

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DA SALINIDADE NA MATURAÇÃO SEXUAL E NO DESEMPENHO  
DE MOLINÉSIA VELÍFERA**

**FILIFE DOS SANTOS CIPRIANO**

**BELO HORIZONTE-MG**

**MARÇO - 2017**

**FILIPPE DOS SANTOS CIPRIANO**

**EFEITO DA SALINIDADE NA MATURAÇÃO SEXUAL E NO DESEMPENHO  
DE MOLINÉSIA VELÍFERA**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado em Zootecnia, da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia

**Área de concentração:** Produção Animal

**Orientador:** Prof. Dr. Kleber Campos Miranda Filho

**Coorientadora:** Prof. Dra. Cintia Labussière Nakayama

**Coorientador:** Prof. Dr. Ronald Kennedy Luz

**BELO HORIZONTE-MG**

**MARÇO - 2017**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do  
Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFMG

Cipriano, Filipe

EFEITO DA SALINIDADE NA MATURAÇÃO SEXUAL E  
NO DESEMPENHO DE MOLINÉSIA VELÍFERA [manuscrito] :  
EFEITO DA SALINIDADE NA MATURAÇÃO SEXUAL E NO  
DESEMPENHO DE MOLINÉSIA VELÍFERA / Filipe Cipriano. -  
2017.

61 f.

Orientador: Kleber Miranda Filho.

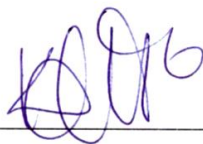
Coorientadora: Cintia Nakayama.

Coorientador: Ronald Luz

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais,  
Escola de Veterinária.

1.Molinésia. 2.Piscicultura ornamental. 3.Poeciliidae.  
4.Reprodução. I.Miranda Filho, Kleber. II.Nakayama, Cintia.  
III.Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.  
IV.Título.

Tese defendida e aprovada em 10/03/2017 pela comissão examinadora composta pelos seguintes membros:



---

Prof. Orientador Kleber Campos Miranda Filho



---

Prof. Manuel Vasquez Vidal Júnior



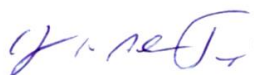
---

Prof. Leonardo Bôscoli Lara



---

Dr. Leandro Santos Costa



---

Prof. Edgar de Alencar Teixeira

## DEDICATÓRIA

À minha mãe Tânia Maria dos Santos Cipriano pelo incentivo e dedicação ao longo dos anos na minha formação acadêmica,

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Kleber Campos Miranda Filho, por ter me orientado com dedicação e sabedoria.

A todos os companheiros de equipe, especialmente ao João Paulo Lorenzini, Msc. Lucas Pedro Gonçalves Junior, Luanna Neves, Franklin Costa e Marcos Teixeira por terem me auxiliado durante a execução do trabalho e pela convivência.

A minha esposa Kauana Santos de Lima Cipriano pelo fundamental apoio.

Ao Prof. Dr. Manuel Vazquez Vidal Junior por todo conhecimento transmitido na produção de peixes ornamentais ao longo da minha carreira acadêmica, mas principalmente pela amizade.

Ao Prof. Dr. Kleber Campos Miranda Filho pela orientação e apoio durante toda essa jornada.

A Prof(a). Dr. Cintia Labussière Nakayama, pela coorientação e por ter usado as palavras certas nos meus momentos de incertezas.

Ao Prof. Dr Ronald Kennedy Luz por ter cedido o laboratório e pelo auxílio na execução e escrita dos trabalhos.

Ao CNPq pela bolsa concedida e apoio financeiro.

A FAPEMIG pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>Efeito da salinidade sobre o desempenho e maturação sexual de molinésia velífera</b>	
Resumo.....	9
Abstract.....	10
Introdução.....	11
Revisão de literatura.....	13
Referências bibliográficas.....	21

### Capítulo 1

#### **Tolerance range and salinity effect on performance of velifera molly**

Abstract.....	26
Introduction.....	27
Material and methods.....	28
Results.....	31
Discussion.....	33
References.....	39

### Capítulo 2

#### **Efeito da salinidade sobre caractere sexual e maturidade reprodutiva de *Poecilia velifera***

Resumo.....	42
Abstract.....	43
Introdução.....	44
Material e métodos.....	48
Resultados.....	51
Discussão.....	54
Referências bibliográficas.....	57
Considerações finais.....	69

## LISTA DE TABELAS

<b>Capítulo 1</b>		<b>Página</b>
<b>Tolerance range and salinity effect on performance of velifera molly</b>		
Table 1 - Values of pH and alkalinity (mg/L CaCO <sub>3</sub> ) during the acute toxicity test (96 h) with <i>Poecilia velifera</i> exposed to different salinities.....		32
 <b>Capítulo 2</b>		
<b>Efeito da salinidade sobre caractere sexual e maturidade reprodutiva de <i>Poecilia velifera</i></b>		
Tabela 1 - Variáveis físico-químicas da água durante o período experimental.		51
Tabela 2 - Número de animais apresentando caracteres sexuais secundários masculinos de acordo com a idade em semanas.....		52
Tabela 3 - Reproduções de <i>Poecilia velifera</i> em diferentes salinidades.....		54



## LISTA DE FIGURAS

### **Efeito da salinidade sobre o desempenho e maturação sexual de *Poecilia molinésia velífera***

Figura 1 - Exemplar macho e fêmea de *Poecilia molinésia velífera*..... 14

### **Capítulo 1**

#### **Tolerance range and salinity effect on performance of velifera molly**

Figure 1 - 1a) Final weight; 1b) weight gain; 1c) final length; 1d) feed intake; and 1e) apparent feed conversion ratio of *Poecilia velifera* (n = 160) tested in different water salinities during 75 days of experiment..... 32

Figure 2 - Effect of salinity on the specific growth rate of molies during the experimental period..... 33

### **Capítulo 2**

#### **Efeito da salinidade sobre caracteres sexuais e maturidade reprodutiva de *Poecilia velifera***

Figura 1 - Efeito linear decrescente do efeito da salinidade no peso dos machos no momento de diferenciação..... 51

Figura 2 - Efeito linear decrescente do efeito da salinidade no comprimento total dos machos no momento de diferenciação..... 51

Figura 3 - Porcentagem de *Poecilia velifera* (machos e fêmeas) mantidos em diferentes salinidades..... 52

## RESUMO

*Poecilia velifera*, comumente chamada de molinésia velífera, é um peixe de grande interesse para a aquicultura ornamental. É originária da Península de Yucatán no México, onde pode ser encontrada em áreas com diferentes salinidades. Em estudos com outras espécies de peixes observa-se que a salinidade interfere no crescimento, consumo de alimento, capacidade de aproveitamento de nutrientes e variáveis reprodutivas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a tolerância e o desempenho dessa espécie em diferentes salinidades. No primeiro experimento foram utilizados 120 juvenis com 7 dias de idade. Esses juvenis foram transferidos abruptamente para as salinidades de 0, 24, 48, 60, 72 e 78 g L<sup>-1</sup> e mantidos por 96 h para a estimativa da salinidade letal mediana (SL<sub>50</sub>). No segundo experimento foram utilizados 160 juvenis, de 15 dias de idade, gradualmente aclimatados até as concentrações testadas de 0, 12, 24 e 36 g L<sup>-1</sup>. Neste experimento, foi avaliado o desempenho por um período de 75 dias. Na etapa seguinte os peixes foram mantidos por mais 75 dias para observação do peso e comprimento dos machos no momento da formação do órgão copulador e a proporção de machos e fêmeas em cada tratamento. Utilizando os mesmos peixes do experimento dois, sendo mantidos nos respectivos tratamentos, procedeu-se a etapa de reprodução com 8 fêmeas e 4 machos de cada salinidade, totalizando 32 fêmeas e 16 machos. Essa etapa teve duração de 65 dias, dos quais 15 dias, as fêmeas estiveram em contato com o macho. No experimento 1, a SL<sub>50</sub>-24h foi estimada em 72 g L<sup>-1</sup>, enquanto que para 48 e 72 h, ambos foram estimados em 71,6 g L<sup>-1</sup>. A SL<sub>50</sub>-96h foi estimada em 71,1 g L<sup>-1</sup>. No experimento 2, os juvenis foram expostos a diferentes salinidades e a sobrevivência foi de 100% em todos os tratamentos. O peso final, ganho de peso e ingestão alimentar apresentaram relação inversamente proporcional ao aumento da salinidade. O comprimento final mostrou uma resposta linear com valores constantes à salinidade estimada de 23,4 g L<sup>-1</sup> e redução nas salinidades mais elevadas. A taxa de conversão alimentar aparente foi diretamente relacionada ao aumento da salinidade. Em água doce foi registrado o aparecimento precoce de características sexuais secundárias. A concentração salina do meio teve correlação negativa com o tamanho e comprimento do macho no momento em que surgiu a modificação da nadadeira anal em órgão copulatório. A salinidade afetou também a proporção sexual. Nos dois tratamentos com maior concentração salina, 24 e 36 g L<sup>-1</sup> ocorreu predominância de fêmeas. As molinésias mantidas em ambiente dulcícola foram mais precoces, onde 50% das fêmeas desse tratamento se reproduziram, enquanto não foi observada reprodução nos outros tratamentos. O estudo mostrou que *P. velifera* é uma espécie eurialina, mas que apresenta melhor desempenho em condições de água doce.

**Palavras-chave:** piscicultura, *Poecilia velifera*, Poeciliidae

## ABSTRACT

*Poecilia velifera*, commonly called Yucatan molly, is a fish of great interest for ornamental aquaculture. It originates from the Yucatan Peninsula in Mexico, where it can be found in areas with variable salinities. In studies with other species of fish it is observed that salinity interferes with growth, consumption, nutrient utilization capacity and reproductive variables. The objective of the present work was to evaluate the tolerance and the performance of this species in different salinities. In the first experiment, 120 juveniles with 7 days of age were used. These juveniles were abruptly transferred to the salinities of 0, 24, 48, 60, 72 and 78 g L<sup>-1</sup> and held for 96 h, for the median lethal salinity (LS<sub>50</sub>) estimation. In the second experiment, 160 juveniles, 15-day-old, were gradually acclimated to the tested concentrations of 0, 12, 24 and 36 g L<sup>-1</sup>. In this experiment, the performance was evaluated for a period of 75 days. In the next step, the fish were kept for another 75 days to observe the weight and length of the males at the moment of the copulatory organ formation and a proportion of males and females in each treatment. Using the same fish from experiment two, being maintained in the respective treatments, a reproduction phase was initiated with 8 females and 4 males of each salinity, totalizing 32 females and 16 males. This stage had a period of 65 days, of which 15 days the females were in contact with the male. In experiment 1, a LS<sub>50</sub>-24h was estimated at 72 g L<sup>-1</sup>, while at 48 and 72 h, both were estimated at 71.6 g L<sup>-1</sup>. The LS<sub>50</sub>-96h was estimated at 71.1 g L<sup>-1</sup>. In Experiment 2, juveniles were exposed to different salinities and survival was 100% in all treatments. The final weight, weight gain and food intake were inversely proportional to the increase in salinity. The final length showed a linear response with constant values for estimated salinity of 23.4 g L<sup>-1</sup> and reduction in the highest salinities. The apparent feed conversion rate was directly related to the increase in salinity. In freshwater, the early onset of secondary sexual characteristics was recorded. The saline concentration of the medium had a negative correlation with the size and length of the male, when the anal fin was altered in a copulatory organ. The salinity also affected a sexual proportion. In both treatments with higher saline concentration, 24 and 36 g L<sup>-1</sup> occurred predominance of females. The mollies kept in freshwater environment were more precocious in relation to the other treatments, since 50% of the females of this treatment reproduced, whereas this did not occur for any fish of the other treatments tested. The study showed that *P. velifera* is a euryhaline species, but they presented better performance under freshwater conditions.

**Keywords:** fish culture, molly, *Poecilia velifera*, Poeciliidae, reproduction

## INTRODUÇÃO

O cultivo de peixes ornamentais é um ramo da piscicultura que tem crescido mundialmente em média 14% ao ano desde 1985. Considerando todo o setor, os valores podem chegar a 15 bilhões de dólares (Bartlet, 2000) anuais, sendo um dos setores mais lucrativos dentro da piscicultura.

No cenário mundial, o Brasil é reconhecido como um importante exportador de peixes ornamentais, enviando legalmente para o mercado externo cerca de 30 milhões de exemplares por ano, gerando cerca de cinco milhões de dólares anuais. A espécie mais exportada é o cardinal tetra também chamada de neon *Paracheirodon axelrodi*, com 18.358.589 exemplares enviados ao exterior, sendo muito superior à segunda espécie mais exportada, o limpa vidro *Otocinclus affinis* com 1.622.403 exemplares. Salienta-se que quase a totalidade desses peixes exportados são oriundos do extrativismo, principalmente coletados na região amazônica (IBAMA, 2007).

Quanto a produção nacional de peixes ornamentais em cativeiro, seu maior destino é o mercado interno e dentre as principais espécies comercializadas destacam-se: os peixes espada (*Xiphophorus hellerii*), kinguio (*Carassius auratus*) e plati (*Xiphophorus maculatus*) (Cardoso et al., 2012). Dentre os peixes criados em cativeiro, a família Poeciliidae possui destaque devido à fácil manutenção e reprodução, além da grande atratividade do mercado consumidor, em função da diversidade de padrões e variedades. Esta família é composta por um total de 216 espécies (Lucinda, 2003), algumas das quais possuindo destacado volume de produção no país, como lebiste (*Poecilia reticulata*), espada (*X. helleri*) e plati (*X. maculatus*) (Cardoso et al., 2012).

Outras espécies de poecilídeos também apresentam grande demanda de mercado, entretanto, devido à falta de informação sobre a sua criação, somado à dificuldade na obtenção de reprodutores e na larvicultura, essas espécies acabam tendo um pequeno volume produzido. Um exemplo, que retrata o que fora descrito, ocorre com a molinésia velífera *Poecilia velifera*.

Por serem encontradas naturalmente em áreas que sofrem flutuações na salinidade (Hankison, 2006), a molinésia velífera apresenta um eficiente aparato osmorregulatório, entretanto, sabe-se que a salinidade do ambiente afeta vários mecanismos fisiológicos dos peixes, como a excreção, interferir na tolerância à toxicidade por compostos nitrogenados (Altinok e Grizzle, 2003), atividade de enzimas digestivas (Wang et al., 1997), podendo afetar

conversão alimentar, a taxa de crescimento (Gomes e Monteiro, 2008) e índices reprodutivos (Dolomatov et al., 2012; Hui et al., 2014).

Assim como as demais espécies eurialinas, essa espécie apresenta uma faixa onde há um menor gasto energético com a osmorregulação, favorecendo o crescimento e a reprodução. Diante do exposto, objetivou-se avaliar a tolerância, o crescimento e a reprodução da molinésia velífera (*P. velífera*) em diferentes salinidades além de aspectos adaptativos envolvidos em sua osmorregulação.

### **OBJETIVO GERAL**

Avaliar efeitos da exposição aguda e crônica de juvenis de molinésia velífera a diferentes salinidades da água.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar a tolerância de juvenis de molinésia velífera ao choque osmótico em diferentes salinidades da água;

Avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de molinésia velífera produzidos em diferentes salinidades da água;

Avaliar a influência da salinidade no tempo de diferenciação sexual e na proporção sexual de molinésia velífera;

Avaliar a maturidade sexual de molinésia velífera criada em diferentes salinidades da água.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **PRODUÇÃO DE PEIXES ORNAMENTAIS**

A piscicultura como uma atividade agropecuária teve início na China há 4.000 anos, sendo cultivadas carpas destinadas ao consumo humano. Já a criação de peixes para fins ornamentais, acredita-se que, foi iniciada no Egito, há cerca de 2.500 anos e rapidamente se popularizou. No Brasil, essa prática é recente, tendo início em 1922 no estado do Rio de Janeiro, restrita a algumas propriedades até a década de 40, e posteriormente se desenvolveu no interior do estado de São Paulo. Na década de 70, a atividade começou a ser realizada também em Minas Gerais e já em meados de 80 esse estado se tornou o maior produtor de peixes ornamentais do Brasil (Vidal Junior, 2003).

A região da Zona da Mata Mineira, especificamente o município de Muriaé e seu entorno, vem sendo o maior polo de produção de peixes ornamentais do país. Em 2009, a estimativa era de mais de 270 produtores, somente nessa região (Cardoso et al., 2012). De acordo com os mesmos autores, os municípios com maior número de produtores de peixes ornamentais eram: Vieiras (40%), seguido de Patrocínio do Muriaé (28,7%) e São Francisco do Glória (18,8%). Outra região que tem se destacado na produção de ornamentais é a região Nordeste do país, principalmente o estado do Ceará. Costumam apresentar uma produção mais intensiva, com reuso de água e sistema de filtragem, comercializando os peixes mais em nível nacional do que local (Coe et al., 2011). Segundo os mesmos autores, analisando duas produções dessa região, foi observado que os produtores se dedicam principalmente à produção de ciclídeos e à produção de poecilídeos como o plati, lebiste e molinésias.

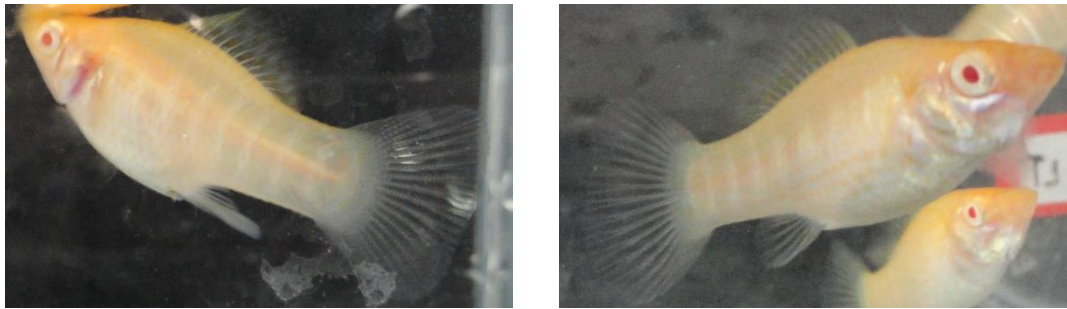
A criação de peixes ornamentais no Brasil é uma importante atividade aquícola, devido a representatividade do país como um importante exportador de peixes ornamentais, entretanto, um grande número de exemplares são oriundos de extrativismo (IBAMA, 2007).

### **MOLINÉSIA VELÍFERA**

O grupo das molinésias é formado por 15 espécies encontradas na América do Norte e Central, sendo basicamente divididos em dois grupos, caracterizados pelo tamanho da nadadeira em “shortfin” molinésias com nadadeira curta e “sailfin”, com nadadeiras em vela. Habitam ambientes de grande variação de salinidade, desde a água doce ( $0 \text{ g L}^{-1}$ ) até ambientes marinhos ( $32 \text{ g L}^{-1}$ ) (Rosen e Bailey, 1963) e hipersalinos ( $65\text{-}80 \text{ g L}^{-1}$ ) (Gonzalez

et al., 2005).

São ovovivíparos e expressam dimorfismo sexual (Figura 1), onde as fêmeas possuem um tamanho maior e os machos exibem gonopódio, ou seja, modificação da nadadeira anal responsável pela transferência de sêmen para a fêmea (Turner, 1941).



**Figura 1.** Exemplar macho (esquerda) e fêmea (direita) de molinésia velífera. Fonte: Arquivo pessoal.

No grupo “sailfin” encontra-se a molinésia velífera (*Poecilia velifera*), espécie endêmica da Península de Yucatán no México, encontrada em ambientes costeiros salinos como cenotes, piscinas de marés e pântanos salgados (Hankison e Ptacek, 2008).

Essa espécie apresenta melhor crescimento em ambiente alcalino e temperatura de 25°C (Küçük, 2010). Possuem o hábito alimenta onívoro, com grande plasticidade alimentar, sendo em ambiente natural, comumente encontrado em seu conteúdo estomacal plantas, algas, insetos, crustáceos, assim como anelídeos, moluscos, ovos e pequenos peixes (Sa-Nguansil e Lheknim, 2010).

Em estudo realizado no lago Songkhla, Tailândia, onde a molinésia velífera foi introduzida (Sa-Nguansil e Lheknim, 2010), afirmaram que os machos atingem maturidade sexual com 16,8 mm, já as fêmeas com 17,1 mm, sendo a quantidade de embriões encontrado variando de 5 a 252, conforme o tamanho da fêmea. Essas fêmeas se reproduzem durante todo o ano, com maiores índices nos períodos de março a maio em que as temperaturas são mais elevadas e agosto a outubro que é o período mais chuvoso da região. Esses pesquisadores relataram uma proporção sexual macho: fêmea de 1:1,8.

Estudos referentes a fisiologia e tolerância da espécie à ambientes salinos não foram realizados, entretanto Gonzalez et al. (2005) ao estudarem a *Poecilia latipinna*, espécie geneticamente próxima a *P. velifera*, concluíram que está espécie apresenta mecanismos cruciais para a sobrevivência em ambientes hipersalinos, como aumento do gradiente iônico e

redução das perdas de água.

### **UTILIZAÇÃO DE SAL NO CULTIVO DE PEIXES**

Atualmente, com a expansão da piscicultura ornamental, a utilização de aditivos que influenciem benéficamente na saúde e no desempenho animal está se tornando uma prática rentável, pois os peixes são criados, na maioria das vezes, em elevadas densidades de estocagem o que acaba desencadeando estresse e susceptibilidade a enfermidades devido as baixas imunológicas. Dentre estes aditivos, pode-se incluir a utilização de sal nas águas de cultivo.

O sal comumente utilizado nos sistemas de cultivo é composto em sua maior proporção de NaCl e pequenas frações de outros íons. Seu uso, quando em níveis adequados, é eficiente em distintas fases de produção, atuando benéficamente no tratamento de enfermidades, redução de ectoparasitas e sobrevivência das larvas. Entretanto em concentrações inadequadas, afeta alguns mecanismos fisiológicos dos peixes, como a excreção e a toxicidade a compostos nitrogenados (Altinok e Grizzle, 2003), atividade de enzimas digestivas (Wang et al., 1997), podendo afetar a conversão alimentar e a taxa de crescimento dos animais. Além desses mecanismos, a fisiologia da osmorregulação interfere na produção de hormônio do crescimento e no bem-estar, gerando alterações nos níveis de cortisol (Sakamoto e McCormick, 2006).

A produção da molinésia em água salinizada, ao invés de água doce, pode reduzir a infestação por ectoparasitas (Klinger e Floyd, 1998; Mifsud e Rowland, 2008; Schelkle et al., 2011), o aparecimento de fungos como do gênero *Saprolegnia* (Edgell et al., 1993), que podem causar perdas produtivas. Entretanto, ocorrem diferenças no desempenho dos peixes mantidos em diversas condições salinas. Segundo Boeuf e Payan (2001) ocorrem principalmente devido a variações no custo energético com osmorregulação, ingestão de alimento, conversão alimentar e estimulação hormonal.

### **CONTROLE DE PARASITAS DE PEIXES**

A ocorrência de infestações parasitárias é frequente nos sistemas de cultivo de peixes ornamentais, pois comumente, entre o produtor (ou coletor) e o consumidor final, esses animais passam pelo estresse do transporte, pela variação da qualidade e parâmetros físico-químicos da água, além do contato com outros peixes de procedência diversa, ficando susceptíveis às infestações por diversos parasitas.



Estudos demonstram o efeito positivo da salinização da água no controle de ectoparasitas. Schelkle et al. (2011) testaram a eficiência no sal no combate do monogenético *Gyrodactylus* sp. em lebiste, concluindo que a exposição de 15 minutos ao sal (25 g L<sup>-1</sup>) resultou na eliminação dos parasitas, estando esse efeito associado a distúrbios osmorreguladores nos parasitas. Balta et al. (2008) concluíram que o sal é eficiente no controle dos protozoários *I. multifiliis*, *Ichthyobodo necator* e *Trichodina* spp. em truta. Klinger e Floyd (1998) compilaram informações referentes ao controle de parasitos por sal, afirmando que este aditivo é eficiente no controle dos protozoários *Chilodonella* sp., *Epistylis* sp., além dos microcrustáceos *Ergasilus* sp., *Lernae* sp. e *Argulus* sp.

O sal também apresenta efeito benéfico no controle do fungo *Saprolegnia* sp. durante a incubação de ovos (Edgell et al., 1993). Schreier et al. (1996) verificaram a eficácia do formol, peróxido de hidrogênio e sal no controle de fungos em ovos de truta, concluindo que, dentre os compostos testados, o sal foi menos eficaz, porém melhorou significativamente a eclosão das larvas.

A utilização de sal para o tratamento dos parasitas ou fungos pode ser realizada como banhos em dosagens mais elevadas ou durante todo o cultivo do peixe em concentração mais baixa. Para ambas as formas de aplicação são necessários o conhecimento da dosagem em que fará efeito, assim como a tolerância do peixe e a influência da salinidade nos seus aspectos produtivos. Principalmente em exposições prolongadas o conhecimento da tolerância à salinidade é importante para que tratamento não comprometa a saúde do peixe (Klinger e Floyd, 1998).

## **INFLUÊNCIA DA SALINIDADE SOBRE A FERTILIZAÇÃO E ECLOSÃO DOS OVOS DE PEIXES**

O sal pode ser utilizado em todas as fases de vida dos peixes, inclusive com o objetivo de aumentar a fecundidade, taxa de eclosão e sobrevivência das larvas em algumas espécies (Bart et al., 2013). A influência desse aditivo pode estar relacionada com melhorias na motilidade espermática, como demonstrado por Dolomatov et al. (2012) ao concluírem que a motilidade do espermatozoide é influenciada pela osmolalidade da água. De acordo com os autores, em situações em que a água está isosmótica em relação ao fluido seminal (cerca de 300 mOsmol Kg<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O), a motilidade espermática é inibida. Para que ocorra a ativação espermática é necessário que para peixes de água doce o meio seja hiposmótico e no caso de peixes marinhos o meio deve ser hiperosmótico. De acordo com Morita et al. (2003), no caso

de espécies que vivem em salinidades variáveis para que ocorra a ativação espermática é necessária à elevação das concentrações do íon cálcio no meio intracelular. Essas espécies possuem na célula espermática organelas capazes de armazenar cálcio, que são mobilizadas sobre estimulação do meio hipo ou hiperosmótico, para que ocorra a ativação espermática.

Avaliando a influência da salinidade sobre a fertilização e a taxa de eclosão em tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), Hui et al. (2014) submeteram os gametas para fertilização em água em diferentes salinidades 0; 9 e 18 g L<sup>-1</sup>. Esses pesquisadores estimaram que os melhores valores para a fertilização e desenvolvimento embrionário ocorreria na salinidade de 7 g L<sup>-1</sup>.

A utilização de banho dos ovos em água salinizada pode aumentar a taxa de eclosão, como observado por Froelich e Engelhardt (1996) em ovos de carpa koi (*Cyprinus carpio*), utilizando banhos de 60 minutos nas concentrações de sal de 1 e 2,5 g L<sup>-1</sup> em ovos com 24 horas após fertilização aumenta a taxa de eclosão em 30,3%. Trabalhando com o bagre africano (*Clarias gariepinus*), Rasowo et al. (2007) verificaram que a utilização de banhos de 1 g L<sup>-1</sup>, em ovos recém fertilizados, ocasionou melhores taxas de eclosão em todos os períodos de exposição (15, 30 e 60 minutos). Comparativamente, os ovos submetidos ao banho de sal por 30 minutos, a eclosão foi de 81,1%, enquanto que o controle (sem adição de sal) foi de 42,2%.

### **UTILIZAÇÃO DE SAL NA LARVICULTURA DE PEIXES**

Durante a larvicultura de espécies tropicais estenoalinas, a utilização de sal até a concentração de 2g L<sup>-1</sup> normalmente não prejudica as taxas de crescimento e sobrevivência. Jomori et al. (2013) avaliaram a utilização de água salinizada na larvicultura intensiva de quatro espécies nativas, tambaqui *Colossoma macropomum*, matrinxã *Brycon amazonicus*, apaiari *Astronotus ocellatus* e piau *Lephorinus macrocephalus*. Os autores verificaram maior sobrevivência para as larvas de matrinxã e maior crescimento para o tambaqui, apaiari e piau, mantidos a 2 g L<sup>-1</sup>. Uma das vantagens de salinizar a água é o maior tempo de vida da artêmia (Beux e Zaniboni Filho, 2006), que é utilizada na larvicultura para alimentação das larvas, possibilitando ao animal uma maior chance de predação.

### **INFLUÊNCIA DA SALINIDADE SOBRE O CRESCIMENTO DE PEIXES**

A salinidade interfere no crescimento dos peixes por atuar em diversos processos do organismo. Segundo Boeuf e Payan (2001), os fatores responsáveis pelas diferenças no

desempenho dos peixes mantidos em diversas condições salinas estão relacionados com: custo energético com osmorregulação, ingestão de alimento, conversão alimentar e estimulação hormonal.

### **CUSTO ENERGÉTICO**

O dispêndio energético na osmorregulação dos peixes varia de acordo com a salinidade do meio. A quantificação do gasto energético para manutenção da homeostase é realizada principalmente de duas formas: 1) pela diferença entre a taxa metabólica total do peixe em condições isotônicas, do ambiente em relação ao plasma sanguíneo, em comparação com situações de hiper ou hipossalinidade. Sendo a taxa metabólica calculada por meio da medida do consumo de oxigênio do indivíduo ou no tecido (Tseng e Hwang, 2008); 2) a segunda abordagem baseia-se na análise molecular do consumo de ATP gasto nos processos envolvidos nos padrões osmorregulatórios, tendo como princípio, o fato de que um processo central da regulação osmótica é o transporte ativo de sódio, demandando um consumo de ATP através da bomba de sódio e potássio (Boeuf e Payan, 2001).

Segundo Ern et al. (2014), a tendência comum é esperar que em condições isotônicas, ou seja, situação em que concentrações de íons na água e no plasma sanguíneo do peixe são semelhantes, a demanda de oxigênio para osmorregulação seja menor. Entretanto, ao compilarem as respostas de diversas pesquisas, os referidos autores observaram que para a maior parte das espécies estudadas essa afirmativa não é correta, sendo que na manutenção das condições próximas ao ambiente natural são encontradas as menores taxas metabólicas para a maioria delas. Afirmam também que generalizações não são possíveis, visto que o menor consumo de oxigênio para algumas espécies não ocorre em nenhuma das duas situações descritas.

### **INGESTÃO DE ALIMENTO E CONVERSÃO ALIMENTAR**

A salinidade da água pode afetar o desempenho dos peixes por alterar a ingestão e o aproveitamento do alimento. Em estudo realizado por Tsuzuki et al. (2007) submetendo juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) às salinidades de 5; 15 e 35 g L<sup>-1</sup>, os pesquisadores observaram que os robalos mantidos nas condições de 15 e 35 g L<sup>-1</sup> apresentaram maiores atividades de amilase e para os mantidos em 15 g L<sup>-1</sup> de proteases alcalinas. Alterações na atividade enzimática, em duas salinidades (20 e 33 g L<sup>-1</sup>), foram constatadas por Moutou et al. (2004) para o pargo *Sparus aurata*, com maiores atividades de

proteases ácidas e tripsina em 20 g L<sup>-1</sup> e de proteases alcalinas e quimiotripsina em 33 g L<sup>-1</sup>. Já Vargas-Chacoff et al. (2015) observaram que para juvenis de blênio patagônico *Eleginops maclovinus*, a maior atividade da pepsina no estômago foi encontrada nos peixes submetidos à salinidade de 31 g L<sup>-1</sup> em relação aos submetidos à 5 g L<sup>-1</sup>. Já para a enzima tripsina, a maior salinidade (31 g L<sup>-1</sup>) apresentou a menor atividade. A atividade dessas duas enzimas apresentou-se elevada nos peixes mantidos a 15 g L<sup>-1</sup>, sendo esses os que apresentaram maior crescimento. Adicionalmente, não foram verificadas alterações na atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e lipase. A menor atividade de algumas enzimas digestivas, como observado nos trabalhos citados, tende a reduzir a digestão e a absorção dos nutrientes contidos na ração, podendo prejudicar o desempenho dos peixes.

Visto que a conversão alimentar (CA) é calculada baseada no consumo de ração pelo animal em relação ao ganho de peso (Santos et al., 2014). Uma menor absorção de nutrientes e/ou maior gasto energético resultam em piores valores de ganho de peso, prejudicando assim a CA. Para *C. parallelus* as melhores taxas de conversão alimentar foram observadas na salinidade intermediária (15 g L<sup>-1</sup>), em relação a outras duas salinidades testadas de 5 e 35 g L<sup>-1</sup> (Tsuzuki et al., 2007). Para juvenis do ciclídeo africano *Cichlasoma urophthalmus*, as melhores CA e crescimento ocorreram em águas com salinidades superiores a 5 g L<sup>-1</sup> até a salinidade marinha (35 g L<sup>-1</sup>), o mesmo se observou para o crescimento, sendo os piores resultados encontrados para peixes mantidos em água doce (Martinez-Palácios et al., 1990). Já para juvenis de tainha *Mugil liza* (0,48 g) submetidos às salinidades de 0; 6; 12 e 24 g L<sup>-1</sup>, Lisboa et al. (2015) não observaram alterações na conversão alimentar dos peixes independentemente do tratamento testado. No entanto, o melhor crescimento foi observado nas salinidades de 6, 12 e 24 g L<sup>-1</sup>.

### **ESTIMULAÇÃO HORMONAL**

A manutenção dos peixes em salinidades inadequadas ou com variações da salinidade podem resultar em um estresse osmótico. Vários hormônios relacionados com o crescimento nos peixes são influenciados pela salinidade. O hormônio do crescimento (GH) parece desempenhar um papel muito importante na osmorregulação, principalmente em situações de adaptação ao meio hipertônico (Deane e Woo, 2009). Em estudo realizado por Pelis e McCormick (2001), foi observado um maior número de células de cloreto em salmões do Atlântico (*Salmo salar*) submetidos a aplicação GH e cortisol, além de um efeito sinérgico entre os dois hormônios. Estudos com outras espécies, como tilápia (Mancera e McCormick,

1998), truta (Madsen, 1990) e o “killifish” *Fundulus heteroclitus* (Mancera e McCormick, 1999), também demonstraram melhor adaptabilidade ao meio hiperosmótico após a administração do GH e cortisol conjuntamente, em comparação com a utilização de apenas um dos hormônios. De acordo com Uchida et al. (2004), quando os níveis de cortisol na pituitária são elevados, ocorre também uma estimulação na liberação de GH.

O nível de cortisol circulante em peixes também exerce influência sobre a produção de melatonina, como observado por Nikaido et al. (2010), sendo que mudanças na salinidade também afetam a produção da melatonina (López-Patiño et al., 2011). Segundo Fálcon et al. (2007), a atuação da melatonina interfere no crescimento por meio da ação sobre a síntese de GH, alterando também o consumo de alimento. Os resultados disponíveis ainda divergem quanto a um padrão de aumento ou redução da melatonina de acordo com a concentração iônica do meio, variando de acordo com a espécie (López-Patiño et al., 2011). Saito et al. (2004) observaram valores mais elevados de melatonina no período noturno em machos de salmão do Pacífico (*Oncorhynchus keta*) capturados em água marinha em relação aos peixes de ambos os sexos capturados em água doce e fêmeas de ambiente marinho. Já em estudo realizado por López-Olmeda et al. (2009), níveis mais elevados de melatonina plasmática foram observados em exemplares de *D. labrax* submetidos às salinidades mais baixas (0 e 4 g L<sup>-1</sup>), em comparação aos mantidos em salinidade marinha (36 g L<sup>-1</sup>), durante o período noturno.

Além dos hormônios destacados acima, outros que interferem no crescimento têm sua atividade alterada pela salinidade, como os hormônios da tireoide triiodotironina (T3), tetraiodotironina ou tiroxina (T4) e a calcitonina, listados por Deane e Woo (2009).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altinok, I., Grizzle, J.M., 2003. Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline freshwater fish. *J. World Aquac. Soc.* 34, 113-117.
- Balta, F., Kayis, S., Altinok, I., 2008. External protozoan parasites in three trout species in the Eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 28, 157-162.
- Bart, A.N., Prasad, B., Thakur, D.P., 2013. Effects of incubation water hardness and salinity on egg hatch and fry survival of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquac. Res.* 44(7), 1085-1092.

- Bartley, D., 2000. Responsible ornamental fisheries. Rome: FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations, 8. Newsletter.
- Beux, L.F., Zaniboni Filho, E., 2006. Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp. Bol. Inst. Pesca 32, 73-77.
- Boeuf, G., Payan, P., 2001. How should salinity influence fish growth? Comp. Biochem. Physiol. C. 130, 411-423.
- Cardoso, S.R., Lana, A.M.Q., Teixeira, E.A., Luz, R.K., Faria, P.M.C., 2012. Caracterização socioeconômica da aquicultura ornamental na região da Zona da Mata Mineira. Bol. Inst. Pesca 38, 89-96.
- Coe, C.D.M., Freitas, M.C.D., Araújo, R.C.P.D., 2011. Diagnóstico da cadeia produtiva de peixes ornamentais no município de Fortaleza, Ceará. Magistra 23, 107-114.
- Deane, E.E., Woo, N.Y., 2009. Modulation of fish growth hormone levels by salinity, temperature, pollutants and aquaculture related stress: a review. Rev. Fish Biol. Fish. 19, 97-120.
- Dolomatov, S.I., Zukow, W., Novikov, N.Y., Muszkieta, R., Bulatowicz, I., Dzierzanowski, M., Strojek, K., 2012. The regulation of osmotic and ionic balance in fish reproduction and in the early stages of ontogeny. Russ. J. Mar. Biol. 38, 365-374.
- Edgell, P., Lawseth, D., McLean, W.E., Britton, E.W., 1993. The use of salt solutions to control fungus (*Saprolegnia*) infestations on salmon eggs. Prog. Fish Cult. 55, 48-52.
- Ern, R., Huong, D.T.T., Cong, N.V., Bayley, M., Wang, T., 2014. Effect of salinity on oxygen consumption in fishes: a review. J. Fish Biol. 84, 1210-1220.
- Falcón, J., Besseau, L., Sauzet, S., Boeuf, G., 2007. Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis in fish. Trends Endocrinol. Metabol. 18, 81-88.
- Froelich, S.L., Engelhardt, T., 1996. Comparative effects of formalin and salt treatments on hatch rate of koi carp eggs. Prog. Fish Cult. 58, 209-211.
- Gomes, J.L., Monteiro, L.R., 2008. Morphological divergence patterns among populations of *Poecilia vivipara* (Teleostei Poeciliidae): test of an ecomorphological paradigm. Biol. J. Linn. Soc. 93, 799-812.
- Gonzalez, R.J., Cooper, J., Head, D., 2005. Physiological responses to hyper-saline waters in sailfin mollies (*Poecilia latipinna*). Comp. Biochem. Physiol. A 142, 397-403.
- Hankison, S.J., 2006. Morphological divergence within and between the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *Poecilia petenensis*. J. Fish Biol., 68, 1610-1630

- Hankison, S.J., Ptacek, M.B., 2008. Geographical variation of genetic and phenotypic traits in the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *P. petenensis*. *Mol. Ecol.* 17, 2219-2233.
- Hui, W., Xiaowen, Z., Haizhen, W., Jun, Q., Pao, X., Ruiwei, L., 2014. Joint effect of temperature, salinity and pH on the percentage fertilization and hatching of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Res.* 45, 259-269.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis., 2007. Relatório técnico sobre o diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e de aquarioria - diretoria de uso sustentável da biodiversidade e florestas. Brasília, 1-214.
- Jomori, R.K., Luz, R.K., Takata, R., Fabegrat, T.E.H.P., Portella, M.C., 2013. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. *Pesq. Agrop. Bras.* 48, 809-815.
- Klinger, R.E., Floyd, R.F., 1998. Introduction to freshwater fish parasites. Gainesville: University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.
- Küçük, S., 2010. The effects of water type on growth, survival and condition of *Poecilia velifera*. *Afr. J. Biotechnol.* 9, 760-763.
- Lisboa, V., Barcarolli, I.F., Sampaio, L.A., Bianchini, A., 2015. Effect of salinity on survival, growth and biochemical parameters in juvenile Lebranch mullet *Mugil liza* (Perciformes: Mugilidae). *Neotrop. Ichthyol.* 13, 447-452.
- López-Olmeda, J.F., Oliveira, C., Kalamarz, H., Kulczykowska, E., Delgado, M.J., Sánchez-Vázquez, F.J., 2009. Effects of water salinity on melatonin levels in plasma and peripheral tissues and on melatonin binding sites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Comp. Biochem. Physiol. A.* 152, 486-490.
- López-Patiño, M.A., Rodríguez-Illamola, A., Gesto, M., Soengas, J.L., Míguez, J.M., 2011. Changes in plasma melatonin levels and pineal organ melatonin synthesis following acclimation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different water salinities. *J. Exp. Biol.* 214, 928-936.
- Lucinda, P.H.F., 2003. Check list of the freshwater fishes of South and Central America, cap. Family Poeciliidae, ED. PUC, RS, Porto Alegre, 555-581, 2003.
- Madsen, S.S., 1990. The role of cortisol and growth hormone in seawater adaptation and

- development of hypoosmoregulatory mechanisms in sea trout parr (*Salmo trutta trutta*). *Gen. Comp. Endocr.* 79, 1-11.
- Mancera, J.M., McCormick, S.D., 1998. Osmoregulatory actions of the GH/IGF1 axis in non-salmonid teleosts. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 121, 43-48.
- Mancera, J.M., McCormick, S.D., 1999. Influence of cortisol, growth hormone, insulin-like growth factor 1 and 3, 30, 5 triiodo-L-thyronine on hypoosmoregulatory ability in the euryhaline teleost *Fundulus heteroclitus*. *Fish Physiol. Biochem.* 21:25-33.
- Martinez-Palacios, C.A., Ross, L.G., Rosado-Vallado, M., 1990. The effects of salinity on the survival and growth of juvenile *Cichasoma urophthalmus*. *Aquaculture* 91, 65-75.
- Mifsud, C., Rowland S.J., 2008. Use of salt to control ichthyophthiriosis and prevent saprolegniosis in silver perch, *Bidyanus bidyanus*. *Aquacult. Res.* 39, 1175-1180.
- Morita, M., Takemura, A., Okuno, M., 2003. Requirement of Ca<sup>2+</sup> on activation of sperm motility in euryhaline tilapia *Oreochromis mossambicus*. *J. Exp. Biol.* 206, 913-921.
- Moutou, K.A., Panagiotaki, P., Mamuris, Z., 2004. Effects of salinity on digestive protease activity in the euryhaline sparid *Sparus aurata* L.: a preliminary study. *Aquac. Res.* 35, 912-914.
- Nikaido, Y., Aluru, N., McGuire, A., Park, Y.J., Vijayan, M.M., Takemura, A., 2010. Effect of cortisol on melatonin production by the pineal organ of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 155, 84-90.
- Pelis, R.M., McCormick, S.D., 2001. Effects of growth hormone and cortisol on Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 124, 134-143.
- Rasowo, J., Okoth, O.E., Ngugi, C.C., 2007. Effects of formaldehyde, sodium chloride, potassium permanganate and hydrogen peroxide on hatch rate of African catfish *Clarias gariepinus* eggs. *Aquaculture* 269, 271-277.
- Saito, D., Shi, Q., Ando, H., Urano, A., 2004. Attenuation of diurnal rhythms in plasma levels of melatonin and cortisol, and hypothalamic contents of vasotocin and isotocin mRNAs in pre-spawning chum salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 137, 62-68.
- Sa-Nguansil, S., Lheknim, V., 2010. The occurrence and reproductive status of Yucatan molly *Poecilia velifera* (Regan, 1914) (Poeciliidae; Cyprinodontiformes): an alien fish invading the Songkhla Lake Basin, Thailand. *Aquat. Invasions* 5, 423-430.
- Sakamoto, T., McCormick, S.D., 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 24-30.



- Santos, R.A., Bianchini, A., Jorge, M.B., Romano, L.A., Sampaio, L.A., Tesser, M.B., 2014. *Cobia *Rachycentron canadum* L. reared in low-salinity water: does dietary sodium chloride affect growth and osmoregulation?* Aquac. Res. 45, 728-735.
- Schelkle, B., Doetjes, R., Cable, J., 2011. The salt myth revealed: treatment of gyrodactylid infections on ornamental guppies, *Poecilia reticulata*. Aquaculture 311, 74-79.
- Schreier, T. M., Rach, J.J., Howe, G.E., 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. Aquaculture 140(4), 323-331.
- Tseng, Y.C., Hwang, P.P., 2008. Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish. Comp. Biochem. Physiol. C.148, 419-429.
- Tsuzuki, M.Y., Sugai, J.K., Maciel, J.C., Francisco, C.J., Cerqueira, V.R., 2007. Survival, growth and digestive enzyme activity of juveniles of the fat snook (*Centropomus parallelus*) reared at different salinities. Aquaculture 271, 319-325.
- Turner, C.L., 1941. Morphogenesis of the gonopodium in *Gambusia affinis*. J. Morphol., 69,161-185.
- Uchida, K., Yoshikawa, E., Joanne, S.M., Kajimura, S., Yada, T., Hirano, T., Grau, E.G., 2004. In vitro effects of cortisol on the release and gene expression of prolactin and growth hormone in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Gen. Comp. Endocrinol. 135, 116-125.
- Vargas-Chacoff, L., Saavedra, E., Oyarzún, R., Martínez-Montaña, E., Pontigo, J.P., Yáñez, A., Ruiz-Jarabo, I., Mancera, J.M., Ortiz, E., Bertrán, C., 2015. Effects on the metabolism, growth, digestive capacity and osmoregulation of juvenile of Sub-Antarctic Notothenioid fish *Eleginops maclovinus* acclimated at different salinities. Fish Physiol. Biochem. 41, 1369-1381.
- Vidal-Junior, M.V., 2003. Peixes Ornamentais: Reprodução em Aquicultura. Panor. Aquic., 79, 22-27.
- Wang, J.Q., Lui, H., Po, H., Fan L., 1997. Influence of salinity on food consumption, growth and energy conversion efficiency of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings, Aquaculture 148, 115-124.

## CAPÍTULO 1

---

### **Tolerance range and salinity effect on performance of velifera molly**

Cipriano, F.S.<sup>a</sup>, Luz, R.K.<sup>a</sup>, Lorenzini, J.P.S.<sup>a</sup>, Neves, L.C.<sup>a</sup>, Nakayama, C.L.<sup>a</sup>, Gonçalves-Júnior, L.P.<sup>a</sup>, Lima, K.S.<sup>a</sup>, Costa, F.F.B.<sup>a</sup>, Miranda-Filho, K.C.<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Departamento de Zootecnia, Laboratório de Aquacultura, Belo Horizonte-MG, CEP 31270-901, Brasil.

Phone: +55 31 3409 3311

\*Corresponding author: [kleber08@gmail.com](mailto:kleber08@gmail.com), [kmiranda2010@ufmg.br](mailto:kmiranda2010@ufmg.br)

## ABSTRACT

*Poecilia velifera*, commonly known as velifera molly is a fish of great interest for ornamental aquaculture. In order to evaluate the tolerance (short- and long-term) and performance in different salinities levels, median lethal salinity (SL<sub>50</sub>) and growth of *P. velifera* were investigated. The animals were born in salinity of 24‰. In experiment 1, 120 juveniles (aged 7 d) were tested through abrupt transfer to salinities 0, 24, 48, 60, 72 and 78‰ for 96 h. In experiment 2, 160 juveniles (aged 15 d) were gradually acclimatized to test concentrations 0, 12, 24 and 36‰. The experiment was conducted in recirculating aquaculture systems (RAS) and lasted 75 d. In experiment 1, SL<sub>50-24h</sub> was estimated at 72‰, while for 48 and 72 h, both were estimated to be 71.6‰. The SL<sub>50-96h</sub> was estimated at 71.1‰. In experiment 2, juveniles were exposed to different salinities and survival was 100% in all treatments. The final weight, weight gain and feed intake had an inversely proportional relationship to increased salinity. The final length showed a linear response with constant values to the estimated salinity of 23.4‰ and reduction in higher salinities. Apparent feed conversion rate was directly related to the increase in salinity. The daily specific growth rate was higher in freshwater for 60 d, thereafter decreasing, probably due to early sexual maturation in this treatment. In freshwater was recorded early appearance of secondary sexual characteristics. The study showed that *P. velifera* is a euryhaline species, but presented better performance in freshwater condition.

Keywords: Ornamental fish, toxicity, growth, sexual maturation, *Poecilia velifera*

## 1. INTRODUCTION

Salinity can present positive effects in the production of freshwater fish, such as: a) control of ectoparasites, like the monogenean *Gyrodactylus* sp. (Schelkle et al., 2011); ciliated protozoans *Ichthyophthirius* sp. (Mifsud and Rowland, 2008), *Trichodina* sp. (Balta et al., 2008), *Chilodonella* sp., *Epistylis* sp. and microcrustaceans *Lernae* sp. and *Argulus* sp. (Klinger and Floyd 1998) and also fungi (Schreier et al., 1996); b) provide greater growth and survival of freshwater fish larvae, which feed on newly hatched brine shrimp, and low salinity water can prolong the nauplii survival, providing better perspectives for fish larviculture (Luz and Portella, 2002; Beux and Zaniboni Filho, 2006; Luz et al., 2013). Additionally, adequate levels of salt in the water helps to reduce energy expenditure on osmoregulation (Boeuf and Payan 2001).

However, inadequate salinities can trigger negative responses, affecting the growth and survival of freshwater fish (Kirschner, 1995; Ostrowski et al., 2011). It is known that the salinity affects various physiological mechanisms of fish, such as, excretion and toxicity of nitrogenous compounds (Altinok and Grizzle, 2003); the activity of digestive enzymes (Wang et al., 1997), affecting feed conversion and growth rate (Martins et al., 2014). In addition to these mechanisms, osmoregulation can interfere with the growth hormone production and in the levels of cortisol (Sakamoto and McCormick, 2006).

Euryhaline fish are able to maintain constant, the plasma ionic concentration, the lymph and the intestinal fluids, not being influenced by environmental osmotic variation (Marshall and Grosell, 2006). These species have a comfort zone related to salt concentration, achieving both significant growth rates and positive reproductive performance. However, under extreme salinity conditions deleterious effects are observed due to the efficiency of osmoregulatory apparatus (Mylonas et al., 2009).

The velifera Molly *Poecilia velifera* belongs to the Cyprinodontiformes order and Poeciliidae family. The species is endemic to the Yucatan Peninsula in Mexico, commonly found in coastal environments as cenotes, tidal pools and salt marshes (Hankison, 2006). It is a popular tropical ornamental fish in the world, but few scientific researches have been published with the species.

Some studies have dealt with reproduction (Sa-Nguansil e Lheknim, 2010) and physiology (Okimoto and Stetson, 1999) of *P. velifera*. However, to date, the research on saline tolerance and its influence on growth have not been performed. For these reasons, the present study aimed to evaluate the acute toxicity of hypersaline conditions and the growth of *P. velifera* at different salinity levels.

## 2. MATERIAL AND METHODS

The experiments were performed in the Aquaculture Laboratory of the School of Veterinary Medicine, Federal University of Minas Gerais.

### 2.1. Experiment 1 - Salinity tolerance

In this experiment, we used 140 juveniles mollies, gold albino variety, aged 7 d, born from progenitors kept in salinity 24‰. In the period preceding the experiment beginning the animals were fed three times a day (8:00, 12:00 and 16:00) to apparent satiation, with commercial extruded feed for ornamental fish. Before starting the test was performed 12 h of fasting.

At the beginning of the experiment, the weight and length of fish was  $0.032 \pm 0.003$  g and  $14.2 \pm 5.7$  mm, respectively. Fish were distributed in 12 units of 2 L glass beakers, each one with 10 fish, with the density of 0.16 g/L. The experimental units were kept in BOD chamber with photoperiod control (12 h) and constant aeration. We used a completely randomized design with six treatments in duplicate. The treatments consisted of salinities

levels 0, 24, 48, 60, 72 and 78‰. To obtain the desired salinity, we used the formula of sea salt adapted from Grasshoff et al. (1983). The animals were subjected to abrupt osmotic shock from 24‰ to the respective treatments.

The experiment lasted 96 h and during this period the animals were not fed. Every 24 h, renewals (50%) of each treatment were performed by replacing water at the same salinity and temperature of each treatment. At this time survival was observed, and dead animals were removed and quantified.

Physicochemical parameters of water were monitored daily. The average water temperature was  $27.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$  (Hanna<sup>®</sup> Combo pH & EC). Ammonia levels remained below 0.035 mg/L and nitrite below 0.045 mg/L monitored using methodology Standard Methods (APHA, 1998). Dissolved oxygen was maintained above 6 mg/L (Hanna<sup>®</sup> HI 9146).

## 2.2. Experiment 2 - Growth in different salinities

For this experiment, 160 juveniles of *P. velifera* (aged 15 d), gold albino variety, were used. They were born in salinity 24‰. Fish were stocked in four recirculating aquaculture systems (RAS); each system consisting of 4 white circular tanks with a volume of 30 L (total of 16 tanks), was provided with mechanical and biological filters, heater with thermostat, ultraviolet water sterilization, aeration and submersible pump.

The treatments consisted of 4 salinity levels: 0; 12; 24 and 36‰ (full seawater) with 4 replicates per treatment in a completely randomized design, using the same salt composition as Experiment 1. After animal distribution, the fish have undergone an acclimatization period of 19 d. During the first 12 d, the salinities were gradually adjusted until they reached the desired conditions. After this period, the experiment was initiated and lasted 75 d.

The mollies ( $0.078 \pm 0.011$  g,  $16.25 \pm 0.77$  mm) were fed 3 times a day (8:00, 12:00 and 16:00) to apparent satiety with commercial extruded feed for ornamental fish containing 340

g/kg crude protein, 80 g/kg of ether extract, 30 g/kg crude fiber, 45 g/kg of mineral matter (manufacturer data).

Every 15 d fish biometrics were carried out. Weight measurements were performed on a digital scale (0.001 g) (Marte) and total length with a digital caliper (0.01 mm) (Starrett). With these data were calculated:

- Average weight gain (AWG) = final average weight - initial average weight;
- Daily weight gain (g/d) (DWG) = weight gain/days of experiment
- Apparent feed conversion ratio (AFC) = apparent food consumption/weight gain;
- Daily specific growth rate (%/day) (SGR) =  $100 * (\ln Pf - \ln Pi)/T$ , where  $\ln Pf$  is the natural logarithm of the final weight;  $\ln Pi$  is the natural logarithm of the initial weight and T is the experimental time given in days.

Survival was monitored by daily observations and during the biometrics by direct counting of individuals.

pH (Hanna<sup>®</sup> Combo CE), temperature ( $28.3 \pm 0.87^{\circ}\text{C}$ ), dissolved oxygen (above 6 mg/L) and salinity were measured daily, and the latter, when necessary freshwater was added to maintain the desired conditions. Ammonia (less than 0.2 mg/L), nitrite (less than 0.7 mg/L) and alkalinity (APHA, 1989) were measured weekly.

### 2.3. Statistical Analysis

In experiment 1, the median lethal salinity was analyzed using the "Trimmed Spearman Karber method" software (Hamilton et al., 1977). In experiment 2, data were submitted to normality test through the Anderson-Darling test, homoscedasticity by Bartlett test and independence of errors by visual analysis of the dispersion. Then the data were submitted to analysis of regression and variance (ANOVA). When applied ANOVA, significant differences between means were determined by Tukey test at  $p < 0.05$ .

### 3. RESULTS

#### 3.1. Experiment 1

pH data and the alkalinity are shown in Table 1. The pH was lower in freshwater and higher in salinity 78‰. The alkalinity increased from freshwater to 60‰ ( $p < 0.05$ ).

Table 1. Values of pH and alkalinity (mg/L CaCO<sub>3</sub>) during the acute toxicity test (96 h) with *Poecilia velifera* exposed to different salinities.

	Salinity (‰)					
	0	24	48	60	72	78
pH	7.30±0.14 <sup>c</sup>	7.54±0.11 <sup>b</sup>	7.72±0.17 <sup>ab</sup>	7.73±0.10 <sup>ab</sup>	7.75±0.08 <sup>ab</sup>	7.84±0.11 <sup>a</sup>
Alcalinity	82.5±2.9 <sup>a</sup>	167.5±9.6 <sup>b</sup>	201.3±10.3 <sup>c</sup>	232.5±6.4 <sup>d</sup>	236.3±9.5 <sup>d</sup>	241.3±10.3 <sup>d</sup>

Different letters in the same line indicate significant differences by Tukey test at 5% probability.

No mortalities were recorded to *P. velifera* exposed to freshwater, 24 and 48‰ during the experiment. 5% and 40% mortality was recorded to salinities 60 and 72‰, respectively in 96 h. Total mortality was observed to 78‰ salinity within 24 h. The estimated SL<sub>50-24h</sub> was 72‰ (confidence interval 69.7 to 74.2‰), while SL<sub>50-48h</sub> and -72h were both estimated in 71.6‰ (confidence interval of 69.3 and 74.0‰). SL<sub>50-96h</sub> was estimated to be 71.1‰ (confidence interval of 68.7 and 73.5‰).

#### 3.2. Experiment 2

In the experiment, alkalinity showed a direct relationship ( $y = 35.23x + 56.11$ , R<sup>2</sup> = 0.86) with increasing salinity, with average values of: 89.44 ± 15.23; 128.33 ± 19.66; 164 ± 17.44; 195 ± 16.43 mg/L CaCO<sub>3</sub>, to freshwater, 12; 24 and 36‰, respectively. The pH did not differ among treatments, averaging 8.17 ± 0.10 ( $p > 0.05$ ).

At the beginning of the experiment, after acclimatization, juveniles showed weight 0.078 ± 0,011 g and length of 16.25 ± 0.77 mm, which were similar between treatments ( $p > 0.05$ ).



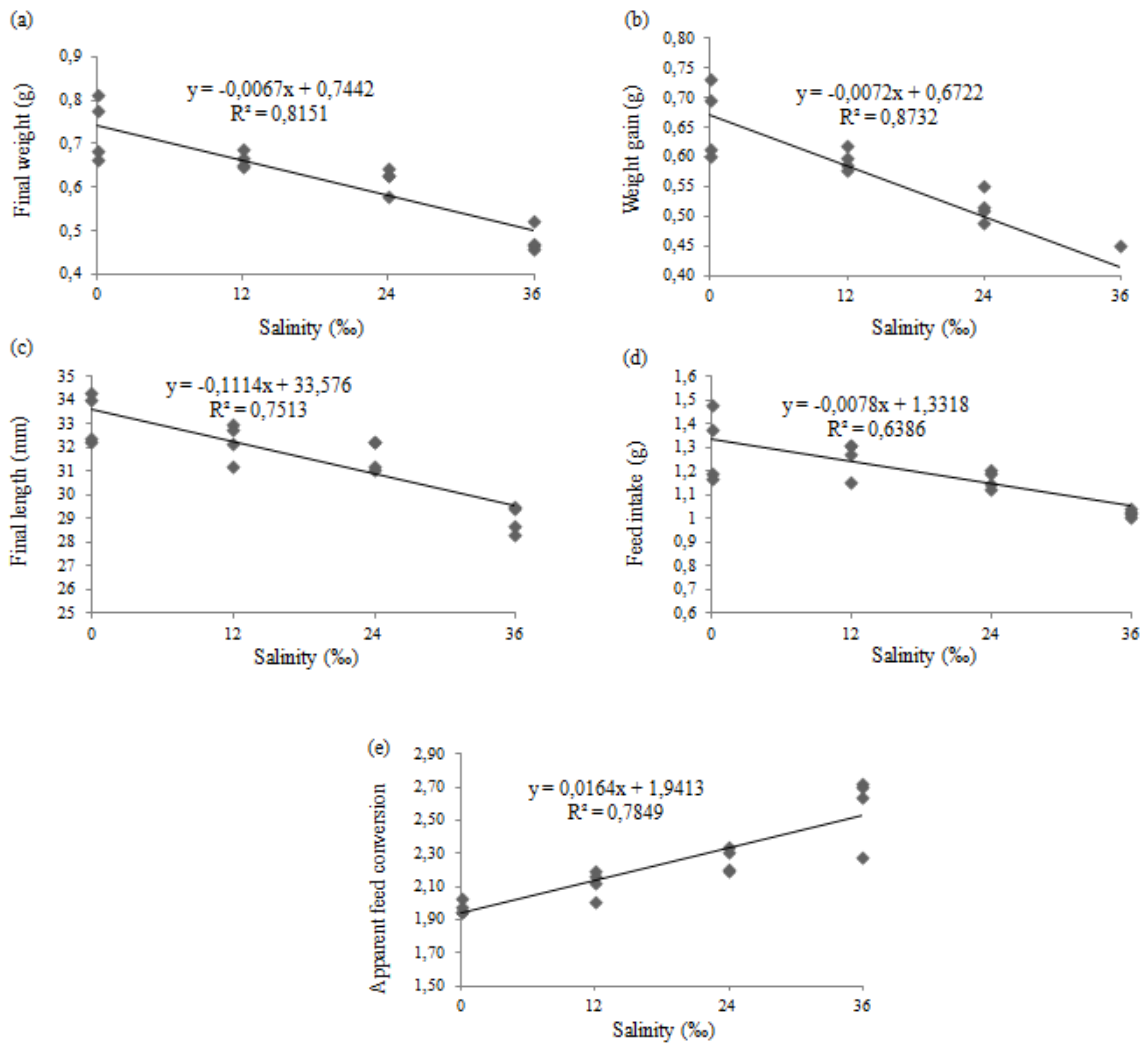


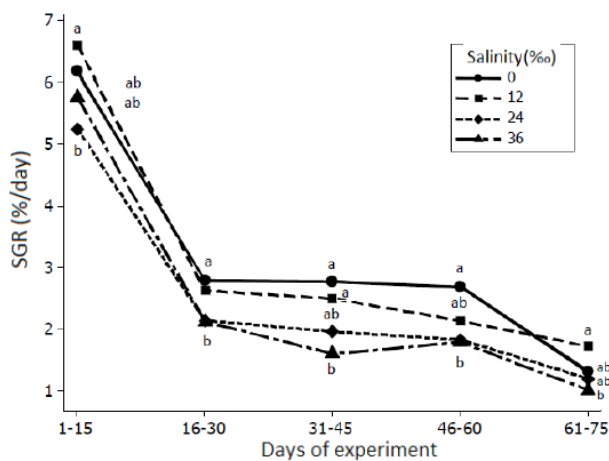
Figure 1. 1a) Final weight; 1b) weight gain; 1c) final length; 1d) feed intake; and 1e) apparent feed conversion ratio of *Poecilia velifera* (n = 160) tested in different water salinities during 75 days of experiment.

The survival rate throughout the experiment was 100% in all tested salinities ( $p > 0.05$ ). After 75 d, the final weight (Figure 1a), weight gain (Figure 1b), final length (Figure 1c) and feed intake (Figure 1d) showed an inversely proportional relation to the increased water salinity. AFC rate was directly related to increased water salinity (Figure 1e).

On 50<sup>th</sup> day test, it was observed the beginning of the sexual dimorphism of fish in the freshwater treatment, mainly verified by modification of the anal fin to the formation of

genital copulatory organ (gonopodium) in males. In salinities of 12 and 24‰, these changes began after 64 d.

Figure 2 shows the SGR to *P. velifera* throughout the growth experiment. Differences were observed between the 1<sup>st</sup> and 15<sup>th</sup> days, with higher values for freshwater, followed by 12 and 24‰, and the lowest SGR for full seawater (36‰) ( $p < 0.05$ ) (Figure 2). Between 16<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days, the SGR was still higher to freshwater and also to 12‰, and showed lower values in salinity 24 and 36‰. This trend continued between 31<sup>st</sup> and 60<sup>th</sup> days of experiment, but last period (61-75 d) of the experiment, the best SGR was observed in salinity 12‰, followed by freshwater and 24‰, and then full seawater.



Different letters between treatments for each evaluation period indicate significant differences ( $\alpha < 0.05$ ) by Tukey test.

Figure 2. Specific growth rate of *Poecilia velifera* raised during 75 days in different water salinities.

#### 4. DISCUSSION

The present study demonstrated the effects of salinity on survival and growth of *P. velifera* juveniles.

During the experiments, pH showed differences between salinities tested in experiment 1 and was similar in experiment 2, when it was used RAS for 75 d. In closed systems can occur a decrease in water pH over the days of cultivation due to the release of CO<sub>2</sub> by the respiratory process and decomposition of feces and food (Al-Hafedh, 2003; Hamlin et al., 2008). However, the RAS employed and low density used in the experiment the pH remained similar between treatments.

The alkalinity showed increasing values in experiment 2 and up to 60‰ in experiment 1. These differences in alkalinity between treatments resulted from the very composition of the salt, which is rich in carbonates.

For velifera molly juveniles, the SL<sub>50</sub> estimated for 24 and 96 h were 71.9 and 71.07‰, respectively. This shows the tolerance of the species from freshwater to high salinity (60‰), however, when it reaches 78‰ salinity, the body ceases to tolerate and succumbs rapidly (data not shown). Evaluating tolerance of *Poecilia latipinna* to gradual increase in salinity (5‰ every 14 d), Nordlie et al. (1992) found that animals from environments where salinity was 15‰ showed salt tolerance up to 80‰, while fish from freshwater, this tolerance was up to 70‰. Tolerance of *P. latipinna* to high salinity was corroborated by Gonzalez et al. (2005), working with hyper salinized water up to 95‰. These authors reported that up to 65‰, fish showed unchanged concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in the plasma, as well as the amount of water in tissues. However, at higher salinities, osmolality was increased. Arai et al. (1998), reported that *Poecilia reticulata* adaptation from freshwater to 15‰ for 5 d, increased SL<sub>50</sub> to 43.3‰, while fish not adapted to salinity presented SL<sub>50</sub>=25.8‰. This tolerance to different salinities is common in *Poecilia* genus. *Poecilia vivipara* were observed inhabiting areas with salinities ranging from 0.15 to 26.2‰ (Machado et al., 2013), and *Poecilia sphenops* in salinities from 0.1 to 70‰ (Feltkamp and Kristensen, 1970).

Despite the wide tolerance to salinity, the experiment 2 was carried out with the upper limit close to that of seawater. The survival rate was 100% in all tested salinities. Similarly, Alava (1998) reported total survival milkfish fry (*Chanos chanos*) between salinities 0 and 34‰. According to Grossel (2006), fish survival in the higher salinities is mainly related to increased gene expression of transmembrane proteins  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase (NKA) and cotransport system membrane  $\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}^-$  (NKCC) and  $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$  (NC). According to the same author, these proteins are responsible for maintaining the hypoosmotic environment in relation to external medium, wherein the sodium pump (NKA) acts against the concentration gradient of these ions, whereas the cotransport system facilitates transport into cell.

Little work has considered the effect of salinity on *Poecilia* growth. In relation to performance after 75 d, final weight, weight gain and feed intake were higher in freshwater and decreased with increasing salinity, indicating that, despite being a euryhaline species, the use of freshwater must be recommended for the cultivation of *P. velifera*. Per Boeuf and Payan (2001), the factors responsible for the differences in fish performance in various saline conditions are related to energy cost with osmoregulation, feed intake, feed conversion and hormonal stimulation. The water salinity can affect fish performance by changing the intake and utilization of food. Ridha (2014) compared the growth of tilapias *Oreochromis spilurus*, *Oreochromis niloticus* and hybrids of the two species in freshwater and saltwater (40‰) and found that the final weight of *O. spilurus* and hybrid *O. spilurus* (♀) x *O. niloticus* (♂) did not differ. However, the final weight of *O. niloticus* (♀) x *O. spilurus* (♂) in freshwater was greater than in saltwater. In support, also working with Nile tilapia (*O. niloticus*), Likongwe et al. (1996) evaluated the effect on performance in salinities: 0, 8, 12 and 16‰, and found worse weight gain in salinities 12 and 16‰. In this way, the performance in different salinities was species-specific.

In the present study, AFC was better in freshwater and getting worse with increasing salinity. Since AFC is calculated based on the feed intake by the animal in relation to weight gain (Santos et al., 2014), less absorption of nutrients and/or increased energy expenditure results in worse weight gain values, increasing AFC. For fat snook *Centropomus parallelus*, the best AFC were observed in the intermediate salinity (15‰) in relation to the other two tested salinities 5 and 35‰ (Tsuzuki et al., 2007).

Despite the difference in weight, the final length was similar until the estimated salinity 23.4‰, but smaller in higher salinity. The deleterious effect of salinity on the weight gain, but without interfering with the length of the animals was also observed for tilapia by Likongwe et al. (1996). In this research, it may be due to lower energy expenditure with osmoregulation and higher daily intake of feed of fish kept in freshwater. According to Enr et al. (2013), energy expenditure with osmoregulation in fish in comfort situation are low, however, in unfavorable conditions, these energy costs can reach 1/3 of the total energy.

Water salinity also showed to have effect on time of mollies sexual maturation. Per Pitcher et al. (2007), the presence of secondary sexual characteristics is indicative of reproductive maturity. We recorded the occurrence of gonopodium in males at 50 d of experiment (day 69<sup>th</sup>) in freshwater and at 64 d of experiment (day 83<sup>rd</sup>) in saline treatments, suggesting the salinity effect on sexual maturation of *P. velifera*. These results reinforce the importance of salinities studies in euryhaline species, since the early maturing is desirable for small ornamental species, starting production of juvenile fish in less time.

After the acclimation period, salinity have influenced SGR of *P. velifera* juveniles with higher values for freshwater treatment. Between 16<sup>th</sup> and 60<sup>th</sup> day of the experiment, there is greater SGR for freshwater and 12‰ salinity, with lower rates in higher salinities, indicating deleterious effect in these latter conditions. But in the last period of research, the SGR in freshwater decreases and the best SGR has become 12‰ salinity. This may be due to the early

sexual maturation in freshwater, which can result in shifting energy investment in growth for the gonads development as well as reproductive behavior. After gonopodium formation, we noted two behaviors, first reported by Farr et al. (1986) with *P. latipinna*, wherein there is a prevalence of forced copulation attempts by young males, beyond the olfactory contact made by the male in the female urogenital pore (possible attempt to identify fertile females).

Our results demonstrated that *P. velifera* is a euryhaline species. Although the species has been growing since freshwater to full seawater, the best performance of the species has occurred in the former condition. This study has also a significant practical implication in *P. velifera* production as ornamental fish, since the existing information on salinity tolerance is limited.

**Acknowledgements:** This work was supported by CNPq and Capes. Kleber Campos Miranda Filho and Ronald Kennedy Luz are research fellows of CNPq.

## 5. REFERENCES

- Alava, V.R., 1998. Effect of salinity, dietary lipid source and level on growth of milkfish (*Chanos chanos*) fry. *Aquaculture* 167, 229-236.
- Altinok, I., Grizzle, J.M., 2003. Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline freshwater fish. *J. World Aquac. Soc.* 34, 113-117.
- APHA - American Public Health Association, 1998. *Standard Methods for the Examination of the Water and Wastewater*, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC
- Arai, E., Shikano, T., Fujio, Y., 1998. An Environmental factor stimulating salinity tolerance and branchial chloride cells in a euryhaline teleost *Poecilia reticulata*. *Fisheries Sci.* 64, 329-333.

- Balta, F., Kayis, S., Altinok, I., 2008. External protozoan parasites in three trout species in the Eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 28, 157-162.
- Beux, L.F., Zaniboni-Filho, E., 2006. Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp. *Bol. Inst. Pesca* 32, 73-77.
- Boeuf, G., Payan, P., 2001. How should salinity influence fish growth? *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* 130, 411-423.
- Ern, R., Huong, D.T.T., Cong, N.V., Bayley, M. Wang, T., 2014. Effect of salinity on oxygen consumption in fishes: a review. *J. Fish Biol.* 84, 1210-1220.
- Farr, A.J., Travis, J., Trexler, C.J., 1986. Behavioural allometry and interdemic variation in sexual behavior of the sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Pisces: Poeciliidae). *Anim. Behav.* 34, 497-509.
- Feltkamp, C.A., Kristensen, I., 1970. Ecology and morphological characters of different populations of *Poecilia sphenops vandepolli* (Cyprinodontidae). *Stud. Fauna Curaçao Caribbean Isl.* 32, 102-130.
- Gonzalez, R.J., Cooper, J., Head, D., 2005. Physiological responses to hyper-saline waters in sailfin mollies (*Poecilia latipinna*). *Comp. Biochem. Physiol. A* 142, 397-403.
- Grasshoff, K., Erhardt, M., Kremling, K., 1983. *Methods of Seawater Analysis*. Wiley, Germany.
- Grosell, M., 2006. Intestinal anion exchange in marine fish osmoregulation. *J. Exp. Biol.* 209, 2813-2827.
- Hamilton, M.A., Russo R.C., 1977. Thurston R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 11, 714-719.
- Hankison, S.J., 2006. Morphological divergence within and between the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *Poecilia petenensis*. *J. Fish Biol.*, 68, 1610-1630.
- Kirschner, L.B., 1995. Energetics aspects of osmoregulation in fresh water vertebrates. *J. Exp. Zool.* 271, 243-252.
- Klinger, R.E., Floyd, R.F., 1998. *Introduction to freshwater fish parasites*. Gainesville: University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.

- Likongwe, J.L., Stecko, T.D., Stauffe, J.R.J., Carline, R.F., 1996. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linneaus). *Aquaculture* 146, 37-46.
- Luz, R.K., Portella, M.C., 2002. Larvicultura de trairão (*Hoplias lacerdae*) em água doce e água salinizada. *Rev. Bras. Zootec.*, 31, 829-834.
- Luz, R.K., Santos, A.E.H., Melillo-Filho, R., Turra, E.M., Teixeira, E.A., 2013. Larvicultura de tilápia em água doce e água salinizada. *Pesq. Agrop. Bras.* 48, 1150-1157.
- Machado, A.A.S., Hoff, M.L.M., Klein, R.D., Cardozo, J.G., Giacomin, M.M., Pinho, G.L.L., Bianchini, A., 2013. Biomarkers of waterborne copper exposure in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to salt water. *Aquat. Toxicol.* 138, 60-69.
- Marshall, W.S., Grosell, M., 2006. Ion transport, osmoregulation, and acid-base balance. *Physiol. Fish.* 3, 177-230.
- Martins, Y.S., Melo, R.M.C., Campos-Junior, P.H.A., Santos, J.C.E., Luz, R.K., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2014. Salinity and temperature variations reflecting on cellular PCNA, IGF-I and II expressions, body growth and muscle cellularity of a freshwater fish larvae. *Gen. Comp. Endocr.* 202, 50-58.
- Mifsud, C., Rowland S.J., 2008. Use of salt to control ichthyophthiriosis and prevent saprolegniosis in silver perch, *Bidyanus bidyanus*. *Aquacult. Res.* 39, 1175-1180.
- Mylonas, C.C., Pavlidis, M., Papandroulakis, N., Zaiss, M.M., Tsafarakis, D., Papadakis, I.E., Varsamos, S., 2009. Growth performance and osmoregulation in the shi drum (*Umbrina cirrosa*) adapted to different environmental salinities. *Aquaculture* 287, 203-210.
- Nordlie, F.G., Dennis C.H., Steven J.W., 1992. Comparisons of salinity tolerances and osmotic regulatory capabilities in populations of sailfin molly (*Poecilia latipinna*) from brackish and fresh waters. *Copeia* 741-746.
- Okimoto, D.K., Stetson, M.H., 1999. Properties of the melatonin-generating system of the sailfin molly, *Poecilia velifera*. *Gen. Comp. Endocr.* 114, 293-303.
- Ostrowski, A.D., Watanabe, W.O., Montgomery, F.P., Rezek, T.C., Shafer, T.H., Morris, J.A., 2011. Effects of salinity and temperature on the growth, survival, whole body osmolality, and expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA in red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae. *Aquaculture* 314, 193-201.
- Pitcher, T.E., Rodd, F.H., Rowe, L., 2007. Sexual colouration and sperm traits in guppies. *J. Fish Biol.* 70, 165-177.
- Ridha, M.T., 2014. Preliminary observations on growth and survival of *Oreochromis spilurus*



- x GIFT *Oreochromis niloticus* F1 reciprocal hybrids in fresh and seawater. *Aquacult. Res.* 45, 528-536.
- Sakamoto, T., McCormick, S.D., 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. *Gen. Comp. Endocr.* 147, 24-30.
- Sa-Nguansil, S., Lheknim, V., 2010. The occurrence and reproductive status of Yucatan molly *Poecilia velifera* (Regan, 1914) (Poeciliidae; Cyprinodontiformes): an alien fish invading the Songkhla Lake Basin, Thailand. *Aquat. Invasions* 5, 423-430.
- Santos, R.A., Bianchini, A., Jorge, M.B., Romano, L.A., Sampaio, L.A., Tesser, M.B., 2014. Cobia *Rachycentron canadum* L. reared in low-salinity water: does dietary sodium chloride affect growth and osmoregulation? *Aquac. Res.* 45, 728-735.
- Schelkle, B., Doetjes, R., Cable, J., 2011. The salt myth revealed: treatment of gyrodactylid infections on ornamental guppies, *Poecilia reticulata*. *Aquaculture*, 311, 74-79.
- Schreier, T. M., Rach, J.J., Howe, G.E., 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. *Aquaculture* 140, 323-331.
- Tsuzuki, M.Y., Sugai, J.K., Maciel, J.C., Francisco, C.J., Cerqueira, V.R., 2007. Survival, growth and digestive enzyme activity of juveniles of the fat snook (*Centropomus parallelus*) reared at different salinities. *Aquaculture* 271, 319-325.
- Wang, J.Q., Lui, H., Po, H., Fan, L., 1997. Influence of salinity on food consumption, growth and energy conversion efficiency of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture* 148, 115-12

## CAPÍTULO 2

---

**Efeito da salinidade na maturidade sexual e reprodução de *Poecilia velifera***

## RESUMO

A molinésia velífera é uma espécie de peixe muito utilizada para fins de aquariorfilia. Em ambiente natural habita em águas com ampla variedade de salinidade, entretanto, o conhecimento sobre o efeito de diferentes concentrações de sal sobre a maturidade e proporção sexual desta espécie permanece incógnito. Com o intuito de avaliar o tempo de surgimento de caracteres sexuais masculinos, a proporção sexual e a maturidade reprodutiva de molinésia velífera (*Poecilia velifera*), 160 juvenis ( $0,078 \pm 0,011$  g;  $16,25 \pm 0,77$  mm) foram testados em quatro salinidades (0; 12; 24; 36 g L<sup>-1</sup>), com quatro repetições por tratamento. Periodicamente foi observado macroscopicamente a nadadeira anal, pois a modificação da mesma em órgão copulatório é característica que difere o macho da fêmea. Assim que foi observada a formação desse órgão, procedeu-se o registro temporal e a coleta de dados merísticos (peso e comprimento total) dos peixes. Ao término de 150 dias de experimento, os peixes foram eutanasiados para confirmação do sexo através da verificação das gônadas, com exceção de 8 fêmeas e 4 machos de cada tratamento que foram utilizados na etapa experimental seguinte. Posteriormente, as 32 fêmeas e 16 machos do primeiro experimento foram mantidos em seus respectivos tratamentos para a etapa de reprodução que teve duração de 65 dias. Os machos estiveram em contato com as fêmeas por 15 dias e foram posteriormente retirados. Diariamente foi observado a presença de filhotes e quantificados quando verificados. Os resultados indicaram que a concentração salina do meio teve correlação negativa com o tamanho e comprimento do macho no momento em que surgiu a modificação da nadadeira anal em órgão copulatório. A salinidade afetou também a proporção sexual. Nos dois tratamentos com maior concentração salina, 24 e 36 g L<sup>-1</sup> ocorreu predominância de fêmeas. As molinésias mantidas em ambiente dulcícola foram mais precoces em relação às fêmeas dos demais tratamentos, pois somente as fêmeas desse tratamento (50%) chegaram a se reproduzir. A manutenção da *P. velifera* em água doce promoveu maior sucesso e precocidade reprodutiva e machos com maior tamanho.

**Palavras-chave:** molinésia, piscicultura, *Poeciliidae*, proporção sexual.

## ABSTRACT

Velifera molly is a fish species widely used for aquarium purposes. In a natural environment it inhabits waters with a great variety of salinity, however, the knowledge about the effect of different concentrations of salt on maturity and sexual proportion of this species remains incognito. In order to evaluate the time of emergence of male sexual characters, a sexual ratio and a reproductive maturity of *Poecilia velifera*, 160 juveniles ( $0.078 \pm 0.011$  g,  $16.25 \pm 0.77$  mm) were tested in four salinities (0; 12; 24; 36 g L<sup>-1</sup>) with four replicates per treatment. Periodically the anal fin was observed with the naked eye, since the modification of this fin in copulatory organ is characteristic that differs the male from the female. Once the formation of this organ was observed, the temporal record and the meristic data (weight and total length) of the fish were collected. At the end of 150 days of experiment, the fish were euthanized for confirmation of sex by gonads observation, except for 8 females and 4 males from each treatment that were used in the next experimental stage. Subsequently, the 32 females and 16 males of the first experiment were kept in their respective treatments for the breeding stage that lasted 65 days. The males were in contact with the females for 15 days and were later removed. The presence of pups was observed daily and quantified when verified. The results indicated that the saline concentration of the medium had a negative correlation with the size and length of the male at the moment when the anal fin was altered in a copulatory organ. The salinity also affected the sexual proportion. In both treatments with higher saline concentrations, 24 and 36 g L<sup>-1</sup>, occurred females predominantly. The mollies kept in freshwater were precocious in relation to the females of the other treatments, since only the females of this treatment (50%) came to reproduce. The maintenance of *P. velifera* in freshwater promoted greater success and reproductive precocity and males with larger size.

**Key words:** fish culture, Molly, Poeciliidae, sexual proportion.

## 1. INTRODUÇÃO

A molinésia velífera pertence à família Poeciliidae, que é composta por um total de 216 espécies (Lucinda, 2003). Algumas espécies pertencentes a essa família são largamente produzidas para fins de aquarofilia como a espada *Xiphophorus hellerii*, plati *Xiphophorus maculatus*, lebiste ou “guppy” *Poecilia reticulata* e as molinésias *Poecilia sphenops* (Cardoso et al., 2012) e *Poecilia latipina* (Coe et al., 2011).

Entre essas espécies de molinésia, *Poecilia velifera* é vista com muito interesse no mercado ornamental devido à sua beleza, retratada pela nadadeira dorsal bem desenvolvida e pela sua coloração inerente. A molinésia velífera é endêmica da Península de Yucatán no México, sendo encontrada em ambientes costeiros sujeitos à variação constante de salinidade, tais como: cenotes, piscinas de marés, pântanos salgados. Essa distribuição peculiar evidencia que o animal possua um aparato osmorregulatório eficiente (Hankison e Ptacek, 2008).

Sabe-se que a salinidade do ambiente atua diretamente sobre diversos mecanismos fisiológicos dos peixes, influenciando a excreção e a tolerância à intoxicação por compostos nitrogenados (Altinok e Grizzle, 2003), a atividade enzimática (Wang et al., 1997), a conversão alimentar e a taxa de crescimento dos animais (Altinok e Grizzle, 2001). Também pode causar alterações nos índices de desempenho reprodutivo (Haddy e Pankhurst, 2000) e variações na proporção sexual dentro de um grupo de peixes (Saillant et al., 2003).

A determinação sexual em muitas espécies de peixes não é definida apenas por caracteres genéticos, ela pode ser influenciada também por variáveis ambientais (Brykov, 2014). Entre esses fatores, a relação com a salinidade tem sido pouco pesquisada (Baroiller et al., 1999), embora se saiba que a salinidade do ambiente pode alterar a atividade da enzima aromatase que possui uma função importante na definição sexual (Athauda e Anderson 2014). Não só a manutenção da salinidade do ambiente pode influir na proporção sexual, mas também a sua variação ou o estresse por choque osmótico (Saillant et al., 2003).

O objetivo do presente trabalho foi verificar a interferência de concentrações salinas do meio em variáveis reprodutivas de *P. velifera*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Efeito da salinidade sobre o surgimento de caracteres sexuais masculinos e proporção sexual

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquacultura (LAQUA), da Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

Para o primeiro experimento, foram utilizados 160 juvenis de molinésia velífera, variedade gold albina, com idade de 15 dias ( $0,078 \pm 0,011$  g;  $16,25 \pm 0,77$  mm), provenientes de reprodutores mantidos em salinidade de  $24 \text{ g L}^{-1}$ . Os peixes foram distribuídos em quatro sistemas de recirculação de água (SRA) com quatro repetições cada. Cada SRA foi composto por quatro tanques circulares de cor branca com volume útil de 30 L, dotado de filtro mecânico, biológico, aquecedor com termostato, esterilização da água por lâmpada UV e bomba submersa.

Em cada SRA foi utilizada uma concentração diferente de sal marinho, 0; 12; 24 ou  $36 \text{ g L}^{-1}$ . Para obter a salinidade desejada, utilizou-se a fórmula de sal marinho adaptada de Grasshoff et al. (1983). Para que os peixes fossem adaptados às respectivas salinidades, os animais passaram por um período de aclimação de 19 dias, com ajustes diários de  $2 \text{ g de sal L}^{-1}$ , até serem alcançadas as concentrações desejadas.

Durante o experimento, as molinésias foram alimentadas três vezes ao dia (8:00, 12:00 e 16:00 h) até a saciedade aparente, com ração comercial extrusada para peixes ornamentais contendo  $340 \text{ g kg}^{-1}$  de proteína bruta,  $80 \text{ g kg}^{-1}$  de extrato etéreo,  $30 \text{ g kg}^{-1}$  de fibra bruta e  $45 \text{ g kg}^{-1}$  de matéria mineral (dados do fabricante).

A cada dois dias, utilizando um pequeno aquário de 1 L, foi observado macroscopicamente a região ventral de cada peixe, para verificação de modificações na nadadeira anal para formação do gonopódio nos machos como relatado por Farr et al. (1986). Segundo Turner (1941), o gonopódio é uma modificação da nadadeira anal, ocasionada por uma metamorfose durante o período de maturação sexual. Segundo esses autores, essas alterações são reguladas em parte por hormônios sexuais e em um período curto de tempo, os raios 3, 4 e 5 da nadadeira anal dos machos se desenvolvem mais do que os demais sofrendo diversas alterações morfológicas, diferenciando-a da nadadeira anal da fêmea.

No presente estudo, ao se notar a presença do gonopódio procedeu-se com o registro do peso, tamanho e idade do peixe. O macho era então transferido para um hapa de 2 L de volume útil dentro do próprio tanque, evitando assim a fertilização das fêmeas. Os hapas foram confeccionados utilizando tela de polietileno com malha de dois milímetros

Após 150 dias de experimento, para possibilitar a confirmação do sexo das molinésias e o posterior cálculo da proporção sexual (por meio de estudo histológico), 112 peixes foram eutanasiados utilizando solução de eugenol 285 mg L<sup>-1</sup>. Os 48 peixes restantes foram utilizados no estudo de reprodução. Desta forma, procedeu-se a extração das gônadas por meio de corte na cavidade celomática, fixação em solução Bouin (por 12 horas), seguido de álcool 70%. Posteriormente, o material biológico sofreu desidratação em concentrações crescentes de álcool, diafanização em xilol PA e inclusão em parafina. Após a inclusão, realizou-se a microtomia obtendo-se cortes histológicos de cinco µm em lâminas de vidro. Os cortes histológicos foram corados por meio da técnica hematoxilina/eosina e analisados em microscópio ótico (Nikon E200), para observação das gônadas, visando a definição sexual das molinésias.

## *2.2. Reprodução de *Poecilia velifera* em diferentes condições salinas*

O estudo da reprodução de *P. velifera* teve duração de 65 dias e os tratamentos testados foram os mesmos empregados no estudo anterior, porém com oito repetições cada, sendo cada fêmea uma repetição. Foram utilizadas as mesmas estruturas de cultivo da etapa anterior, sendo que em cada tanque foram colocados duas fêmeas e um macho. Desta forma, em cada tratamento foram utilizados quatro machos e oito fêmeas, totalizando 32 fêmeas e 16 machos. Os peixes utilizados na reprodução foram escolhidos aleatoriamente ao final da etapa anterior, respeitando as respectivas concentrações salinas, o que resultou em diferentes médias de peso e comprimento. No início da etapa de reprodução, as fêmeas e os machos submetidos ao tratamento de água doce apresentaram peso médio de  $1,28 \pm 0,38$  g e  $1,38 \pm 0,43$  g e comprimento médio de  $38,79 \pm 2,63$  mm e  $41,36 \pm 3,79$  mm, respectivamente. As fêmeas e os machos submetidos ao tratamento de  $12 \text{ g L}^{-1}$  apresentaram o peso médio de  $0,88 \pm 0,20$  g e  $1,60 \pm 0,19$  g e comprimento de  $34,20 \pm 2,74$  mm e  $42,87 \pm 0,93$  mm, respectivamente. As fêmeas mantidas na salinidade de  $24 \text{ g L}^{-1}$  apresentaram o peso e o comprimento médio de  $0,94 \pm 0,084$  g e  $36,38 \pm 1,58$  mm, já os machos  $1,06 \pm 0,31$  g e  $37,95 \pm 3,47$  mm, respectivamente. Na maior salinidade as fêmeas iniciaram com peso e comprimento de  $0,87 \pm 0,11$  g e  $35,15 \pm 1,933$  mm, respectivamente e os machos com  $0,71 \pm 0,3132$  g e  $34,265 \pm 4,77$  mm.

Por 15 dias as fêmeas foram mantidas em contato com o macho, sendo este posteriormente retirado e as fêmeas alocadas em hapas de 2 litros de volume, dentro do mesmo tanque e observadas por mais 75 dias. Os hapas foram confeccionados utilizando tela de polietileno com malha de dois milímetros nas laterais e também na parte inferior. Dentro de cada hapa foi colocada, a 10 cm da superfície, uma tela de polietileno com espessura de 1 cm, restringindo o acesso da fêmea e possibilitando a passagem dos filhotes para a parte inferior. Essa divisão foi realizada com o intuito de evitar possível canibalismo por parte da fêmea.



A presença de filhotes foi verificada durante os horários de alimentação (8:00, 12:00 e 16:00 h). Quando observada a procriação, procedeu-se a biometria dos animais. Depois de duas horas após a verificação da presença de filhotes eram contados o número total da prole e aferidos os comprimentos totais e os pesos, tanto das fêmeas quanto dos filhotes. Essas medições foram realizadas utilizando paquímetro digital (Starret; 0,01 mm) e balança digital (Marte; 0,001g).

Após o período de reprodução, os peixes utilizados foram eutanasiados utilizando solução de eugenol 285 mg L<sup>-1</sup> e posteriormente mantidos por 12 horas em solução Bouin e então conservados em álcool 70%. Com utilização de lupa foi possível a visualização das gônadas e verificar se haviam embriões.

### *2.3. Qualidade de água*

A salinidade da água foi medida diariamente e quando necessário, devido à evaporação, foi adicionado água doce para manutenção da salinidade desejada. Foram monitorados diariamente: o pH (Hanna® Combo pH & EC), a temperatura, concentração de oxigênio dissolvido (Hanna® HI9146) e semanalmente amônia, nitrito e alcalinidade.

### *2.4. Análise estatística*

Para todas as variáveis foram verificadas a normalidade e a homocedasticidade pelos testes de Anderson-Darling e teste de Bartlett, respectivamente. Posteriormente, aplicou-se análise de regressão para peso e comprimento e para os dados de proporção sexual, aplicou-se teste de Qui-quadrado. Para análise de água foi aplicado o teste de Tukey ( $\alpha \leq 0,05$ ). Em todas as análises foi utilizando o software R.

## **3. RESULTADOS**

Na tabela 1 estão apresentadas as variáveis físico-químicas da água durante o período experimental nos diferentes tratamentos.

**Tabela 1.** Variáveis físico-químicas da água durante o período experimental em diferentes salinidades.

	Salinidade (g L <sup>-1</sup> )			
	0	12	24	36
Alcalinidade (mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	92 ± 11,61 <sup>a</sup>	125 ± 14,63 <sup>b</sup>	169 ± 16,91 <sup>c</sup>	197 ± 13,84 <sup>d</sup>
pH	8,22 ± 0,16	8,19 ± 0,08	8,18 ± 0,07	8,16 ± 0,09
Temperatura (°C)	28,16 ± 0,74	28,32 ± 0,84	28,10 ± 0,35	28,35 ± 0,81
O <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	6,48 ± 0,21	6,27 ± 0,29	6,30 ± 0,25	6,18 ± 0,22
O <sub>2</sub> (%)	95,28 ± 2,42	96,31 ± 2,03	94,73 ± 0,84	92,98 ± 2,16
Amônia (mg L <sup>-1</sup> )	0,10 ± 0,2	0,11 ± 0,06	0,17 ± 0,08	0,16 ± 0,03
Nitrito (mg L <sup>-1</sup> )	0,47 ± 0,25	0,72 ± 0,17	0,43 ± 0,22	0,23 ± 0,22

Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

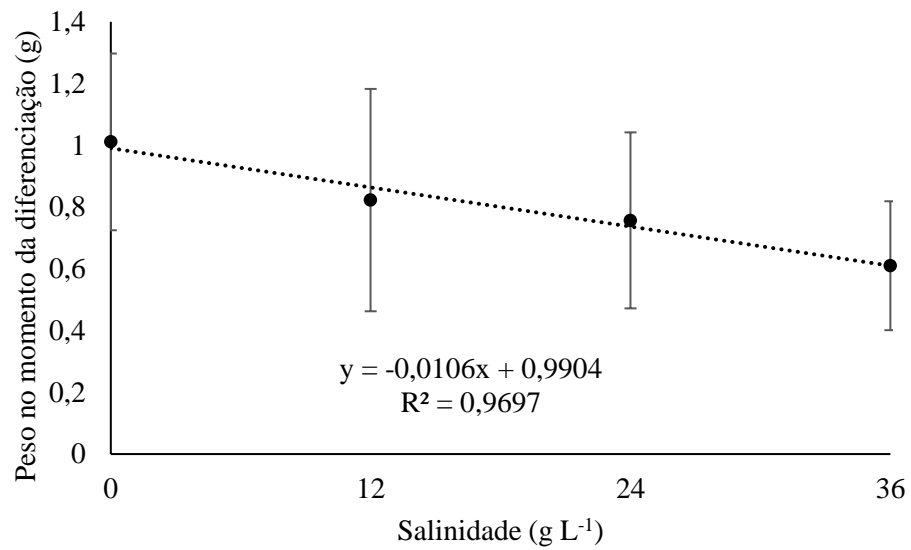
Nas condições laboratoriais, *P. velifera* apresentou o surgimento de caracteres de dimorfismo sexual a partir da 11<sup>a</sup> semana após eclosão. A salinidade interferiu na idade em que ocorreram as modificações na nadadeira anal nos machos que resultam na formação do gonopódio. Os primeiros peixes a apresentarem o gonopódio foram os que estavam submetidos ao tratamento em água doce, ocorrendo duas semanas antes do que os primeiros peixes mantidos em condições salinas apresentassem essa característica (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de molinésias apresentando caracteres sexuais secundários masculinos de acordo com a idade em semanas.

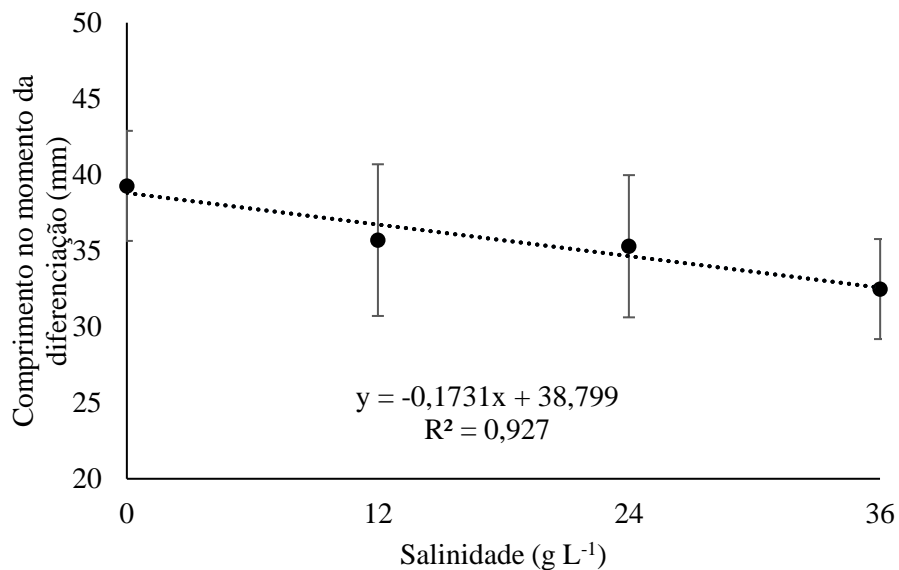
Semana	Salinidade (g L <sup>-1</sup> )			
	0	12	24	36
11 <sup>a</sup>	2	-	-	-
12 <sup>a</sup>	1	-	-	-
13 <sup>a</sup>	1	6	4	3
14 <sup>a</sup>	1	3	1	1
15 <sup>a</sup>	3	3	2	1
16 <sup>a</sup>	3	5	2	1
17 <sup>a</sup>	3	4	3	2
18 <sup>a</sup>	3	3	1	-
19 <sup>a</sup>	-	-	-	1
20 <sup>a</sup>	-	-	-	1
21 <sup>a</sup>	-	-	-	-
Total	17	24	13	10

O peso e o comprimento dos peixes no dia da observação do surgimento do gonópodio foram influenciados pelas diferentes salinidades. Os peixes submetidos à menor salinidade obtiveram maior peso (1,01 g) (Fig. 1), decrescendo conforme o aumento da salinidade, onde os peixes submetidos aos tratamentos 12, 24 e 36 g L<sup>-1</sup> apresentaram peso médio de 0,82; 0,75 e 0,61 g, respectivamente.

Resultado semelhante ao peso foi encontrado para o comprimento (Fig. 2). Os peixes submetidos a menor salinidade obtiveram maior comprimento (39,26 mm), decrescendo conforme o aumento da salinidade, obtendo comprimento de 35,69; 35,29 e 32,47 mm, para os tratamentos 12, 24 e 36 g L<sup>-1</sup>, respectivamente.



**Figura 1.** Efeito linear decrescente ( $p < 0,05$ ) da salinidade no peso dos machos no momento de diferenciação.

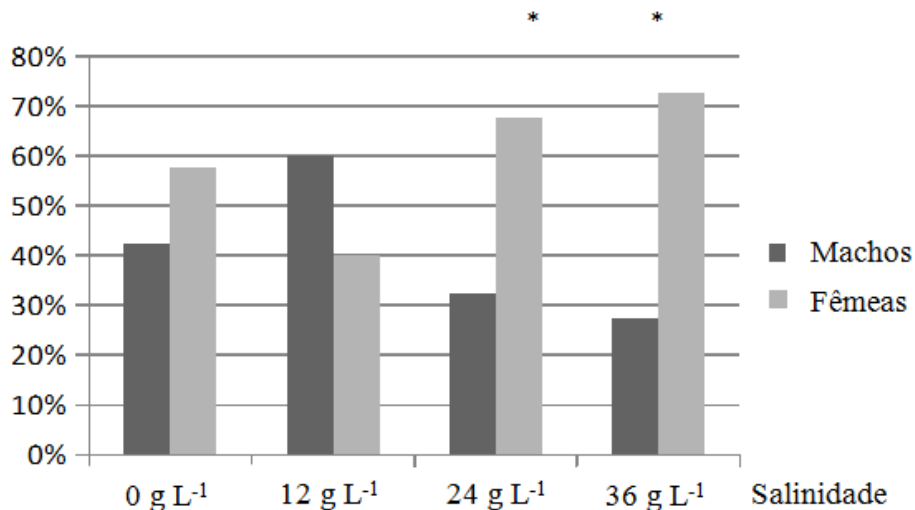


**Figura 2.** Efeito linear decrescente ( $p < 0,05$ ) da salinidade no comprimento total dos machos no momento de diferenciação.

Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) na proporção de machos e fêmeas nas salinidades 24 e 36 g L<sup>-1</sup> (Figura 3), com a porcentagem de machos e fêmeas = 32,5; 67,5% e 27,5; 72,5%, respectivamente. Para as salinidades 0 e 12 g L<sup>-1</sup>, não houve diferença estatística

significativa. A porcentagem de machos e fêmeas do tratamento sem adição de sal foi de 42,5 e 57,5%, respectivamente. Finalmente, em peixes mantidos em salinidade de 12 g L<sup>-1</sup> observou-se 60% de machos e 40% de fêmeas.

Os peixes que foram mantidos em água doce atingiram a maturidade sexual mais precocemente do que os peixes mantidos em ambiente salinizado. Foram observadas reproduções apenas no tratamento sem adição de sal, ocorrendo em 50% das fêmeas desse tratamento (Tab. 3). Em nenhuma fêmea foi observada a presença de embriões no ovário ao final do experimento.



\*O asterisco indica diferença estatística na proporção de machos e fêmeas pelo teste  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

**Figura 3.** Porcentagem de *Poecilia velifera* (machos e fêmeas) mantidos em diferentes salinidades.

**Tabela 3.** Características observadas no momento da parição de *Poecilia velifera* em água doce.

Salinidade (g L <sup>-1</sup> )	Idade da fêmea (semanas)	Peso (g)	Comprimento (mm)	Nº de filhotes	Peso da prole (g)
0	30	1,76	48,74	35	0,014 ± 0,001
0	30	1,85	47,30	17	0,012 ± 0,001
0	30	1,23	40,87	12	0,013 ± 0,002
0	31	1,04	40,31	20	0,012 ± 0,001

No momento da liberação da prole, as fêmeas apresentavam de 30 a 31 semanas de idade e peso superior a um grama. O número de filhotes variou de 12 a 35 indivíduos e o peso médio foi de 0,012 a 0,014 g.

#### 4. DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças estatísticas para a alcalinidade da água, com aumento da alcalinidade seguindo o aumento da salinidade, isso se deve a própria composição do sal.

Neste estudo, a salinidade influenciou negativamente no peso e no comprimento das molinésias, no momento da diferenciação sexual. Bœuf e Payan (2001), afirmam que a salinidade do ambiente pode afetar o crescimento dos animais, alterando as taxas metabólicas, o consumo de alimentos e a conversão alimentar.

Foram observadas diferentes proporções entre machos e fêmeas nas molinésias nas diferentes salinidades. Sa-Nguansil e Lhek Nim (2010), ao realizarem coletas de *P. velifera* na laguna de Songkhala na Tailândia, observaram a prevalência de espécimes nas regiões próximas a ligação da laguna com o golfo da Tailândia, sendo essas áreas influenciadas pela entrada de água salgada. Esses mesmos pesquisadores observaram a proporção sexual de machos e fêmeas de 1:1,8 (macho/fêmea), entretanto, essa proporção foi variável conforme o tamanho dos peixes, onde para peixes pequenos e médios (>10 a 20 mm) a proporção foi de 1:1,3 (macho/fêmea), já para peixes grandes (>60 a 70 mm) essa proporção foi de 1:7,7 (macho/fêmea). Essa proporção foi explicada pelos autores como sendo causada pela maior predação dos machos, devido à sua maior conspicuidade (grande nadadeira dorsal encontrada no gênero masculino) aos predadores e dificuldade de fuga. No entanto, deve-se observar que no presente trabalho, nos tratamentos em que as salinidades foram mais elevadas, o número de machos foi inferior demonstrando que a salinidade é um fator que deve ser considerado na variação da proporção sexual que ocorre em ambiente natural e em cativeiro nos poecilídeos.

Em estudo com tilápia *Oreochromis niloticus*, Abucay et al. (1999) analisaram a interferência de duas salinidades 11,30 e 26,65 g L<sup>-1</sup> na determinação sexual e não encontram influência dessa variável nos níveis testados. Desta forma, podemos inferir que o efeito da salinidade sobre a determinação sexual é espécie específico.

Saillant et al. (2003) verificaram o efeito da salinidade sobre a determinação sexual de larvas e juvenis do robalo europeu *Dicentrarchus labrax*. Os autores não observaram diferenças entre os tratamentos em que a salinidade foi mantida constante em 15 e 37 g L<sup>-1</sup>, entretanto, observaram interferência da salinidade com a elevação no número de machos no tratamento em que os peixes foram transferidos da baixa salinidade para alta salinidade.

Em estudos com outras espécies de poecilídeos, Martin et al. (2009) ao verificaram a fecundidade de *Poecilia latipinna* em ambientes com água doce (0,53 g L<sup>-1</sup>), e nas salinidades de 2,32 e 9,32 g L<sup>-1</sup>. Os autores observaram que as fêmeas encontradas nas salinidades mais altas apresentaram maior índice gonadossomático, assim como maior taxa de fecundidade, entretanto o número de prole não alterou entre os ambientes. Wan et al. (2014) ao avaliarem a taxa de sucesso reprodutivo de *Poecilia sphenops* concluíram que as fêmeas mantidas em salinidade mais elevada (6 g L<sup>-1</sup>) tiveram uma maior taxa de fecundidade quando comparado com os exemplares mantidos em 0 e 3 g L<sup>-1</sup>.

A determinação sexual em muitas espécies de peixes não é definida apenas por caracteres genéticos, mas também por variáveis ambientais (Brykov 2014). No gênero *Poecilia*, estudos indicam forte influência de fatores ambientais sobre a determinação sexual, sendo a temperatura e o pH, os fatores mais estudados. Barón et al. (2002) avaliaram a influência da temperatura e pH sobre a proporção sexual para a molinésia *P. sphenops* e observaram que em todos os tratamentos ocorreu uma predominância de fêmeas sendo o maior número de fêmeas encontradas em pH 7, independentemente da temperatura. Para o espada *X. helleri*, Sandra e Norma (2010) relataram que quando os animais foram mantidos

em pH 6,2, populações monosexo de machos se desenvolveram, enquanto que em pH 7,9, aproximadamente 98% da população foi formada por fêmeas. Já para *P. reticulata*, valores elevados de pH reduziram a proporção de machos:fêmeas. Baroiller e D’cotta (2001) observaram comportamento oposto em várias espécies do gênero *Apistogramma* (ciclídeos sul-americanos), onde em pH ácido (4,5), foi observada uma maior proporção de machos quando comparada com pH próximo à condição de neutralidade (6,5). No presente trabalho, as temperaturas não diferiram estatisticamente, assim como o pH entre os tratamentos, apresentando a média de 8,1.

Uma enzima chave na diferenciação e manutenção do sexo em peixes é a aromatase, responsável pela conversão de testosterona em estradiol (Devlin e Nagahama, 2002). Sua atividade elevada resulta na maior produção de estrógeno gerando maior proporção de fêmeas. A elevação da temperatura resulta na redução da síntese de aromatase ocasionando maior número de machos (Ospina-Álvarez e Pierre, 2008, Piferrer, 2001). A relação da salinidade com a atividade da aromatase e sua influência sobre a determinação sexual ainda não estão bem esclarecida. Athauda e Anderson (2014) verificaram que para barramundi (*Lates calcarifer*) mantidos em água salina (30 - 32 g L<sup>-1</sup>), os valores médios da atividade da aromatase foi maior do que nos peixes mantidos em água doce.

Os resultados obtidos nesse trabalho indicam que os efeitos da salinidade do ambiente afetam o crescimento de *P. velifera*, a determinação sexual e maturidade sexual.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUCAY, J. S.; MAIR, G. C.; SKIBINSKI, D. O.; BEARDMORE, J. A. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, v.173, p.219-234, 1999.



- ALTINOK, I.; GRIZZLE, J. M. Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juveniles euryhaline and freshwater stenohaline fishes. *J. Fish Biol.*, v.59, p.1142-1152, 2001.
- ALTINOK, I.; GRIZZLE, J. M., Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline freshwater fish. *J. World Aquac. Soc.*, v.34, p.113-117, 2003.
- ATHAUDA, S.; ANDERSON, T. Effect of temperature and salinity on sex inversion in Asian Seabass (*Lates calcarifer*): relationship with plasma sex steroids concentration and aromatase activity of gonad and brain. *Aquac. Res.*, v.45, p.787-797, 2014.
- BAROILLER, J. F.; D'COTTA, H. Environment and sex determination in farmed fish. *Comp. Biochem. Physiol. C*, v.4, p.399-409, 2001.
- BAROILLER, J. F.; GUIGUEN, Y.; FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cell. Mol. Life Sci.*, v.55, p.910-931, 1999.
- BARÓN, B. S.; BÜCKLE, R. F.; ESPINA, S. Environmental factors and sexual differentiation in *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: Poeciliidae). *Aquac. Res.*, v.33, p.615-619, 2002.
- BOEUF, G.; PAYAN, P. How should salinity influence fish growth? *Comp. Biochem. Physiol.*, v.130, p.411-423, 2001.
- BRYKOV, V. I. A. Mechanisms of sex determination in fish: Evolutionary and practical aspects. *Russ. J. Mar. Biol.*, v.40, p.407-417, 2014.
- CARDOSO, S. R.; LANA, A. M. Q.; TEIXEIRA, E. A.; LUZ, R. K.; FARIA, P. M. C. Caracterização socioeconômica da aquicultura ornamental na região da Zona da Mata Mineira. *Bol. Inst. Pesca*, v.38, p.89-96, 2012.
- COE, C. D. M.; FREITAS, M. C. D.; ARAÚJO, R. C. P. D. Diagnóstico da cadeia produtiva de peixes ornamentais no município de Fortaleza, Ceará. *Magistra*, v.23, p.107-114, 2011.

- DEVLIN, R. H.; NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, v.208, p.191-364, 2002.
- FARR, A.J., TRAVIS, J., TREXLER, C.J. Behavioural allometry and interdemic variation in sexual behavior of the sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Pisces: Poeciliidae). *Anim. Behav.* 34, 497-509, 1986.
- GRASSHOFF, K.; ERHARDT, M.; KREMLING, K. Methods of Seawater Analysis. *Wiley, Germany*. 1983.
- HADDY, J. A.; PANKHURST, N. W. The effects of salinity on reproductive development, plasma steroid levels, fertilisation and egg survival in black bream *Acanthopagrus butcheri*. *Aquaculture*, v.188, p.115-131, 2000.
- HANKISON, S. J.; PTACEK, M. B. Geographical variation of genetic and phenotypic traits in the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *P. petenensis*. *Mol. Ecol.*, v.17, p.2219-2233, 2008.
- LUCINDA, P. H. F. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America, cap. Family Poeciliidae, ED. PUC, RS, Porto Alegre, 2003. p.555-581.
- MARTIN, S. B.; HITCH, A. T.; PURCELL, K. M.; KLERKS, P. L.; LEBERG, P. L. Life history variation along a salinity gradient in coastal marshes. *Aquatic. Biol.*, v.8, p.15-28, 2009.
- OSPINA-ALVAREZ, N.; PIFERRER, F. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PLoS One*, v.7, p.2837, 2008.
- PIFERRER, F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*, v.197, p.229-281, 2001.

- SAILLANT, E.; FOSTIER, A.; HAFFRAY, P.; MENU, P.; CHATAIN, B. Saline preferendum for the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, larvae and juveniles: effect of salinity on early development and sex determination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, v.287, p.103-117, 2003.
- SANDRA, G. E.; NORMA, M. M. Sexual determination and differentiation in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, v.20, p.101-121, 2010.
- SA-NGUANSIL, S.; LHEKNIM, V. The occurrence and reproductive status of Yucatan molly *Poecilia velifera* (Regan, 1914) (Poeciliidae; Cyprinodontiformes): an alien fish invading the Songkhla Lake Basin, Thailand. *Aquat. Invas.*, v.4, p.423-430, 2010.
- TURNER, C. L. Morphogenesis of the gonopodium in *Gambusia affinis*. *J. Morphol.*, v. 69, p.161-185, 1941.
- WAN, H. N. W. H.; ANNIE, C.; ZAIDI, C. C.; GHAFAR, M. A.; SIMON, D. K. Effects of salinity and water quality parameters on the breeding and larva rearing of black molly *Poecilia sphenops* in laboratory condition. *A.A.A.C.L Bioflux*, v. 7, p. 8-14, 2014.
- WANG, J. Q.; LUI, H.; PO, H.; FAN, L. Influence of salinity on food consumption, growth and energy conversion efficiency of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings, *Aquaculture*, v.148, p.115-124, 1997.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A salinidade é um importante aliado na produção de peixes, podendo ser utilizado para diversas finalidades como: para o tratamento contra parasitas, em situação de transporte ou mesmo para melhorar aspectos produtivos, para tanto, é necessário o conhecimento dos melhores níveis de salinização.

Os peixes eurialinos apresentam a capacidade de sobreviver em ambientes com uma ampla variação salina, entretanto, apresentam uma faixa de conforto. A manutenção dos peixes nessa faixa se torna importante na busca por melhores índices produtivos, pois a salinidade interfere na produção de hormônios, na atividade de enzimas, no gasto energético relacionado com a osmorregulação, além de alterar o consumo e conversão alimentar, afetando muitos dos parâmetros zootécnicos.

A molinésia velífera apresenta elevada tolerância às variações de salinidade. No teste em que juvenis de 7 dias de idade foram transferidos abruptamente da água com concentração salina de 24 g L<sup>-1</sup> para concentrações variando entre 0 e 78 g L<sup>-1</sup> foi verificada a salinidade letal mediana de 96 horas de 71,1 g L<sup>-1</sup>. Entretanto, pôde-se observar em um segundo teste que apesar da elevada tolerância, o melhor crescimento dos juvenis se dá em água doce, resultando também em uma precocidade reprodutiva em comparação com as salinidades de 12; 24; 36 g L<sup>-1</sup>.