G. altifrons* apresentou pequenas projeções na ZR. Vale ressaltar que no pré-barramento, a espessura da ZR demonstrou uma característica de maior adesividade para ambas as espécies, sobretudo em *G. argyrostictus*. A ZR é um complexo de matriz extracelular constituída de inúmeros canais (Radael et al., 2016) e apresenta duas camadas, a interna contém carboidratos e a externa contém macromoléculas que permite a interação com o ambiente, auxiliando na adesão dos oócitos ao substrato (Riehl e Patzner, 1998). Por essa razão a espessura da ZR é variável e reflete mecanismos adaptativos às condições ambientais (Fausto et al., 2004). Essa condição pode explicar a redução da espessura de ZR de oócitos de *G. argyrostictus* encontrados nos pós-barramento, o que sugere uma redução de adesividade e vulnerabilidade da célula no ambiente,

Considerando a geomorfologia do rio Xingu no período de pré barramento, principalmente na região da Volta Grande apresenta corredeiras e trechos rochosos, as espécies podem apresentar especializações morfológicas para se adaptar ao ambiente. Acreditamos que as maiores células e maior camada de ZR confere um alto grau de adesividade aos oócitos de *G. argyrostictus*, como observado em *Hypancistrus zebra* Isbrücker & Nijssen, 1991 (Viana et al., 2018), *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 e *Curimatella Lepidura* Eigenmann & Eigenmann, 1889 (Rizzo et al., 2002). Por outro lado, em *G. altifrons* os oócitos menores e uma camada ZR menos desenvolvida é compensada pela presença de projeções que desenvolvem função semelhante conferindo adesividade aos oócitos. Essa característica foi observada em outras espécies como *Hoplias cf. lacerdae* Miranda Ribeiro, 1908 (Riehl e Patzner, 1998). É importante ressaltar que geralmente as camadas de ZR mais complexas e com aspecto de adesividade, como observado no presente estudo, são características de espécies com hábito sedentário que investem em oócitos de maior volume (Santos et al., 2019).

Após a desova há uma redução da massa gonadal devido a eliminação dos oócitos vitelogênicos, restando alguns oócitos de menor volume nas gônadas. É um mecanismo natural semelhante ao observado em outras espécies como *Oligosarcus hepsetus* Cuvier, 1829 (Gomiero et al., 2008). O aumento do IGS das espécies indica o estágio de maturação ovariana e no presente estudo foi associado com a alteração do fluxo/nível do rio Xingu e verificamos que esse fator possivelmente está afetando o processo da oogenese nos *Geophagus*. Visto que as barragens

promovem severas alterações nos rios, como redução da vazão, perda de ambientes, redução nas áreas de alimentação para muitas espécies, além de afetar a qualidade da água (Dewson et al., 2007; SouzaCruz-Buenaga et al., 2019; Maavara et al., 2020). O desenvolvimento dos oócitos exige um grande investimento energético das fêmeas e depende de fatores internos (p.ex. hormônios) e fatores externos (Vazzoler, 1996; Quagio-Grassiotto et al., 2011). Então, considerando o atual cenário do rio Xingu, as gônadas das fêmeas dos *Geophagus* podem estar se ajustando ao novo ambiente verificado pelo menor tamanho médio dos oócitos e pela redução de adesividade dos ovos. Essa característica é importante para os peixes sedentários do rio Xingu que geralmente realizam cuidado parental.

5. Conclusões

Os teleósteos apresentam variadas adaptações morfológicas em nível celular que servem como importantes parâmetros para entender como as espécies estão relacionadas entre si, e como se adaptam ao ambiente (Nelson et al., 2016; González-Kother et al., 2020). No entanto, também, revelam dados preocupantes quando são observadas em decorrência de mudanças ambientais, como observado no presente estudo, onde alteração do nível/fluxo do rio afetou o processo de oogênese de *G. argyrostictus* e *G. altifrons*, por conseguinte poderá afetar a reprodução das espécies.

Financiamentos

O presente estudo não teve suporte financeiro.

Declaração de interesses

Os autores declaram não haver quaisquer conflitos de interesses para a publicação do estudo.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal do Pará (UFPA) pelo suporte físico, a Coordenação de Apoio de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo para a discente Yanne Alves Mendes, e ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela concessão da licença de coleta dos exemplares.

Referências

- Arantes, F. P., H. B. Santos, E. Rizzo, Y. Sato & N. Bazzoli. 2010. Profiles of sex steroids, fecundity, and spawning of Curimatapacu *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River, downstream from Três Marias dam, Southeastern Brazil. *Animal Reproduction Science*, 118: 330-336.
- Arantes, F.P., Silva, F.A., Santos, J.E., Rizzo, E., Sato, Y., Bazzoli, N., 2017. Comparative morphology of gonads from six species of fish belonging to the family Anostomidae (Characiformes: Anostomidae). *Rev. Biol. Trop.* 65, 713–723. <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i2.23988>
- Ayres, M., Ayres-Júnior, M., Ayres, D.L., Santos, A.S., 2007. *BioEstat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biológicas e Médicas*, Sociedade Civil Mamirauá, Belém
- Bazzoli, N., Godinho, H.P., 1994. Cortical alveoli in oocytes of freshwater neotropical teleost fish. *Bolletino di Zool.* 61, 301–308. <https://doi.org/10.1080/11250009409355899>
- Babin, P.J., Cerdà, J., Lubzens, E., 2007. *The Fish Oocyte. From Basic Studies to Biotechnological Applications*. Springer, Dordrecht, NL
- Blount, J.D., Houston, D.C., Moller, A.P., 2000. Why egg yolk is yellow. *Trends Ecol. Evol.* [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01774-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01774-7)
- Buckup, P.A., Santos, G.M., 2010. Ictiofauna da ecorregião Xingu-Tapajós: fatos e perspectivas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia* 98, 3–9.
- Camargo, M., Giarrizzo, T., Isaac, V.J., 2015. Parâmetros biológicos e populacionais de peixes do meio Rio Xingu, Bacia Amazônica. *Brazilian J. Biol.* 75, S112–S124. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.01914BM>
- Dewson, Z.S., James, A.B.W., Death, R.G., 2007. A review of the consequences of decreased flow for instream habitat and macroinvertebrates. *J. North Am. Benthol. Soc.* 26, 401–415. <https://doi.org/10.1899/06-110.1>
- Fausto, A.M., Picchietti, S., Taddei, A.R., Zeni, C., Scapigliati, G., Mazzini, M., Abelli, L., 2004. Formation of the egg envelope of a teleost, *Dicentrarchus labrax* (L.): Immunochemical and cytochemical detection of multiple components. *Anat. Embryol. (Berl)*. 208, 43–53. <https://doi.org/10.1007/s00429-003-0372-z>
- França, G.F., Grier, H.J., Quagio-Grassiotto, I., 2010. A new vision of the origin and the oocyte development in the ostariophysii applied to *Gymnotus sylvius* (Teleostei, Gymnotiformes). *Neotrop. Ichthyol.* 8, 787–804. <https://doi.org/10.1590/s1679-62252010000400008>
- Gomiero, L.M., Garuana, L., Braga, F.M.S., 2008. Reproduction of *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) Characiforms in the Serra do Mar State Park, São Paulo, Brazil. *Brazilian J. Biol.* 68, 187–192. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000100027>
- González-Kother, P., Oliva, M.E., Tanguy, A., Moraga, D., 2020. A review of the potential genes implicated in follicular atresia in teleost fish. *Mar. Genomics*.

<https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.100704>

- Grier, H.J., Uribe Aranzábal, M.C., Patiño, R., 2009. The ovary, folliculogenesis, and oogenesis in teleosts. In: Jamieson, B.G.M. (Ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes)*. Enfield, NH: Science Publishers, pp. 26–84
- Grier, H.J., Neidig, C.L., Quagio-Grassiotto, I., 2017. Development and fate of the postovulatory follicle complex, postovulatory follicle, and observations on folliculogenesis and oocyte atresia in ovulated common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *J Morphol.* 278, 1–16.
- Guraya, S.S., 1986. *The cell and molecular biology of fish oogenesis*. Monogr. Dev. Biol. 18. Karger, Basel. 213p.
- Guzmán, J.M., Luckenbach, J.A., Yamamoto, Y., Swanson, P., 2014. Expression profiles of fish-regulated ovarian genes during oogenesis in coho salmon. *PLoS One* 9, 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114176>
- Hara, A., Hiramatsu, N., Fujita, T., 2016. Vitellogenesis and choriogenesis in fishes. *Fish. Sci.* <https://doi.org/10.1007/s12562-015-0957-5>
- Kagawa, H., 2013. *Oogenesis in Teleost Fish*. Aqua-BioScience Monogr. 6, 99–127. <https://doi.org/10.5047/absm.2013.00604.0099>
- Kolm, N., Ahnesjö, I., 2005. Do egg size and parental care coevolve in fishes? *J. Fish Biol.* 66, 1499–1515. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00777.x>
- Korfsmeier, K.H., 2002. PCNA in the ovary of zebrafish (*Brachydanio rerio*, Ham.- Buch.). *Acta Histochem.* 104, 73–76. <https://doi.org/10.1078/0065-1281-00632>
- Laale, H.W., 1980. The Perivitelline Space and Egg Envelopes of Bony Fishes: A Review. *Copeia* 1980, 210. <https://doi.org/10.2307/1443999>
- Lowerre-Barbieri, S.K., Ganius, K., Saborido-Rey, F., Murua, H., Hunter, J.R., 2011. Reproductive timing in marine fishes: Variability, temporal scales, and methods. *Mar. Coast. Fish.* 3, 71–91. <https://doi.org/10.1080/19425120.2011.556932>
- Lubzens, E., Bobe, J., Young, G., Sullivan, C. V., 2017. Maternal investment in fish oocytes and eggs: The molecular cargo and its contributions to fertility and early development. *Aquaculture* 472, 107–143. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.029>
- Maavara, T., Chen, Q., Van Meter, K., Brown, L.E., Zhang, J., Ni, J., Zarfl, C., 2020. River dam impacts on biogeochemical cycling. *Nat. Rev. Earth Environ.* 1, 103–116. <https://doi.org/10.1038/s43017-019-0019-0>
- Martins, Y.S., Arantes, F.P., Sato, Y., Santos, J.E., Rizzo, E., & Bazzoli, N., 2011. Comparative analysis of gonadal morphology in six fish species of the Incertae Sedis genera in Characidae of occurrence in the São Francisco River Basin, Brazil. *Acta Zool-Stockholm.* 93, 48-56. doi: 10.1111/j.1463-6395.2010.00478.x
- Melo, R.M.C., Arantes, F.P., Sato, Y., dos Santos, J.E., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2011. Comparative morphology of the gonadal structure related to reproductive strategies in six species of

- neotropical catfishes (Teleostei: Siluriformes). *J. Morphol.* 272, 525–535. <https://doi.org/10.1002/jmor.10931>
- Melo, R.M.C., Martins, Y.S., Luz, R.K., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2015. PCNA and apoptosis during post-spawning ovarian remodeling in the teleost *Oreochromis niloticus*. *Tissue Cell.* 47, 541–549
- Mendes, Y.A., Ferreira, M.A.P., Lobato, C.M.C., Silva, G.M.F., Montag, L.F.A., Rocha, R.M., 2017. Reproductive characteristics of pike-characids *Boulengerella cuvieri* (Ctenoluciidae) in the middle Xingu River, Eastern Amazon. *J. Fish Biol.* 91, 346–353. <https://doi.org/10.1111/jfb.13339>
- Nelson, J.S., Grande, T.C., Wilson, M.V.H., 2016. *Fishes of the World*, 5th edition. John Wiley & Son, New Jersey
- Paschoalini, A.L., Perini, V.R., Ribeiro, D.M., Formagio, P.S., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2013. Reproduction of *Pimelodus maculatus* (Siluriformes: Pimelodidae) in three sections of Grande River basin, downstream Porto Colombia dam, south-eastern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 11(3):615-623.
- Patiño, R., Sullivan, C.V., 2002. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiol. and Biochem.* 26, 57–70.
- Pérez, M.S., 2015. Where the Xingu bends and will soon break: a hotly contested megadam threatens one of the world's greatest assemblages of rapids-adapted fishes and homogenizes an incubator for evolutionary diversity. *Am. Sci.* 103, 395–403.
- Prophet, E.B., Milis, B., Arrington, J.B., Sobin, L.H. 1995. *Métodos histotécnicos*. Washington, DC: Instituto de Patología de Las Fuerzas Armadas de Los Estados Unidos de América.
- Quagio-Grassiotto, I., Grier, H., Mazzoni, T.S., Nóbrega, R.H., De Arruda Amorim, J.P., 2011. Activity of the ovarian germinal epithelium in the freshwater catfish, *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes): Germline cysts, follicle formation and oocyte development. *J. Morphol.* 272, 1290–1306. <https://doi.org/10.1002/jmor.10981>
- Radael, M.C., Fosse, P.J., da Silva, R.M., Filho, J.C.F., de Andrade, D.R., Junior, M.V.V., 2016. Descrição morfológica dos ovários do peixe *Melanotaenia boesemani* em atividade reprodutiva. *Pesqui. Vet. Bras.* 36, 893–900. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000900016>
- Rizzo, E., Sato, Y., Barreto, B.P., Godinho, H.P., 2002. Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. *J. Fish Biol.* 61, 615–632. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2002.2085>
- Santos, J.E., Marcon, L., Guedes Brito, M.F., Sales, N.G., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2019. Reproductive biology of the Neotropical catfish *Iheringichthys labrosus* (Siluriformes: Pimelodidae), with anatomical and morphometric analysis of gonadal tissues. *Anim. Reprod. Sci.* 209, 106173. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106173>
- Souza-Cruz-Buenaga, F.V.A., Espig, S.A., Castro, T.L.C., Santos, M.A., 2019. Environmental impacts of a reduced flow stretch on hydropower plants. *Brazilian J. Biol.* 79, 470–487. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.183883>

- Sullivan, C. V, Yilmaz, O., 2018. Vitellogenesis and yolk proteins, fish, in: Encyclopedia of Reproduction. pp. 266–277. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20567-0>
- Thomé, R.G., Domingos, F.F.T., Santos, H.B., Martinelli, P.M., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2012. Apoptosis, cell proliferation and vitellogenesis during the folliculogenesis and follicular growth in teleost fish. *Tissue Cell* 44, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.11.002>
- Vazzoler, A.E.A.M., 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Eduem/SBI/CNPq/Nupélia, Maringá. 169 p
- Viana, I.K.S., Gonçalves, L.A.B., Ferreira, M.A.P., Mendes, Y.A., Rocha, R.M., 2018. Oocyte growth, follicular complex formation and extracellular-matrix remodeling in ovarian maturation of the imperial zebra pleco fish *Hypancistrus zebra*. *Sci. Rep.* 8, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32117-7>
- Yamagami, K., Hamazaki, T.S., Yasumasut, S., Masuda, K., Iuchi, I., 1992. Molecular and Cellular Basis of Formation, Hardening, and Breakdown of the Egg Envelope in Fish. *Int. Rev. Cytol.* 136, 51–92. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)62050-1](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62050-1)
- Zhang, S., Dong, Y., Cui, P., 2015. Vitellogenin is an immunocompetent molecule for mother and offspring in fish. *Fish Shellfish Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.08.011>
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

4 Conclusão Geral

Em nossos estudos descrevemos aspectos ecológicos e morfológicos da biologia reprodutiva de duas espécies de ciclídeos, *Geophaus argyrostictus* e *Geophagus altifrons* através da análise dos traços de história de vida: proporção sexual, relação massa-comprimento, fator de condição, índice gonadossomático, frequência de estádios, tipo de desova e comprimento de primeira maturidade sexual. Ainda foi observado a oogênese e morfometria das células germinativas em ambas as espécies. Esses estudos foram realizados em dois períodos, antes e após a instalação de uma barragem hidrelétrica no rio Xingu.

Notadamente, observamos que os traços de história de vida analisados foram alterados negativamente no período pós-barramento, principalmente na espécie endêmica, machos e fêmeas de *G. argyrostictus*. Para *G. altifrons*, as fêmeas apresentaram comportamento similar ao endêmico, enquanto os machos mantiveram o mesmo padrão reprodutivo em ambos os períodos de estudo.

Quanto aos aspectos morfológicos e morfométricos da oogênese, nossos resultados mostraram que os ovários apresentaram estádios de maturação bem definidos para ambas as espécies e períodos de estudo. Foi observado, no pós-barramento, redução no diâmetro dos oócitos e na espessura da zona radiata, em destaque ao tipo IV, e maior presença de atresia dos oócitos, principalmente em *G. argyrostictus*.

Nossos dados sugerem que em virtude das alterações do nível/fluxo do rio, as espécies sedentárias representam uma base para avaliação da ictiofauna de ambientes que sofrem influência antrópica. Ressaltando a importância do monitoramento contínuo das espécies endêmicas como medida de preservação e conservação.

5 Publicações durante o Doutorado

1 – MENDES, Y. A.; Ferreira, M.A.P; LOBATO, C. M. C.; SILVA, G. M. F.; MONTAG, L. F. A.; Rocha, R.M. Reproductive characteristics of pike-characids *Boulengerella cuvieri* (CTENOLUCIIDAE) in the middle Xingu River, Eastern Amazon. JOURNAL OF FISH BIOLOGY, v. 91, p. 346-353, 2017. <https://doi.org/10.1111/jfb.13339>

2 – VIANA, IVANA KERLY S.; GONÇALVES, LIZIANE A. B.; FERREIRA, MARIA AUXILIADORA P.; MENDES, YANNE A.; ROCHA, ROSSINEIDE M. Oocyte growth, follicular complex formation and extracellular-matrix remodeling in ovarian maturation of the imperial zebra pleco fish *Hypancistrus zebra*. SCIENTIFIC REPORTS, v. 8, p. 1-10, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32117-7>

3 – MENDES, YANNE A.; LEE, JAMES T. ; VIANA, IVANA K.S. ; ROCHA, ROSSINEIDE M. ; FERREIRA, MARIA A.P. . Reproductive biology of the tiger pleco *Panaqolus tankei* (Loricariidae) in a lentic system of the Amazon Basin. JOURNAL OF FISH BIOLOGY, v. 93, p. 711-714, 2018. <https://doi.org/10.1111/jfb.13735>

4 – SILVA, G. M. F. ; MENDES, Y. A. ; VIANA, IVANA KERLY S. ; GONÇALVES, LIZIANE A. B. ; OLIVEIRA, R. S. ; ROCHA, ROSSINEIDE M. ; FERREIRA, M. A. P. . Morphometry, frequency and ultrastructure of male germ cells in morphotypes of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). ZOOLOGISCHER ANZEIGER, v. 278, p. 46-56, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2018.11.002>

5 - PANTOJA, JULIANA CAROLINE DIAS; OLIVEIRA, LUIZ FERNANDO SILVA ; FERREIRA, MARIA AUXILIADORA PANTOJA ; SILVA, BRENO RICHARD MONTEIRO ; NUNES, ZÉLIA MARIA PIMENTEL ; MENDES, YANNE ALVES ; DE OLIVEIRA, RENATA SILVA ; DA ROCHA, ROSSINEIDE MARTINS . Salinity and rainfall as inducers of cell proliferation and apoptosis in mangrove oyster *Crassostrea gasar* spermatogenesis. REGIONAL STUDIES IN MARINE SCIENCE, v. 39, p. 101411, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101411>

6 REFERÊNCIAS

- Agostinho, A.A.; Marques, E.E.; Agostinho, C.S.; Almeida, D.A.; Oliveira, R.J.; Melo, J.R.B. 2007. Fish ladder of Lajeado Dam: migrations on one-way routes? *Neotrop. Ichthyol*, 5:121 - 130.
- Ansar, A.; Flyvbjerg, B.; Budzier, A.; Lunn, D. 2014. Should we build more large dams? The actual costs of hydropower megaproject development. *Energy Police*, 69: 43-56.
- Antonio, R.R.; Agostinho, A.A.; Pelicice, F.M.; Bailly, D.; Okada, E.K.; Dias, J.H.P. 2007. Blockage of migration routes by dam construction: can migratory fish find alternative routes? *Neotrop. Ichthyol*, 5: 177-184.
- Barthem, R.B.; Ribeiro, M.C.L.B.; Petrere Jr., M. 1991. Life strategies of some long-distance migratory catfish in relation to hydroelectric dams in the Amazon basin. *Biological Conservation*, 55: 339-345.
- Buckup, P.A., Santos, G.M. 2010. Ictiofauna da ecorregião Ingu-Tapajós: fatos e perspectivas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia*, 98: 3–9.
- Camargo, M., Giarrizzo, T.; Isaac, VJ. (2015). Populations and biological parameters of select fish species from the Xingu River, Amazon Basin. *Brazilian Journal of Biology* 75, S112–S124. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.01919BM>
- Carvajal-Quintero, JD.; Januchowski-Hartley, SR.; Maldonado-Ocampo, JÁ.; Jézéquel, C.; Delgado, J.; Tedesco, PA. 2017. Damming Fragments Species' Ranges and Heightens Extinction Risk. *Conservation Letters*, 10: 708-716. doi:10.1111/conl.12336.
- Cella-Ribeiro, A.; Assakawa, L.F.; Torrente-Vilara, G.; Zuanon, J.; Leite, R.G.; Doria, C.; Duponchelle, F. 2015. Temporal and spatial distribution of young *Brachyplatystoma* spp. 86 (Siluriformes: Pimelodidae) along the rapids stretch of the Madeira River (Brazil) before the construction of two hydroelectric dams. *Journal of Fish Biology*, 86: 1429-1437.

- Chellappa, S. 2000. A review on reproductive strategies and ecology of cichlid fishes of Northeastern Brazil. *Revista de Ecologia Aquática Tropical*, 10: 5 -11.
- Chellappa, S.; Huntingford, FA.; Strang, RHC.; Thomson, RY. 1995. Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 47: 775-787.
- Finer, M.; Jenkins, CN. 2012. Proliferation of hydroelectric dams in the Andean Amazon and implications for Andes-Amazon connectivity. *PLoS ONE*, 7:e35126
- Fitzgerald, DB.; Sabaj Pérez, MH.; Sousa, LM.; Gonçalves, AP.; Rapp Py-Daniel, L.; Lujan, NK.; Zuanon, J.; Winemiller, K.; Lundberg, JG. 2018. Diversity and community structure of rapidsdwelling fishes of the Xingu River: Implications for conservation amid large-scale hydroelectric development. *Biological Conservation*, 222: 104-112.
- Froese, BR. 2006. Cube law, condition factor and weight – length relationships : history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 241–253. www.doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x
- Gao, X.; Li, MZ.; Lin, PC.; Duan, ZH.; Liu, HZ. 2013. Environmental cues for natural reproduction of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* Gray, 1835, in the Yangtze River, China. *Journal of Applied Ichthyology*, 29:1389–1394.
- Godinho, A.L.; Kynard, B. 2008. Migratory fishes of Brazil: Life history and fish passage needs. *River Research and Applications*, 25: 702-712.
- Goulding, M. 1980. *The fishes and the forest: Explorations in Amazonian natural history*. University of California Press, Berkeley
- Kareiva, PM. 2012. Dam choices: analyses for multiple needs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America*, 109: 5553-5554.

Lees, AC.; Peres, CA.; Fearnside, PM.; Schneider, M.; Zuanon, JAS. 2016. Hydropower and the future of Amazonian biodiversity. *Biodiversity Conservation*, 25: 451-466.

Nilsson, C.; Reidy, CA.; Dynesius, M.; Revenga, C. 2005. Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. *Science*, 308: 405-408.

Poirier, C. 2012. Belo Sun Mining sets sights on golden opportunity in the Xingu. <http://amazonwatch.org/news/2012/1005-belo-sun-mining-sets-sights-on-golden-opportunity-inthe-xingu>

Prado, AP.; Athayde, S.; Mossa, J.; Bohlman, S.; Leite, F.; Oliver-Smith, A. 2016. How much is enough? An integrated examination of energy security, economic growth and climate change related to hydropower expansion in Brazil. *Renew Sustain Energy*, 53:1132–1136

Rossoni, F.; Amadio, A.; Ferreira, E.; Zuanon, J. 2010. Reproductive and population parameters of discus fish *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904 (Perciformes: Cichlidae) from PiagaçuPurus Sustainable Development Reserve (RDS-PP), lower Purus River, Amazonas, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 8: 379-383.

Sabaj-Pérez, MH. 2015. Where the Xingu bends and will soon break. *American Science*, 103: 395403.

Winemiller, K. O., McIntyre, P. B., Castello, L., Fluet-Chouinard, E., Giarrizzo, T., Nam, S., Baird, I.G., Darwall, W., Lujan, N.K., Harrison, I., Stiassny, M.L.J., Silvano, R.A.M., Fitzgerald, D. B., Pelicice, F. M. A., Agostinho, A., Gomes, L. C., Albert, J. S., Baran, E., Petrere, M. Jr., Zarfl, C., Milligan, M., Sullivan, J. P., Arantes, C. C., Sousa, L. M., Koning, A.A., Hoeninghaus, D.J., Sabaj, M., Lundberg, J.G., Armbruster, J., Thieme, M. L., Petri, P., Zuanon, J., Torrente Vilara, G., Snoeks, J., Ou, C., Rainboth, W., Pavanelli, C. S., Akama, A., van

- Soesbergen, A. & Sáenz, L. (2016). Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon, Congo and Mekong. *Science* 351, 128–129.
- Zarfl, C.; Lumsdon, AE.; Berlekamp, J.; Tydecks, L.; Tockner, K. 2015. A global boom in hydropower dam construction. *Aquatic Science*, 77: 161-170.
- Zeug, SC.; Winemiller, KO. 2008. Relationships between hydrology, spatial heterogeneity, and fish recruitment dynamics in a temperate floodplain river. *River Research and Applications*, 24: 90-102. <http://dx.doi.org/10.1002/rra.1061>.
- Zhang, X.; Gao, X.; Wang, JW.; Cao, WX. 2015. Extinction risk and conservation priority analyses for 64 endemic fishes in the Upper Yangtze River, China. *Environmental Biology of Fishes*, 98:261–272.