

Ecologia reprodutiva de *Hypsolebias auratus*, um peixe-anual do Cerrado: subsídios para o manejo conservacionista

Davi Hinncands de Oliveira^{1,3}

 <https://orcid.org/0009-0000-7821-1607>

Neliton Ricardo Freitas Lara²

 <https://orcid.org/0000-0001-8313-0609>

Izabel Correa Boock de Garcia^{3*}

 <https://orcid.org/0000-0002-2252-3799>

* Contato principal

Carla Natacha Marcolino Polaz³

 <https://orcid.org/0000-0002-3890-3008>

¹ Fundação Herminio Ometto/FHO, Araras/SP, Brasil. <davi.hinncands@hotmail.com>.

² Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista/UNESP, Rio Claro/SP, Brasil. <neliton.lara@gmail.com>.

³ Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade/ICMBio, Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental/CEPTA, Pirassununga/SP, Brasil. <davi.hinncands@hotmail.com, izabel.garcia@icmbio.gov.br, carla.polaz@icmbio.gov.br>.

Recebido em 20/12/2022 – Aceito em 30/10/2024

Como citar:

Hinncands D, Lara NFR, Garcia ICB, Polaz CNM. Ecologia reprodutiva de *Hypsolebias auratus*, um peixe-anual do Cerrado: subsídios para o manejo conservacionista. Biodivers. Bras. [Internet]. 2025; 15(1): 54-70. doi: 10.37002/biodiversidadebrasileira.v15i1.2366

Palavras-chave: Rivulidae; oviposição; diapausa; eclosão.

RESUMO – *Hypsolebias auratus* é um peixe Rivulidae com elevado interesse de conservação, pois se encontra “Criticamente em Perigo”. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar as estratégias reprodutivas da espécie em cativeiro. Quinze indivíduos maduros foram separados em seis aquários, três contendo trisais (duas fêmeas e um macho) e três com casais. Cada aquário continha um ninho que foi substituído semanalmente durante cinco semanas; os ninhos foram secos e conservados e, após 60 dias, abertos e os ovos quantificados. Cada ovo foi classificado em diapausa DI, DII ou DIII (desenvolvimento embrionário) e molhado para determinar as taxas de eclosão. Os ovos não eclodidos foram remolhados após 30 dias. A taxa média de oviposição semanal por fêmea foi significativamente superior nos trisais em relação aos casais ($p = 0,0333$; $\alpha = 0,05$). Do total de embriões obtidos, 95% permaneceram em DI e 5% alcançaram DIII. Dos embriões em DIII, 43% eclodiram, 28,5% morreram e 28,5% não eclodiram. Nenhum embrião em DI eclodiu. Ao término do estudo, 84,4% dos embriões permaneceram vivos, em boas condições. Conclui-se que o desempenho reprodutivo de *H. auratus* é melhorado com o aumento do número de fêmeas em relação a machos, resultando em maiores taxas médias de oviposição. Compreender melhor a ecologia reprodutiva dessa espécie contribui no manejo *ex situ* de *H. auratus* e, consequentemente, na conservação de rivulídeos anuais como um todo. Aprimorar o manejo *ex situ* é uma das importantes estratégias na conservação de espécies altamente ameaçadas, como é o caso desses peixes.

Reproductive ecology of *Hypsolebias auratus*, a Cerrado annual killifish: contribution to conservation management

Keywords: Rivulidae; oviposition; diapause; hatching.

ABSTRACT – *Hypsolebias auratus* is a Rivulidae fish of high conservation interest, as it is classified as ‘Critically Endangered’. Therefore, this study aimed to investigate the reproductive strategies of the species in captivity. Fifteen mature individuals were separated into six tanks, three containing triplets (two females and one male) and three with pairs. Each tank contained a nest, which was replaced weekly over five weeks; the nests were dried and preserved, and after 60 days, they were opened, and the eggs were quantified. Each egg was classified as diapause DI, DII, or DIII (embryonic development) and moistened to determine hatching rates. Unhatched eggs were moistened again after 30 days. The average weekly oviposition rate per female was significantly higher in triplets compared to pairs ($p = 0.0333$; $\alpha = 0.05$). Of the total embryos obtained, 95% remained in DI and 5% reached DIII. Of the embryos in DIII, 43% hatched, 28.5% died, and 28.5% remained at this stage. No DI embryos hatched. At the end of the study, 84.4% of the embryos remained alive and in good condition. It is concluded that the reproductive performance of *H. auratus* is enhanced with an increase in the number of females, resulting in higher average oviposition rates. A better understanding of the reproductive ecology of this species contributes to the *ex situ* management of *H. auratus* and, consequently, to the conservation of annual rivulids as a whole. Enhancing *ex situ* management is one of the important strategies in the conservation of highly threatened species, such as these fishes.

Ecología reproductiva de *Hypsolebias auratus*, un pez anual del Cerrado: subsidios para la gestión de la conservación

Palabras llave: Rivulidae; oviposición; diapausa; eclosión.

RESUMEN – *Hypsolebias auratus* es un pez Rivulidae de alto interés de conservación, clasificado como ‘En Peligro Crítico’. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo investigar las estrategias reproductivas de la especie en cautiverio. Quince individuos maduros fueron separados en seis tanques, tres conteniendo tríos (dos hembras y un macho) y tres con parejas. Cada tanque contenía un nido, que fue reemplazado semanalmente durante cinco semanas; los nidos fueron secados y preservados, y después de 60 días, fueron abiertos y los huevos fueron cuantificados. Cada huevo fue clasificado como diapausa DI, DII o DIII (desarrollo embrionario) y humedecido para determinar las tasas de eclosión. Los huevos no eclosionados fueron humedecidos nuevamente después de 30 días. La tasa promedio de oviposición semanal por hembra fue significativamente mayor en los tríos en comparación con las parejas ($p = 0,0333$; $\alpha = 0,05$). Del total de embriones obtenidos, el 95% permaneció en DI y el 5% alcanzó DIII. De los embriones en DIII, el 43% eclosionó, el 28,5% murió y el 28,5% permaneció sin eclosionar. Ningún embrión en DI eclosionó. Al final del estudio, el 84,4% de los embriones permanecieron vivos y en buenas condiciones. Se concluye que el rendimiento reproductivo de *H. auratus* se mejora con el aumento del número de hembras en relación con los machos, lo que resulta en tasas promedio de oviposición más altas. Comprender mejor la ecología reproductiva de esta especie contribuye al manejo *ex situ* de *H. auratus* y, en consecuencia, a la conservación de los rivulídeos anuales en su conjunto. Mejorar el manejo *ex situ* es una de las estrategias más importantes en la conservación de especies altamente amenazadas, como es el caso de estos peces.

Introdução

Rivulidae constitui uma das famílias de peixes mais ameaçadas de extinção no Brasil [1][2][3]. Dentre as características marcantes dos representantes dessa família destacam-se suas cores, formas, seu tamanho corporal reduzido e seu complexo ciclo de vida em meio aos ambientes alagáveis onde habitam [4]. A maioria dos peixes rivulídeos vive em ambientes aquáticos sazonais, como poças, brejos ou pequenas lagoas, que podem secar completamente durante o período de estiagem; por isso são chamados de peixes-anuais ou peixes-das-nuvens [5]. Uma porção menos representativa de espécies é encontrada ao longo de todo o ano, vivendo em ambientes aquáticos perenes, como brejos e riachos, e por isso são consideradas não-anuais [6].

Submetidos à sazonalidade, os peixes-anuais apresentam rápido crescimento e maturação sexual e desenvolvem estratégias que permitem sua perpetuação em ambientes menos previsíveis [7]. Antes que o ambiente seque, os peixes-anuais depositam seus ovos no substrato, os quais permanecem em estado de diapausa durante os períodos de seca. Na estação chuvosa seguinte, juntamente com a recomposição de seu *habitat*, os ovos continuam o seu desenvolvimento embrionário, eclodem e um novo ciclo se inicia [8][9].

Na natureza existem muitos riscos para a sobrevivência dos peixes-anuais. A mudança do clima, por exemplo, altera o regime das chuvas, trazendo consigo cheias ou secas sucessivas e, por consequência, modificam a sazonalidade das poças onde muitas espécies ocorrem. O excesso de chuvas pode ser uma ameaça para espécies que habitam poças temporárias próximas a corpos d'água permanentes, pois com a cheia os diferentes *habitat* podem se conectar e se tornarem um só ambiente. Quando isso ocorre, espécies de peixes-anuais podem se tornar presas fáceis para outras espécies oriundas dos ambientes permanentes [10]. Em contrapartida, períodos excessivos de seca nos ambientes temporários podem provocar uma forte seleção de indivíduos durante o desenvolvimento embrionário dos ovos, exigindo destes embriões permanecer estacionados em diapausas mais prolongadas para sobreviver, até a chegada das chuvas e recomposição de seu *habitat* [11].

Além disso, os peixes-anuais são altamente dependentes da integridade física de seus biótopos [12], ou seja, são fortemente afetados por atividades

antrópicas que modificam a estrutura e dinâmica de seus *habitat*. Por exemplo, mudanças nos parâmetros físicos e químicos da água, como reduções nos níveis de oxigênio dissolvido, podem impactar outras populações de organismos que vivem nesses ambientes, causando uma restrição temporária de recursos alimentares para os peixes-anuais [13]. Dessa forma, a destruição de *habitat* é o principal fator que coloca muitas espécies dessa família em risco de extinção. Entre as causas da degradação dos *habitat* temporários destacam-se a atividade agropecuária, a expansão urbana, a construção de parques eólicos e outros empreendimentos [14] [15]. Por essa razão, os rivulídeos, sobretudo as espécies anuais, são considerados peixes altamente vulneráveis na natureza.

Entre os peixes-anuais, *Hypsolebias auratus* [18] possui elevado interesse de conservação, pois consta na lista de espécies ameaçadas de extinção na categoria mais crítica de ameaça: “Criticamente em Perigo” [16][17]. *Hypsolebias auratus* possui distribuição restrita, sendo encontrada apenas em uma poça temporária de água doce nas proximidades do rio Taboca, um tributário do rio Paracatu na bacia do rio São Francisco, localizada no município de Lagoa Grande, oeste do estado de Minas Gerais [5]. As rodovias e o desenvolvimento agrícola na região são as principais ameaças para a espécie; a ampliação destas atividades pode ocasionar o aterramento das áreas alagáveis do rio Paracatu, e a atividade agrícola no entorno de sua localidade-tipo pode causar contaminação nos corpos d'água por pesticidas [18]. Um terceiro fator de risco para a espécie se refere à construção de uma hidrelétrica na região, que pode levar à inundação permanente das áreas de planícies do médio Paracatu e ao desaparecimento destes peixes [18].

Os principais estudos desenvolvidos com *H. auratus* se referem à conservação, distribuição e taxonomia [5][19]; por outro lado, estudos relacionados à ecologia reprodutiva da espécie não foram encontrados na literatura. O conhecimento da biologia reprodutiva dessa e de outras espécies de Rivulidae é fundamental para embasar estratégias de conservação e planos de manejo para esse grupo de peixes [20]. Apesar da sua importância, trabalhos abordando a ecologia reprodutiva são ainda incipientes e os que existem focam principalmente em espécies endêmicas oriundas de outras regiões do Brasil, como Centro-Oeste [21] e Sul [22][23].

Shibatta [21] acompanhou a reprodução da espécie *Simpsonichtys boitonei* em laboratório. Em seu trabalho, o autor verificou o desenvolvimento dos ovos/embriões depositados por mais de 100 dias, determinou a taxa de eclosão dos ovos que completaram o seu desenvolvimento e avaliou a proporção sexual de indivíduos nascidos em cativeiro. Esse é, provavelmente, um dos primeiros trabalhos a observar em laboratório aspectos reprodutivos de peixes rivulídeos brasileiros e, conseqüentemente, a demonstrar a viabilidade desses tipos de estudos em laboratório. Sendo assim, por meio das técnicas de manejo utilizadas, forneceu subsídios para futuros estudos de reprodução com essa e outras espécies de peixes rivulídeos que apresentam um ciclo de vida anual, como é caso do presente estudo.

Se por um lado um dos estudos pioneiros com aspectos reprodutivos de Rivulidae em cativeiro tenha sido realizado com uma espécie do Cerrado brasileiro, é na região Sul do país que a maior parte dos estudos com essa abordagem vem sendo desenvolvida mais recentemente. Os estudos reprodutivos de Rivulidae na região incluem diferentes espécies (*Austrolebias nigrofasciatus*, *A. wolterstorffi*, *Cynopoecilus melanotenia*) e vão desde trabalhos estritamente observacionais, que analisam gônadas e estado reprodutivo de espécimes coletados em ambiente natural [24], passando por experimentos que avaliam aspectos reprodutivos através do confinamento em gaiolas instaladas nos ambientes naturais dos peixes [23], até estudos conduzidos quase que exclusivamente em laboratórios, incluindo controle e manipulação de diferentes variáveis, como temperatura ou razão sexual das espécies, e seus efeitos sobre a reprodução e desenvolvimento dos peixes anuais [20][22][25]. Cada uma dessas diferentes abordagens é particularmente adequada para entender diferentes aspectos, e responder diferentes perguntas, a respeito da reprodução desses organismos.

O objetivo deste trabalho foi descrever a ecologia reprodutiva de *H. auratus* em cativeiro, por meio da quantificação das taxas de oviposição de fêmeas em duas configurações de razão sexual, e da análise da viabilidade e do desenvolvimento dos ovos assim obtidos. Além disso, buscamos entender como essas características estão associadas à dinâmica temporária dos ambientes nos quais a espécie vive e a seu ciclo anual, com perspectivas de conduzir ações de manejo e conservação *ex situ*.

Material e Métodos

Obtenção dos indivíduos para o experimento

O plantel de peixes foi obtido institucionalmente a partir da recepção de ovos (em ninhos) e indivíduos adultos apreendidos durante uma operação de fiscalização e confisco de material biológico realizada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e pela Polícia Federal no ano de 2019. Os ovos e peixes apreendidos nesta operação foram encaminhados ao Laboratório de Ictiologia do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental (ICMBio/CEPTA), em Pirassununga/São Paulo, local onde o estudo foi conduzido.

Tanto os ovos apreendidos quanto os ovos obtidos no laboratório a partir de indivíduos adultos permaneceram mantidos em sacos hermeticamente fechados numa sala climatizada com temperatura controlada de 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e ao abrigo da luz, por um período de até dez meses. Após esse tempo, os ovos foram colocados para eclosão e, a partir da obtenção de novos indivíduos, o experimento foi iniciado.

Este trabalho foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética Animal (CEUA) do Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto sob o número 004/2021 e visou atender, ao menos em parte, a ação 1.3 do Primeiro Ciclo do Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Peixes Rivulídeos Ameaçados de Extinção (PAN Rivulídeos), conduzido pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) [26]: Promover estudos voltados para taxonomia, genética, biologia, ecologia e limites de distribuição geográfica para conservação dos peixes rivulídeos ameaçados de extinção.

Experimento

A metodologia experimental aplicada neste estudo foi adaptada das publicações de Volcan [20] e Fonseca [27].

Quinze indivíduos de *H. auratus* com três meses de idade e sexualmente maduros (Figura 1) foram alocados em seis aquários separados, três contendo casais (um macho e uma fêmea) e três contendo trisais (um macho e duas fêmeas). Cada aquário possuía capacidade de 50 L, tampas para evitar que os peixes pulassem, filtro de espuma com aeração

pouco intensa, e plantas artificiais que serviam como refúgios para os peixes.

Os peixes foram alimentados uma vez ao dia com náuplios recém-eclodidos de artêmia (*Artemia*

salina) e dáfrias (*Daphnia magna*), em dias alternados na semana, e ao final da semana com artêmias adultas. Para garantir a boa qualidade da água, foram realizadas trocas parciais de água semanalmente (30% do volume total dos aquários).

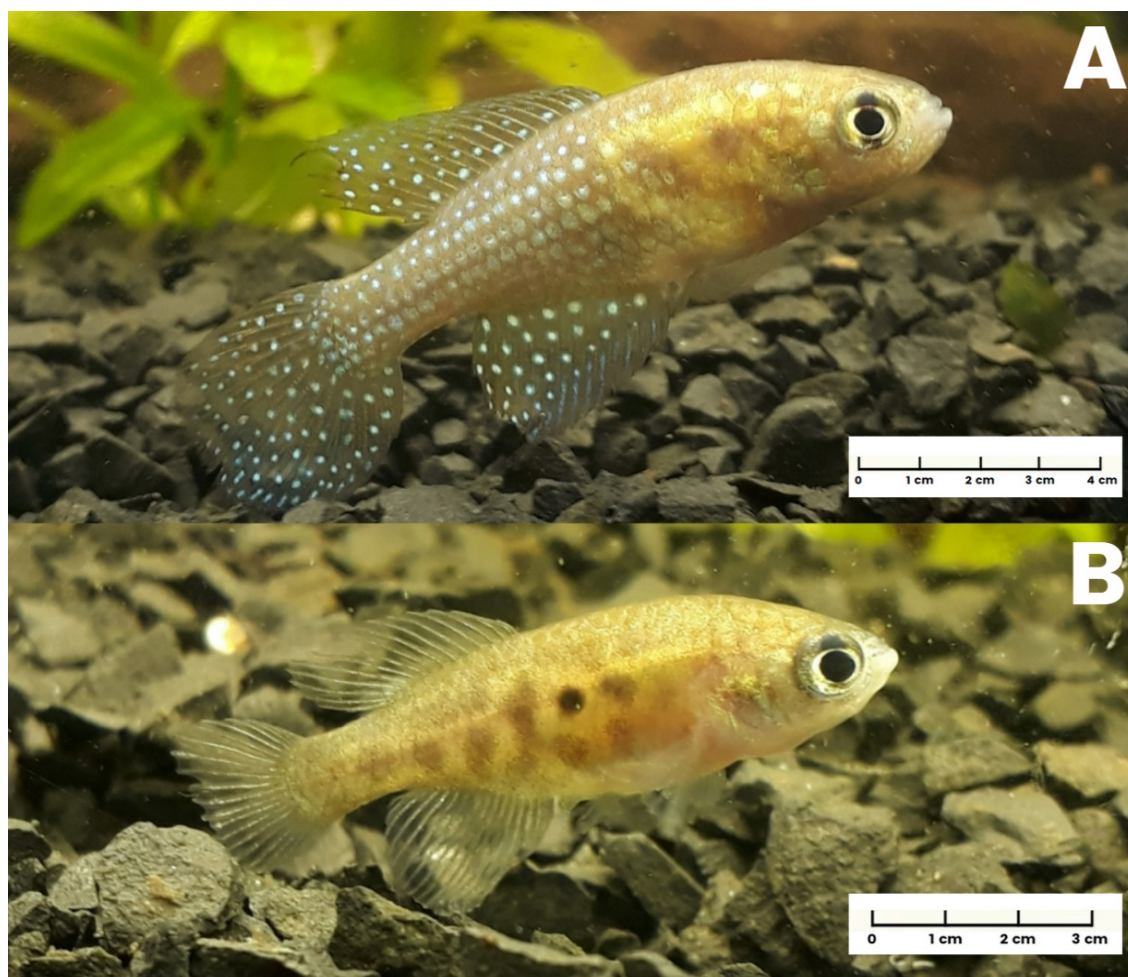


Figura 1 – Macho (A) e fêmea (B) de *Hypsolebias auratus* [18]. Fonte: Davi H. Oliveira (2021).

Os aquários foram dispostos um ao lado do outro tendo seus vidros laterais cobertos com papel pardo para evitar o contato visual entre peixes de diferentes aquários, a fim de minimizar comportamentos agonísticos por disputa de território, uma vez que os rivulídeos exibem comportamento territorialista [27]. Tal prática reduz o estresse e aumenta o bem-estar dos peixes.

Cada aquário recebeu um ninho artificial para estimular a reprodução. Os ninhos consistiram em potes de vidro transparente com volume aproximado de 2 L, que continham uma camada aproximada de 2 cm de turfa de fibra de coco previamente fervida [22] (Figura 2).

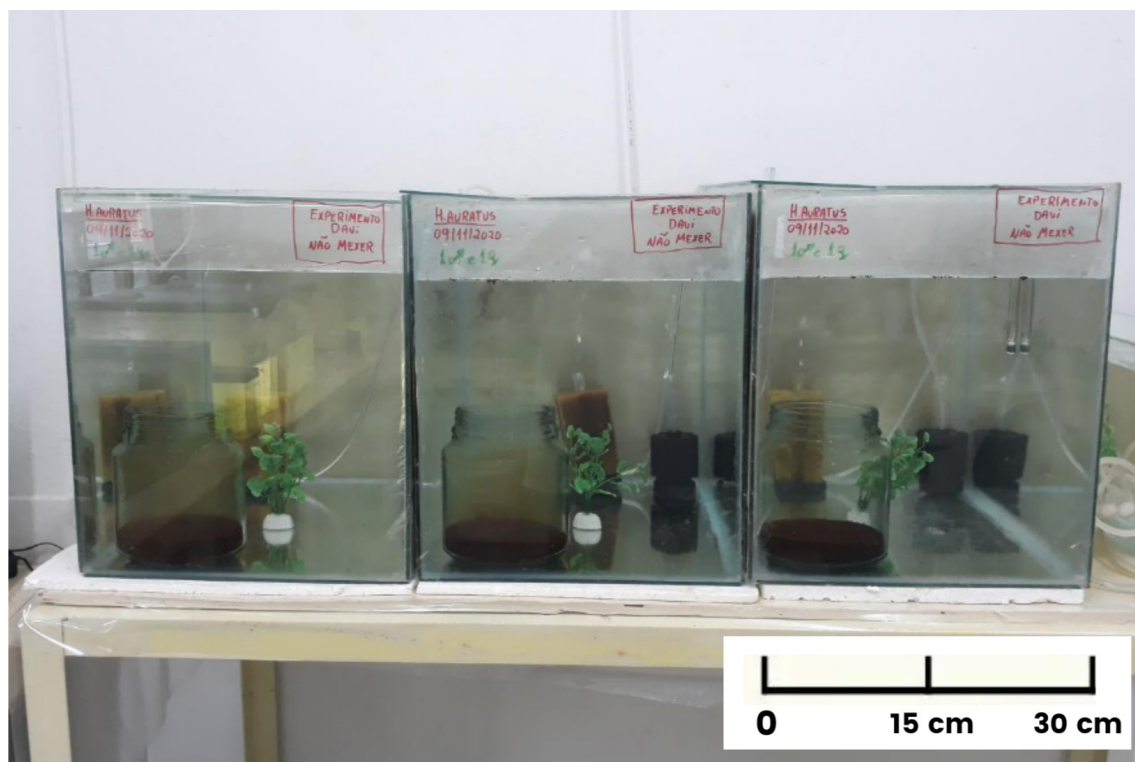


Figura 2 – Ninhos distribuídos nos aquários contendo casais/trisais de *Hypsolebias auratus* [18], mantidos no Laboratório de Ictiologia do ICMBio/CEPTA. Fonte: Davi H. Oliveira (2021).

Os aquários foram acondicionados em uma sala climatizada com temperatura ambiente controlada ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo não controlado (aproximadamente 12 horas de luz solar diária). O pH foi mantido neutro em todos os aquários, assim como observado no ambiente natural em que a espécie foi encontrada [28]. Adicionalmente, ao longo do experimento foram coletadas amostras de água em cada um dos aquários (três vezes por semana) a partir das quais foram aferidos o pH e as concentrações de amônia e nitrito (testes comerciais). Esses parâmetros foram reajustados quando necessários através de trocas parciais de água.

Os ninhos de cada aquário foram substituídos semanalmente, de maneira a permitir o acompanhamento da frequência de oviposição das fêmeas. Após a retirada dos ninhos, as turfas foram secas e os ovos contados, sendo posteriormente devolvidos às turfas, que foram então mantidas parcialmente úmidas em sacos hermeticamente fechados, em ambiente escuro e temperatura ambiente

controlada ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Considerando o tamanho dos ovos e o risco de passarem despercebidos durante a contagem, foi realizada uma dupla checagem em cada ninho. Tanto os trisais quanto os casais foram acompanhados por um período de 35 dias (cinco semanas), entre os dias 15 de março e 12 de abril de 2021. Portanto, foram analisados cinco ninhos de cada aquário durante o experimento, totalizando 30 ninhos.

Dois meses (60 dias) após terem sido retirados do aquário e acondicionados, os ninhos foram abertos e analisados. Cada ovo foi classificado e agrupado em um dos estágios de desenvolvimento embrionário (diapausa DI, DII ou DIII) de acordo com as características descritas por Wourms [8]. Para a análise dos diferentes estágios de desenvolvimento, os ovos foram manualmente separados da turfa com auxílio de um pincel e colocados em uma placa de Petri contendo água, onde foram avaliados individualmente com o auxílio de uma lupa estereoscópica (Figura 3).

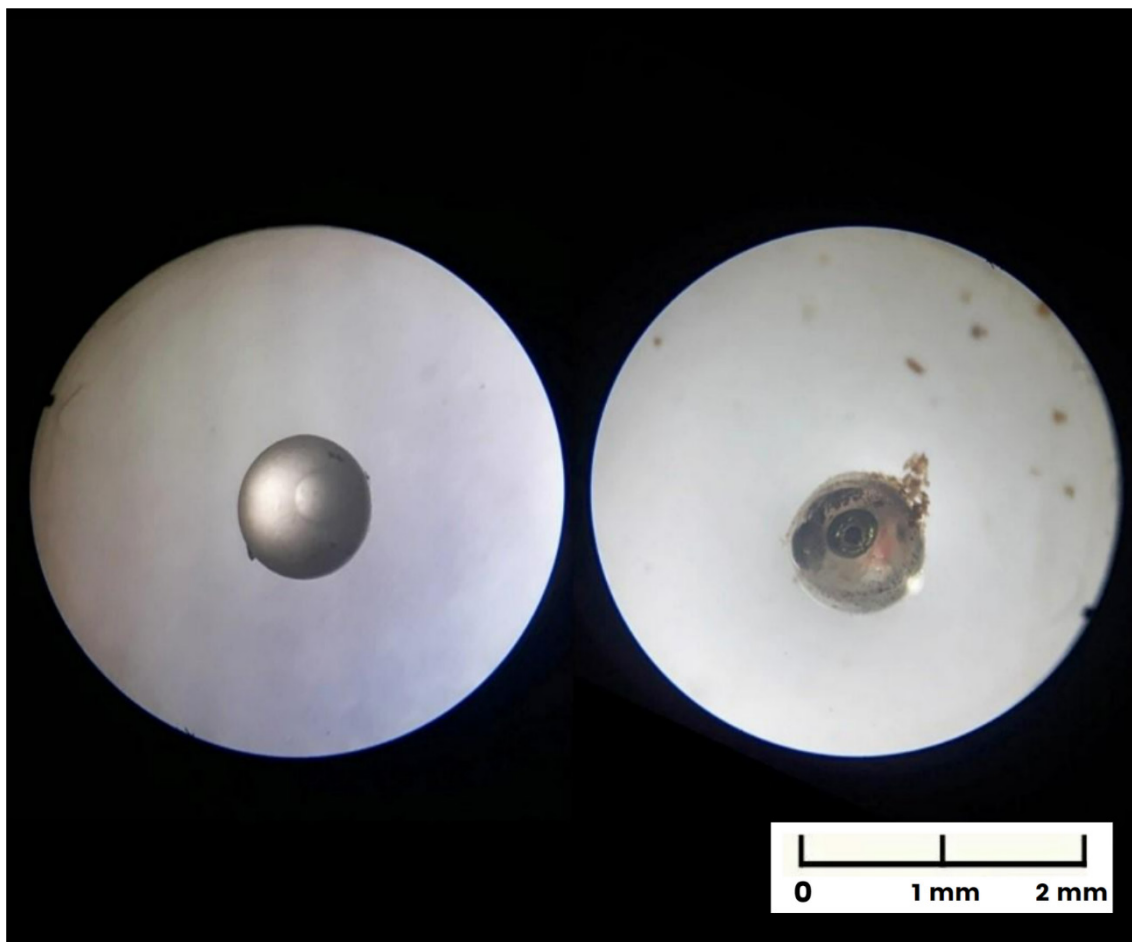


Figura 3 – Ovos observados através de lupa estereoscópica no Laboratório de Ictiologia do CEPTA (ovo em fase DI à esquerda e ovo em fase DIII à direita). Fonte: Davi H. Oliveira (2021).

Para determinar as taxas de eclosão, os ovos foram imersos junto de seus ninhos em água desclorada em aquários individualizados de 6 L. Os aquários permaneceram em uma sala climatizada com temperatura controlada ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Durante esse processo, os aquários foram mantidos parcialmente inclinados, de maneira a criar uma pequena coluna de água de altura variável ao longo de sua extensão, sendo que a turfa não ultrapassou a altura de dois centímetros na região mais profunda (Figura 4).

A coluna de água de altura variável é necessária para que, ao mesmo tempo, toda a turfa esteja molhada e possibilite aos pequenos embriões recém-eclodidos encherem suas bexigas natatórias com ar da superfície, apesar da sua limitada capacidade de nadar, imediatamente após saírem dos ovos. Os ovos foram mantidos submersos nos aquários junto de seus ninhos com água desclorada durante três dias, sendo dobrado o volume de água dos aquários a cada 24 horas.



Figura 4 – Aquários parcialmente inclinados, com pequena coluna de água de altura variável ao longo de sua extensão e turfa com até dois centímetros de altura na região mais profunda, mantidos no Laboratório de Ictiologia do ICMBio/CEPTA. Fonte: Davi H. Oliveira (2021).

Com o intuito de acompanhar a sobrevivência e o desenvolvimento dos embriões ao longo do estudo, três dias após a molhagem dos ninhos, as larvas foram transferidas para aquários de 50 L e a turfa foi novamente seca e acondicionada. Após 30 dias, a turfa foi reavaliada para contagem dos ovos remanescentes, repetindo o processo de molhagem.

A análise de variância (ANOVA) foi conduzida para verificar se a média esperada de ovos depositados por fêmea foi igual (hipótese nula) ou diferente (hipótese alternativa) nas duas configurações, ou seja, em casais e em trisais, a um nível de significância de 5%. A distribuição de Poisson foi adotada em detrimento da distribuição normal por se aplicar

melhor a dados de contagem [29]. As análises foram realizadas com o uso da linguagem de programação R [30].

Resultados

Ao longo do período do experimento, em todos os aquários, independentemente do tratamento (casais ou trisais), foi observado comportamento de corte nos peixes, seguido por desovas. A Tabela 1 mostra a quantidade de ovos totais encontrados nos ninhos dos aquários com trisais e casais após os eventos de retirada e acondicionamento dos ninhos.

Tabela 1 – Quantificação dos ovos de *H. auratus* após a retirada dos ninhos dos aquários de reprodução (t_0), 60 dias após o acondicionamento dos ninhos (t_{60}) e 30 dias após a avaliação/molhagem anterior (t_{90}).

Total de ovos depositados	Trisais			Casais		
	Trisal 1	Trisal 2	Trisal 3	Casal 1	Casal 2	Casal 3
1ª contagem (t_0)	33	25	27	5	6	7
2ª contagem (t_{60})	44	30	32	5	8	22
3ª Contagem (t_{90})	36	27	32	3	8	13

Na primeira contagem, somando-se todos os ovos após as retiradas dos ninhos dos aquários, foram encontrados 85 ovos depositados pelos trisais e 18 ovos depositados pelos casais. Na segunda contagem, realizada após os dois meses de acondicionamento dos ninhos, verificamos uma quantidade de ovos superior à observada na primeira contagem: 106 ovos depositados pelos trisais e 35 ovos depositados pelos casais. Na terceira e última contagem, realizada após os 30 dias da avaliação/molhagem anterior, verificamos um número inferior de ovos comparado à segunda contagem. Com exceção dos ninhos correspondentes ao trisal 3 e ao casal 2, todos os outros apresentaram perda de ovos em seus respectivos ninhos. No total foram encontrados com vida e em bom estado 95 ovos depositados pelos trisais e 24 ovos depositados pelos casais ao fim do período do experimento.

Pelos motivos acima expostos, o resultado da oviposição total dos peixes foi considerado como o maior número de ovos encontrados entre todas as contagens, ou seja, o resultado da segunda contagem dos ovos, após os 60 dias de acondicionamento dos ninhos (Tabela 1). Nos aquários com casais a taxa de oviposição média foi de 2,33 ovos/fêmea/semana (min: 0; máx: 8; dp = 2,35), enquanto nos aquários com trisais a taxa de oviposição média foi de 3,53 ovos/fêmea/semana (min: 1; máx: 8,5; dp = 2,54). De acordo com o modelo de Poisson, o número observado de ovos por fêmea foi significativamente diferente ($p = 0,0333$; $\alpha = 0,05$) entre os aquários com casais e trisais, o que significa que há evidência de maior oviposição por parte das fêmeas quando em trisais. Os ovos depositados pelos trisais e casais foram distribuídos semanalmente conforme a Figura 5.

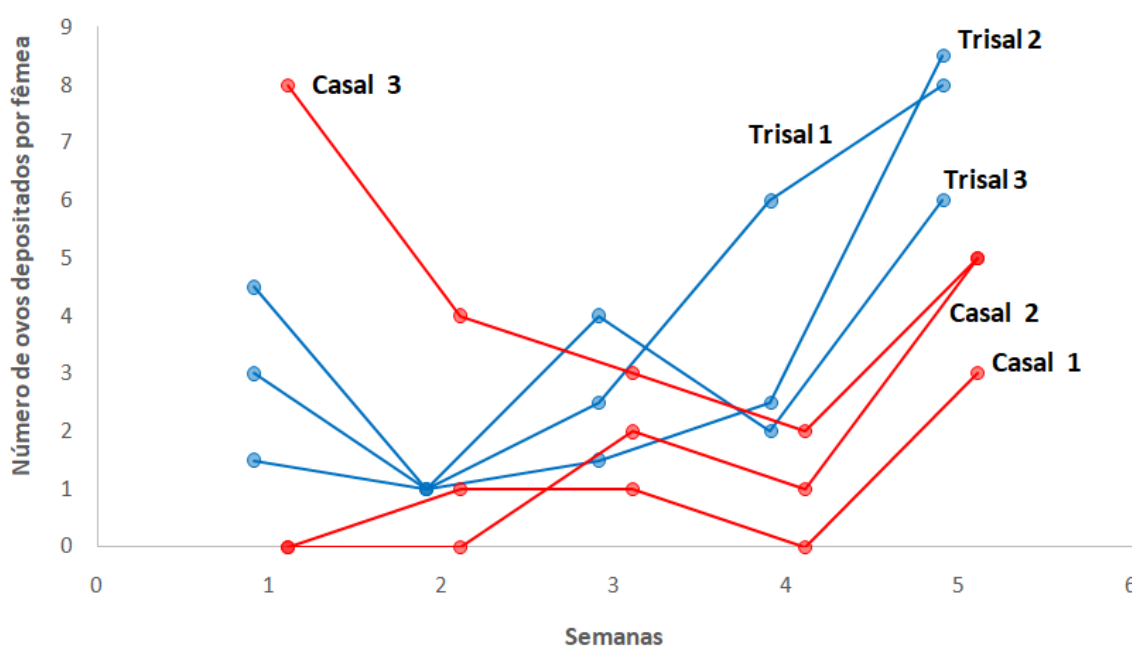


Figura 5 – Taxa média semanal de oviposição por fêmea nos aquários que continham trisais (pontos e linhas azuis) e nos aquários que continham casais (pontos e linhas vermelhos) mantidos no Laboratório de Ictiologia do ICMBio/CEPTA.

Os peixes mantidos em trisais apresentaram desovas em todas as semanas. Apesar de ter sido observado um declínio na taxa média de oviposição na semana II em comparação à semana I, após a semana II o número médio de ovos depositados por fêmea nos trisais foi aumentando gradativamente ao longo das semanas subsequentes do experimento, exceto para um dos trisais (trisal 3), que sofreu um novo declínio no número de ovos na semana IV, mas que voltou a aumentar na semana V (Figura 5).

Em comparação aos peixes que foram mantidos em trisais, os peixes mantidos em casais não depositaram ovos em todas as semanas e em todos

os aquários. Na semana I foi verificada a postura de ovos apenas no aquário do casal 3, na semana II não foram encontrados ovos provenientes do casal 2, e na semana III não foram encontrados ovos que pertencessem ao casal 1.

Classificações do estágio embrionário (diapausa)

Ao longo de todo experimento, a maioria dos ovos observados se encontravam em Diapausa I (DI), enquanto ovos em Diapausa III (DIII) foram encontrados apenas nos aquários que continham trisais (Tabela 2).

Tabela 2 – Fases de desenvolvimento embrionário dos ovos (Diapausa I, II ou III), classificados após 60 e 90 dias (30 dias após a avaliação/molhagem anterior) de acondicionamento de acordo com a semana de acompanhamento dos peixes reprodutores.

	Trisais						Casais					
	Trisal 1		Trisal 2		Trisal 3		Casal 1		Casal 2		Casal 3	
	60 dias	90 dias	60 dias	90 dias	60 dias	90 dias	60 dias	90 dias	60 dias	90 dias	60 dias	90 dias
Semana 1	7 DI	8 DI	2 DI	5 DI	6 DI	4 DI					8 DI	5 DI
	2 DIII		1 DIII									
Semana 2	2 DI		1 DI	1 DI	2 DI		1 DI	1 DI			4 DI	3 DI
Semana 3	5 DI	2 DI	1 DI	1 DI	8 DI	9 DI	1 DI		2 DI	1 DI	3 DI	1 DI
			2 DIII	2 DIII								
Semana 4	12 DI	12 DI	5 DI	2 DI	3 DI	4 DI			1 DI	1 DI	2 DI	1 DI
Semana 5	16 DI	14 DI	17 DI	16 DI	12 DI	15 DI	3 DI	2 DI	5 DI	6 DI	5 DI	3 DI
Número total de ovos depositados	44	36	30	27	32	32	5	3	8	8	22	13

Após dois meses de acondicionamento (60 dias), nos aquários com trisais, dos 106 ovos obtidos 93,4% (99) estavam em DI e 6,6% (sete) estavam

em DIII, e nos aquários com casais, todos os ovos estavam em DI (Figura 6).

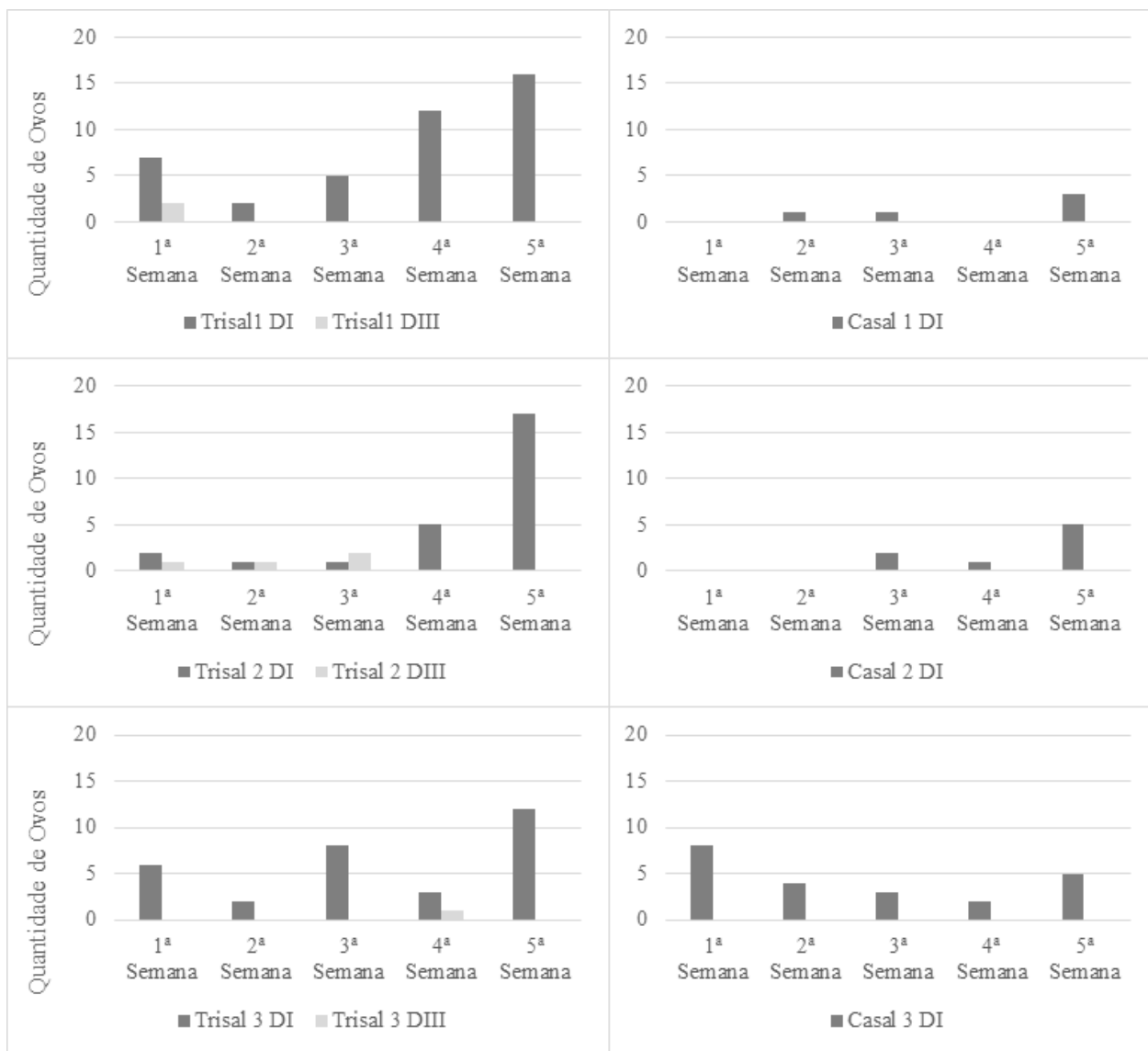


Figura 6 – Fases de desenvolvimento embrionário dos ovos (DI: Diapausa I e DIII: Diapausa III), classificados após 60 dias de acondicionamento, e retirados nas diferentes semanas de acompanhamento dos peixes reprodutores.

Após três meses de acondicionamento (90 dias), 84,4% dos embriões encontrados na contagem anterior persistiram com vida e em boas condições (119 ovos). A maioria desses ovos continuavam em

DI e apenas dois ovos alcançaram a fase DIII. Estes ovos pertenciam ao Trisal 2 e foram depositados na Semana 3 do experimento. Os ovos correspondentes aos casais que resistiram até este período continuavam todos em DI (Figura 7).

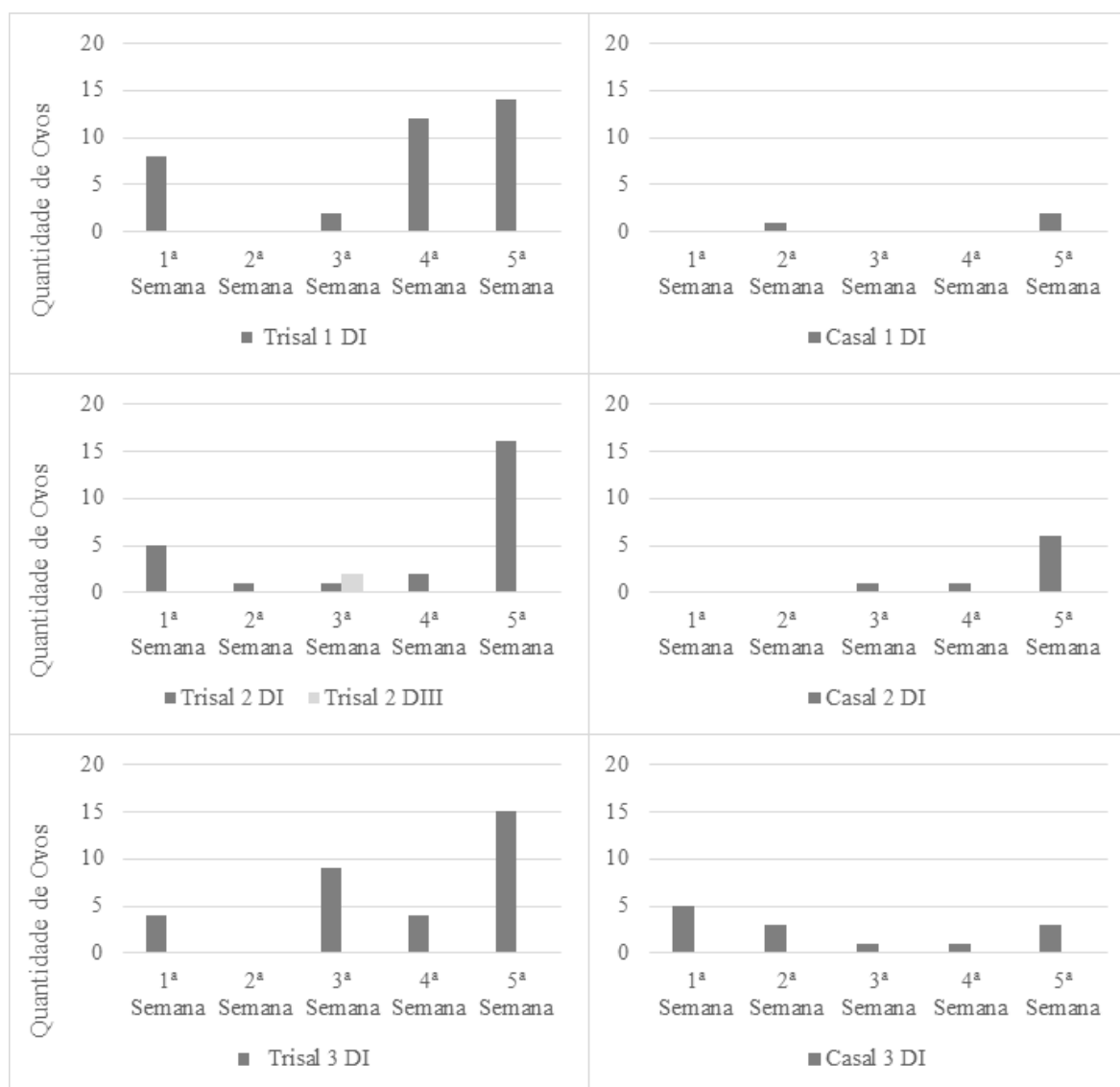


Figura 7 – Fases de desenvolvimento embrionário dos ovos (DI: Diapausa I e DIII: Diapausa III), classificados após 90 dias de acondicionamento, e retirados nas diferentes semanas de acompanhamento dos peixes reprodutores.

Durante as cinco semanas de acompanhamento foram observados ovos no estágio DI em todos os 15 ninhos com trisais. Por outro lado, ovos classificados em DIII ocorreram nas quatro primeiras semanas de experimento e foram encontrados em apenas cinco ninhos. Já nos aquários que continham casais foi verificada apenas a fase DI em todos os ovos analisados durante o experimento. Embora tenham sido observados uma quantidade considerável de ovos ao longo do estudo, nenhum deles estava em Diapausa II (Figuras 6 e 7).

Taxas de eclosão

Dos 141 ovos obtidos ao longo do estudo, apenas 5% (sete) iniciaram o desenvolvimento e chegaram à fase DIII. Do total de ovos que alcançaram a fase DIII ao longo do experimento, apenas três ovos eclodiram e deram origem a três alevinos, todos no primeiro evento de contagem/molhagem (60 dias de acondicionamento). Dois destes cresceram e se tornaram fêmeas adultas, o outro era rampante e morreu logo nos primeiros dias de vida ainda como larva.

Todos os três ovos que deram origem a alevinos foram oriundos de trisais, dois do Trisal 1, depositados na Semana I do experimento, e o terceiro do Trisal 3, depositado na Semana IV de observação dos reprodutores.

Em comparação à primeira molhagem, na segunda molhagem dos ninhos nenhum ovo eclodiu, nem mesmo os embriões em DIII verificados ainda com vida após 30 dias de contagem/molhagem anterior.

Discussão

A partir da avaliação temporal da oviposição foi possível acompanhar a quantidade de ovos perdida e a quantidade de ovos que permaneceu viável, além da identificação de ovos que não haviam sido quantificados em contagens anteriores. As diferenças observadas nos números de ovos de um mesmo ninho entre diferentes contagens se devem a alguns possíveis fatores. Como os ovos são muito pequenos, alguns desses ovos podem passar despercebidos nas contagens, ainda que seja feita uma dupla checagem. Além disso, há uma curva de aprendizagem que envolve o treinamento do campo visual do observador que não pode ser desconsiderada. Adicionalmente a esses fatores, a primeira contagem foi realizada logo após os ninhos terem sido retirados do aquário e parcialmente secos, alguns ovos podem ter ficado aderidos ao substrato por conta da umidade e, portanto, não terem sido notados e quantificados. Já a perda de ovos observada entre a segunda e a terceira contagens pode indicar sua deterioração por fungos, ou por não terem sido fecundados [27].

Os resultados das análises estatísticas revelaram diferença significativa entre os tratamentos de trisais e casais, sendo a oviposição das fêmeas por semana na conformação de trisais maior do que a de casais. No entanto, como o n amostral do nosso estudo é pequeno, não foi possível avaliar se o modelo adotado apresenta um bom ajuste via análise de resíduos, pois obtivemos poucos ovos com a reprodução de casais e trisais de *H. auratus*. Além disso, pode ser que tenha ocorrido também o fenômeno de superdispersão, que é algo muito comum em dados de contagem. A superdispersão significa que a variância observada nos dados foi maior do que a variância esperada segundo o modelo, o que pode interferir no erro padrão obtido e, consequentemente, na previsão e interpretação do modelo [31]. Por isso, em experimentos futuros, recomenda-se ampliar o número de aquários para

aumentar o poder do teste e viabilizar a validação dos resíduos.

Além disso, com o passar das semanas, nossos resultados indicaram uma tendência de aumento numérico de ovos depositados por fêmea na configuração de trisais, tendência não observada em casais. Acreditamos que, ao juntar duas fêmeas com um macho, elas podem ser menos exigidas energeticamente, em comparação às fêmeas mantidas apenas em casais [10]. Isso pode estar relacionado ao comportamento hiperativo de corte dos machos, que investem constantemente e insistentemente sobre as fêmeas [27], como também, em eventuais comportamentos de intimidação ou agressividade, devido à característica dominante e territorialista dos machos quando mantidos com fêmeas em laboratório [32].

Fonseca [27] analisou a reprodução do peixe-anual *Austrolebias nigrofasciatus* nas proporções de uma, duas, três e quatro fêmeas por macho e verificou um aumento no desempenho reprodutivo quando fêmeas eram adicionadas até um número de três fêmeas para cada macho. Em seu estudo, a adição de fêmeas mostrou um aumento de pelo menos 15% na oviposição média para cada fêmea adicionada. Segundo a autora, a maior proporção no número de fêmeas em relação a machos permite haver alternância entre elas durante os eventos reprodutivos e com isso essas fêmeas ganham um intervalo maior de tempo para ganhos energéticos e maturação dos oócitos, o que pode refletir diretamente no aumento da oviposição. Em outro estudo, Shibatta [32] estudou as interações sociais entre indivíduos de *Simpsonichthys boitonei* e reportou que, diante da aproximação da fêmea, os machos podem demonstrar comportamento que resulta ou em ataque ou em corte.

Com base no observado nesses estudos e nos nossos resultados, acreditamos que na presença de mais de uma fêmea tanto o comportamento de corte como interações agressivas provenientes do macho sejam divididos entre as diferentes fêmeas. Essa divisão permite tanto um menor gasto energético com comportamento de evasão e fuga nas fêmeas, como um maior tempo para desenvolvimento dos ovócitos das fêmeas entre as desovas. Juntos, esses dois mecanismos podem potencializar as taxas de oviposição e, consequentemente, o desempenho reprodutivo. Adicionalmente, além de favorecer o desempenho reprodutivo, a proporção de duas fêmeas para cada macho pode contribuir para o bem-estar e recuperação dessas fêmeas, pois quando

mantidas em cativeiro elas são ainda mais afetadas por investidas de corte e possíveis ataques dos machos do que quando nos seus ambientes naturais.

Estudos realizados com outras espécies de rivulídeos de diferentes gêneros apresentaram taxas médias de fecundidade próximas ou superiores às obtidas no presente trabalho (3,53 ovos/fêmea/semana em trisais e 2,33 ovos/fêmea/semana em casais). Shibatta [21] encontrou uma fecundidade de três ovos/fêmea/dia para *S. boitonei* mantidos em laboratório e Volcan et al. [20] observaram que em *A. nigrofasciatus* mantidos em laboratório a fecundidade variou de 30 a 38 ovos/fêmea/semana. Em um outro estudo, Volcan et al. [23] acompanharam casais de *A. nigrofasciatus* mantidos em gaiolas no ambiente natural e encontraram uma fecundidade de 21,5 ovos/fêmea/semana.

Uma possível explicação para a baixa taxa de oviposição obtida no presente estudo em comparação a outros trabalhos pode estar relacionada a forma de alimentação dos peixes no decorrer do experimento. Por limitações logísticas e laboratoriais, a alimentação dos *H. auratus* se deu de maneira concentrada no tempo, ou seja, eles foram alimentados apenas uma vez por dia. Além disso, os recursos alimentares oferecidos aos peixes variaram entre três itens: daphnias, náuplios de artêmia e artêmias adultas. Sabe-se que, na natureza, a disponibilidade e variabilidade de recursos alimentares contribui com ganhos significativos para maiores reservas energéticas apanhadas com os alimentos ingeridos pelos peixes, influenciando diretamente a estrutura populacional das espécies [24].

No caso do estudo de Shibatta [21], embora o autor o tenha sido conduzido em laboratório, os casais utilizados no experimento foram coletados em campo e mantidos por apenas três dias em cativeiro para acompanhamento das taxas de oviposição. Sendo assim, a condição nutricional desses peixes pode, muito provavelmente, ainda estar refletindo a sua alimentação em ambiente natural, onde tanto a disponibilidade como a variabilidade de recursos alimentares são muito maiores do que sob condições laboratoriais. Volcan et al. [20], por outro lado, conduziram um estudo laboratorial mais longo com *A. nigrofasciatus* (5 semanas), no qual ofereceram copépodes e cladóceros duas vezes ao dia (12 e 20h) *ad libitum* aos peixes, de modo que alguns desses copépodes e cladóceros sempre pudessem ser encontrados vivos nos aquários no dia seguinte. Por fim, Volcan et al. [23] conduziram seu trabalho em gaiolas de confinamento localizadas dentro dos

próprios ambientes naturais do *A. nigrofasciatus*, onde a disponibilidade e variabilidade de recursos alimentares é maior em comparação a aquários mantidos em laboratório.

Em relação à sobrevivência e ao desenvolvimento dos ovos mantidos acondicionados nos ninhos entre 60 e 90 dias, podemos dizer que o meio de incubação parece viável para conservação dos ovos de *H. auratus* em cativeiro, pois a maioria dos embriões foi preservada. Dos 141 ovos obtidos pelos peixes desde o início do experimento, 84,4% dos embriões persistiram com vida e em boas condições. Embora a taxa de sobrevivência dos embriões tenha sido alta quando comparada com outros estudos [21][23], foi observada que a maioria dos embriões permaneceu em DI até o fim do experimento. A razão para este fato pode estar relacionada a fatores abióticos que exercem forte influência no desenvolvimento dos embriões, podendo variar individualmente e entre as espécies [10].

Em outros estudos observa-se que fatores ambientais, químicos e físicos podem influenciar a velocidade com que os embriões se desenvolvem, tais como pH, fotoperíodo, temperatura, umidade e granulação do substrato, concentração de oxigênio e gás carbônico no ovo, dentre outros [10]. Por exemplo, a concentração de hormônios na água gerada pela densidade dos peixes adultos expostos ao fotoperíodo pode influenciar na ativação e desativação da diapausa nos embriões [27][8]. Arezon et al. [9] avaliaram a influência da temperatura na velocidade do desenvolvimento embrionário de *Cynopoecilus melanotaenia* em duas temperaturas constantes (20°C e 25°C) e em temperatura ambiente variável (16°C – 25°C). Os autores concluíram que em 25°C todos os embriões alcançaram o desenvolvimento completo mais rapidamente, porém, também nessa temperatura, todos eles eclodiram com defeitos morfológicos e morreram logo após a eclosão.

Outro fator a se considerar é o fato das matrizes que geraram os peixes utilizados nos experimentos terem sido obtidas a partir de um evento de apreensão em ação de fiscalização. Portanto, não temos como garantir que esses peixes foram mantidos em condições ideais de cativeiro. Deficiências alimentares, de acondicionamento, dentre outras, desses peixes apreendidos podem ter afetado os ciclos reprodutivos das proles utilizadas no experimento.

Ainda que tenhamos observado o nascimento de apenas um indivíduo rampante durante a

realização do estudo, outros trabalhos relatam uma quantidade considerável de exemplares que apresentam essa deficiência em cativeiro [25], embora essa condição não tenha sido observada na natureza [33]. São intitulados como “rampantes” os peixes que não inflam a vesícula gasosa após a eclosão e, por esse motivo, acabam ficando no fundo dos aquários, pois são incapazes de regular o próprio volume da bexiga natatória, não conseguindo controlar a forma como flutuam em meio a coluna d’água [25][33].

Com o avanço das diapausas os embriões adquirem novos órgãos e apresentam diferenças fenotípicas. Além disso, apresentam diferenças fisiológicas que resultam em um padrão desigual em relação à taxa metabólica [11]. O coração e os órgãos sensoriais associados à cabeça são encontrados apenas em embriões que atingem a fase DII e DIII [27]. Estas estruturas são energeticamente custosas de se manter por longos períodos, ainda mais quando já estão formadas e os ovos permanecem acondicionados, como foi o caso dos embriões que chegaram a DIII, não eclodiram e morreram no intervalo entre a primeira e a segunda observação (Tabela 2). Ainda assim, diante destas mesmas condições e mesmo intervalo de tempo foram encontrados dois embriões em DIII após os três meses de acondicionamento dos ninhos (90 dias), momento em que pudemos observar e classificar as fases da diapausa para todos os embriões pela segunda vez.

Shibatta [21] conduziu um experimento semelhante ao presente estudo, com a espécie *Simpsonichthys boitonei* em laboratório e avaliou o desenvolvimento de 84 ovos que estiveram incubados de 55 até 100 dias em ninhos compostos por pó-de-xaxim. Neste período, cerca de 46% iniciaram o desenvolvimento, enquanto o restante dos ovos não avançou para as fases seguintes de diapausa e permaneceu em DI. Fonseca [27] estudou o efeito do meio de incubação no tempo e na trajetória de desenvolvimento embrionário do peixe-anual *Austrolebias nigrofasciatus* em quatro meios líquidos e dois meios úmidos sob condições experimentais durante 130 dias. Em seu estudo, os ovos levaram em média de 46 a 58 dias para que 50% atingissem a fase DIII, independentemente do tratamento. Ao longo do estudo, foi possível perceber que ao analisar uma geração de descendentes mantidos sob as mesmas condições físicas e químicas, num mesmo período, os ovos podem alcançar diferentes estágios de desenvolvimento e eclodir em diferentes ocasiões, o que significa que o desenvolvimento dos ovos não é homogêneo.

Embora *H. auratus* tenha apresentado uma taxa de eclosão relativamente baixa quando comparada com outras espécies de peixes Rivulidae [21][22], é possível dizer que o fato de alguns ovos seguirem caminhos alternativos de desenvolvimento e eclodirem em períodos diferentes pode contribuir para sobrevivência da espécie. De acordo com Wourms [8], essa estratégia é benéfica e colabora para que sempre exista um estoque populacional de ovos viáveis prontos para eclodir com a chegada da temporada das chuvas.

Considerações finais

Com base em nossos resultados, conclui-se que o desempenho reprodutivo de *H. auratus* em cativeiro é aumentado com o acréscimo de duas fêmeas por macho, resultando em maiores quantidades de ovos depositados. Apesar do período curto deste estudo e pequeno número de réplicas, observamos que as fêmeas mantidas em trisais depositaram quantidades maiores de ovos com o passar das semanas. Portanto, é possível dizer que uma razão sexual deslocada para fêmeas pode beneficiar a reprodução dos peixes-anuais em cativeiro, o que pode ser quantitativamente importante quando o objetivo é a obtenção de ovos de espécies ameaçadas.

Embora *H. auratus* tenha apresentado um desenvolvimento embrionário lento e uma taxa de eclosão relativamente baixa, quando comparada a outras espécies de peixes-anuais, os resultados obtidos sugerem que os ovos que chegam ao fim do desenvolvimento e eclodem num período curto contam com essa estratégia para crescerem rapidamente, atingir a maturidade sexual e se reproduzirem, enquanto os ovos que não eclodem permanecem sujeitos a eclosão em eventos futuros, podendo assim gerar descendentes em diferentes períodos e garantir um estoque populacional de ovos viáveis prontos para eclodir em condições ambientais mais propícias para a espécie.

O meio de incubação utilizado parece viável para conservação dos ovos de *H. auratus* em cativeiro, pois preserva a maioria dos embriões, demonstrando ser um meio interessante para a manipulação dos ovos que apresentam desenvolvimento prolongado. No entanto, esta hipótese requer maior investigação, já que nem todos os embriões foram acompanhados até a morte ou eclosão. Nesse sentido, recomenda-se que futuros estudos possam avaliar por um período mais prolongado o desenvolvimento completo

dos ovos de *H. auratus*, a fim de elucidar o tempo estimado que a maioria dos embriões leva para alcançar o completo desenvolvimento em condições laboratoriais. Sugerimos que, após a retirada dos ninhos dos aquários, os ovos sejam contados e acondicionados por 90 dias, sendo posteriormente classificados e molhados para a determinação da taxa de eclosão. As turfas com ovos devem então passar por um novo período de acondicionamento, entre 60 ou 90 dias, antes de serem reavaliadas e molhadas.

Estudos relacionados à biologia reprodutiva e ao aperfeiçoamento das técnicas de manejo em laboratório são importantes para subsidiar trabalhos de conservação *ex situ* com espécies ameaçadas [27]. Diante disso, espera-se que a contribuição deste estudo na ampliação do conhecimento da biologia reprodutiva de *H. auratus* possa auxiliar no manejo dessa e de outras espécies de peixes-anuais em cativeiro.

Agradecimentos

Ao CNPq, ao ICMBio/CEPTA e ao PAN Rivulídeos pelo apoio financeiro e institucional que proporcionaram o desenvolvimento dessa pesquisa. As técnicas ambientais do ICMBio/CEPTA Rayra Dituri e Luciana Hayashi, pelo valioso auxílio na manutenção dos aquários e das instalações laboratoriais e ao Prof. Dr. Davi Butturi-Gomes, da Universidade Federal São João Del Rey, pela realização das análises estatísticas. Aos revisores, pela valorosa contribuição.

Referências

1. Reis RE, Lucena ZM, Lucena CAS, Malabarba LR. Peixes. In: Fontana CS, Bencke GA, Reis RE (orgs.). Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Ed. PUCRS; 2003.
2. Rosa RS, Lima FCT. Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: Machado ABM, Drummond GM, Paglia AP (eds.). Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; 2008.
3. Castro RCM, Polaz CNM. Small-sized fish: the largest and most threatened portion of the megadiverse neotropical freshwater fish fauna. *Biota Neotropica*. 2020; 20(1): e20180683. doi: 10.1590/1676-0611-BN-2018-0683
4. Nielsen DTB. Killifish Cynopoecilini. Taubaté: Casa Cultura; 2010.
5. Costa WJEM. Peixes anuais brasileiros: diversidade e conservação. Curitiba: Editora UFPR; 2002.
6. Costa WJEM. Peixes aplocheilóideos da Mata Atlântica brasileira: história, diversidade e conservação/ Aplocheiloid fishes of the Brazilian Atlantic Forest: history, diversity and conservation. Rio de Janeiro: Museu Nacional UFRJ; 2009.
7. Berois N, Garcia G, De Sa RO. Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution. Boca Raton: CRC Press; 2015.
8. Wourms JP. The development biology of annual fishes III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of the annual fishes. *J Exp Zool*. 1972; 182(3): 389-414.
9. Arenzon A, Lemos CA, Bohrer MBC. The influence of temperature on the embryonic development of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Braz J Biol*. 2002; 62(4B): 743-747.
10. Nielsen DTB. *Simpsonichthys e Nematolebias*. Taubaté: Cabral editora e Livraria Universitária; 2008.
11. Furness AI, Reznick DN, Springer MS, Meredith RW. Convergent evolution of alternative developmental trajectories associated with diapause in African and South American killifish. *Proc Biol Sci*. 2015; 282(1): 1-8.
12. Volcan MV. Crescimento e fecundidade do peixe anual *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) sob condições de laboratório [dissertação de mestrado]. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande; 2009. 59 f.
13. Mariano WS, Oba ET, Ribeiro TMP, Almeida JA. Peixes anuais e alterações ambientais – revisão de literatura. Anais da Jornada do Meio Ambiente, Sociedade Contemporânea e Sustentabilidade (Embrapa Amapá). Palmas: Pedro & João Editores; 2010. p. 1-5.
14. Lanés LEK. Dinâmica e conservação de peixes anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae) no Parque Nacional da Lagoa do Peixe [dissertação de mestrado]. São Leopoldo: Universidade do Vale do Rio dos Sinos; 2011. 58 f.
15. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Sumário executivo do plano de ação nacional para a conservação dos peixes rivulídeos ameaçados de extinção [Internet]. Brasília: ICMBio; 2013 [cited 2024 Apr 24]. Available from: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/pan/pan-rivulideos/1-ciclo/pan-rivulideos-sumario.pdf>.
16. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA n. 445, de 17 de dezembro de 2014. Reconhecer como espécies de peixes e invertebrados aquáticos da fauna brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da “Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção – Peixes e Invertebrados Aquáticos” [Internet]. Diário Oficial da União. 2014 dez. 18 [cited 2024 Apr 24].

Available from: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2014/p_mma_445_2014_lista_peixes_amea%C3%A7ados_extin%C3%A7%C3%A3o.pdf.

17. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA n. 148, de 07 de junho de 2022. Altera os anexos da portaria n.º 443, de 17 de dezembro de 2014, da portaria n.º 444, de 17 de dezembro de 2014, e da portaria n.º 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção [Internet]. Diário Oficial da União. 2022 jun. 08 [cited 2024 Apr 24]. Available from: <https://in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733>

18. Pavanelli CS, et al. *Hypsolebias auratus* (Costa & Nielsen, 2000). In: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (Org.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI - Peixes. Brasília: ICMBio; 2018. p. 546-548.

19. Ciolete TN, Vasconcellos AS, Rezende JLP. Estado de conservação dos rivulídeos no estado de Minas Gerais – revisão de literatura. Sinapse Múltipla. 2018; 7(1): 8-26.

20. Volcan MV, Sampaio LA, Bongalhardo DC, Robaldo RB. Reproduction of the annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* (Rivulidae) maintained at different temperatures. Appl. Ichthyol. 2013; 29: 648-652.

21. Shibatta OA. Reprodução do pirá-brasília, *Simpsonichthys boitonei* Carvalho (Cyprinodontiformes, Rivulidae), e caracterização de seu habitat na Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasília, Distrito Federal, Brasil. Rev Bras Zool. 2005; 22(4): 1146-1151.

22. Fonseca AP. Crescimento e reprodução do peixe anual *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) em diferentes temperaturas [dissertação de mestrado]. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande; 2011. 46 f.

23. Volcan MV, Fonseca AP, Robaldo RB. Reproduction of the threatened annual killifish *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), confined in a natural environment. J Threat Taxa. 2011; 1864-1867.

24. Gonçalves CS, Souza UP, Volcan MV. The opportunistic feeding and reproduction strategies

of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. Neotrop Ichthyol. 2011; 9(1): 191-200.

25. Fonseca AP, Volcan MV, Sampaio LA, Romano LA, Robaldo RB. Growth of critically endangered annual fish *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) at different temperatures. Neotrop Ichthyol. 2013; 11: 837-844.

26. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade [homepage na internet]. Plano de ação nacional para a conservação dos peixes rivulídeos ameaçados de extinção. [cited 2024 Apr 24]. Available from: <https://www.gov.br/icmbio/ptbr/assuntos/biodiversidade/pan/pan-rivulideos>.

27. Fonseca AP. Reprodução e desenvolvimento do peixe anual *Austrolebias nigrofasciatus* Costa & Cheffe, 2001 em laboratório [tese]. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande; 2015. 75 f.

28. Costa WJEM, Nielsen DTB. *Simpsonichthys auratus*, a new annual fish from the rio Paracatú drainage, São Francisco basin, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). Ichthyol Explor Freshwaters. 2000; 11(1): 7-12.

29. Vieira S. Análise de variância: ANOVA. São Paulo: Editora Atlas SA; 2000.

30. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2021. Available from: <https://www.R-project.org/>.

31. Hinde J, Demétrio CGB. Overdispersion: models and estimation. Comput. Statist. Data Anal. 1998; 27(2): 151-170.

32. Shibatta OA. Social behavior of pira-brasília, *Simpsonichthys boitonei* Carvalho (Cyprinodontiformes, Rivulidae). Rev Bras Zool. 2006; 23(2): 375-380

33. Ramos HAC. Modelos qualitativos para investigar o ciclo de vida e a influência de atividades antrópicas sobre os biótopos de Pirá-Brasília – *Simpsonichthys boitonei* – em Brasília, DF [dissertação de mestrado]. Brasília: Universidade de Brasília; 2010. 35 f.

Biodiversidade Brasileira – BioBrasil.

Fluxo Contínuo e Edição Temática:

Gestão do Conhecimento e Sociobiodiversidade das Áreas Protegidas de Carajás
n.1, 2025

<http://www.icmbio.gov.br/revistaelectronica/index.php/BioBR>

Biodiversidade Brasileira é uma publicação eletrônica científica do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) que tem como objetivo fomentar a discussão e a disseminação de experiências em conservação e manejo, com foco em unidades de conservação e espécies ameaçadas.

ISSN: 2236-2886