

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Ciências Biológicas - Bacharelado



Trabalho Acadêmico

Reprodução dos peixes anuais *Austrolebias nigrofasciatus* e *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) em seu ambiente natural no sul do Brasil

Daiana Kaster Garcez

Pelotas, 2014

DAIANA KASTER GARCEZ

**REPRODUÇÃO DOS PEIXES ANUAIS *Austrolebias nigrofasciatus* E
Austrolebias wolterstorffi (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE) EM SEU
AMBIENTE NATURAL NO SUL DO BRASIL**

Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Ricardo Berteaux Robaldo
Co-Orientador: M.Sc. Matheus Vieira Volcan

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:

Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

G215r Garcez, Daiana Kaster

Reprodução dos peixes anuais *Austrolebias nigrofasciatus* e *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) em seu ambiente natural no sul do Brasil / Daiana Kaster Garcez. – 38f. ; il – Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2014. – Orientador Ricardo Berteaux Robaldo ; co-orientador Matheus Vieira Volcan.

1.Biologia. 2.Peixes anuais. 3.Fecundidade. 4.Fator de condição. 5.Índice gonadossomático. 6.Índice hepatossomático. 7.Killifish. 8.Poças temporárias. 9. *Austrolebias nigrofasciatus*. 10.*Austrolebias wolterstorffi*. I.Robaldo, Ricardo Berteaux. II.Volcan, Matheus Vieira. III.Título.

CDD: 597.176

Banca examinadora:

Prof. Dr. Ricardo Berteaux Robaldo

M.Sc. Alinca Peres da Fonseca

Prof. Dr. José Eduardo Figueiredo Dornelles

M.Sc. Ândrio Cardozo Gonçalves

**Dedico este trabalho aos meus pais, meus irmãos,
meu namorado Geison e meus familiares.**

Agradecimentos

Agradeço à minha família pelo apoio e incentivo que sempre recebi durante toda a minha vida. Principalmente à minha mãe Dóris e ao meu pai Nilson pelo grande exemplo que sempre me deram e por sempre batalharem por um futuro melhor para a nossa família. E agradeço também aos meus irmãos Franklin e Geferson por tudo que já vivemos juntos e por fazerem parte da minha vida.

Ao meu namorado Geison por sempre me apoiar e incentivar durante esses 5 anos, ao seu companheirismo, amizade e amor, que aumenta cada vez mais e de um jeito novo.

Ao Toby pelo amor incondicional que me proporciona todos os dias.

Aos meus amigos pela amizade e apoio durante toda essa caminhada.

Ao meu orientador Ricardo Robaldo pelos inúmeros ensinamentos, pelo grande apoio, enorme paciência, pelo espaço que foi cedido para o meu trabalho. Agradeço pela oportunidade que me foi dada, onde eu conheci um pouco do mundo dos peixes e comecei gostar muito e quero pesquisá-los até o fim da minha vida. Agradeço ao meu orientador por ser um exemplo de pessoa, professor e pesquisador que inspira e alegra todos ao seu redor, inclusive eu.

Ao meu co-orientador Matheus Volcan que tornou possível o início da minha jornada de estudos com peixes anuais, e por todo o apoio e ensinamentos.

Aos meus colegas de laboratório pela companhia, ensinamentos e amizade. Principalmente à Alinca pelo apoio e ensinamentos e à minha grande amiga Juba.

Ao Laboratório de Fisiologia Aplicada à Aquicultura que possibilitou a efetivação do meu trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica que foi concedida por um ano, e que possibilitou várias conquistas.

Agradeço às pessoas que participaram e contribuíram de alguma forma para a realização desse estudo.

Resumo

GARCEZ, Daiana Kaster. **Reprodução dos peixes anuais *Austrolebias nigrofasciatus* e *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) em seu ambiente natural no sul do Brasil**. 2014. 38f. Trabalho Acadêmico – Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Os peixes anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae) habitam ambientes aquáticos temporários e estão ameaçados de extinção devido à degradação de seu habitat. Possuem ciclo de vida peculiar, atingindo a maturidade rapidamente com desovas contínuas até a senilidade ou morte. Estes peixes possuem grande importância como modelo biológico, como controladores de pragas e como peixes ornamentais. Portanto, vários autores ressaltam a importância da realização de estudos destinados a melhorar o conhecimento sobre a biologia destes peixes, para que, dessa maneira, possam fornecer subsídios para o cultivo, manejo e futuros planos de conservação. São raros os estudos que contemplam a biologia reprodutiva deste grupo. Assim, este estudo teve como objetivo buscar informações sobre a biologia reprodutiva, tais como, período reprodutivo, proporção sexual, fecundidade e os possíveis fatores que influenciam a fecundidade nos peixes anuais *Austrolebias nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi* em seu ambiente natural no sul do Brasil. Foram coletados 203 peixes, sendo 154 pertencentes à *A. nigrofasciatus* e 49 à *A. wolterstorffi*. Os exemplares e os dados abióticos foram coletados mensalmente durante o ano de 2011 em três charcos localizados entre o Arroio Pelotas e a desembocadura do Canal São Gonçalo na Laguna dos Patos, no município de Pelotas. Foi analisado o comprimento total, peso total, peso do fígado, peso das gônadas, índice gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS), fator de condição (K), proporção sexual e fecundidade relativa. Os resultados mostram que não houve diferença significativa na proporção sexual e que as duas espécies do estudo não possuem período reprodutivo específico, apresentando desovas contínuas por toda a vida. O IGS apresentou aumento no decorrer dos meses de alagamento dos charcos em ambas espécies estudadas, sendo que o comprimento total exerce grande influência nesse desenvolvimento gonadal. O IHS e o K se mantiveram constantes durante todos os meses analisados e demonstraram que não são influenciados pelo índice gonadossomático. A fecundidade relativa foi maior nos meses de junho e julho para as duas espécies, sendo que *A. nigrofasciatus* apresentou maior fecundidade que *A. wolterstorffi*. Essa fecundidade não é influenciada pelo comprimento destes peixes, e ela por sua vez, não exerce influência sobre o IGS, IHS e K.

Palavras-chave: Fator de condição. Fecundidade. Índice gonadossomático. Índice hepatossomático. Killifish. Poças temporárias.

Abstract

GARCEZ, Daiana Kaster. **Reprodução dos peixes anuais *Austrolebias nigrofasciatus* e *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) em seu ambiente natural no sul do Brasil**. 2014. 38f. Trabalho Acadêmico – Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The annual fishes (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabit temporary aquatic environments and are threatened with extinction due to degradation of their habitat. They have a peculiar life cycle, reaching maturity quickly with continuous spawning until senility or death. These fish have great importance as a biological model, as pest controllers and as ornamental fish. Therefore, several authors emphasize the importance of conducting studies to improve the knowledge about the biology of these fish, so that in this way can aid the cultivation, management and future conservation plans. Studies that address the reproductive biology of this group are rare. Thus, the study aimed to look for information on the reproductive biology, such as reproductive period, sex ratio, fecundity, and the possible factors influencing fecundity in the annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* and *A. wolterstorffi* in their natural environment in southern Brazil. We collected 203 copies, with 154 belonging to *A. nigrofasciatus* and 49 to *A. wolterstorffi*. Copies and abiotic data were collected monthly during the year 2011 in three ponds located between the mouth of the Arroio Pelotas and Canal São Gonçalo in Laguna dos Patos, in Pelotas. The total length, total weight, liver weight, gonad weight, gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic index (HSI), condition factor (K), sex ratio and fecundity was analyzed. The results show no significant difference in sex ratio and that the two species in the study have no specific breeding period, with continuous spawning throughout life. The GSI showed an increase during the months of flooding swamps in both species studied, and the total length exerts great influence in gonadal development. The HSI and K remained constant during all months and demonstrated that they are not influenced by GSI. Relative fecundity was higher in the months of June and July for both species, with *A. nigrofasciatus* showed higher fecundity than *A. wolterstorffi*. This fecundity is not influenced by the length of these fish, and she in turn, exerts no influence on the GSI, HSI and K.

Key-words: Condition factor. Fecundity. Gonadosomatic index. Hepatosomatic index. Killifish. Temporary ponds.

Lista de figuras

Figura 1	O macho de <i>Austrolebias wolterstorffi</i>	14
Figura 2	O macho de <i>Austrolebias nigrofasciatus</i>	14
Figura 3	Área de estudo localizada em Pelotas, RS, Brasil.....	17
Figura 4	Charcos da área de estudo localizados no Pontal da Barra e Recanto de Portugal, Pelotas, RS.....	18
Figura 5	Variação sazonal do índice gonadossomático (IGS) de machos e fêmeas de <i>A. nigrofasciatus</i> ao longo do ciclo de vida em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	23
Figura 6	Variação sazonal do índice gonadossomático (IGS) de machos e fêmeas de <i>A. wolterstorffi</i> ao longo do ciclo de vida em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	24
Figura 7	Variação entre fecundidade relativa de <i>A. nigrofasciatus</i> ao longo dos meses em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	25
Figura 8	Variação entre fecundidade relativa de <i>A. wolterstorffi</i> ao longo dos meses em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	26
Figura 9	Relação entre fecundidade relativa e comprimento total (CT) de <i>A. nigrofasciatus</i> em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	26
Figura 10	Relação entre fecundidade relativa e comprimento total (CT) de <i>A. wolterstorffi</i> em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	27
Figura 11	Relação entre fecundidade relativa e índice gonadossomático (IGS) em <i>A. nigrofasciatus</i> em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	28
Figura 12	Relação entre fecundidade relativa e índice gonadossomático (IGS) em <i>A. wolterstorffi</i> em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	28

Lista de tabelas

Tabela 1	Índice gonadossomático (IGS) e índice hepatossomático (IHS) de <i>Austrolebias nigrofasciatus</i> e <i>A. wolterstorffi</i> ao longo dos meses em seu ambiente natural no sul do Brasil.....	22
----------	--	----

Sumário

1 Introdução	11
1.1 Objetivos	13
1.1.1 Objetivo geral	13
1.1.2 Objetivos específicos.....	13
2 Revisão de literatura	14
3 Material e Métodos.....	17
3.1 Área de estudo	17
3.2 Coletas	19
3.3 Análise de dados.....	19
4 Resultados	21
5 Discussão.....	29
6 Conclusões.....	32
Referências	33

1 Introdução

A família Rivulidae é um dos táxons mais diversificados da região Neotropical, com vários gêneros que apresentam ciclo de vida anual (COSTA, 1998; VARI; MALABARBA, 1998). O gênero *Austrolebias* Costa, 1998 é composto por peixes anuais, que são assim conhecidos por habitarem charcos sazonais que se formam durante as estações chuvosas no sul do Brasil, Paraguai, Uruguai, e Argentina (COSTA, 2006). Durante a primavera e o início do verão, os charcos secam resultando na morte dos adultos, mas antes disso, eles enterram seus ovos fecundados no substrato. Os ovos permanecem em estágio de diapausa durante a estação seca até o início das chuvas, quando o charco irá alagar e os ovos irão eclodir, iniciando um novo ciclo (WOURMS, 1972).

A precocidade da maturação sexual, o rápido crescimento inicial, a resistência dos ovos à seca no substrato, ovos que passam por estágios de diapausa (PODRABSKY; HAND, 1999; WOURMS, 1972) e o curto ciclo de vida são características típicas do grupo (ARENZON; BOHRER; PERET, 1999; ERREA; DANULAT, 2001; GONÇALVES; SOUZA; VOLCAN; LANÉS; GONÇALVES, 2009; VOLCAN, 2011) e evidenciam sua complexa adaptação aos ambientes efêmeros onde vivem (COSTA, 2008). Estas características fazem com que esse grupo seja considerado um ótimo modelo para estudos bioecológicos. Além disso, são considerados importantes componentes para o equilíbrio das áreas úmidas onde vivem, pois geralmente são os mais abundantes, os maiores e mais notáveis predadores de topo, apresentando hábito alimentar oportunista (GONÇALVES; SOUZA; LAUFER et al., 2009; VOLCAN, 2011).

No município de Pelotas, sul do Rio Grande do Sul, o complexo de áreas úmidas, que se estende entre o Arroio Pelotas e a desembocadura do canal São Gonçalo na Laguna dos Patos (31°46'29"S; 52°15'34"W) é considerado um importante remanescente de áreas úmidas, matas e paleodunas inserido no ambiente urbano do município de Pelotas. Apesar de sua importância no contexto ambiental regional, a área sofre muita pressão antrópica na qual é explorada

indevidamente por loteamentos irregulares, canalizações, drenagens, aterramentos, cultivos e pecuária, atividades que colocam em risco a sustentabilidade do local. Estes fatores, somados com o fato desses peixes possuírem uma distribuição restrita, torna-os muito vulneráveis, sendo que a maioria dos peixes anuais está ameaçada de extinção (COSTA, 2008). Nessa área há registro de três espécies de peixes anuais que ocorrem juntas (GONÇALVES; SOUZA; VOLCAN, 2011; VOLCAN, 2010): *Austrolebias nigrofasciatus* (COSTA; CHEFFE, 2001), *A. wolterstorffi* (AHL, 1924) e *Cynopoecilus multipapillatus*. Estas espécies são consideradas raras e de distribuição restrita (NOGUEIRA et al., 2010), de maneira que as duas primeiras encontram-se em situação delicada em listas de fauna ameaçada de extinção, assim como a maioria das espécies de peixes anuais (FONTANA; BENCKE; REIS, 2003; ROSA; LIMA, 2008).

Diante desta situação, o “Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Rivulídeos” foi criado (ICMBio, 2012). Na qual enfatizou a importância de realizar estudos técnicos e científicos, *in situ* e *ex situ*, aplicados à conservação das espécies focais de rivulídeos e seus habitats (ICMBio, 2012).

A espécie *A. wolterstorffi* merece atenção especial quanto à sua conservação por ser considerada ameaçada de extinção no Estado, e está incluída na categoria “ criticamente em Perigo”. Já a espécie *A. nigrofasciatus* encontra-se na categoria “Em Perigo” nos livros vermelhos da fauna ameaçada de extinção do Rio Grande do Sul e também do Brasil (FONTANA; BENCKE; REIS, 2003; ROSA; LIMA, 2008). Estas duas espécies são endêmicas do sistema lagunar Patos-Mirim, onde ocorrem em pontos isolados do sul do Rio Grande do Sul ao leste do Uruguai (COSTA, 2006).

Conhecer as características biológicas de uma espécie é extremamente importante para a sua preservação. Desta forma, a seguir serão apresentados dados sobre as características reprodutivas das espécies *A. nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi*.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Gerar informações sobre a biologia reprodutiva das espécies de peixes anuais *A. nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi* em seu ambiente natural.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar o período reprodutivo e o tipo de desova de *A. nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi* ao longo do ano;
- Determinar a fecundidade relativa de *A. nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi*;
- Identificar a possível relação entre a fecundidade e comprimento total (CT) das fêmeas;
- Analisar as possíveis variações do índice gonadossomático (IGS), índice hepatossomático (IHS), fator de condição (K) de ambas as espécies ao longo dos meses e verificar se estes fatores influenciam a fecundidade das fêmeas;
- Verificar a existência de relações entre o IGS e o grau de bem estar do peixe (K) e/ou com a utilização de energia (IHS) na reprodução destes peixes;
- Verificar se existe relação entre o IGS e o CT nas duas espécies;
- Identificar se existe diferença na proporção sexual durante o ciclo;

2 Revisão de literatura

Cyprinodontiformes é uma ordem de peixes de água doce, onde a maioria apresenta pequeno tamanho corpóreo. Os indivíduos caracterizam-se pela presença de canais e poros na linha lateral da cabeça e forte dimorfismo sexual, sendo os machos os mais coloridos. Dentro desta ordem encontra-se a família Rivulidae, onde estão inclusos 37 gêneros e 368 espécies (FISHBASE, 2013).

Os machos da família Rivulidae possuem padrões de cores vivas e diversificadas, sendo a característica mais notável para a sua identificação dentre os demais membros da ictiofauna Neotropical, embora também ocorram belos padrões de cores em machos Aplocheilidae (Cyprinodontiformes) africanos e asiáticos. Como consequência, as espécies de rivulídeos são peixes populares de aquário em todo o mundo.

Esses peixes caracterizam-se pelo pequeno tamanho (Figs. 1 e 2), geralmente com comprimento total entre 50 e 80mm, porém algumas espécies de *Austrolebias* spp. e *Cynolebias* spp. são exceções e podem atingir comprimento entre 150 e 200mm, e algumas espécies de *Leptolebias*, *Plesioblebias* e *Simpsonichthys* não ultrapassam 30mm de comprimento total. O corpo geralmente é fino e subcilíndrico, mas em algumas espécies de *Simpsonichthys* e *Austrolebias* a forma do corpo pode ser mais comprimida e achatada (REIS; KULLANDER; FERRARI, 2003).



Figura 1 - O macho de *Austrolebias wolterstorffii* (barra=1,0mm).

Fonte: Matheus Volcan.



Figura 2 - O macho de *Austrolebias nigrofasciatus* (barra=1,0mm).

Fonte: Matheus Volcan.

Duas espécies, *A. bellottii* e *A. nigripinnis*, têm sido coletadas no nordeste da Argentina e exportadas para a Europa como peixes ornamentais, desde o século XX (MYERS, 1952). Conseqüentemente, entre os peixes anuais neotropicais, as espécies do gênero *Austrolebias* concentram a maioria dos estudos comportamentais disponíveis, tanto na literatura científica quanto na aquarística (BELOTE; COSTA, 2004; FOERSCH, 1956; KADLEC, 1990; VAZ-FERREIRA; SIERRA; PAULETE, 1964; VAZ-FERREIRA; SIERRA, 1973). Podrabsky e Hand (1999) estudaram a preferência de temperatura e a capacidade reprodutiva do peixe anual *Austrofundulus limnaeus* exposto a temperaturas constantes e flutuantes, e foi demonstrado que a espécie possui uma boa termorregulação e uma preferência termal média de 26°C. No entanto, machos e fêmeas apresentaram preferências distintas de temperatura e a capacidade reprodutiva foi afetada negativamente pela exposição às temperaturas cíclicas no laboratório.

A diapausa é o estágio em que o desenvolvimento embrionário dos peixes pode ser paralisado, sendo observada uma redução metabólica brusca neste período. Estudos realizados constataram a existência de três estágios do desenvolvimento em que pode ocorrer esta parada, estes estágios têm sido denominados de diapausa I, II e III, e cada um deles confere um grau de resistência às intempéries as quais os embriões estão expostos (WOURMS, 1972). Prodabsky e Hand (1999) observaram uma diminuição significativa do metabolismo de embriões na diapausa II e III quando comparado com o de embriões em desenvolvimento. A taxa de consumo de oxigênio e frequência cardíaca também caíram drasticamente nos embriões em diapausa, além disso, houve a inibição do desenvolvimento durante esta fase e os embriões em diapausa II mantiveram elevadas taxas de concentração de ATP e ADP como consequência da diminuição do gasto de energia.

Elaborados padrões de comportamento reprodutivo foram recentemente registrados em rivulídeos (BELOTE; COSTA, 2004; GARCÍA; LOUREIRO; TASSINO, 2008). Membros de Rivulidae são tipicamente peixes ovíparos, com fecundação externa. No entanto, as espécies dos gêneros *Cynopoecilus* e *Campellolebias* apresentam adaptações na nadadeira anal e na estrutura urogenital que permitem que estes apresentem inseminação interna (REIS; KULLANDER; FERRARI, 2003). Entre os peixes não anuais do gênero *Kryptolebias*, pelo menos

duas espécies são consideradas como os únicos vertebrados hermafroditas com autofertilização (HARRINGTON, 1961).

Porém, ainda são escassos os estudos com espécies de *Austrolebias* que visem analisar aspectos biológicos e reprodutivos (VOLCAN, 2010; FONSECA, 2011). Arenzon, Bohrer e Peret (1999) estudaram a reprodução do peixe anual *Cynopoecilus multipapillatus* em seu ambiente natural na cidade de Tramandaí, RS. Eles descreveram as fases de desenvolvimento gonadal das fêmeas, verificando que a espécie apresenta desovas contínuas durante um longo período da sua vida. Um dos únicos trabalhos relacionados com a reprodução de *A. nigrofasciatus* na região foi realizado por Volcan (2010) onde o objetivo foi verificar o efeito da temperatura sobre a fecundidade, crescimento inicial e idade para dimorfismo sexual da espécie em laboratório. Além deste trabalho, Fonseca (2011) estudou o efeito da temperatura no crescimento e reprodução de *A. wolterstorffi* em laboratório.

Estes peixes anuais possuem grande importância como modelo biológico (ARENZON et al., 2003), como controladores de pragas (FLETCHER; TEKLEHAIMANOT; YEMANE, 1992; FRENKEL; GOREN, 2000) e como peixes ornamentais (COSTA, 2008). Desta forma, vários autores ressaltam a importância da realização de estudos destinados a melhorar o conhecimento sobre a sua biologia e ecologia, garantindo assim, possíveis estratégias para a conservação dos Rivulidae (FONTANA et al., 2003; ROSA; LIMA, 2008; VOLCAN et al., 2009).

3 Material e Métodos

3.1 Área de estudo

Os espécimes foram coletados em três áreas úmidas (charcos) situadas no Pontal da Barra e Recanto de Portugal, que estão localizados no município de Pelotas (Fig. 3) ($31^{\circ}46'29''\text{S}$; $52^{\circ}15'34''\text{W}$). O local é limitado ao leste pela Laguna dos Patos, ao sul é tangenciado pelo Canal São Gonçalo, a oeste pelo Arroio Pelotas e ao norte encontra-se a área urbanizada do bairro Laranjal e Recanto de Portugal (Fig. 4).

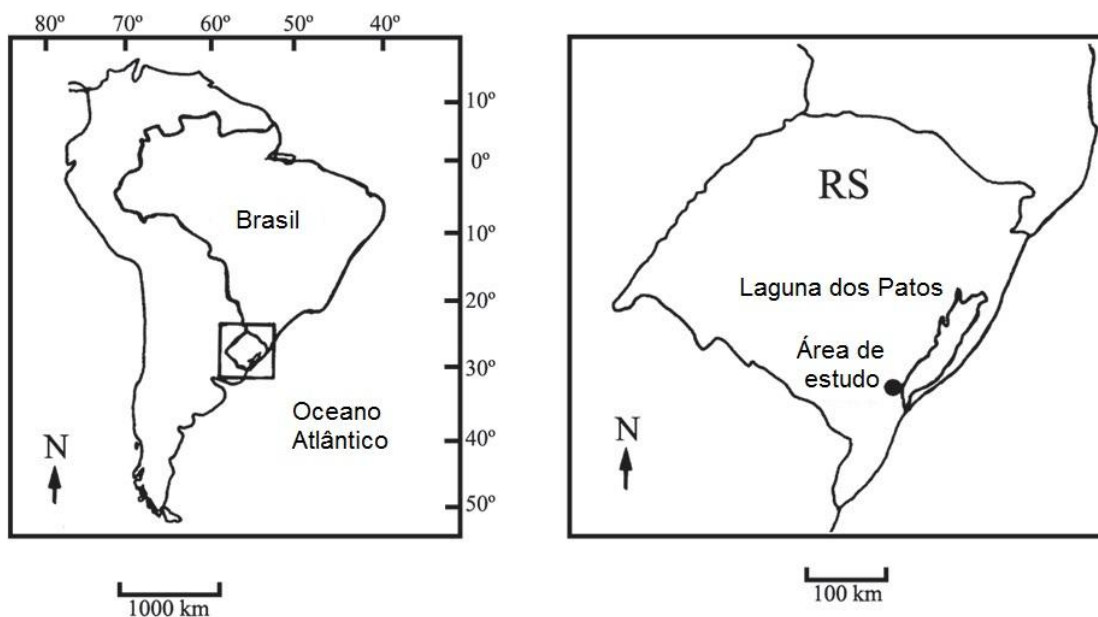


Figura 3 - Área de estudo localizada em Pelotas, RS, Brasil.

Fonte: GONÇALVES; SOUZA; VOLCAN, 2011.



Figura 4 - Charcos da área de estudo localizados no Pontal da Barra e Recanto de Portugal, Pelotas, RS. Marcações amarelas indicam os charcos

Fonte: Google Maps, 2013.

O Pontal da Barra corresponde à sedimentação recente da Bacia de Pelotas, possuindo uma parte emersa na Planície Costeira do Rio Grande do Sul (TOMAZELLI et al., 2000). O solo é classificado como planosolos e também solos hidromórficos e glei úmidos

O clima pode ser caracterizado como mesotérmico brando, superúmido, sem estação seca definida, mas com área de banhado geralmente alagada oito meses por ano. A temperatura média anual oscila entre 16 e 20°C e a precipitação pluviométrica anual varia entre 1000 e 1500mm (GOMEZ et al., 2007).

Esta área possui fauna e flora bastante diversificadas, abrigo animais como aves, insetos, peixes, répteis, diversos invertebrados e grande diversidade de vegetação aquática e rasteira. Os charcos possuem uma alta produção primária, atuam no equilíbrio do sistema hidrológico adjacente e abrigam diversas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (GOMEZ et al., 2007).

3.2 Coletas

As coletas foram permitidas por licença ICMBio nº 28099-1 e foram realizadas mensalmente durante o ano de 2011. Foi utilizado puçá (60 x 40cm, malha de 2mm) para a captura dos peixes, onde foram efetuados 50 lances com o puçá em cada charco. Os exemplares coletados foram anestesiados em banho de benzocaína (50ppm) e fixados com formol 10%. Após, foram transportados para o Laboratório de Fisiologia Aplicada à Aquicultura da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), onde foram transferidos para álcool 60% e analisados.

As variáveis ambientais foram calculadas concomitantemente à captura dos peixes, com o auxílio do equipamento multiparâmetro Hanna HI 9828. Foram verificados o pH, concentração de oxigênio dissolvido, condutividade, salinidade, total de sólidos dissolvidos e temperatura das áreas úmidas. Foi utilizado disco de Secchi para analisar a transparência da água e uma trena para medir a profundidade.

3.3 Análise de dados

Os peixes coletados conforme o item 3.2 foram medidos com ictiômetro de precisão de 0,1cm, pesados em balança analítica com precisão de 0,001g e sexados através de análise morfológica externa e das gônadas. Posteriormente, o fígado e as gônadas foram retirados da cavidade abdominal para pesagem.

A razão sexual foi testada para o total de peixes capturados aplicando o teste de aderência Chi-quadrado (X^2), considerando como 50% a frequência esperada para cada sexo.

Para avaliar o período reprodutivo das espécies foi utilizado o método quantitativo, baseado nas variações mensais do parâmetro relacionado à maturidade sexual, tal como o índice gonadossomático (IGS), na qual é definido como a porcentagem de participação de peso da gônada no peso total e calculado pela fórmula: $IGS (\%) = (PG/P)*100$, onde PG representa o peso das gônadas (g) e P o peso total (g) dos espécimes. Para determinar se o IGS das fêmeas e machos variou entre os meses de amostragem, o teste Kruskal-Wallis foi aplicado sob nível de significância de 95% ($P < 0,05$), e a inspeção gráfica foi utilizada para determinar os padrões de variação do IGS de machos e fêmeas entre os meses analisados.

O índice hepatossomático (IHS) foi calculado pela equação: $IHS = (PF/P)*100$, onde PF representa o peso do fígado (g) e P o peso total (g) dos

espécimes. Alterações no IHS mostram indícios da relação do uso de energia para a reprodução (VAZZOLER, 1996). Para testar a homogeneidade das variâncias dos valores de IGS e IHS, foi realizada uma ANOVA ($P < 0,05$).

O fator de condição (K), que infere sobre o grau de bem estar do peixe, foi calculado pela seguinte equação: $K = (P/CT) * 100$, onde CT representa comprimento total (mm) e P o peso total (g) dos reprodutores. Foi testada em ambas as espécies se existem relações entre o K e o IGS e o K e os meses de coleta, para verificar se o fator de condição é dependente do IGS e como ele se comporta no decorrer do meses de alagamento dos charcos.

Para determinar a fecundidade relativa foram realizados os seguintes procedimentos: foi testado se haviam diferenças estatísticas no peso (g) entre gônada direita e esquerda através do teste “t” de Student, não existindo diferenças foi selecionada a gônada direita de cada fêmea para iniciar as análises. Assim, o ovário direito das fêmeas foi pesado e mantido em solução de Gilson, visando a liberação dos ovócitos por meio da digestão do estroma ovariano. A composição da solução de Gilson utilizada foi: 110mL de álcool 60%, 880mL de água destilada, 15mL de ácido nítrico 60%, 18mL de ácido acético glacial e 20g de cloreto de mercúrio. Periodicamente, os ovários foram submetidos à agitação manual para auxiliar a completa liberação dos ovócitos, para posterior contagem e medição dos mesmos. Após este processo, foi contado o número total de ovócitos de cada gônada direita das fêmeas. O tipo de desova das espécies foi examinado através de observação microscópica das gônadas.

A fecundidade relativa foi calculada utilizando a seguinte equação: $\text{Fecundidade} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de ovócitos da gônada direita} * 2}{\text{peso total da fêmea (g)}}$. A comparação entre as fecundidades mensais foi calculada pela ANOVA não paramétrica de Kruskal-Wallis com nível de significância de 95% ($P < 0,05$).

Foram verificados através de regressão linear, se: o fator de condição (K), o comprimento total das fêmeas (CT), o índice gonadossomático (IGS) e o índice hepatossomático (IHS) influenciam a fecundidade, no intuito de verificar qual dessas variáveis melhor se correlaciona com a fecundidade. Todos os testes foram processados pelo programa estatístico Statistica® 7.0 (StatSoft Inc., 2004). Os resultados são apresentados no formato de média \pm desvio padrão.

4 Resultados

Foram coletados 203 exemplares, sendo 154 pertencentes à *A. nigrofasciatus* e 49 à *A. wolterstorffi*. A amplitude de comprimento total (CT) dos indivíduos coletados variou de 17 a 58mm ($36,95 \pm 10,94$ mm) e 19 a 50mm ($37,99 \pm 6,84$ mm) em machos e fêmeas de *A. nigrofasciatus*, respectivamente, e 25 a 90mm ($48,78 \pm 16,18$ mm) e 27 a 85mm ($44 \pm 16,07$ mm) em machos e fêmeas de *A. wolterstorffi*, respectivamente. Em *A. nigrofasciatus*, não existiram diferenças significativas no CT entre machos e fêmeas nos primeiros meses de vida desses peixes (mai, jun, jul), porém nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro, ocorreram diferenças significativas entre o CT nos dois sexos, onde os machos apresentaram maior comprimento do que as fêmeas ($P=0,015$; $P=0,001$; $P=0,000$; $P=0,000$ respectivamente). Observamos que em *A. wolterstorffi* também ocorreram diferenças significativas, onde em maio ($P=0,001$) e julho ($P=0,000$) os machos apresentaram maior comprimento total do que as fêmeas. No entanto, nos meses de junho, agosto e outubro, não foram verificadas diferenças significativas no CT entre fêmeas e machos.

Os padrões de diferenças de peso entre machos e fêmeas também foram semelhantes aos encontrados para CT. Ocorreram diferenças significativas entre o peso (g) de fêmeas e machos de *A. nigrofasciatus* nos meses de agosto ($P=0,002$), setembro ($P=0,030$), outubro ($P=0,000$) e novembro ($P=0,000$), onde os machos apresentaram maior peso do que as fêmeas. Já nos meses iniciais, essa espécie (mai, jun, jul) não apresentou diferenças de peso entre os sexos. O padrão de *A. wolterstorffi* foi semelhante ao encontrado em CT, onde nos meses de maio ($P=0,018$) e julho ($P=0,000$) ocorreram diferenças significativas no peso entre os sexos, sendo os machos com maiores valores, e nos demais meses (jun, ago, out) sem diferenças significativas entre o peso de fêmeas e machos.

A relação entre machos e fêmeas foi de 1:1,14 em *A. nigrofasciatus* e de 1:1,6 em *A. wolterstorffi*, mostrando que não houve diferenças significativas na proporção sexual.

O IGS médio mensal de *A. nigrofasciatus* variou de $0,06\pm 0,19$ a $0,74\pm 0,25$ nos machos e de $1,27\pm 1,54$ a $10,37\pm 2,60$ nas fêmeas. Para *A. wolterstorffi* o IGS médio mensal oscilou entre $0,04\pm 0,12$ e $0,88\pm 0,00$ nos machos e de $0,26\pm 0,25$ a $8,92\pm 0$ nas fêmeas (tab. 1). O IHS médio mensal manteve-se constante durante os meses de coleta e obteve somente pequenas variações, de $0,73\pm 0,57$ a $1,49\pm 1,08$ e de $0,78\pm 0,00$ a $2,76\pm 0,43$ em machos e fêmeas de *A. nigrofasciatus*, respectivamente, e de $1,37\pm 0,00$ a $1,73\pm 0,00$ e de $1,59\pm 0,50$ a $3,03\pm 0,00$ em machos e fêmeas de *A. wolterstorffi*, respectivamente (tab. 1).

Tabela 1 - Índice gonadossomático (IGS) e índice hepatossomático (IHS) de *Austrolebias nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi* ao longo dos meses em seu ambiente natural no sul do Brasil.

Meses	Sexo	<i>A. nigrofasciatus</i>		<i>A. wolterstorffi</i>	
		IGS (Média±DP)	IHS (Média±DP)	IGS (Média±DP)	IHS (Média±DP)
Maio	Macho	$0,06\pm 0,19a$	$0,73\pm 0,57a$	$0,04\pm 0,12a$	$1,41\pm 0,50a$
	Fêmea	**	$0,78\pm 0,00a$	$0,26\pm 0,38a$	$1,64\pm 0,86a$
Junho	Macho	$0,18\pm 0,36a$	$1,29\pm 0,53a$	**	$1,70\pm 0,17a$
	Fêmea	$1,27\pm 1,54a$	$2,03\pm 1,67a$	$1,04\pm 0,39a$	$2,01\pm 0,49a$
Julho	Macho	$0,45\pm 0,83a$	$1,22\pm 0,41a$	$0,26\pm 0,25a$	$1,52\pm 0,25a$
	Fêmea	$3,11\pm 2,31ab$	$1,85\pm 1,15a$	$0,74\pm 0,59a$	$1,59\pm 0,50a$
Agosto	Macho	$0,38\pm 0,52a$	$1,14\pm 0,49a$	$0,39\pm 0,00a$	$1,73\pm 0,00a$
	Fêmea	$4,39\pm 3,02abc$	$2,03\pm 0,75a$	$4,56\pm 0,90b$	$1,98\pm 0,25a$
Setembro	Macho	$0,62\pm 0,34a$	$1,03\pm 0,22a$	*	*
	Fêmea	$10,37\pm 2,60d$	$2,76\pm 0,43a$	*	*
Outubro	Macho	$0,50\pm 0,47a$	$1,02\pm 0,29a$	$0,88\pm 0,00a$	$1,37\pm 0,00a$
	Fêmea	$9,73\pm 1,82d$	$2,68\pm 0,43a$	$8,92\pm 0,00c$	$3,03\pm 0,00a$
Novembro	Macho	$0,74\pm 0,25a$	$1,49\pm 1,08a$	*	*
	Fêmea	$8,97\pm 2,77bcd$	$2,70\pm 0,25a$	*	*

* Ausência de peixes coletados no período; ** Gônadas abaixo da capacidade de pesagem. DP=desvio padrão. Letras distintas demonstram diferenças significativas (t teste; $P<0,05$) entre as médias nas colunas dentro cada sexo e mês.

O IHS não apresentou relação significativa com o IGS em ambos os sexos das espécies estudadas no decorrer dos meses.

O IGS de machos e fêmeas, de ambas as espécies, apresentou aumento no decorrer dos meses de alagamento e mostrou-se mais elevado ao final do hidroperíodo, antes das áreas úmidas secarem (Figs. 5 e 6). Constatou-se uma correlação positiva ($r^2=0,37$; $p<0,005$) entre o comprimento total dos peixes e o IGS para ambos os sexos em *A. nigrofasciatus*, o mesmo também aconteceu em *A. wolterstorffi*, onde foi observada forte relação, sendo mais explicativa para as fêmeas ($r^2=0,87$; $p=0,000$) do que para os machos ($r^2=0,62$; $p=0,001$).

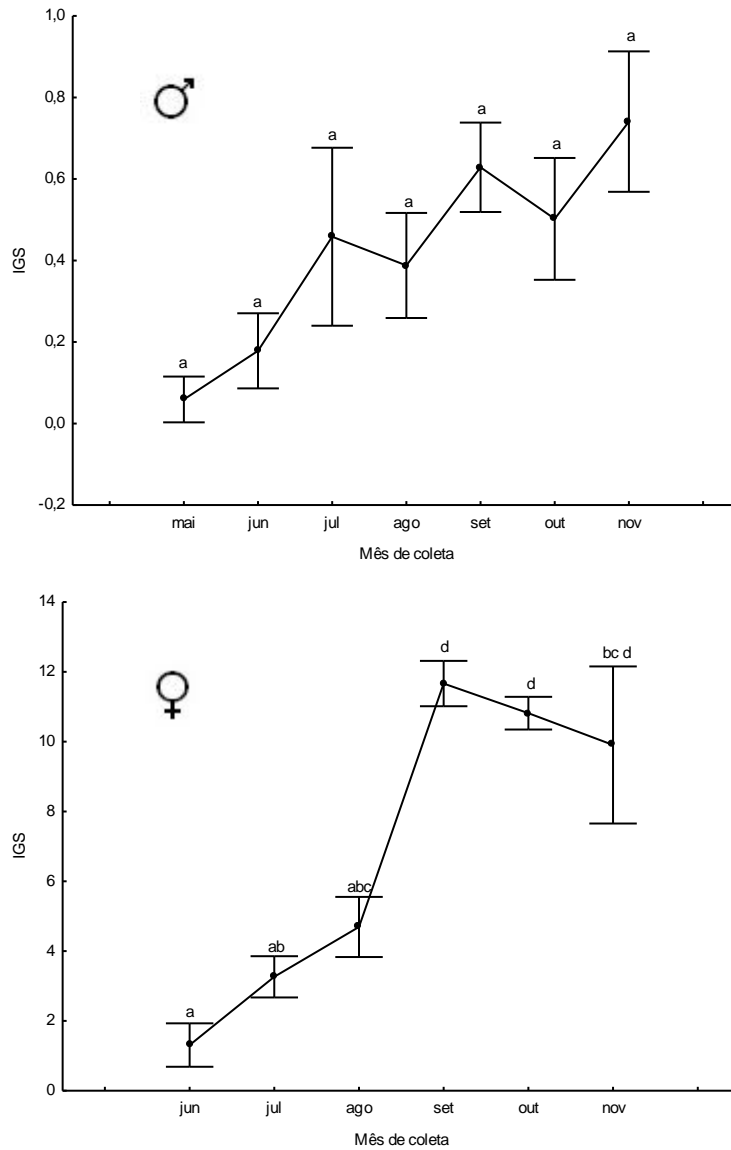


Figura 5 - Variação sazonal do índice gonadosomático (IGS) de machos e fêmeas de *A. nigrofasciatus* ao longo do ciclo de vida em seu ambiente natural no sul do Brasil. Letras distintas demonstram diferenças significativas (t teste; $P < 0,05$) entre as médias mensais do IGS.

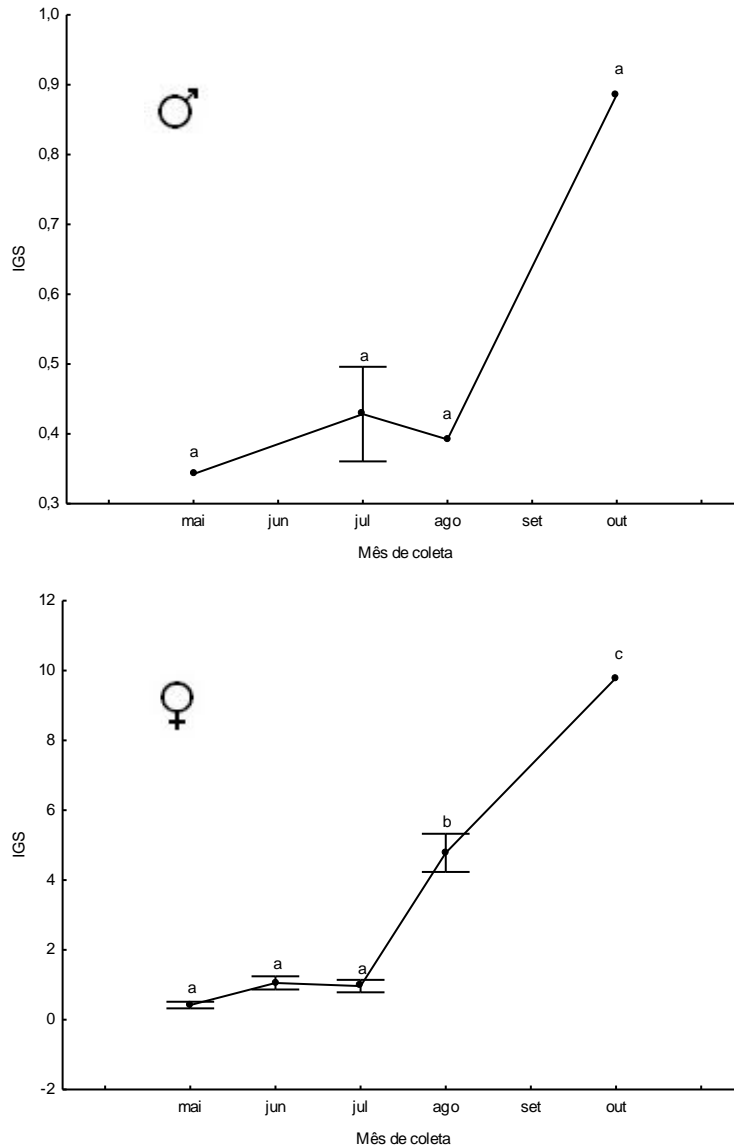


Figura 6 - Variação sazonal do índice gonadosomático (IGS) de machos e fêmeas de *A. wolterstorffi* ao longo do ciclo de vida em seu ambiente natural no sul do Brasil. Letras distintas demonstram diferenças significativas (t teste; $P < 0,05$) entre as médias mensais do IGS.

A análise da variação do fator de condição e do índice gonadosomático ao longo dos meses mostrou que não existe relação entre esses dois fatores. Este resultado foi similar entre machos e fêmeas de ambas as espécies.

Para o estudo da fecundidade foram utilizadas as gônadas direitas de 86 fêmeas de *A. nigrofasciatus* e 16 de *A. wolterstorffi*. Em *A. nigrofasciatus* não houve diferenças estatísticas entre a gônada direita e a esquerda nas fêmeas analisadas, sendo que a média de tamanho das gônadas direitas foi de 0,033g e das esquerdas foi de 0,031g. O mesmo aconteceu em *A. wolterstorffi*, sendo que a média do tamanho da gônada direita foi 0,052 e da esquerda foi de 0,053.

Após análise macroscópica das gônadas e em concordância com os resultados do IGS, verificamos que a desova de ambas as espécies é do tipo parcelada, devido aos inúmeros tamanhos de ovócitos encontrados nas gônadas.

A fecundidade relativa foi de 639 ± 245 para *A. nigrofasciatus*, e foi maior nos meses de junho e julho, sofrendo uma queda em agosto, setembro e outubro, e uma menor taxa de fecundidade para o mês de novembro (Fig. 7). Já para *A. wolterstorffi*, a fecundidade relativa foi de 296 ± 258 , nesta espécie, a fecundidade foi maior nos meses de junho e julho e teve uma diminuição nos meses de agosto e outubro (Fig. 8).

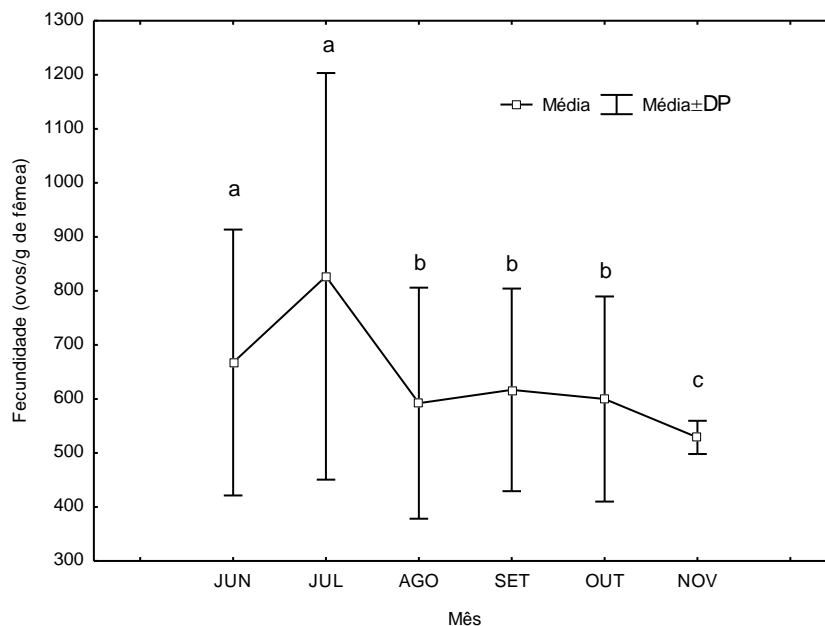


Figura 7 - Variação entre fecundidade relativa de *A. nigrofasciatus* ao longo dos meses em seu ambiente natural no sul do Brasil. Letras distintas demonstram diferenças significativas (t teste; $P < 0,05$) entre as fecundidades mensais.

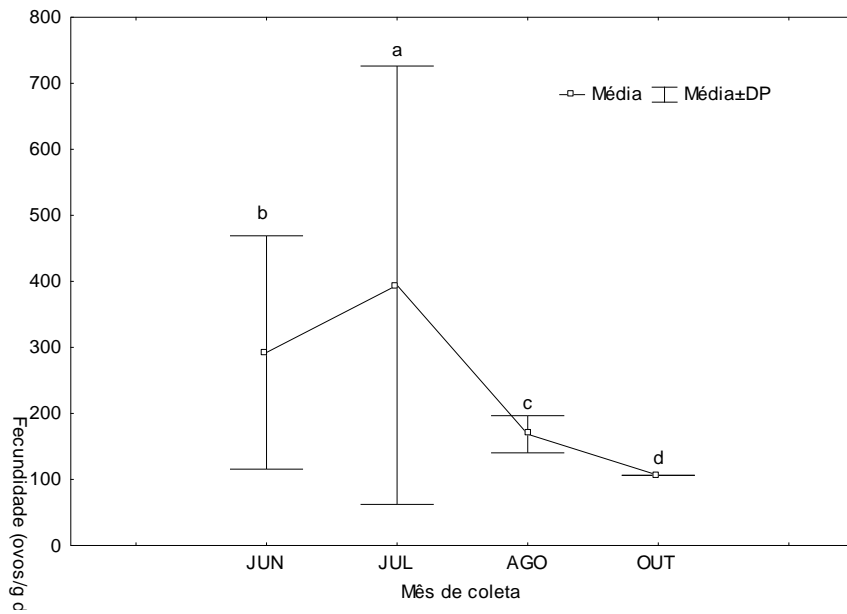


Figura 8 - Variação entre fecundidade relativa de *A. wolterstorffi* ao longo dos meses em seu ambiente natural no sul do Brasil. Letras distintas demonstram diferenças significativas (t teste; $P < 0,05$) entre as fecundidades mensais.

Após a análise da influência do comprimento total (CT) sobre a fecundidade das fêmeas observamos que, tanto na espécie *A. nigrofasciatus* (Fig. 9) quanto na *A. wolterstorffi* (Fig. 10) houveram relações, porém fracas. Isso indica que a fecundidade dessas espécies não está sendo influenciada pelo CT.

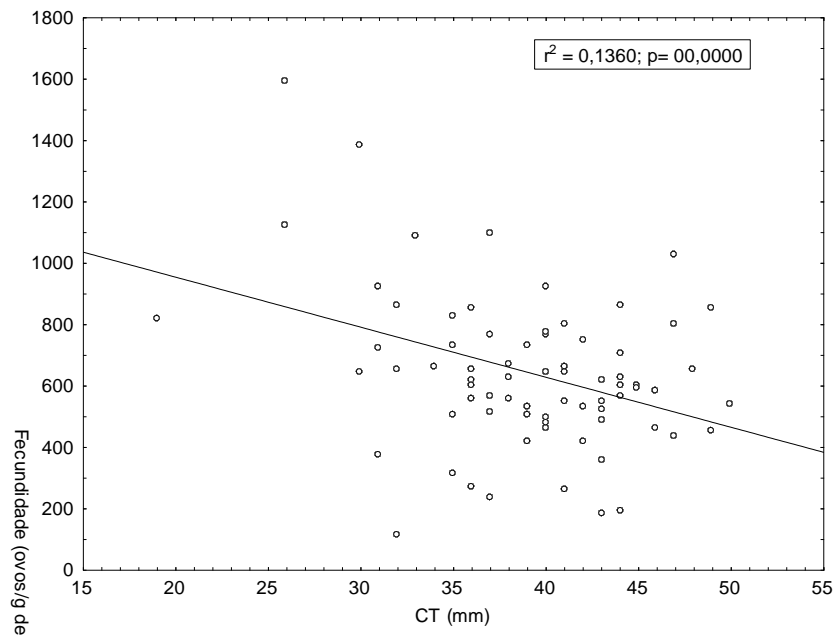


Figura 9 - Relação entre fecundidade relativa e comprimento total (CT) de *A. nigrofasciatus* em seu ambiente natural no sul do Brasil.

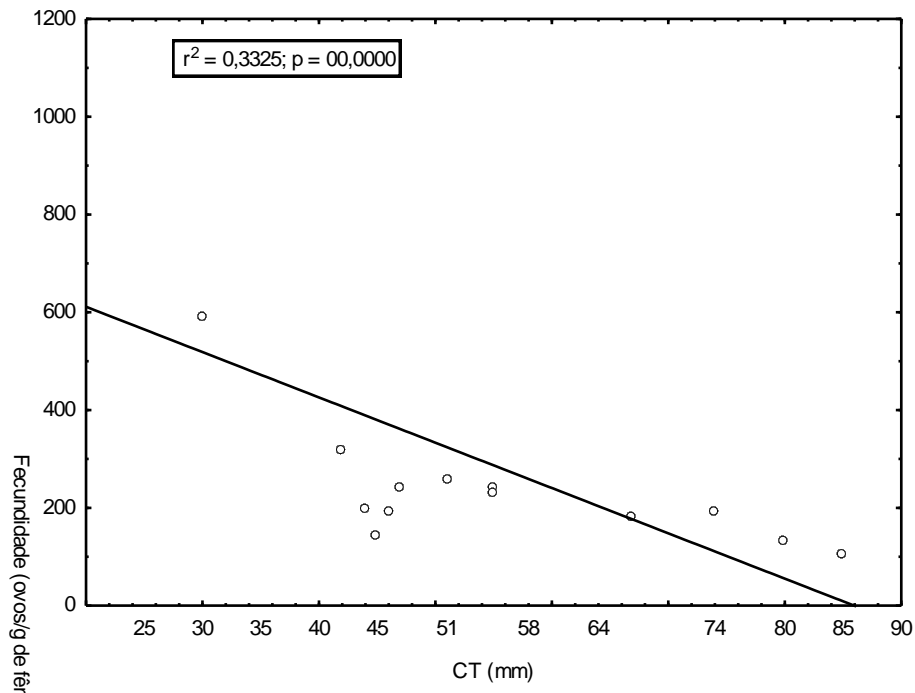


Figura 10 - Relação entre fecundidade relativa e comprimento total (CT) de *A. wolterstorffi* em seu ambiente natural no sul do Brasil.

Não observamos variação do fator de condição (K) e do índice hepatossomático (IHS) no decorrer dos meses. Foram verificados se estes dois fatores alteram a fecundidade nas fêmeas e os resultados foram semelhantes em nas duas espécies estudadas. Em *A. nigrofasciatus* houve relação, porém fraca entre o K e a fecundidade ($r^2=0,0730$; $p=0,0000$), também observamos uma relação muito semelhante entre o IHS e a fecundidade ($r^2=0,0854$; $p=0,0000$). O mesmo aconteceu com *A. wolterstorffi*, onde ocorreu uma relação, porém fraca entre o K e a fecundidade ($r^2=0,2940$; $p=0,0000$) e entre IHS e a fecundidade ($r^2=0,0297$; $p=0,000005$).

Verificamos se a fecundidade varia em função do índice gonadossomático (IGS) e constatamos que não há uma relação entre eles. À medida que o IGS aumenta, a fecundidade diminui em *A. nigrofasciatus* (Fig. 11) e o mesmo acontece em *A. wolterstorffi* (Fig. 12).

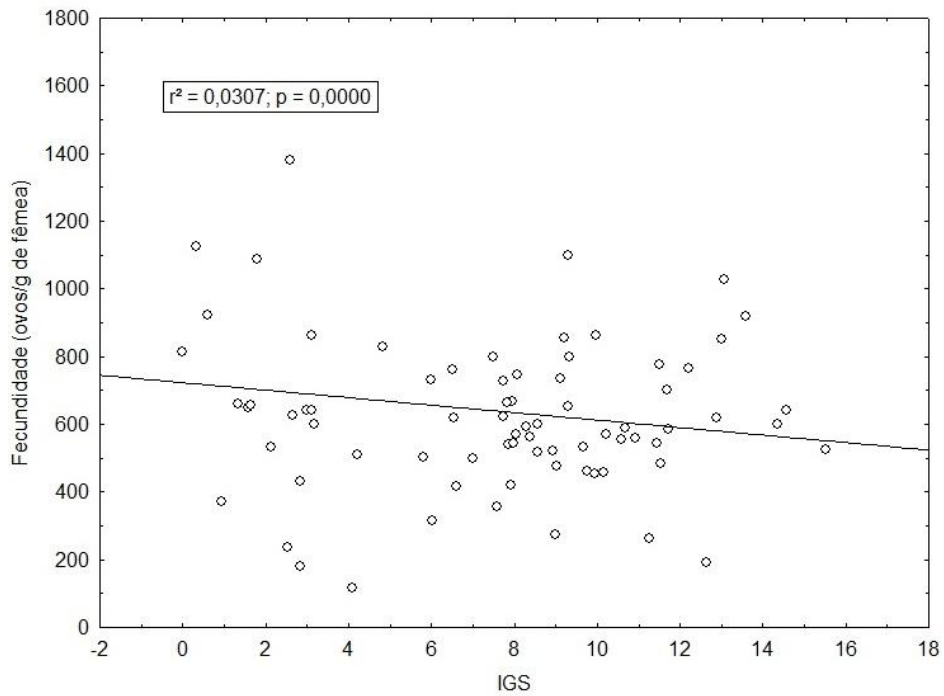


Figura 11 - Relação entre fecundidade relativa e índice gonadossomático (IGS) em *A. nigrofasciatus* em seu ambiente natural no sul do Brasil.

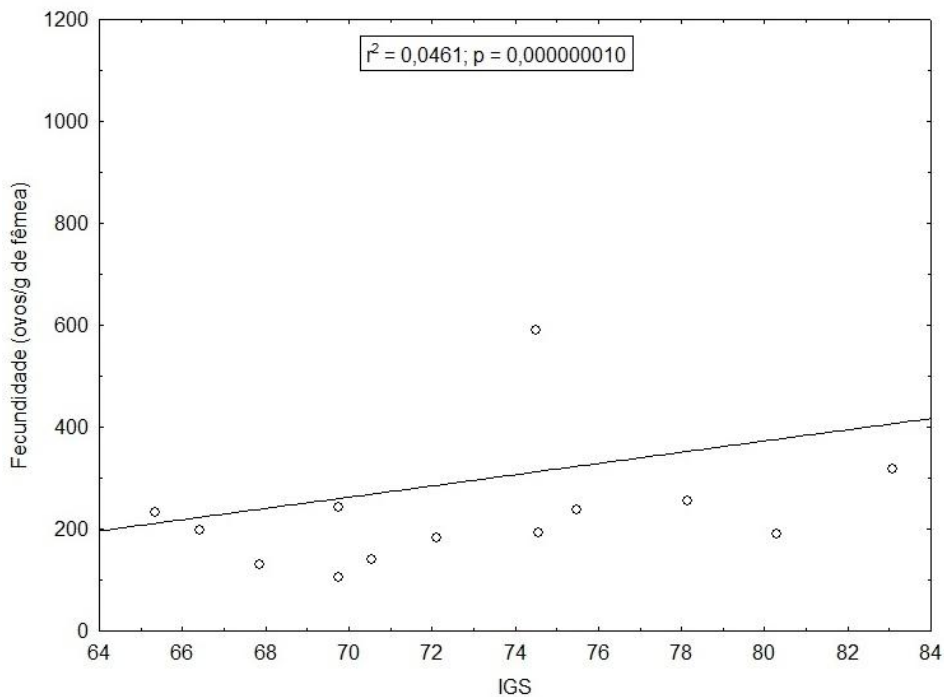


Figura 12 - Relação entre fecundidade relativa e índice gonadossomático (IGS) em *A. wolterstorffi* em seu ambiente natural no sul do Brasil.

5 Discussão

O comprimento total e o peso mensal foram significativamente maiores nos machos do que fêmeas nos últimos meses de alagamento dos charcos em *A. nigrofasciatus*, e nos meses iniciais não ocorreram diferenças significativas entre os sexos. Em *A. wolterstorffi*, nos meses de maio e julho ocorreram machos significativamente mais compridos e pesados que fêmeas, porém nos demais meses (junho, agosto, outubro) não houve essas diferenças. No geral, esses resultados confirmam o padrão esperado para a maioria das espécies de Rivulidae, onde os machos possuem tamanho corpóreo maior do que as fêmeas, mostrando um grande dimorfismo sexual (COSTA, 2003), como foi observado em *A. arachan* (LANÉS; GONÇALVES; VOLCAN, 2013).

Não houve diferenças significativas entre a proporção sexual total de machos e fêmeas em ambas as espécies estudadas (em torno de 1:1). Porém esse resultado diferiu dos resultados encontrados por Lanés et al. (2013), onde as fêmeas foram significativamente mais abundantes que os machos, conforme o padrão comum esperado para as espécies do gênero *Austrolebias* (LAUFER et al., 2009). A proporção sexual equilibrada pode estar relacionada com a falta de competição intra e inter-específica e baixa predação por aves. Embora sejam características incomuns neste gênero. Pois os machos são provavelmente mais suscetíveis à predação do que as fêmeas devido ao atraente padrão de cor de seus corpos e por exibirem um comportamento territorial e competirem intensamente por companheiras (BELOTE; COSTA, 2004).

O IGS de machos e fêmeas, de ambas as espécies, apresentou aumento no decorrer dos meses de alagamento dos charcos e se mostrou mais elevado ao final do hidroperíodo. Neste estudo, a variação do IGS indica que *A. nigrofasciatus* e *A. wolterstorffi* não demonstram ter período reprodutivo específico, podendo desovar durante a maior parte de suas vidas, assim como também no killifish *Fundulus diaphanus* (PHILLIPS; EWERT; SPEARES, 2007). Deste modo, observamos que o desenvolvimento gonadal só é interrompido pela morte dos peixes no período em que os charcos ficam com condições extremas e desfavoráveis para esses peixes,

onde o pH fica muito ácido, o oxigênio dissolvido na água é escasso, entre outras características, conforme também foi observado no rivulídeo *Cynopoecilus multipapillatus* (ARENZON; PERET; BOHRER, 1999). Esse padrão reprodutivo, onde o peixe se reproduz continuamente durante toda a vida, também foi encontrado por vários autores em espécies de peixes de pequeno porte (MAZZONI; CARAMASCHI; FENERICH-VERANI, 2002; MAZZONI; MENDONÇA; CARAMASCHI, 2005; HOJO; SANTOS; BAZZOLI, 2004; TONDATO; FIALHO; SÚAREZ, 2013).

A relação significativa entre o comprimento total dos peixes e o IGS em ambos os sexos de *A. nigrofasciatus*, demonstra que o crescimento possui uma grande influência no desenvolvimento gonadal desta espécie. Observamos em *A. wolterstorffi* uma relação significativa que mostra uma grande relação entre estes fatores, revelando a grande influência do crescimento para o desenvolvimento reprodutivo de *A. wolterstorffi*, e demonstra que o comprimento total do corpo pode ser um indicador da condição reprodutiva para a espécie.

O IHS pode ser utilizado como indicador do desenvolvimento gonadal de peixes, correlacionado a outros fatores como o K e IGS. Esse índice pode estar relacionado com a mobilização das reservas energéticas necessárias para o processo de vitelogênese e reprodução (QUEROL; QUEROL; GOMES, 2002). Nesse estudo, o IHS não apresentou relação significativa com o IGS em ambos os sexos para as espécies estudadas. Nos testes de correlação, observou-se que essas duas variáveis apresentam ciclos independentes, ou seja, não há uma associação significativa entre elas, demonstrando que o IHS não pode ser utilizado como indicador do desenvolvimento gonadal.

O fator de condição (K) é um importante indicador do grau de higidez de um indivíduo e seu valor reflete as condições nutricionais recentes e/ou gastos das reservas em atividades cíclicas (GOMIERO; VILLARES-JUNIOR; BRAGA, 2010). Em concordância com os resultados de IHS, o fator de condição também se manteve constante durante todos os meses analisado e não apresentou relação com o IGS. Portanto, podemos dizer que o grau de bem estar desses peixes se mantém elevado por toda a vida, partindo do pressuposto de que indivíduos com maior massa em um dado comprimento estão em melhor condição (VAZZOLER, 1996).

Nos teleósteos em geral, durante o período reprodutivo, as fêmeas podem liberar seus ovócitos maduros de uma única vez (peixes de desova total) ou em desovas contínuas (VAZZOLER, 1996). As posturas ao longo do período reprodutivo

reduzem a predação sobre a prole e também a competição entre eles por alimento e abrigo (GODINHO, 2007). Após análise macroscópica das gônadas e em concordância com os resultados do IGS, verificamos que a desova de ambas as espécies é do tipo contínua e acontece durante a maior parte da vida destes peixes. Segundo Gonçalves, Souza e Volcan (2011) *C. multipapillatus* apresenta diversas classes de diâmetro de ovócitos nos ovários maduros, determinando a espécie como desovante parcelada. Esse padrão de desova também foi encontrado para *A. nigrofasciatus* (VOLCAN, 2009) e para *A. wolterstorffi* (FONSECA, 2011) em laboratório. O padrão de desova contínua, observado para estas espécies, é considerado como uma estratégia para aumentar a chance de sobrevivência para o esgotamento prolongado e nível de água estocástica (SHIBATTA, 2005), típicos do habitat das espécies em questão (COSTA, 2008).

Em relação à fecundidade, foi calculada a fecundidade relativa, pois todos os ovócitos do ovário têm o potencial de serem ovulados. Nossas previsões sobre fecundidade são baseadas no nº total de ovócitos presentes nas gônadas sobre o peso corpóreo das fêmeas, assim como também foram as de Phillips et al. (2007). O tamanho da prole é baseado no nº de grandes ovócitos vitelogênicos que podem ser desovados em um tempo relativamente curto. Os ovos vitelogênicos menores provavelmente serão parte da próxima prole. A fecundidade relativa foi maior para a espécie *A. nigrofasciatus* do que em *A. wolterstorffi*, pois esta última espécie produz ovócitos maiores e, portanto em menor número. Em ambas as espécies, a fecundidade foi maior durante os meses de junho e julho e obteve uma queda nos últimos meses de alagamento dos charcos, isto porque ao final da vida destes peixes, o tamanho dos ovócitos aumenta e ocorreram muitas desovas, diminuindo o nº de ovócitos nas gônadas, conforme observamos na relação entre o IGS e a fecundidade.

Assim, este estudo apresenta as primeiras informações sobre a biologia reprodutiva de *A. nigrofasciatus* e de *A. wolterstorffi* coletados em seu ambiente natural. Os resultados são importantes para a compreensão da biologia dessas espécies e para contribuir com futuros estudos de gerenciamento de populações no seu habitat natural ou em condições de laboratório e principalmente, contribuir para a conservação dos rivulídeos e seus habitats através do “Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Rivulídeos” (ICMBio, 2012).

5 Conclusões

A proporção sexual total de machos e fêmeas em ambas as espécies estudadas é de 1:1.

Austrolebias nigrofasciatus e *A. wolterstorffi* não possuem período reprodutivo específico e possuem padrão de desova contínua.

O comprimento total de ambas as espécies possui uma grande influência no desenvolvimento gonadal, principalmente em *A. wolterstorffi*.

O índice hepatossomático e o fator de condição não são significativamente influenciados pelo índice gonadossomático.

A fecundidade relativa é maior nos meses de junho e julho em ambas as espécies, e *A. nigrofasciatus* possui uma maior fecundidade de que *A. wolterstorffi*.

A fecundidade não é influenciada pelo comprimento desses peixes.

O índice hepatossomático e o fator de condição não são influenciados significativamente pela fecundidade, e o índice gonadossomático não possui uma correlação com a fecundidade.

Referências

- AHL, E. Über einige neue Fische aus Südamerika. **Zoologischer Anzeiger**, v. 58, p. 358–361, 1924.
- ARENZON, A.; BOHRER, M. B. C.; PERET, A. C. Reproduction of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan 1912) in a temporary water body in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 411, p. 65-70, 1999.
- ARENZON, A.; PINTO, R. F.; COLOMBO, P.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. Assessment of the freshwater annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* as a toxicity test organism using three reference substances. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 9, p. 2188–2190, 2003.
- BELOTE, D. F.; COSTA, W. J. E. M. Reproductive behavior patterns in three species of the South American annual fishes genus *Austrolebias* Costa, 1998 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Boletim do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Nova Série, Zoologia**, v. 514, p. 1-7, 2004.
- COSTA, W. J. E. M. Phylogeny and classification of Rivulidae revisited: origin and evolution of annualism and miniaturization in Rivulid fishes (Cyprinodontiformes: Aplocheiloidei). **Journal of Comparative Biology**, v. 3, p. 33-94, 1998.
- COSTA, W. J. E. M.; CHEFFE, M. M. Three new annual fishes of the genus *Austrolebias* from the Laguna dos Patos System, southern Brazil, and a redescription of *A. adloffii* (Ahl) (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia**, v. 14, n. 2, p. 179-200, 2001.
- COSTA, W. J. E. M. The South American annual killifish genus *Austrolebias* (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae): phylogenetic relationships, descriptive, morphology and taxonomic revision. **Zootaxa**, v. 1213, p. 1- 162, 2006.

COSTA, W. J. E. M. **Catalog of Aplocheiloid killifishes of the world**. Rio de Janeiro: Ed. UFRJ, 2008. 127p.

ERREA, A.; DANULAT, E. Growth of the annual fish, *Cynolebias viarius* (Cyprinodontiformes), in the natural habitat compared to laboratory conditions. **Environmental Biology of Fishes**, v. 61, p. 261-268, 2001.

FISHBASE World Wide Web electronic publication. Disponível em: <www.fishbase.org/summary/FamilySummary.php?ID=601>. Acesso em: 3 dez. 2013.

FLETCHER, M.; TEKLEHAIMANOT, A.; YEMANE, G. Control of mosquito larvae in the port city of Assab by an indigenous larvivorous fish *Aphanius dispar*, **Acta Tropical**, v. 52, p. 155-166, 1992.

FRENKEL, V.; GOREN, M. Factors affecting growth of killifish *Aphanius dispar*, a potential biological control of mosquitoes. **Aquaculture**, v. 184, p. 255-265, 2000.

FOERSCH, W. Observing the soil breeders. **The Aquarium**, Philadelphia, v. 25, p. 190-191, 1956.

FONSECA, A. P. **Crescimento e reprodução do peixe anual *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) em diferentes temperaturas**. 2011. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) –Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

FONTANA, C. S.; BENCKE G. A.; REIS R. E. **Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Edipucrs, 2003.

GARCÍA, D.; LOUREIRO, M.; TASSINO, B. Reproductive behavior in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 2, p. 243–248, 2008.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 351-360, 2007.

GOMEZ, D. M.; EINHARDT, N.; BORK, R. S.; NOVAES, L. E. S. M. Análise da ação ambiental e antrópica do banhado do Pontal da Barra no bairro Laranjal de Pelotas. In: Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas, 16., 2007, Pelotas. **Anais do Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**. 2007.

GONÇALVES, C. S.; SOUZA, U. P.; VOLCAN, M. V. The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, n. 1, p. 191-200, 2011.

HARRINGTON, R. W. Oviparous hermaphroditic fish with internal self-fertilization. **Science**, v. 134, p. 1749-1750, 1961.

HOJO, R. E. S.; SANTOS, G. B.; BAZZOLI, N. Reproductive biology of *Moenkhausia intermeida* (Eigenmann) (Pisces, Characiformes) in Itumbiara Reservoir, Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 3, p. 519-524, 2004.

KADLEC, J. A lovely new pearlfish *Cynolebias affinis*. **Tropical Fish Hobbyist**, v. 8, p. 10-16, 1990.

ICMBio, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2012. Sumário executivo do plano de ação nacional para a conservação dos peixes Rivulídeos ameaçados de extinção. Brasília. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/plano-de-acao/2833-plano-de-acao-nacional-para-a-conservacao-dos-rivulideos.html>>. Acesso em: 19 nov. 2013.

LANÉS, L. E. K.; GONÇALVES, A. C.; VOLCAN, M. V. *Austrolebias arachan* Loureiro, Azpelicueta & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Rio Grande do Sul, Brazil: occurrence, length-weight relationships and condition factor. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 252-256, 2013.

LAUFER, G. M.; ARIM, M.; LOUREIRO, J. M.; PIÑEIRO-GUERRA, S.; CLAVIJO-BAQUET; FAGÚNDEZ, C. Diet of four annual killifishes: an intra and interspecific comparison. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 1, p. 77-86, 2009.

MAZZONI, R; CARAMASCHI, E. P.; FENERICH-VERANI, N. Reproductive biology of a *Characidiinae* (Osteichthyes, Characidae) from the Ubatiba river, Maricá, RJ. **Brazil Journal of Biology**, v. 62, p. 487-494, 2002.

MAZZONI, R.; MENDONÇA, R. S.; CARAMASCHI, E. P. Reproductive biology of *Astyanax janeiroensis* (Osteichthyes, Characidae) from the Ubatiba River, Maricá- RJ. **Brazil Journal of Biology**, v. 65, p. 643-649, 2005.

MYERS, G. S. Annual fishes. **Aquarium Journal**, v. 23, p.125-141, 1952.

NOGUEIRA, C.; BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; OYAKAWA, O. T.; KASECKER, T. P.; NETO, M. B. R.; SILVA J. M. C. Restricted-range fishes and the conservation of Brazilian freshwaters. **Plos One**, v. 5, n.6, p. 1-10, 2010.

QUEROL, M. V. M.; QUEROL, E.; GOMES, N. N. A. Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), Bacia do Rio Uruguai Médio, Sul do Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 92, n. 3, p. 79-84, 2002.

PHILLIPS, E. C.; EWERT, Y.; SPEARES, P. A. Fecundity, age and growth, and Diet of *Fundulus diaphaous* (Banded Killifish) in Presque Isle Bay, Lake Erie. **Northeastern Naturalist**, v. 14, n. 2, 2007.

PODRABSKY, J. E.; HAND, S. The bioenergetics of embryonic diapause in annual killifish, *Austrofundulus limnaeus*. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 2567-2580, 1999.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARI JR., C. J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Edipucrs, 2003.

ROSA, R. S.; LIMA, F. C. T. Peixes. In: Machado, A. B. M.; Drummond, G. M. & Paglia, A. P. (eds) **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2008.

SHIBATTA, O. 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. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 4, p. 1146-1151, 2005.

TOMAZELLI, L. J.; VILLWOCK, J. A.; LOSS, E. L.; DEHNHARDT, E. A. Caracterização de um depósito praial pleistocênico na província costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Geologia, 32., 1982, Salvador. **Anais do Congresso Brasileiro de Geologia**. Salvador: SBG, 1982. p. 1514-1523

TONDATO, K. K.; FIALHO, C. B.; SÚAREZ, Y. R. Reproductive ecology of *Odontostible pequirá* (Steindachner, 1882) (Characidae, Cheirodontinae) in the Paraguay River, southern Pantanal, Brazil. **Environ Biology Fish**, v. 97, p. 13-25, 2013.

VARI, R. P.; MALABARBA, L. R. **Neotropical ichthyology**: an overview. In Phylogeny and classification of Neotropical fishes (Malabarba, L. R.; Reis, R. E.; Vari, R. P.; Lucena, Z. M. S. & Lucena, C. A. S., eds). Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p. 1-12.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 169p.

VAZ-FERREIRA, R.; SIERRA, B.; PAULETE, S. S. Ecoetologia de la reproducción en los peces del género *Cynolebias* Steindachner, 1876. **Archivos de la Sociedad Biológica**, Montevideo, v. 26, p. 44-49, 1964.

VAZ-FERREIRA, R.; SIERRA, B. Caracteres etológicos genéricos y específicos en los peces del genero *Cynolebias* Steindachner, 1876. **Boletín de la Sociedad Zoológica**, Montevideo, v. 2, p. 22-35, 1973.

VOLCAN, M. V.; LANÉS, L. E. K.; GONÇALVES, A. C. Threatened fishes of the world: *Austroebias nigrofasciatus* Costa and Cheffe, 2001 (Cyprinodontiformes, Rivulidae). **Environmental Biology of Fishes**, v. 86, n. 3, p. 443-444, 2009.

VOLCAN, M. V. **Crescimento e fecundidade do peixe anual *Austroebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) sob condições de laboratório**. 2009. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

WOURMS, J. P. Developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fish. **Journal of Experimental Zoology**, v. 182, p. 389-414, 1972.