



**LAÍSA WOCIECHOSKI CAVALHEIRO**

**BIOLOGIA ALIMENTAR E REPRODUTIVA DE *Atlantirivulus riograndensis* (COSTA & LANÉS, 2009) (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE) NO REFÚGIO DA VIDA SILVESTRE BANHADO DOS PACHECOS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biologia e Comportamento Animal  
Orientadora: Profª. Dra. Clarice Bernhardt Fialho

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTO ALEGRE

2014

**BIOLOGIA ALIMENTAR E REPRODUTIVA DE *Atlantirivulus riograndensis* (COSTA & LANÉS, 2009) (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE) NO REFÚGIO DA VIDA SILVESTRE BANHADO DOS PACHECOS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

**LAÍSA WOCIECHOSKI CAVALHEIRO**

Dissertação aprovada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

---

Dra. Carla Ferreira Rezende

---

Dr. Luiz Roberto Malabarba

---

Dr. Vinícius Abilhoa

---

Dra. Clarice Bernhardt Fialho  
Orientadora

## *Dedicatória*

*Aos amores da minha vida:*

*Maria Ivone, Gilmar, Joice e Augusto,*

*que caminham juntos e me ensinaram a seguir em frente,  
encarar os desafios e levantar mais uma vez quando é preciso.*

*"Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir a pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos."*

*Isaac Newton*

## *Agradecimentos*

À minha família. O apoio incondicional e a força foram imprescindíveis. O carinho foi indescritivelmente necessário: Gilmar, Maria Ivone, Joice e Augusto.

À minha orientadora. As longas horas de discussão permeadas por risadas, palavras amigas ou olhares compreensivos, sinceros, carinhosos ou sérios compuseram, aos poucos e com muito suor, estas páginas: Dra. Clarice Bernhardt Fialho.

Aos colegas do laboratório de ictiologia da UFRGS que colaboraram nas saídas a campo, com ensinamentos práticos ou teóricos, análises e ideias: Alice, Aline, Andréia, Artioli, Caroline, Danielle, João, Juliana, Juliano, Karine, Lia, Natália, Renato, Ronaldo, Tatiana.

Aos professores que me ensinaram a gatinhar na histologia, nas análises estatísticas ou contribuíram com apontamentos e discussões: Dr. Francisco Barreto, Dra. Julia Giora, Dr. Luiz Roberto Malabarba, Dr. Yzel Rondon Suárez.

Aos membros da banca pela revisão e sugestões a esta dissertação.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

## Sumário

Abstract .....	vii
Resumo .....	viii
CAPÍTULO I .....	1
Introdução geral .....	2
Objetivo geral .....	6
Objetivos específicos .....	6
Referências .....	6
CAPÍTULO II .....	10
Abstract .....	11
Resumo .....	12
Introdução .....	12
Material e Métodos .....	14
Resultados .....	17
Discussão .....	23
Considerações finais .....	26
Referências .....	27
CAPÍTULO III .....	30
Abstract .....	31
Resumo .....	32
Introdução .....	33
Material e Métodos .....	34
Resultados .....	37
Discussão .....	45
Considerações finais .....	50
Literatura citada .....	50
CAPÍTULO IV .....	55
Considerações finais .....	56
ANEXO I .....	57
ANEXO II .....	65

## Abstract

*Atlantirivulus* genus is a clade of non-annual killifishes, monophyletic and diagnosed morphologically by having a curved ventral process of the angulo-articular and by the patterns of numerous neuromasts of the infraorbital series arranged in zigzag row and a small black spot ocellated on the dorsal portion of the caudal fin of females. *Atlantirivulus riograndensis* inhabits swamps and floods near forest edges and corresponds to single species of this genus recorded for the Campos Sulinos biome. Studies on the reproduction and feeding of *A. riograndensis* are nonexistent, although necessary. These studies contribute to the understanding of the natural history of this species and provide the theoretical elaboration of strategies for its protection and conservation of its natural habitats. This study describes the reproductive biology and trophic ecology of *A. riograndensis* in a preserved environment, located in the Refugio de Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Campos Sulinos biome, in the Viamão city, state of Rio Grande do Sul, Brazil. The samples of biological material were taken throughout 2012 monthly, with dip nets, until the capture of 30 specimens of *A. riograndensis* per month. The diet was analyzed qualitatively with the classification of food items found in the stomachs of individuals and quantitatively by volumetric method. The existence of a defined reproductive season was identified based on histological analyzes of the gonads as well as the values of gonadosomatic index and the frequency of gonadal development of each individual. *Atlantirivulus riograndensis* showed an autochthonous eating habit with a preference for Diptera and microcrustaceans. The consumption of these food items is influenced by ontogenetic development of the species and by seasonality. The smaller individuals ingest microcrustaceans in a greater quantity and expand their food spectrum as the standard length increases. The diet of the species appears more restricted to the consumption of autochthonous Diptera in winter, and most diverse in the spring and summer with the ingestion of other aquatic insects. The reproductive period of *A. riograndensis* occurs from August to March with peaks of spawning in November, December and March. The species has multiple spawning and largest energy investment in the production of large oocytes at the expense of the number of oocytes present in the ovaries, reflecting low fertility. Thus, is concluded that *A. riograndensis* can be considered a predator with a tendency to insectivory and an opportunistic reproductive strategy, with long reproductive period, repeated spawning, low fecundity and large oocytes.

**Keywords:** *Atlantirivulus riograndensis*, trophic ecology, tendency to insectivory, reproductive period, reproductive tactics.

## Resumo

O gênero *Atlantirivulus* é um clado de rivulídeos não anuais, monofilético, diagnosticados morfológicamente pelo processo ventral do ângulo-articular curvo, um padrão de numerosos neuromastos infra-orbitais dispostos em zigue-zague e um pequeno ponto preto ocelado na porção dorsal da nadadeira caudal das fêmeas. *Atlantirivulus riograndensis* habita banhados e alagados nas proximidades a bordas de mata e corresponde a única espécie deste gênero registrada para o bioma Campos Sulinos. Estudos sobre alimentação e reprodução de *A. riograndensis* são inexistentes, embora necessários. Estas pesquisas contribuem na compreensão da história natural desta espécie e disponibilizam embasamentos teóricos à elaboração de estratégias à sua proteção e conservação de seus habitats naturais. Neste estudo são descritos a biologia reprodutiva e a ecologia trófica de *A. riograndensis* em um ambiente preservado, localizado no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, bioma Campos Sulinos, no município de Viamão, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostragens de material biológico ocorreram mensalmente, ao longo de 2012, com puçás, até a captura de 30 exemplares de *A. riograndensis* por mês. A dieta da espécie foi analisada qualitativamente com a classificação dos itens alimentares encontrados nos estômagos dos indivíduos e quantitativamente através do método volumétrico. A existência de uma estação reprodutiva definida foi identificada com base em análises histológicas das gônadas, nos valores do índice gonadossomático e na frequência das fases de desenvolvimento gonadal dos indivíduos. *Atlantirivulus riograndensis* apresentou um hábito alimentar autóctone e a preferência por Diptera e microcrustáceos. O consumo destes itens alimentares é influenciado pelo crescimento somático da espécie e pela sazonalidade. Os indivíduos menores ingerem microcrustáceos em maior quantidade e ampliam seu espectro alimentar conforme o aumento do comprimento padrão. A dieta da espécie apresenta-se mais restrita ao consumo de Diptera autóctone no inverno e mais diversa na primavera e no verão com a ingestão de outros insetos aquáticos. O período reprodutivo de *A. riograndensis* ocorre de agosto a março com picos de desova em novembro, dezembro e março. A espécie apresenta desova parcelada e maior investimento energético na produção de oócitos grandes em detrimento do número de oócitos presentes nos ovários, refletindo uma baixa fecundidade. Desta forma, conclui-se que *A. riograndensis* pode ser considerado um predador com tendência a insetivoria e um peixe com

estratégia reprodutiva oportunista, apresentando período reprodutivo longo, desovas repetidas, baixa fecundidade e oócitos grandes.

**Palavras-chave:** *Atlantirivulus riograndensis*, ecologia trófica, tendência à insetivoria, período reprodutivo, táticas reprodutivas.

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUÇÃO GERAL**

## Introdução geral

A família Rivulidae é um grupo diversificado de Cyprinodontiformes habitantes de banhados, pântanos, charcos, alagados e riachos rasos. As subfamílias Cynolebiasinae, Kryptolebiasinae e Rivulinae compõe a família Rivulidae que apresenta uma ampla distribuição geográfica, com registros entre o Sul da Flórida e o nordeste da Argentina, em habitats característicos de savanas ou florestas conforme as preferências específicas (Costa 2011).

Os rivulídeos segregam-se entre peixes anuais e não anuais. As espécies anuais são assim chamadas por apresentarem um ciclo de vida curto, onde a fase adulta é somente encontrada em breves períodos do ano, devido à morte destes exemplares nas estações secas (Volcan et al. 2010). Os peixes anuais estão relacionados a ambientes sazonais, como poças e alagados temporários, são adaptados às constantes oscilações das propriedades físico-químicas da água e apresentam estratégias reprodutivas que garantem a sobrevivência nos períodos secos, como ovos capazes de permanecer em períodos de diapausa, quando enterrados no substrato, até a próxima estação de chuvas (Arenzon et al. 2001; Arezo et al. 2005). As espécies não anuais são encontradas ao longo de todos os meses do ano, em habitats perenes, adjacentes a cursos baixos de rios e lagoas ou associados a matas alagáveis (Costa 2009).

No estado do Rio Grande do Sul, dos peixes de água doce ameaçados de extinção, 40% correspondem à família Rivulidae (Reis et al. 2003) e a associação destes grupos a habitats sensíveis às pressões antrópicas é um agravante a essa situação (Ferrer et al. 2008; Contente and Stefanoni 2010). O registro da ocorrência de rivulídeos e o conhecimento ecológico destas espécies, com enfoque às suas relações tróficas e estratégias reprodutivas, neste sentido, fornece informações e suporte à definição de áreas prioritárias à conservação e consequente preservação da biota que depende desses ecossistemas ameaçados no sul do Brasil (Volcan et al. 2011). A família Rivulidae no estado do Rio Grande do Sul compreende 26 espécies e destas, 20 correspondem ao gênero *Austrolebias*, cinco à *Cynopoecilus* e uma à *Atlantirivulus* (Costa 2011; Volcan et al. 2011).

O táxon *Atlantirivulus*, primeiramente proposto como subgênero de *Rivulus* (Costa 2008), é validado como gênero monofilético e diagnosticado morfológicamente por apresentar processo ventral de ângulo-articular curvo e um padrão de neuromastos infra-orbitais numerosos e dispostos em zigue-zague (Costa 2011). Segundo o autor, dentre as distinções entre *Atlantirivulus* e *Rivulus* encontra-se o padrão de coloração, em que *Rivulus* apresenta

um ponto preto arredondado com uma margem branca na porção dorsoposterior do pedúnculo caudal das fêmeas e machos dotados de uma mancha umeral azul, enquanto em *Atlantirivulus* somente um pequeno ponto preto ocelado é visível na porção dorsal da nadadeira caudal das fêmeas.

O gênero *Atlantirivulus* inclui onze espécies (Costa 2011) e quatro são registradas para a região sul-brasileira (Costa and Lanés 2009): *Atlantirivulus riograndensis* (Fig. 1) no estado do Rio Grande do Sul; *A. santensis* em São Paulo e Paraná; *A. luelingi* no Paraná e Santa Catarina; *A. haraldsiolii* em Santa Catarina.



**Fig. 1** Exemplos de *Atlantirivulus riograndensis* coletados no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos em Viamão, RS, Brasil. Macho (A); Fêmea (B). Foto: Malabarba LR. Fonte: Malabarba et al. 2013 (p. 110).

A análise dos lotes de *A. riograndensis* tombados nas coleções científicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) revela que esta espécie já foi registrada nos seguintes locais: alagados no entorno da lagoa Emboaba (município de Osório); em um tributário do rio Três Forquilhas (Terra de Areia); em um banhado na Mata do Faxinal (município de Torres); no Parque Nacional da Lagoa do Peixe (entre os municípios de Mostardas e Tavares); em um afluente da Lagoa dos Quadros (município de Capão da Canoa); em uma vertente no Parque Santa Fé (município de Porto Alegre); e no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos (município de Viamão), área de estudo desta pesquisa, localizado no Bioma Campos Sulinos.

Os campos do sul, conhecidos como Pampa, compreendem 500.000 Km<sup>2</sup> dos territórios brasileiro, uruguaio, argentino e paraguaio e como bioma, estes campos

representam 2,07% (176.496 Km<sup>2</sup>) do território brasileiro, referente à metade sul do Rio Grande do Sul e ocupando aproximadamente 63% do território deste Estado (Carvalho et al. 2006). As principais formações vegetais do Pampa compreendem campos, matas ciliares (de galeria), capões de mato e matas de encostas, com intenso tráfego de matéria, energia e vida entre elas; o clima é temperado, classificado como mesotérmico brando superúmido, com invernos rigorosos (frentes frias periódicas e temperaturas abaixo de 0°C) e verões quentes (22°C a mais de 24°C); as precipitações anuais variam entre 1.250 e 1.500 mm e não se observa a configuração de uma estação seca (Pillar et al. 2009).

A diversidade biológica do Pampa e a existência de espécies endêmicas indicam a necessidade de conservação deste bioma. Entretanto, às formações campestres originais têm sido convertidas em áreas de pecuária, lavouras e silvicultura, enquanto apenas 453 Km<sup>2</sup>, menos de 0,5% dos ecossistemas campestres, estão protegidos em unidades de conservação no Rio Grande do Sul (Pillar et al. 2009). Ainda segundo estes autores, entre as espécies da fauna ameaçadas de extinção no estado, 21 são obrigatórias de campos, 11 são facultativas, consideradas semi-dependentes destes ambientes e um terceiro grupo está vinculado a matas de galeria, corpos d'água sazonais, banhados e turfeiras não apresentando associação direta com formações campestres, mas incluídas em regiões com predomínio de campos, como os rivulídeos anuais do gênero *Austrolebias*.

A distribuição espacial da ictiofauna está associada intimamente à estrutura das formações vegetais que compõem as matas ciliares, determinantes principalmente às espécies neotropicais de pequeno porte. Essas matas ciliares podem influenciar no seu comportamento de forrageio e na qualidade e características de habitats, como sombreamento, interceptação e absorção da radiação solar, equilíbrio térmico, filtragem de sedimentos e assoreamento dos leitos de drenagem (Serra et al. 2007; Rolla et al. 2009; Abilhoa et al. 2010).

Os ecossistemas suscetíveis às pressões antrópicas e alterações na composição da vegetação original, regimes hidrológicos e climáticos, como os habitats de *A. riograndensis*, no bioma Pampa, refletem na composição, distribuição e comportamento das populações destes peixes. Essas mudanças dos biótopos e flutuações estacionais inferem na dieta, competição entre as espécies e reprodução da ictiofauna (Barreto and Aranha 2006; Abilhoa et al. 2008).

A restrita localização geográfica de *A. riograndensis* associada às supressões e alterações de habitats aumenta a vulnerabilidade da espécie e a ausência de conhecimentos sobre a sua ecologia trófica e biologia reprodutiva dificultam a elaboração de estratégias à sua conservação. O estudo da alimentação e reprodução das espécies possibilita entender o seu

ciclo de vida e relacioná-lo às condições bióticas e abióticas do meio que variam no espaço e tempo (Vazzoler 1996) para embasar propostas de mitigação ou proteção de habitats das espécies e sua própria preservação.

As pesquisas tróficas em peixes estão relacionadas à morfologia, fisiologia e comportamento dos indivíduos, à abundância das populações e à dinâmica e estrutura das comunidades, sendo fundamentais ao seu entendimento e representando um avanço na compreensão da história natural das espécies (Barreto and Aranha 2006; Laufer et al. 2009).

A ictiofauna constitui-se um elo determinante na ligação entre às redes tróficas aquáticas e terrestres por representar tanto predadores quanto presas, consumir alimentos direta ou indiretamente dependentes da mata ciliar (insetos aquáticos e terrestres, imaturos e adultos) e, em alguns casos, desempenhar papéis na dispersão de sementes (Vilella et al. 2002; Abilhoa et al. 2010).

A compreensão da organização trófica e estrutura da teia alimentar de um riacho ou alagado podem revelar propriedades fundamentais do ecossistema e auxiliar na avaliação da influência de perturbações físicas na comunidade florestal (Rolla et al. 2009). As pesquisas sobre a biologia alimentar de peixes podem gerar subsídios a um melhor entendimento das relações entre a ictiofauna e os demais organismos da comunidade aquática, consistindo em uma importante ferramenta na definição de estratégias para o manejo sustentável dos ecossistemas (Hahn and Delariva 2003).

A estrutura da ictiofauna, além de influências tróficas, é determinada pelas estratégias reprodutivas das espécies, que possuem diferentes adaptações a fim de aumentar seu sucesso reprodutivo. Esse sucesso depende do período e local de reprodução, da capacidade de reproduzir-se em ambientes variáveis, mantendo populações viáveis e dos recursos alocados pela espécie para essa finalidade (Wootton 1990; Vazzoler 1996; Gonçalves et al. 2011).

O sucesso reprodutivo assegura a preservação e abundância das espécies e conhecimentos sobre crescimento, desenvolvimento sexual, tipo de desova e fecundidade, são requisitos básicos para avaliar as reservas e diversidade de peixes e embasar ações de manutenção e proteção dos estoques naturais (Agostinho and Júlio Jr. 1999; Gonçalves et al. 2011; Okutsu et al. 2011). Isso porque, é difícil encontrar padrões que se repetem para todos os grupos, tornando-se necessário conhecer as especificidades (Johnston 1999).

Os estudos de biologia reprodutiva conferem informações sobre a história natural de uma espécie, incluindo-se dinâmica populacional e relações ecológicas existentes em uma comunidade (Azevedo 2004). Além disso, os estudos comparativos de padrões reprodutivos,

crescimento, isolamento reprodutivo e comportamento de corte são importantes em termos de ecologia evolutiva da ictiofauna e nas inferências sobre processos de especiação, contribuindo em estudos de sistemática filogenética (García et al. 2008; Costa et al. 2010; Okutsu et al. 2011).

### **Objetivo geral**

O objetivo geral desta pesquisa consistiu em analisar a alimentação, a estratégia e as táticas reprodutivas de *A. riograndensis* em um banhado perene nos Campos Sulinos, Rio Grande do Sul, Brasil.

### **Objetivos específicos**

1. Analisar o hábito alimentar de *A. riograndensis* identificando os itens componentes da dieta e quantificando seu grau de importância relativa;
2. Investigar influências intraespecíficas de sexo na ecologia trófica da espécie;
3. Investigar variações na dieta da espécie ao longo da ontogenia;
4. Investigar influências sazonais nos hábitos alimentares de *A. riograndensis*;
5. Compreender se há um período reprodutivo definido para esta espécie;
6. Conhecer dentre as táticas reprodutivas da espécie a proporção sexual; o comprimento de primeira maturação; o tipo de desova e a fecundidade;
7. Investigar associações entre a reprodução e fatores abióticos (temperatura, fotoperíodo e precipitação) e biológicos da espécie (dieta e estoque de energia no fígado).

### **Referências**

Abilhoa V, Duboc LF, Azevedo Filho P (2008) A comunidade de peixes de um riacho de floresta com araucária, alto rio Iguaçu, sul do Brasil. Rev. bras. zool 25:238-246

- Abilhoa V, Vitule JRS, Bornatowski H (2010) Feeding ecology of *Rivulus luelingi* (Aplocheiloidei: Rivulidae) in a Coastal Atlantic Rainforest stream, southern Brazil. *Neotropical Ichthyol* 8:813-818
- Agostinho AA, Júlio Júnior HF (1999) Peixes da Bacia do Alto Rio Paraná. In: Lowe-McConnell RH (ed) *Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais*. Edusp, São Paulo, pp 374-400
- Arenzon A, Peret AC, Bohrer MBC (2001) Growth of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) based in a temporary water body population in Rio Grande do Sul state, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Rev Bras Biol* 61:117-123
- Arezo MJ, Pereiro L, Berois N (2005) Early development in the annual fish *Cynolebias varius*. *J Fish Biol* 66:1357–1370.
- Azevedo MA (2004) Análise comparada de caracteres reprodutivos em três linhagens de Characidae (Teleostei: Ostariophysi) com inseminação. Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
- Barreto AP, Aranha, JMR (2006) Alimentação de quatro espécies de characiformes de um riacho da floresta atlântica, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. *Rev. bras. zool* 23:779-788
- Carvalho PCF, Fisher V, Santos DT, Ribeiro AML, Quadros FLF, Castilhos ZMS, Poli CHEC, Monteiro ALG, Nabinger C, Genro TCM, Jacques AVA (2006) Produção Animal no Bioma Campos Sulinos. *Brazilian Journal of Animal Science* 35:156-202
- Contente R, Stefanoni M (2010) Diet of the Atlantic rainforest killifish *Rivulus santensis* (Rivulidae, Cyprinodontiformes) in southeastern Brazil. *J. Appl. Ichthyol.* 26:930-932
- Costa WJEM (2008) *Atlantirivulus*, a new subgenus of the killifish genus *Rivulus* from the eastern Brazilian coastal plains (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Vertebrate Zoology* 58:45-48
- Costa WJEM (2009) Peixes aploqueilóideos da mata atlântica brasileira: história, diversidade e conservação. *Aplocheiloid fishes of the brazilian atlantic forest: history, diversity and conservation*. Museu Nacional, Rio de Janeiro
- Costa WJEM (2011) Phylogenetic position and taxonomic status of *Anablepsoides*, *Atlantirivulus*, *Cynodonichthys*, *Laimosemion* and *Melanorivulu* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 22:233-249
- Costa WJEM, Lanés LEK (2009) *Rivulus riograndensis*, a new aplocheiloid killifish from southern Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 20:91-95
- Costa WJEM, Ramos TPA, Alexandre LC, Ramos RTC (2010) *Cynolebias parnaibensis*, a new seasonal killifish from the Caatinga, Parnaíba River basin, northeastern Brazil, with notes on sound producing courtship behavior (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Neotropical Ichthyol* 8:283-288

- Ferrer J, Malabaraba LR, Costa WJEM (2008) *Austrolebias paucisquama* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), a new species of annual killifish from southern Brazil. *Neotropical Ichthyol* 6:175-180
- García D, Loureiro M, Tassino B (2008) Reproductive behavior in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Neotropical Ichthyol* 6:243-248
- Gonçalves CS, Souza UP, Volcan MV (2011) The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. *Neotropical Ichthyol* 9:191-200
- Hahn NS, Delariva RL (2003) Métodos para avaliação da alimentação natural de peixes: o que estamos usando? *Interciência* 28:100-104
- Johnston CE (1999) The relationship of spawning mode to conservation of North American minnows (Cyprinidae). *Environ Biol Fish* 55:21-30
- Laufer G, Arim M, Loureiro M, Piñeiro-Guerra JM, Clavijo-Baquet S, Fagúndez C (2009) Diet of four annual killifishes: an intra and interspecific comparison. *Neotropical Ichthyol* 7:77-86
- Malabarba LR, Neto PC, Bertaco VA, Carvalho TP, Santos JF, Artioli LGS (2013) Guia de identificação dos peixes da bacia do Rio Tramandaí. Via Sapiens, Porto Alegre
- Okutsu T, Morioka S, Shinji J, Chanthasone P (2011) Growth and reproduction of the glassperch *Parambassis siamensis* (Teleostei: Ambassidae) in Central Laos. *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 22:97-106
- Pillar VD, Müller SC, Castilhos Z, Jacques AVA (eds) (2009) Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. Ministério do Meio Ambiente, Brasília
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ (2003) Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre
- Rolla APPR, Esteves KE, Avila-da-Silva AO (2009) Feeding ecology of a stream fish assemblage in an Atlantic Forest remnant (Serra do Japi, SP, Brazil). *Neotropical Ichthyol* 7:65-76
- Serra JP, Carvalho FR, Langeani F (2007) Ichthyofauna of the rio Itatinga in the Parque das Neblinas, Bertioga, São Paulo State: composition and biogeography. *Biota Neotrop* 7:81-86
- Vazzoler AEM (1996) *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Eduem/SBI, Maringá
- Vilella FS, Becker FG, Hartz SM (2002) Diet of *Astyanax* species (Teleostei, Characidae) in an Atlantic Forest River in Southern Brazil. *Braz arch biol techn* 45:223-232
- Volcan MV, Lanés LEK, Cheffe MM (2010) Distribuição e conservação de peixes anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae) no município do Chuí, sul do Brasil. *Biotemas* 23:51-58

Volcan MV, Gonçalves AC, Lanés LEK (2011) Distribution, habitat and conservation status of two threatened annual fishes (Rivulidae) from southern Brazil. *Endangered Species Research* 13:79–85

Wootton RJ (1990) *Ecology of Teleost Fishes*. Chapman & Hall, London

## **CAPÍTULO II**

### **INTERAÇÕES INTRAESPECÍFICAS E COMPOSIÇÃO ALIMENTAR DE *Atlantirivulus riograndensis* (COSTA and LANÉS, 2009) (CYPRINODONTIFORMES: RIVULIDAE) NO REFÚGIO DA VIDA SILVESTRE BANHADO DOS PACHECOS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Artigo redigido nas normas da revista *Environmental Biology of Fishes* (Anexo 1).

**INTERAÇÕES INTRAESPECÍFICAS E COMPOSIÇÃO ALIMENTAR DE  
*Atlantirivulus riograndensis* (COSTA and LANÉS, 2009) (CYPRINODONTIFORMES:  
RIVULIDAE) NO REFÚGIO DA VIDA SILVESTRE BANHADO DOS PACHECOS,  
RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Laísa Wociechoski Cavalheiro

Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal,

Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande Sul, Av. Bento Gonçalves,  
9500, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

e-mail: [isa\\_woci@hotmail.com](mailto:isa_woci@hotmail.com)

Telefone: 55(51)91349267

Fax: 55(51)33087696

Clarice Bernhardt Fialho

Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento  
Gonçalves, 9500, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

**Abstract**

*Atlantirivulus riograndensis* is a non-annual specie of Rivulidae, inhabitant of wetlands and perennial ponds sensitive to anthropogenic pressures and fragmentation. Studies of its feeding habits and intraspecific interactions contribute to the knowledge of the population dynamics of the species and provide subsidies for its preservation. The aim of this research was to test the hypotheses about influences of sex, ontogenetic and seasonal regarding food composition this species and compare its diet with other representatives of the genus *Atlantirivulus* and Rivulidae family. The samples of biological material took place at the Refugio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão city, RS, Brazil, by collecting 30 specimens per month throughout the year 2012. The dip net was used as fishing gear and fish were fixed in formalin and preserved in 70% alcohol. The quantification of the diet has followed the volumetric method and the parameters being tested with univariate analyzes (analysis of covariance) and multivariate (ANOVA with permutation, contribution of percentages analysis and canonical correspondence analysis). The consumption of autochthonous material as a main food source of the species followed the pattern of Rivulidae family. The trend towards an insectivore diet increases as the ontogenetic development occurs. The diversity of items

consumed is bigger during spring and summer and males have a more varied diet when compared to females, although females consume a larger volume of food.

**Keywords:** diet, ontogenetic development, seasonality, Rivulidae.

## **Resumo**

*Atlantirivulus riograndensis* é uma espécie de rivulídeo não anual, habitante de banhados e charcos perenes sensíveis a pressões antrópicas e fragmentações. Os estudos de seus hábitos alimentares e interações intraespecíficas contribuem no conhecimento da dinâmica populacional da espécie e fornecem subsídios à sua conservação. O objetivo desta pesquisa consistiu em testar as hipóteses de haver influências de sexo, ontogenéticas e sazonais na composição alimentar desta espécie e comparar sua dieta com outros representantes do gênero *Atlantirivulus* e da família Rivulidae. As amostragens de material biológico ocorreram no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, RS, Brasil com a coleta de 30 exemplares por mês durante o ano de 2012. O puçá foi utilizado como arte de pesca e os peixes foram fixados em formol e conservados em álcool 70%. A quantificação da dieta seguiu o método volumétrico e os parâmetros foram testados com análises univariadas (análise de covariância) e multivariadas (análise de variância com permutação, análise de contribuição por porcentagens e análise de correspondência canônica). O consumo de material autóctone como principal fonte alimentar da espécie seguiu o padrão da família Rivulidae. A tendência à insetivoria na dieta aumenta ao longo do crescimento somático. A diversidade de itens consumidos é maior na primavera e no verão e os machos apresentam uma alimentação mais variada quando comparados às fêmeas, embora estas consumam um volume maior de alimento.

**Palavras-chave:** dieta, ontogenia, sazonalidade, Rivulidae.

## **Introdução**

Os peixes da subordem Aplocheiloidei (Cyprinodontiformes) são de pequeno porte, estão entre os mais coloridos e vivem em ambientes aquáticos rasos, entre dez centímetros e um metro de profundidade (Costa 2009). Rivulidae é a mais diversa família de

aploqueilóideos, com cerca de 350 espécies válidas, distribuídas entre o Sul da Flórida e o nordeste da Argentina (Costa 2011).

O gênero *Atlantirivulus* corresponde a rivulídeos não anuais com tamanho médio pequeno (25 a 45 mm de comprimento padrão), incluindo onze espécies (Costa 2011), das quais *Atlantirivulus riograndensis* (Costa and Lanés 2009) que é registrada para a bacia da Laguna dos Patos e planícies costeiras adjacentes, nos estados do Rio Grande do Sul e sul de Santa Catarina, Brasil (Malabarba et al. 2013).

Os habitats desta espécie incluem banhados, charcos e alagados perenes, com vegetação, próximos a bordas de mata. Estes ambientes, na região dos Campos Sulinos, configuram locais sensíveis a pressões como fragmentação, descaracterização das formações vegetais e conversão de áreas para a pecuária, agricultura e silvicultura (Pillar et al. 2009). As supressões e alterações desses habitats influenciam na ecologia trófica dos peixes que depende também da morfologia, fisiologia, comportamento dos indivíduos e estrutura das comunidades (Barreto and Aranha 2006). Estas questões são fundamentais à compreensão da dinâmica populacional das espécies e na definição de estratégias de preservação.

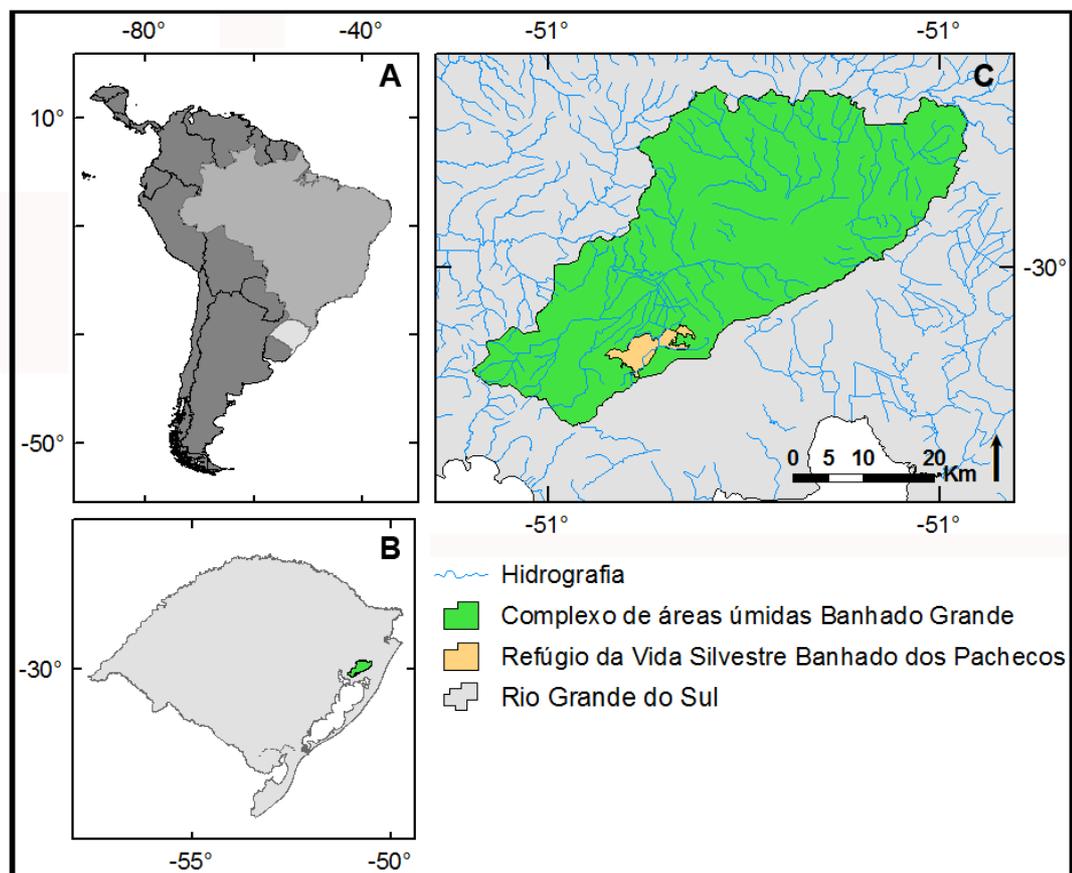
As escassas informações existentes sobre *A. riograndensis* indicam dimorfismo sexual de coloração e tamanho corporal, população com maior proporção de fêmeas, crescimento alométrico positivo e fator de condição maior nas fêmeas (Costa and Lanés 2009; Lanés et al. 2012). A falta de conhecimento sobre a ecologia da espécie dificulta o planejamento à sua conservação. Neste sentido, investigar suas estratégias alimentares em um habitat preservado, como o Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, RS, Brasil, contribui na compreensão das interações intraespecíficas, na origem dos recursos utilizados pela espécie e no seu papel na cadeia trófica. Há hipótese de que a espécie apresenta variações intraespecíficas e sazonais na dieta. As provisões (i) jovens e adultos consomem alimentos diferentes e (ii) a composição da dieta é mais diversa nos meses mais quentes em virtude de uma variedade maior de itens alimentares disponíveis.

O objetivo desta pesquisa consistiu, portanto, em analisar a alimentação de *A. riograndensis*, em um banhado preservado, com águas lânticas, no bioma Campos Sulinos, testando as hipóteses de que a espécie apresenta variações intraespecíficas (ontogenéticas e entre machos e fêmeas) e sazonais na dieta, além de comparar os hábitos alimentares da espécie ao padrão de outros rivulídeos que se comportam como predadores generalistas e consomem principalmente itens de origem autóctone (Shibatta and Bennemann 2003; Laufer et al. 2009; Abilhoa et al. 2010a; Abilhoa et al. 2010b; Contente and Stefanoni 2010; Gonçalves et al. 2011).

## Material e Métodos

### Área de Estudo

As amostragens foram realizadas em áreas alagadas na borda da mata paludosa no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, RS, Brasil, inserido na Área de Proteção Ambiental do Banhado Grande, bacia hidrográfica da Laguna dos Patos (Fig. 1). O Refúgio foi definido como unidade de conservação em 2002 e abrange uma área de 2.543,46 ha, da qual 1.455 ha são habitats palustres, 384,8 ha incluem formações arbustivo-arbóreas pioneiras, 244,4 ha correspondem à mata de restinga e 459,8 ha são campos secos ou solo exposto (Accordi 2008).



**Fig. 1** Representação geográfica da América do Sul, com destaque ao território brasileiro (A), ao estado do Rio Grande do Sul (B) e ao Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos na cidade de Viamão: área de amostragem de *Atlantirivulus riograndensis* (C).

A região do Complexo Banhado Grande inclui uma Área de Tensão Ecológica que compreende a transição entre Formações Pioneiras, Floresta Estacional e Estepe (Pillar et al. 2009). As Formações Pioneiras, que melhor caracterizam o Banhado dos Pachecos, localizam-se na planície costeira do Rio Grande do Sul e desta paisagem, no estado, restam 16.28% de área com características originais, representando 6.125,27 km<sup>2</sup> (Pillar et al. 2009).

O ponto de coleta (30°05'44"S 50°50'59"W) corresponde a uma área de três a quatro metros de largura, formando uma faixa de água parada e turbida ao entorno da mata paludosa. A profundidade varia entre dez centímetros a um metro e meio, o substrato é lodoso e há grande quantidade de vegetação submersa, emergente, flutuante e marginal (Fig. 2).



**Fig. 2** Vista em paisagem do Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos em Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil (A); trecho de área alagada no entorno da borda de mata paludosa (B); ponto de coleta de *Atlantirivulus riograndensis* (C).

### Coleta e análise de dados

As coletas de material biológico ocorreram em 2012, com três amostragens por estação do ano: verão (janeiro, fevereiro e março); outono (abril, maio e junho), inverno (julho, agosto e setembro) e primavera (outubro, novembro e dezembro). A autorização n°.

52/2012 e cadastro nº. 395 da Secretaria do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul permitiu a captura de 30 exemplares de *A. riograndensis* por mês para evitar impactos negativos, como a redução da população da espécie na área de estudo. As coletas ocorreram com puçás (500 x 300 mm, malha de 1 mm entre nós), explorando-se diferentes extratos da coluna d'água para amostragem de juvenis a adultos. Os espécimes foram eutanasiados com eugenol (óleo de cravo), fixados em formalina 10% ainda em campo e conservados, no laboratório, em álcool 70%. O material testemunho foi tombado na coleção de ictiologia do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob os lotes UFRGS 17266 e UFRGS 17267.

Os dados de comprimento padrão (CP) e do intestino (CI) em milímetros, peso total (PT) e peso do estômago (PE) em gramas foram registrados para cada indivíduo capturado. Os indivíduos foram sexados conforme o dimorfismo sexual dicromático, ou seja, pela presença de ponto preto ocelado no pedúnculo caudal das fêmeas (Costa 2011) e observação das gônadas.

O dimorfismo sexual de tamanho foi testado com análise de variância (ANOVA) (Zar 1999) para inferências sobre distinções na dieta entre machos e fêmeas. O quociente intestinal ( $QI=CI/CP*100$ ) (Zavala-Camin 1996) foi calculado para verificar diferenças ontogenéticas e de sexo quanto ao comprimento relativo do intestino e posterior relação com a dieta. O índice de repleção estomacal ( $IR=PE/PT*100$ ) (Santos 1978) foi calculado como um indicativo de intensidade alimentar da espécie por sexo e comprimento padrão. As diferenças entre os grupos no índice de repleção estomacal e quociente intestinal foram testadas com análise de covariância (Legendre and Legendre 1998) para verificar, além da influência ontogenética com a variação destes índices em função do comprimento padrão, um possível efeito do sexo e da interação entre esses fatores.

O conteúdo gástrico foi analisado com estereomicroscópio e os itens alimentares identificados conforme o menor nível taxonômico possível. A quantificação dos itens ocorreu pelo método volumétrico (Hynes 1950), associado à frequência de ocorrência (FO%) (Hyslop 1980). Cada item alimentar foi quantificado através das quadrículas ocupadas em um papel milimetrado, com altura fixa em um milímetro.

A amplitude do nicho trófico foi calculada com o índice padronizado de Levins (Krebs 1999) para machos e fêmeas, expresso em uma escala de zero a um em que valores mais próximos a zero indicam nicho trófico mais estreito e uma dieta mais especializada.

Os fatores sazonais, ontogenéticos e de sexo na composição da dieta foram testados por análise de variância multivariada com permutações (PERMANOVA) (Anderson 2001),

com base em uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis (Borcard et al. 2011). A influência ontogenética na dieta foi inferida com a distribuição arbitrária dos peixes em três categorias de tamanho. Essas categorias foram determinadas conforme o agrupamento das classes de comprimento definidas pela regra de Sturges (Vieira 1991).

A frequência dos peixes, em função do comprimento padrão, nas estações do ano foi testada com ANOVA e submetida ao pós-teste de Tukey HSD (honestly significant difference) com múltiplas comparações (Zar 1999), para verificar diferenças na distribuição do tamanho destes peixes ao longo de 2012.

O teste de similaridade por porcentagem (SIMPER) (Clarke and Warwick 2001) foi empregado para identificar a contribuição individual das presas nos grupos testados. A análise de correspondência canônica (CCA) (Borcard et al. 2011) foi utilizada para visualizar padrões na composição alimentar da espécie em relação à sazonalidade e ontogenia, testando a influência destes fatores na distribuição dos itens alimentares consumidos pela espécie em um plano bidimensional. Os testes estatísticos foram realizados no programa R Project for Statistical Computing versão 3.0.2.

Os dados abióticos mensais de temperatura da água foram registrados, em graus Celsius, durante as expedições de coleta com o auxílio de termômetro. Os valores mensais de precipitação em milímetros e tempo de brilho do sol em horas foram adquiridos junto ao 8º Distrito de Meteorologia de Porto Alegre, registrados na estação 83967.

## **Resultados**

A amostragem resultou na captura de 188 fêmeas (CP entre 10.59 mm e 44.53 mm) e 172 machos (CP entre 11.92 mm e 41.35 mm), não sendo registrando dimorfismo sexual de tamanho nesta população (F: 0.76 p= 0.38). Destes indivíduos, 340 possuíam estômagos contendo algum alimento (176 fêmeas e 164 machos).

O conteúdo estomacal foi agrupado em treze categorias, conforme suas características, origem e representatividade: Rotifera; Tecameba; Annelida (Oligochaeta e Hirudinea); microcrustáceos (Amphipoda, Copepoda e principalmente Cladocera); Chelicerata autóctone (Acarina); Chelicerata alóctone (Acarina e Araneae); Collembola alóctone; Diptera autóctone (Ceratopogonidae, Syrphidae, pupas, outros e principalmente Chironomidae e Culicidae); outros insetos autóctones (Coleoptera, Ephemeroptera, Hemiptera, Odonata, Plecoptera, Trichoptera e outros); Insetos alóctones (Coleoptera,

Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera e outros); algas filamentosas; restos vegetais; matéria orgânica.

Os itens alimentares autóctones (VO: 96% FO: 93%) foram mais relevantes à espécie. Diptera autóctone foi o item alimentar mais consumido, correspondendo aproximadamente à metade do volume de alimento ingerido pela espécie com uma alta frequência de ocorrência (VO: 49% FO: 70%), motivo pelo qual esta categoria alimentar foi separada do grupo de outros insetos autóctones, a segunda categoria mais consumida (VO: 26% FO: 35%), seguida de microcrustáceos (VO: 13% FO: 45%).

A análise da PERMANOVA indicou variações sazonais (F: 15.47 p: <0.001), ontogenéticas (F: 9.64 p: <0.001) e influências de sexo (F: 2.79 p: 0.042) na alimentação de *A. riograndensis*. Estas variações ocorreram em função das diferenças no volume dos itens consumidos pelos grupos testados e não pela riqueza de itens na composição das dietas.

A dissimilaridade na dieta de machos e fêmeas (62.98%) deve-se, principalmente, ao consumo de Diptera autóctone (Tabela 1), ingerido em maior quantidade pelas fêmeas e representando 54.52% do volume de alimento anual deste grupo (Tabela 2). Os machos consumiram outros insetos autóctones e microcrustáceos em maior quantidade, quando comparados às fêmeas, refletindo maior amplitude de nicho conforme o índice de Levins (fêmeas: 0.14; machos: 0.20) e uma dieta mais diversa, embora o índice de repleção estomacal indique que as fêmeas ingeriram maior quantidade de alimento que os machos em todos os tamanhos de comprimento padrão (F: 15.89 p:<0.001) (Fig. 3).

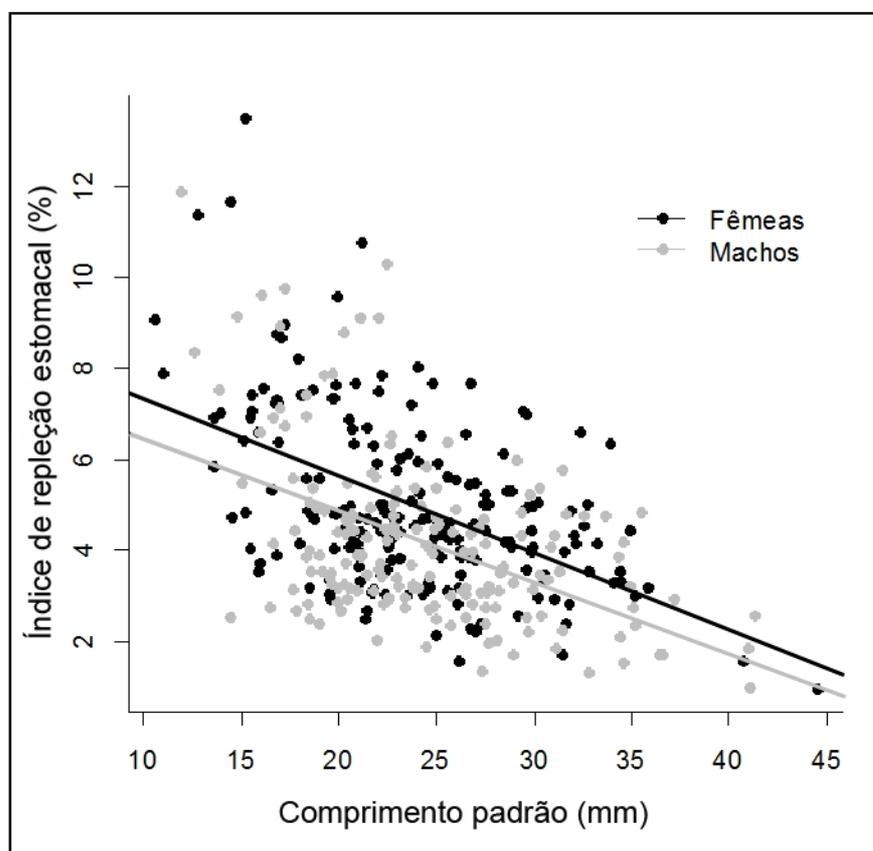
**Tabela 1** Análise de SIMPER informando a contribuição por porcentagens dos principais itens alimentares consumidos por *A. riograndensis* na dissimilaridade da dieta em relação ao sexo, sazonalidade e comprimento padrão (CP) (comparações par a par).

Categoria	Dissimilaridade Média (%)	Contribuição na dissimilaridade (%)		
		Diptera autóctone	Microcrustáceos	Outros insetos autóctones
Fêmeas e machos	62.98	35.70	20.09	23.82
Verão e outono	71.06	30.48	22.84	22.13
Verão e inverno	63.67	38.73	19.96	24.95
Verão e primavera	67.21	33.08	17.27	28.48
Outono e inverno	59.49	40.02	25.29	14.43
Outono e primavera	69.81	33.50	20.45	23.43
Primavera e inverno	53.99	39.65	15.23	30.39
CP ≤ 21.6 e CP 21.7 a 32.6 (mm)	62.13	35.47	23.35	22.04
CP ≤ 21.6 e CP ≥ 32.7 (mm)	73.63	30.61	19.88	28.54
CP 21.7 a 32.6 e CP ≥ 32.7 (mm)	70.18	34.17	11.12	30.48

**Tabela 2** Volume anual dos principais alimentos consumidos por *A. riograndensis* em relação ao sexo, sazonalidade e comprimento padrão (CP). As células hachuradas representam as porcentagens mais altas dos itens em cada categoria.

Categoria	Volume consumido (%)		
	Diptera autóctone	Microcrustáceos	Outros insetos autóctones
Fêmeas	54.52	11.73	23.89
Machos	41.33	15.06	29.86
Verão	32.25	16.66	40.33
Outono	44.06	22.88	12.02
Inverno	69.57	11.30	15.31
Primavera	48.04	3.91	35.98
CP ≤ 21.6 (mm)	45.38	24.50	18.46
CP 21.7 a 32.6 (mm)	52.32	9.93	27.72
CP ≥ 32.7 (mm)	35.34	2.14	40.78

Legenda: hachuradas



**Fig. 3** Índice de repleção estomacal em relação ao comprimento padrão por sexo de *A. riograndensis* coletados no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil.

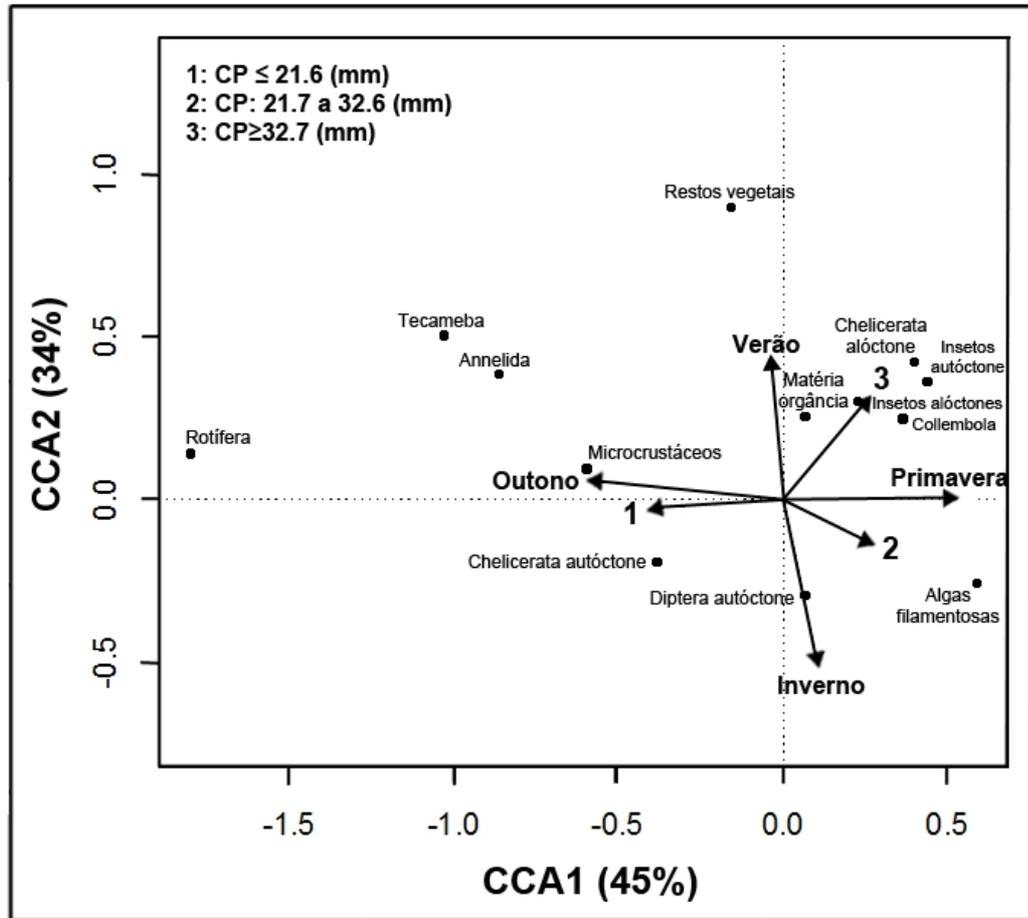
A intensidade alimentar da espécie variou conforme a ontogenia. Observou-se uma relação inversa entre o comprimento padrão e os valores do índice de repleção estomacal (F: 116.71 p:<0.001), indicando que as fêmeas e os machos comportam-se da mesma forma (F:

0.124 p: 0.72), diminuindo proporcionalmente a ingestão de alimento à medida que crescem (Fig. 3). Não houve variação ontogenética (F: 0.008 p: 0.92) ou de sexo (F: 1.94 p: 0.16) quanto ao quociente intestinal.

Os indivíduos de comprimento padrão inferior a 21.7 mm consumiram mais microcrustáceos, que contribuíram com 27% da similaridade na dieta e corresponderam a 24.5% do volume de alimento ingerido por esta categoria de tamanho (Tabela 2). Os microcrustáceos representaram 9.93% do volume da dieta dos peixes de tamanho médio (CP: 21.7 a 32.6 mm) e somente 2.14% para os peixes maiores (PC  $\geq$  32.7) que ingeriram maior porcentagem de Copepoda, enquanto para os peixes menores Cladocera foi mais consumido (Tabela 3). A queda no consumo de microcrustáceos ao longo da ontogenia é acompanhada pelo crescimento no consumo de outros insetos autóctones, enquanto o consumo de Diptera autóctone se mantém alto em todas as categorias de tamanho, embora seja mais representativo nos peixes de comprimento médio (Tabela 2 e Fig. 4).

**Tabela 3** Porcentagem anual por ordem de microcrustáceo na dieta de *A. riograndensis*, conforme o comprimento padrão (CP).

Categoria	Microcrustáceo (%)		
	Amphipoda	Cladocera	Copepoda
CP $\leq$ 21.6 (mm)	0.52	85.30	14.18
CP 21.7 a 32.6 (mm)	8.55	64.99	26.46
CP $\geq$ 32.7 (mm)	0.00	36.36	63.64



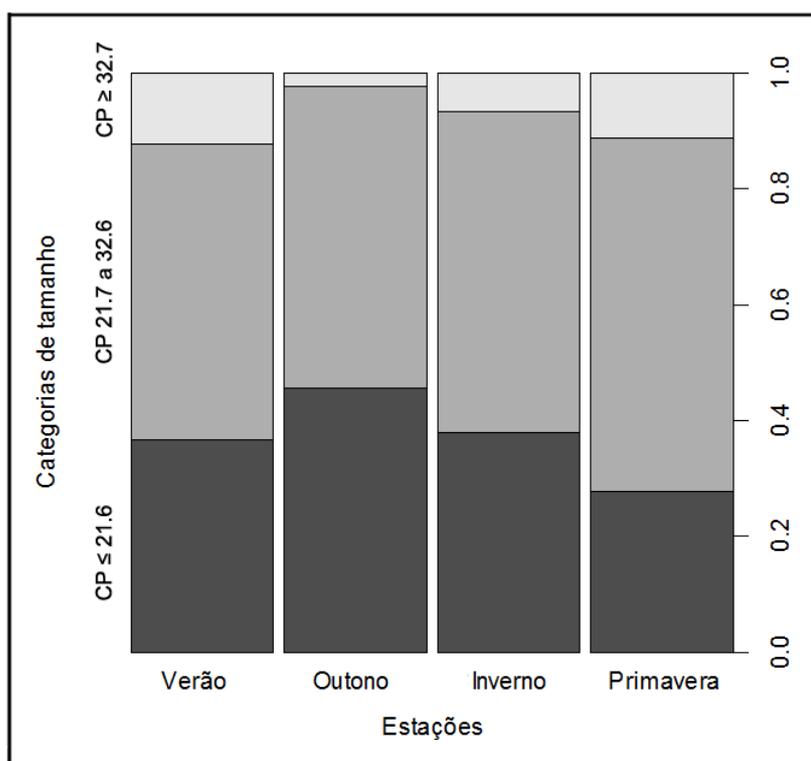
**Fig. 4** Análise de Correspondência Canônica (CCA) da composição da dieta de *A. riograndensis* em relação à sazonalidade e ontogenia representando a importância das variáveis com  $p < 0.05$  nesta ordenação.

A maior dissimilaridade na dieta quanto à ontogenia, ocorreu entre os peixes de menor tamanho e os maiores (73.63%), atribuída à variação no consumo de insetos (Tabela 1). Os peixes acima de 32.7 mm de comprimento padrão ampliaram o nicho trófico com uma dieta mais variada, com 40% do volume de alimento ingerido por estes peixes atribuído a categoria outros insetos autóctones. Esta faixa de tamanho de *A. riograndensis* não consumiu Rotifera, tecameba e ácaros aquáticos (Chelicerata autóctone), associados à dieta dos peixes pequenos como evidenciado na análise de correspondência canônica (Fig. 4).

A sazonalidade é bem marcada na alimentação de *A. riograndensis* com valores de dissimilaridade média acima de 50% para todas as estações (Tabela 1). A CCA indica maior influência sazonal na composição da dieta em comparação aos fatores ontogenéticos, conforme os valores de  $r^2$  para outono ( $R^2: 0.13$   $p < 0.0001$ ), primavera ( $R^2: 0.10$   $p < 0.0001$ ), inverno ( $R^2: 0.10$   $p < 0.0001$ ) e verão ( $R^2: 0.07$   $p < 0.0001$ ) em comparação às categorias de

tamanho de CP  $\leq 21.6$  mm ( $R^2: 0.06$   $p < 0.0001$ ), CP: 21.7 a 32.6 mm ( $R^2: 0.03$   $p: 0.003$ ) e CP  $\geq 32.7$  mm ( $R^2: 0.06$   $p < 0.0002$ ) (figura 4).

Na primavera e no verão as temperaturas foram mais elevadas (médias: 21 e 23°C), houve maior tempo do brilho do sol (médias: 231 e 262 horas) e menor quantidade de chuva (médias: 114 e 143 mm). Na primavera a variação entre o consumo de Diptera autóctone e outros insetos autóctones foi mais equilibrada. No verão a categoria alimentar outros insetos autóctones predominou na dieta em termos de volume (Tabela 2). Observou-se um aumento gradual na diversidade da dieta ao longo da transição destas estações. Os peixes maiores que apresentaram maior diversidade na composição alimentar ocorreram em maior frequência na primavera e no verão, que correspondem ao período reprodutivo da espécie (Cavalheiro 2014) (F: 2.74  $p: 0.042$ ) (Fig. 5). A análise de correspondência canônica revela a maior diversidade de itens alimentares plotados entre estas estações e os peixes de maior tamanho influenciando nesta composição alimentar.



**Fig. 5** Distribuição sazonal da frequência de comprimento padrão (CP) de *A. riograndensis* coletados no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil, agrupados em categorias de tamanho.

No outono o consumo elevado de microcrustáceos pode estar atrelado à presença em maior número dos peixes pequenos ( $CP \leq 21.6$  mm), já que estes indivíduos são os principais responsáveis pela ingestão desta categoria alimentar. Esta estação corresponde aos meses seguintes ao período reprodutivo da espécie. O inverno, por sua vez, com as temperaturas mais baixas (média: 16°C), menor tempo de brilho do sol (média: 147 horas) e maior precipitação (média: 171 mm), apresentou o pico no consumo de Diptera autóctone e, juntamente com o outono, a menor diversidade na dieta.

## Discussão

*Atlantirivulus riograndensis* demonstrou o padrão esperado quanto ao espectro alimentar, forrageando em toda a coluna d'água: na superfície (culicídeos), na porção média (microcrustáceos) e no fundo (quironomídeos). A dominância dos itens autóctones na dieta, também característica de outros Rivulídeos (Laufer et al. 2009; Gonçalves et al. 2011; Keppeler et al. 2013), indica uma forte relação de dependência desta espécie com a integridade biótica do corpo d'água que habita, reforçando a necessidade de preservação destes locais nas áreas naturais remanescentes dos Campos Sulinos.

O espectro alimentar preferencialmente autóctone é favorecido em ambientes lênticos em que há condições à maior abundância de zooplâncton e a fonte de energia é principalmente autóctone, quando comparados a ambientes lóticos nos quais esta fauna pode ser pouco desenvolvida, embora o consumo dos recursos dependa de peixes adaptados às dietas ricas em itens autóctones ou alóctones (Margalef 1983; Horne and Goldman 1994; Lowe-McConnell 1999). A dieta de peixes que habitam pequenos ambientes lênticos, pode ser associada ao aproveitamento de organismos que também desenvolvem seu ciclo de vida no local (Shibatta and Bennemann 2003).

Os itens autóctones foram determinantes na dieta de outras três espécies de *Atlantirivulus*: *A. haraldsiolii* considerado onívoro (Abilhoa et al. 2010a), *A. santensis* consumindo insetos aquáticos imaturos e insetos terrestres (Contente and Stefanoni 2010) e *A. luelingi* que consumiu 66% dos itens alimentares de origem autóctone e destes, larvas de Chironomidae corresponderam ao item principal (Abilhoa et al. 2010b).

O consumo de insetos autóctones e de microcrustáceos como principais componentes da dieta também é reportado para os rivulídeos *Cynopoecilus fulgens*, *C. melanotaenia*, *Melanorivulus pictus* e *Simpsonichthys boitonei* (Shibatta and Rocha 2001; Shibatta and Bennemann 2003; Gonçalves et al. 2011; Keppeler et al. 2013).

A preferência por Diptera autóctone (principalmente Chironomidae) seguida de outros insetos autóctones indica uma tendência especialista à insetivoria no comportamento alimentar de *A. riograndensis*, percebida em maior intensidade ao longo do crescimento somático desta espécie.

Os invertebrados bentônicos, especialmente insetos imaturos, representam um recurso alimentar importante à ictiofauna continental e o elevado consumo de Chironomidae entre os peixes pode estar associado à abundância deste em muitos ambientes aquáticos (Lowe-McConnell 1999; Higuti and Takeda 2002; Hahn and Fugi 2007).

Peixes com tendências especialistas são mais claramente detectados quando a fonte de alimento é abundante em comparação a peixes generalistas associados a recursos alimentares escassos (Gerking 1994). Embora não se tenha quantificado os recursos alimentares disponíveis no Banhado dos Pachecos, conforme as observações realizadas em campo, este ambiente preservado e perene parece dispor, para as espécies que ali vivem, de uma grande variedade de itens alimentares autóctones e alóctones. Nos ambientes efêmeros, por outro lado, com condições variáveis quanto aos recursos alimentares disponíveis, como as poças e alagados temporários habitados por rivulídeos anuais, uma especificidade muito grande na dieta poderia ser prejudicial à espécie (Laufer et al. 2009; Polaèik and Reichard 2010; Gonçalves et al. 2011).

Diferenças na composição alimentar entre os sexos não foram constatadas em outras espécies de *Atlantirivulus* (Abilhoa et al. 2010a; Abilhoa et al. 2010b; Contente and Stefanoni 2010), assim como para *C. melanotaenia* (Gonçalves et al. 2011) e *S. boitonei* (Shibatta and Rocha 2001). Em *A. santensis* esta questão é associada a uma sobreposição espacial e à habilidade semelhante de ambos os sexos na captura das prezas (Contente and Stefanoni 2010).

A riqueza de itens alimentares de *A. luteoflammulatus* foi maior nos machos (Laufer et al. 2009), assim como para *A. riograndensis*. Na dieta de *A. riograndensis* as diferenças de sexo quanto aos itens consumidos e o volume de alimento ingerido (maior nas fêmeas) parecem relacionar-se ao comportamento e não a morfologia, uma vez que não há dimorfismo sexual de tamanho e o aparato bucal e a forma do corpo de machos e fêmeas é, aparentemente, muito semelhante.

O comportamento social da espécie *S. boitonei* foi utilizado para explicar a maior intensidade alimentar das fêmeas destes rivulídeos, por que machos passariam menos tempo alimentando-se e mais tempo defendendo o território ou exibindo-se para as fêmeas, embora a

composição alimentar entre sexos dessa espécie tenha sido muito similar (Shibatta and Rocha 2001).

A lepidofagia registrada para *S. boitonei* (Shibatta and Rocha 2001), *C. melanotaenia* (Gonçalves et al. 2011) e *C. fulgens* (Keppeler et al. 2013) que poderia indicar um comportamento associado à reprodução, agonístico territorialista ou competição intra ou interespecífica não foi observada em *A. riograndensis*.

Mudanças tróficas em alguns peixes são esperadas como consequência do crescimento somático, modificações do aparato bucal, ampliação da mobilidade e capacidade de capturar presas, ocupações de diferentes habitats entre larvas, juvenis e adultos (Winemiller 1989; Gerking 1994; Abelha et al. 2001). Ao longo do crescimento o espectro de tamanho e tipo de presa consumida se amplia (Houde 1997).

Na família Rivulidae foram reportadas influências ontogenéticas na alimentação de *Austrolebias cheradophilus*, *C. melanotaenia* e *C. fulgens* (Laufer et al. 2009; Keppeler et al. 2013). No gênero *Atlantirivulus* as espécies *A. luelingi* e *A. santensis* não apresentaram influências ontogenéticas na composição alimentar, enquanto em *A. haraldsiolii* os juvenis consumiram principalmente insetos aquáticos imaturos e ácaros aquáticos e os adultos preferiram ácaros aquáticos, fragmentos de plantas e Formicidae (Abilhoa et al. 2010a; Abilhoa et al. 2010b; Contente and Stefanoni 2010).

A influência ontogenética na composição alimentar de *A. riograndensis* indica que os juvenis, embora apresentem um consumo considerável de Diptera autóctone, comportam-se mais como zooplancatófagos, ingerindo maior número de microcrustáceos, quando comparados aos demais estágios de desenvolvimento da espécie.

O tipo de microcrustáceo ingerido também se modifica ao longo do desenvolvimento de *A. riograndensis*. Como esperado para espécies dulcícolas, a dependência de Cladocera é maior que de Copepoda principalmente nos estágios larvais, embora a interação entre peixes e zooplâncton dependa da habilidade de captura das presas, maior nos maiores indivíduos da população (Gerking 1994) que no caso de *A. riograndensis* apresentaram um espectro alimentar mais abrangente.

A seletividade das presas durante o forrageamento e a intensidade alimentar da espécie relacionam-se a diversos fatores, como disponibilidade de alimento, necessidades energéticas variáveis, gasto energético empregado na captura das presas, capacidades nutricionais destas presas, período reprodutivo, condições abióticas, comportamento social, taxa de predação, etc. (Nikolsky 1963; Abelha et al. 2001; Barreto and Aranha 2006; Gomiero and Braga 2008). A queda no volume de alimento consumido por *A. riograndensis* ao longo

do crescimento somático não pode, portanto, ser associado a um destes fatores de forma isolada. Isso porque, além de alterar a composição da dieta de microcrustáceos para insetos autóctones ao longo da ontogenia, esta espécie apresenta uma maturação oocitária muito precoce, o que poderia indicar alta necessidade energética nos primeiros estágios de vida, para investimento em crescimento somático rápido antes de iniciar a fase de desenvolvimento reprodutivo.

Os efeitos sazonais percebidos na dieta de *A. riograndensis* são comumente registrados para várias espécies de água doce (Winemiller 1990; Polis and Winemiller 1996; Winemiller and Jepsen 1998; Hahn and Fugli 2008). Entre os rivulídeos *A. luelingi* apresentou diferenças alimentares quanto aos meses do ano, embora estas não estivessem associadas à quantidade de chuva (Abilhoa et al. 2010b). *Cynopocilus fulgens* consumiu maior número de presas no verão e primavera em relação ao inverno, enquanto Cladocera foi o item mais selecionado no outono e no verão (Keppeler et al. 2013), sendo esse o mesmo padrão identificado em *A. riograndensis*, com exceção do consumo de microcrustáceos no verão como item alimentar principal.

### **Considerações finais**

As hipóteses de influências de sexo, ontogenéticas e sazonais na dieta de *A. riograndensis* foram corroboradas. *Atlantirivulus riograndensis* comporta-se como zooplancetófago quando juvenil e predador quando adulto nos microhabitats do banhado onde vive, consumindo itens autóctones, dentre os quais, Diptera como alimento principal. Este comportamento reflete o padrão do gênero *Atlantirivulus* e de alguns representantes da família Rivulidae. A tendência especialista para insetivoria aumenta conforme a ontogenia, embora a intensidade alimentar diminua ao longo do crescimento somático da espécie. As influências de sexo relacionam-se a maior amplitude de nicho nos machos e intensidade alimentar mais elevada nas fêmeas. A sazonalidade reflete maior diversidade de presas na primavera e no verão, estações em que a presença dos peixes maiores, durante o período reprodutivo, foi mais marcante. O consumo elevado de microcrustáceos no outono está relacionado aos indivíduos menores, capturados em maior quantidade neste período pós-reprodução, enquanto a dieta menos diversa no inverno, estação com as mais baixas temperaturas, pode ser reflexo da menor diversidade de recursos alimentares.

## Referências

Abelha MCF, Agostinho AA, Goulart E (2001) Plasticidade trófica em peixes de água doce. *Acta sci.* 23:425-434

Abilhoa V, Vitule JRS, Bornatowski H, Lara FB, Kohler GU, Festti L, Carmo WPD, Ribeiro IK (2010a) Effects of body size on the diet of *Rivulus haraldsiolii* (Aplocheiloidei: Rivulidae) in a coastal Atlantic Rainforest island stream, southern Brazil. *Biotemas* 23:59-64

Abilhoa V, Vitule JRS, Bornatowski H (2010b) Feeding ecology of *Rivulus luelingi* (Aplocheiloidei: Rivulidae) in a Coastal Atlantic Rainforest stream, southern Brazil. *Neotropical Ichthyol* 8:813-818

Accordi IA (2008) Ecologia e conservação de aves em ambientes costeiros do Rio Grande do Sul. Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26:32-46

Barreto AP, Aranha, JMR (2006) Alimentação de quatro espécies de characiformes de um riacho da floresta atlântica, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. *Rev. bras. zool* 23:779-788

Borcard D, Gillet F, Legendre P (2011) *Numerical Ecology with R*. Springer, New York

Cavalheiro LW (2014) Biologia alimentar e reprodutiva de *Atlantirivulus riograndensis* (Costa & Lanés, 2009) (Cyprinodontiformes: Rivulidae) no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Clarke KR, Warwick RM (2001) *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth/Primer-E, Plymouth

Contente R, Stefanoni M (2010) Diet of the Atlantic rainforest killifish *Rivulus santensis* (Rivulidae, Cyprinodontiformes) in southeastern Brazil. *J. Appl. Ichthyol.* 26:930-932

Costa WJEM (2009) Peixes aploqueilóideos da mata atlântica brasileira: história, diversidade e conservação. Aplocheiloid fishes of the brazilian atlantic forest: history, diversity and conservation. Museu Nacional, Rio de Janeiro

Costa WJEM (2011) Phylogenetic position and taxonomic status of *Anablepsoides*, *Atlantirivulus*, *Cynodonichthys*, *Laimosemion* and *Melanorivulu* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 22:233-249

Costa WJEM, Lanés LEK (2009) *Rivulus riograndensis*, a new aplocheiloid killifish from southern Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 20:91-95

Gerking SD (1994) *Feeding Ecology of Fish*. Academi Press, California

- Gomiero LM, Braga FMS (2008) Feeding habits of the ichthyofauna in a protected area in the State of São Paulo, southeastern Brazil. *Biota Neotrop* 8:41-47
- Gonçalves CS, Souza UP, Volcan MV (2011) The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. *Neotropical Ichthyol* 9:191-200
- Hahn NS, Fugi R (2007) Alimentação de peixes em reservatórios brasileiros: alterações e consequências nos estágios iniciais do repesamento. *Oecologia Brasiliensis* 11:469-480
- Hahn NS, Fugi R (2008) Environmental changes, habitat modifications and feeding ecology of freshwater fish. In: Cyrino JEP, Bureau DP, Kapoor BG (eds) *Feeding and Digestive Functions of Fishes*. Science Publishers, New Hampshire, pp 35-65
- Higuti J, Takeda AM (2002) Spatial and temporal variation in densities of chironomid larvae (Diptera) in two lagoons and two tributaries of the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Braz. J. Biol.* 62:807-818
- Horne JA, Goldman CR (1994) *Limnology*. McGraw-Hill, New York
- Houde ED (1997) Patterns and consequences of selective processes in teleost early life histories. In: Chambers C, Trippel EA (eds) *Early life history and recruitment in fish populations*. Chapman & Hall, London, pp 173-196
- Hynes HBN (1950) The food of freshwater sticklebacks (*Gasterostomus aculeatus* and *Pigosteus pungitius*), with a review of methods used in studies of the food of fishes. *J. anim. ecol.* 19:36-58
- Hyslop EJ (1980) Stomach contents analysis - a review of method and their application. *J Fish Biol* 17:411-429
- Keppeler FW, Lanés LEK, Rolon AS, Stenert C, Maltchik L (2013) The diet of *Cynopoecilus fulgens* Costa, (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Southern Brazil wetlands. *Italian Journal of Zoology* 1-12. doi:10.1080/11250003.2012.744107
- Krebs CJ (1999) *Ecological Methodology*. Benjamin/Cummings, Menlo Park, California
- Lanés LEK, Keppeler FW, Maltchik L (2012) Abundance, sex-ratio, length–weight relation, and condition factor of non-annual killifish *Atlantirivulus riograndensis* (Actinopterygii: Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Lagoa do Peixe national park, a Ramsar site of southern Brazil. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 42:247–252
- Laufer G, Arim M, Loureiro M, Piñeiro-Guerra JM, Clavijo-Baquet S, Fagúndez C (2009) Diet of four annual killifishes: an intra and interspecific comparison. *Neotropical Ichthyol* 7:77-86
- Legendre P, Legendre L (1998) *Numerical ecology: developments in environmental modeling* 20. Elsevier, Amsterdam

- Lowe-McConnell RH (1999) Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. Edusp, São Paulo
- Malabarba LR, Neto PC, Bertaco VA, Carvalho TP, Santos JF, Artioli LGS (2013) Guia de identificação dos peixes da bacia do Rio Tramandaí. Via Sapiens, Porto Alegre
- Margalef R (1983) Limnología. Omega, Barcelona
- Nikolsky GV (1963) The ecology of fishes. Academic, Nova York
- Pillar VD, Müller SC, Castilhos Z, Jacques AVA (eds) (2009) Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. Ministério do Meio Ambiente, Brasília
- Polaèik M, Reichard M (2010) Diet overlap among three sympatric African annual killifish species *Nothobranchius spp.* from Mozambique. J Fish Biol 77:754-768
- Polis GA, Winemiller KO (1996) Food webs: integration of patterns and dynamics. Chapman & Hall, New York
- Santos EP (1978) Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura. Hucitec/Edusp, São Paulo
- Shibatta OA, Bennemann ST (2003) Plasticidade alimentar em *Rivulus pictus* Costa (Osteichthyes, Cyprinodontiformes, Rivulidae) de uma pequena lagoa em Brasília, Distrito Federal, Brasil. Rev. bras. zool 20:615-618
- Shibatta AO, Rocha AJA (2001) Alimentação em machos e fêmeas do pirá-brasília, *Simpsonichthys boitonei* Carvalho (Cyprinodontiformes, Rivulidae). Rev. bras. zool 18:381-385
- Vieira S (1991) Introdução à bioestatística. Editora Campus, Rio de Janeiro
- Winemiller KO (1989) Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. Oecologia 81:225-241
- Winemiller KO (1990) Spatial and temporal variation in tropical fish trophic networks. Ecological Monographs 60:331-367
- Winemiller KO, Jepsen D. B (1998) Effects of seasonality and fish movement on tropical river food webs. J Fish Biol 53:267-296
- Zar JH (1999) Biostatistical Analysis. Prentice Hall, New Jersey
- Zavala-Camin LA (1996) Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes. Eduem/Nupelia, Maringá

### **CAPÍTULO III**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Atlantirivulus riograndensis* (COSTA & LANÉS, 2009),  
UM RIVULIDEO NÃO ANUAL, EM UM BANHADO PRESERVADO NO ESTADO  
DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Artigo redigido nas normas da revista Neotropical Ichthyology (Anexo 2).

**Biologia reprodutiva de *Atlantirivulus riograndensis* (COSTA & LANÉS, 2009), um rivulideo não anual, em um banhado preservado no estado do Rio Grande do Sul, Brasil**

Laísa Wociechoski Cavalheiro<sup>1</sup>, Clarice Bernhardt Fialho<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. (LWC) [isa\\_woci@hotmail.com](mailto:isa_woci@hotmail.com); (CBF) [cbfialho@via-rs.net](mailto:cbfialho@via-rs.net)

**Abstract**

*Atlantirivulus riograndensis* is a fish registered to basin of Patos lagoon and adjacent coastal plains, in Rio Grande do Sul and southern of Santa Catarina. The aim of this study was to investigate the reproductive strategy and tactics of this species, among which, the sex ratio, the length at first maturity, spawning type, fecundity, and possible associations between reproduction and abiotic and biological factors of this species and if there is a defined reproductive season. The samplings of biological material occurred at the Refugio da Vida Silvestre Banhado do Pachecos, Viamão city, RS, Brazil by collecting 30 specimens per month during the year 2012. 188 females and 172 males were captured, and total sex ratio of 1:1 did not differ among the sampled individuals. The species presents early sexual maturation with females having gonads with vitellogenic oocytes from 13.59 mm standard length and males having gonads with spermatozooids from 11.92 millimeters. The histological analysis demonstrated a multiple spawner with the presence of post-ovulatory follicles in females considered able to spawn and a long reproductive period, from August to March, confirmed by the peaks in the values of gonadosomatic index. The absolute fecundity of the species is low with an average of 19 vitellogenic oocytes in mature ovaries, which are large in size with an average diameter of 1.57 mm. Females with heavier gonads eat less amount of food, while for males the weight of the gonads does not interfere with feeding intensity. The reproductive period was not related to energy storage in the liver and there was no relationship between the values of gonadosomatic index and abiotic data such as temperature, rainfall and photoperiod. The reproductive tactics for *A. riograndensis* suggest a fish with opportunistic reproductive strategy, with long reproductive period, early sexual maturation, low fecundity and large oocytes.

**Keywords:** Cyprinodontiformes, reproductive period, gonadal developmental, multiple spawner, low fecundity.

## **Resumo**

*Atlantirivulus riograndensis* é um peixe registrado para a bacia da Laguna dos Patos e planícies costeiras adjacentes, no Rio Grande do Sul e sul de Santa Catarina. O objetivo deste trabalho consistiu em investigar a estratégia e as táticas reprodutivas desta espécie, dentre as quais, a proporção sexual, o comprimento de primeira maturação, o tipo de desova, a fecundidade, possíveis associações entre a reprodução e fatores abióticos e biológicos da espécie e se há uma estação reprodutiva definida. As amostragens de material biológico ocorreram no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, RS, Brasil com a coleta de 30 exemplares por mês durante o ano de 2012. Foram capturadas 188 fêmeas e 172 machos e a proporção sexual total não diferiu de 1:1 dentre os indivíduos amostrados. A maturação sexual da espécie é precoce com fêmeas podendo apresentar oócitos vitelogênicos a partir de 13.59 milímetros de comprimento padrão e machos com a presença de espermatozoides a partir de 11.92 milímetros. As análises histológicas demonstraram uma desova parcelada com a presença de folículos pós-ovulatórios em fêmeas consideradas aptas a desovar e um período reprodutivo longo, entre agosto e março, confirmado pelos picos nos valores do índice gonadossomático. A fecundidade absoluta da espécie é baixa com média de 19 oócitos vitelogênicos em ovários maduros e estes oócitos são grandes com diâmetro médio de 1.57 milímetros. As fêmeas com gônadas mais pesadas ingeriram menor quantidade de alimento, enquanto para os machos o peso das gônadas não interfere na intensidade alimentar. O período reprodutivo não foi relacionado ao estoque de energia no fígado e não houve relação entre os valores do índice gonadossomático e dados abióticos de temperatura, pluviosidade e tempo em horas de brilho do sol. As táticas reprodutivas de *A. riograndensis* indicam um peixe com estratégia reprodutiva oportunista, apresentando longo período reprodutivo, maturação sexual precoce, baixa fecundidade e oócitos grandes.

**Palavras-chave:** Cyprinodontiformes, período reprodutivo, desenvolvimento gonadal, desova múltipla, baixa fecundidade.

## Introdução

A família Rivulidae agrupa cerca de 350 espécies válidas entre peixes anuais, de habitats efêmeros e sazonais, cujos indivíduos adultos morrem nas estações secas e peixes não anuais (Volcan *et al.*, 2010; Costa, 2011). Os rivulídeos não anuais habitam locais perenes dentre os quais banhados e charcos preferencialmente sombreados e próximos a bordas de matas sujeitas a alagações durante o período de cheia (Costa, 2009; Costa & Lanés, 2009; Costa, 2011). Estes habitats são sensíveis a pressões antrópicas e nos Campos Sulinos, estado do Rio Grande do Sul, estão perdendo áreas naturais para atividades agrícolas, pecuárias e silviculturas, implicando em extinção de espécies ou comprometimento dos estoques populacionais (Pillar *et al.*, 2009).

A qualidade dos habitats associada a outros fatores extrínsecos, biológicos como taxas de predação ou abióticos como temperatura, precipitação e fotoperíodo, variáveis no espaço e no tempo e aos fatores intrínsecos como estratégias e táticas próprias das espécies, determinam o sucesso reprodutivo das populações naturais (Vazzoler, 1996; Devlin & Nagahama, 2002). Nos ambientes cuja capacidade reprodutiva das populações pode ser afetada em função da degradação de habitat é necessário compreender as histórias de vida das espécies, conhecendo as estratégias e mecanismos envolvidos na reprodução, para facilitar a investigação da influência destes impactos nos organismos (Devlin & Nagahama, 2002).

A estratégia reprodutiva dos rivulídeos anuais está associada, entre outros, a capacidade de manter os embriões viáveis durante o período de baixa precipitação, no qual os alagados sazonais onde habitam secam. Estes peixes garantem a sobrevivência, nestes habitats instáveis, com elaborados comportamentos de corte, complexos processos de desenvolvimento embrionário e o envolvimento dos ovos no substrato, que podem permanecer em diapausa até a próxima estação chuvosa quando ocorre a eclosão das larvas (Lowe-McConnell, 1999; Arenzon *et al.*, 2001; Arezo *et al.*, 2005; Costa, 2011).

Os rivulídeos não anuais, por outro lado, habitam locais com disponibilidade de água durante o ano todo e, portanto, não necessitam enterrar seus ovos, de forma que suas desovas ocorrem sobre o substrato ou plantas (Costa, 2009).

Outras táticas reprodutivas apresentadas pelos rivulídeos anuais são crescimento inicial rápido, a maturação sexual precoce, a fecundidade baixa, as desovas frequentes em períodos reprodutivos longos nas épocas de cheia, a proporção sexual maior de fêmeas em relação aos machos e fêmeas com alto fator de condição para a reprodução (Arenzon *et al.*, 1999; Arenzon *et al.*, 2001; Arenzon *et al.*, 2002; Shibatta, 2005; Volcan *et al.*, 2011).

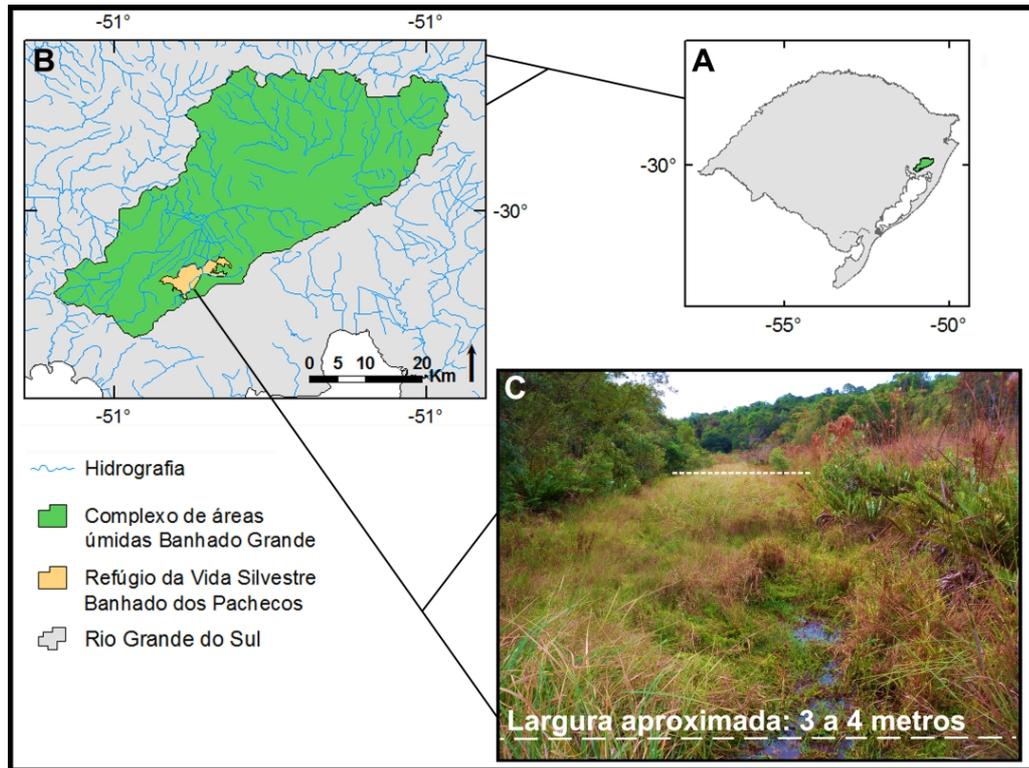
Nos peixes de habitats em que as condições ambientais oscilam sazonalmente, segundo Lowe-McConnell (1999), o investimento energético é dirigido para a multiplicação rápida, com ciclos de vida curtos e maturação precoce. Estas táticas reprodutivas são características de peixes com estratégias oportunistas, associados à rápida capacidade de colonização de habitats como no caso de Cyprinodontiformes (Winemiller, 1989).

As estratégias reprodutivas das espécies respondem às pressões seletivas do meio e buscam reduzir o custo energético com a manutenção do indivíduo, aumentar a eficiência na obtenção de energia e maximizar o sucesso reprodutivo (Nakatani *et al.*, 2001). Nesta perspectiva, levanta-se a hipótese de que embora a sazonalidade não influa de forma tão marcada nos habitats dos rivulídeos não anuais suas táticas reprodutivas podem seguir o padrão dos rivulídeos anuais, em virtude das características filogenéticas da família Rivulidae serem mais determinantes.

Os estudos populacionais, alimentares e reprodutivos na família Rivulidae são mais focados aos peixes anuais (Arenzon *et al.*, 1999; Arezo *et al.*, 2005; Shibatta & Bennemann, 2003; Shibatta, 2005; Laufer *et al.*, 2009; Volcan *et al.*, 2010; Gonçalves *et al.*, 2011; Volcan *et al.*, 2011; Keppeler *et al.*, 2013). Entretanto, também é necessário o conhecimento do ciclo de vida dos peixes não anuais, que estão sendo submetidos à fragmentação e destruição de seus habitats naturais. Deste modo, objetiva-se investigar a estratégia e as táticas reprodutivas de *A. riograndensis*, um peixe não anual, em um banhado perene e preservado no bioma Campos Sulinos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Dentre as táticas reprodutivas, busca-se compreender: se há um período reprodutivo definido para esta espécie; a proporção sexual; o comprimento de primeira maturação; o tipo de desova; a fecundidade; e possíveis associações entre a reprodução e fatores abióticos (temperatura, fotoperíodo e precipitação) e biológicos da espécie (dieta e estoque de energia no fígado).

## **Material e Métodos**

Os exemplares de *A. riograndensis* foram coletados no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil, em alagados perenes e preservados. Este refúgio é uma unidade de conservação e abrange uma área de 1.455 ha de habitats palustres, 384,8 ha de formações arbustivo-arbóreas pioneiras, 244,4 ha de mata de restinga e 459,8 ha de campos secos ou solo exposto (Accordi, 2008). O Banhado dos Pachecos insere-se na Área de Proteção Ambiental do Banhado Grande, bacia hidrográfica da Laguna dos Patos (Figs. 1a-b).



**Fig. 1** Representação geográfica do estado do Rio Grande do Sul, Brasil (A), com destaque ao Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos (B) na cidade de Viamão. Área de amostragem de *Atlantirivulus riograndensis* (C).

O local de coleta (30°05'44"S 50°50'59"W) corresponde a uma área de três a quatro metros de largura, formando uma faixa de água parada e túrbida ao entorno da mata paludosa. Apresenta grande quantidade de vegetação submersa, emergente, flutuante e marginal. A profundidade varia entre dez centímetros a um metro e meio e o substrato é lodoso, característico de banhados (Fig. 1c).

As coletas de material biológico ocorreram em 2012, com amostragens mensais. A autorização nº. 52/2012 e cadastro nº. 395 da Secretaria do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul permitiu a captura de 30 exemplares de *A. riograndensis* por mês para evitar impactos negativos, como a redução da população da espécie na área de estudo. As coletas ocorreram com puçás (500 x 300 mm, malha de 1 mm entre nós), explorando-se diferentes extratos da coluna d'água para amostragem de juvenis a adultos. Os espécimes foram eutanasiados com eugenol (óleo de cravo), fixados em formalina 10% ainda em campo e conservados, no laboratório, em álcool 70%. O material testemunho foi tombado na coleção de ictiologia do

Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob os lotes UFRGS 17266 e UFRGS 17267.

Os dados abióticos mensais de temperatura da água foram registrados, em graus Celsius, durante as expedições de coleta com o auxílio de termômetro. Os valores mensais de precipitação em milímetros e tempo de brilho do sol em horas foram adquiridos junto ao 8º Distrito de Meteorologia de Porto Alegre, registrados na estação 83967.

Os dados de comprimento padrão (CP) em milímetros, peso total (PT), estômago (PE), das gônadas (PG) e do fígado em gramas foram registrados para cada indivíduo capturado. As observações do dimorfismo sexual dicromático, ou seja, a presença de um ponto preto ocelado no pedúnculo caudal das fêmeas (Costa, 2011) e análises macro e microscópicas das gônadas foram utilizadas para sexagem dos indivíduos e identificação do período reprodutivo, com auxílio da frequência das fases de maturação das gônadas e do índice gonadossomático ( $IGS=PG/PT*100$ ) (Vazzoler, 1996). As variações mensais de IGS foram testadas com análise de variância (ANOVA) e submetidas ao pós-teste de Tukey HSD (honestly significant difference) com múltiplas comparações (Zar, 1999).

As gônadas de 110 indivíduos em diferentes fases de maturação foram submetidas à histologia com inclusão em resina à base de glicolmetacrilato (Leica<sup>®</sup>), secção com navalha de vidro a três  $\mu m$  de espessura e coloração com hematoxilina-eosina ou azul de toluidina. A classificação das fases de maturação gonadal ocorreu conforme Brown-Peterson *et al.* (2011). Todos os indivíduos classificados macroscopicamente como imaturos foram submetidos à histologia para a confirmação do sexo e da fase de maturação gonadal.

O índice de repleção estomacal ( $IR=PE/PT*100$ ) (Santos, 1978) foi calculado como um indicativo de intensidade alimentar da espécie. O índice hepatossomático ( $IHS=PF/PT*100$ ) (Santos, 1978) foi calculado para investigar se há possíveis estoques energéticos, no fígado, relacionados à reprodução. Foram realizadas regressões lineares (Legendre & Legendre, 1998) do IGS com o IHS e IR, para testar variações do peso da gônada em função dos pesos do fígado ou do estômago, respectivamente. O IGS, IHS e IR foram calculados em separados para machos e fêmeas. A proporção sexual total e mensal foi avaliada pelo teste chi-quadrado ( $\chi^2$ ) (Legendre & Legendre, 1998).

A variação das médias mensais do IGS em relação às médias mensais de temperatura da água, tempo em horas de brilho do sol e precipitação foi testada com regressão múltipla (Legendre & Legendre, 1998). Os dados abióticos foram transformados em logaritmo para atender aos pressupostos do teste estatístico (Legendre & Legendre, 1998). As análises de resíduos da ANOVA e das regressões foram utilizadas para verificar a normalidade dos dados

(Legendre & Legendre, 1998). Os testes estatísticos foram realizados utilizando-se o R Project for Statistical Computing versão 3.0.2.

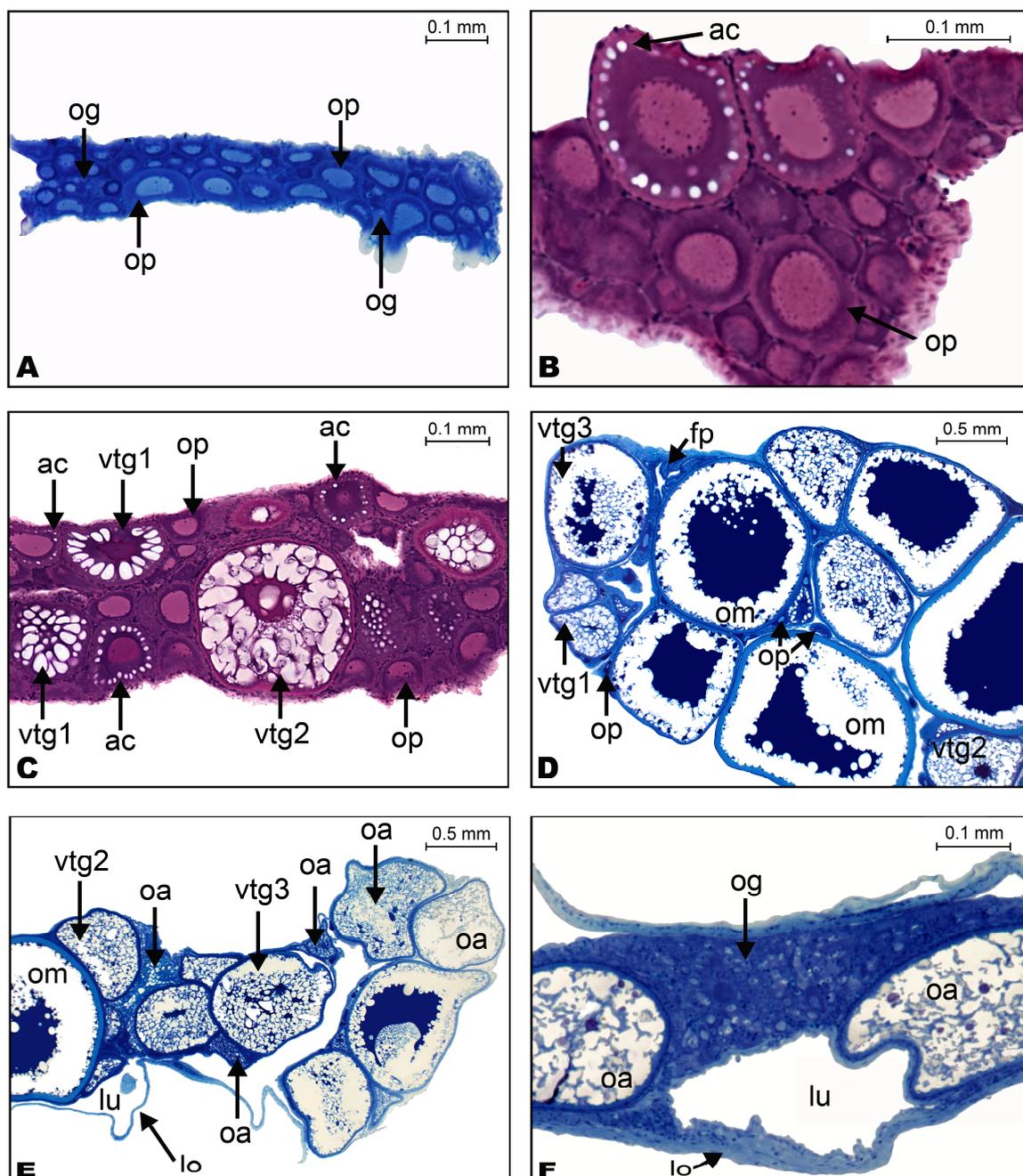
A fecundidade absoluta da espécie foi estabelecida a partir da contagem dos oócitos vitelinados de 15 fêmeas aptas a desovar e a fecundidade relativa expressa como o número desses oócitos por miligrama de peso total (Adebisi, 1987). O tipo de desova foi inferido com base na distribuição das modas dos diâmetros dos oócitos de cinco fêmeas desenvolvendo, 15 fêmeas aptas a desovar e cinco fêmeas com as gônadas regredindo (Vazzoler, 1996) e das análises histológicas com base nos estágios de desenvolvimento dos oócitos e presença de folículos pós-ovulatórios e oócitos atrésicos (Brown-Peterson *et al.*, 2011). Para a fecundidade e tipo de desova contou-se e mediu-se o número total de oócitos presentes nos ovários, não sendo realizadas amostragens.

## **Resultados**

A amostragem resultou na captura de 188 fêmeas (CP entre 10.59 mm e 44.53 mm) e 172 machos (CP entre 11.92 mm e 41.35 mm). Não se confirmou dimorfismo sexual de tamanho nesta população (F: 0.76 p: 0.38). A classificação dos espécimes em macho ou fêmea pode seguir o dimorfismo sexual de coloração a partir de, aproximadamente, 20 mm de comprimento padrão. Anterior a isso os machos podem apresentar uma coloração que se confunde com a das fêmeas, com uma mancha igual ao ponto preto ocoado que elas apresentam no pedúnculo caudal. Assim, em peixes desta espécie, com gônadas aparentemente imaturas macroscopicamente e com comprimento padrão inferior a 20 mm, a histologia é essencial para a classificação do sexo e da fase de maturação gonadal.

Quanto às fases de maturação gonadal, conforme Brown-Peterson *et al.* (2011), as fêmeas foram classificadas em: Imaturas, apresentando ovários com pouco espaço entre os oócitos e ausência de feixes musculares evidentes ou atresias e células germinativas em estágio de oogônias ou oócitos em crescimento primário (Fig. 2a), a fase imatura conclui-se antes da presença de oócitos que apresentam vesículas alveolares corticais (Fig. 2b); Desenvolvendo, com a presença de oócitos primários, vitelogênicos primários e secundários e ausência de vitelogênicos terciários ou folículos pós-ovulatórios (Fig. 2c); Aptas a desovar, apresentando ovários grandes e com vasos sanguíneos proeminentes, células germinativas em estágio de vitelogênese primária, secundária e terciária, oócitos maduros e visíveis macroscopicamente e folículos pós-ovulatórios em virtude da desova parcelada (Fig. 2d); Regredindo, com ovários flácidos, células espaçadas entre si, presença de atresias e alguns

oócitos vitelogênicos (Fig. 2e); e Regenerando, com ovários pequenos, redução dos vasos sanguíneos, lamela ovariana grossa e envelhecida e presença de oogônias e oócitos primários. A fase regenerando foi caracterizada em somente um indivíduo, de tamanho grande (CP: 44.53 mm), no mês de janeiro (Fig. 2f).



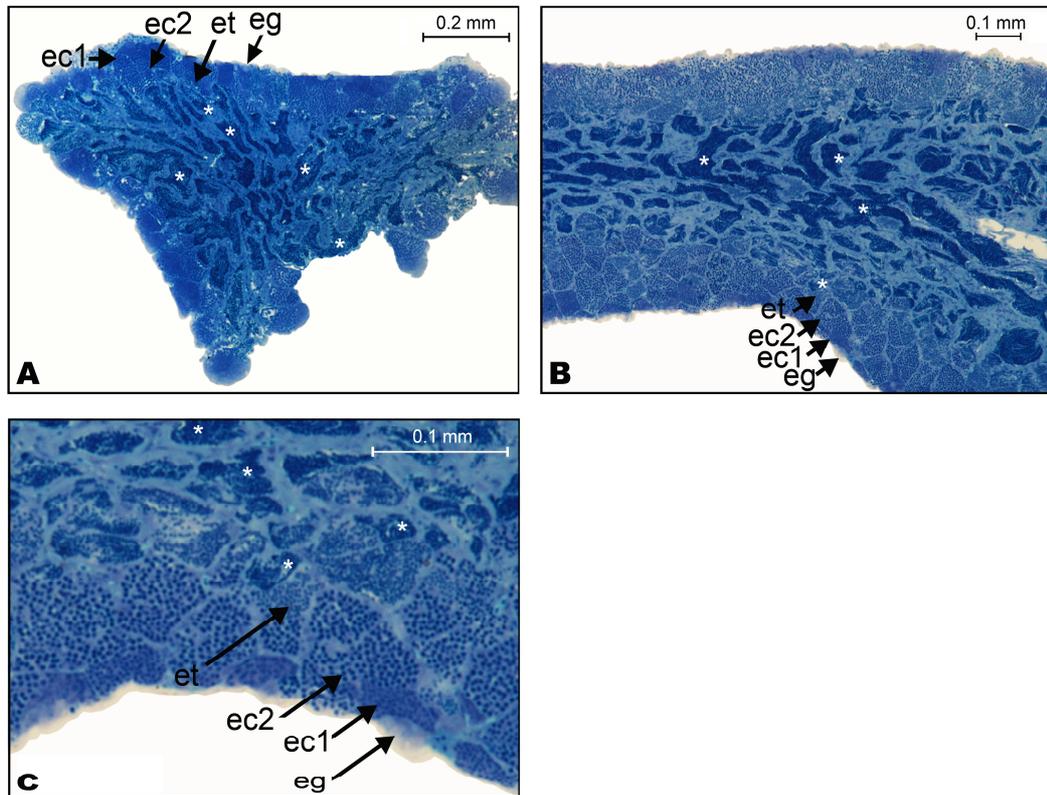
**Fig. 2** Cortes histológicos, corados em hematoxilina e eosina (B-C) e azul de toluidina (A-D-E-F), de ovários de *A. riograndensis* capturadas no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. A) ovário imaturo, somente oogônias e oócitos primários presentes, comprimento padrão (CP) da fêmea: 13.91 mm. B) ovário iniciando o

desenvolvimento com a presença de oócitos com alvéolos corticais, CP da fêmea: 15.86 mm. C) ovário desenvolvendo, presença de oócitos primários, vitelogênicos primários e secundários, CP da fêmea: 16.80 mm. D) ovário na fase de maturação apta a desovar, com folículos pós-ovulatórios e todos os estágios da oogênese presentes, com exceção de oogônias, CP da fêmea: 28.60 mm. E) ovário na fase de maturação regredindo, evidência de muitos oócitos atrésicos, CP da fêmea: 29.17 mm. F) ovário regenerando, presença de oócitos em processo de atresia e muitas oogônias dispostas de forma desorganizada, lamela ovariana distendida e flácida, CP da fêmea: 44.53 mm. ac: alvéolo cortical; ao: oócito atrésico; fp: folículo pós-ovulatório; lo: lamela ovariana; lu: lúmen; og: oogônia; om: oócito maduro; op: oócito em crescimento primário; vtg1: oócito vitelogênico primário; vtg2: oócito vitelogênico secundário; vtg3: oócito vitelogênico terciário.

Machos imaturos, caracterizados por apresentar somente espermatogônias (Brown-Peterson *et al.*, 2011), não foram verificados entre os exemplares de *A. riograndensis* capturados no Banhado dos Pachecos, assim como não foram encontradas as fases regredindo e regenerando. A fase regredindo caracteriza-se com a redução da quantidade de espermatozoides presentes no lúmen e ductos espermáticos, pouca ou nenhuma atividade de espermatogênese, podendo apresentar proliferação de espermatogônias e o início da regeneração do epitélio germinativo na periferia do testículo (Brown-Peterson *et al.*, 2011); a fase regenerando é caracterizada pela ausência de espermatócitos, proliferação de espermatogônias, epitélio germinativo contínuo e resíduo de espermatozoides (Brown-Peterson *et al.*, 2011).

As gônadas masculinas de *A. riograndensis* apresentaram-se como aptas a reprodução em todos os meses do ano e as fases desenvolvendo e aptos à espermiar, são identificadas por apresentarem, respectivamente: o epitélio germinativo contínuo, espermatogônias, espermatócitos e espermátides, mas sem a liberação de espermatozoides no lúmen dos lóbulos ou nos ductos espermáticos (Brown-Peterson *et al.*, 2011); e testículos podendo apresentar todos os estágios de espermatogênese, havendo a liberação de espermatozoides no lúmen e no ducto (Fig. 3a-c) (Brown-Peterson *et al.*, 2011).

Os testículos dos machos são classificados como lobulares restritos, acordando com Parenti & Grier (2004) que registraram para a família Rivulidae esta forma de organização das gônadas masculinas, com espermatogônias ocorrendo em cistos somente na porção distal dos lóbulos (Fig. 3a-c). Os cistos são mantidos durante a espermatogênese e se rompem para a liberação dos espermatozoides.

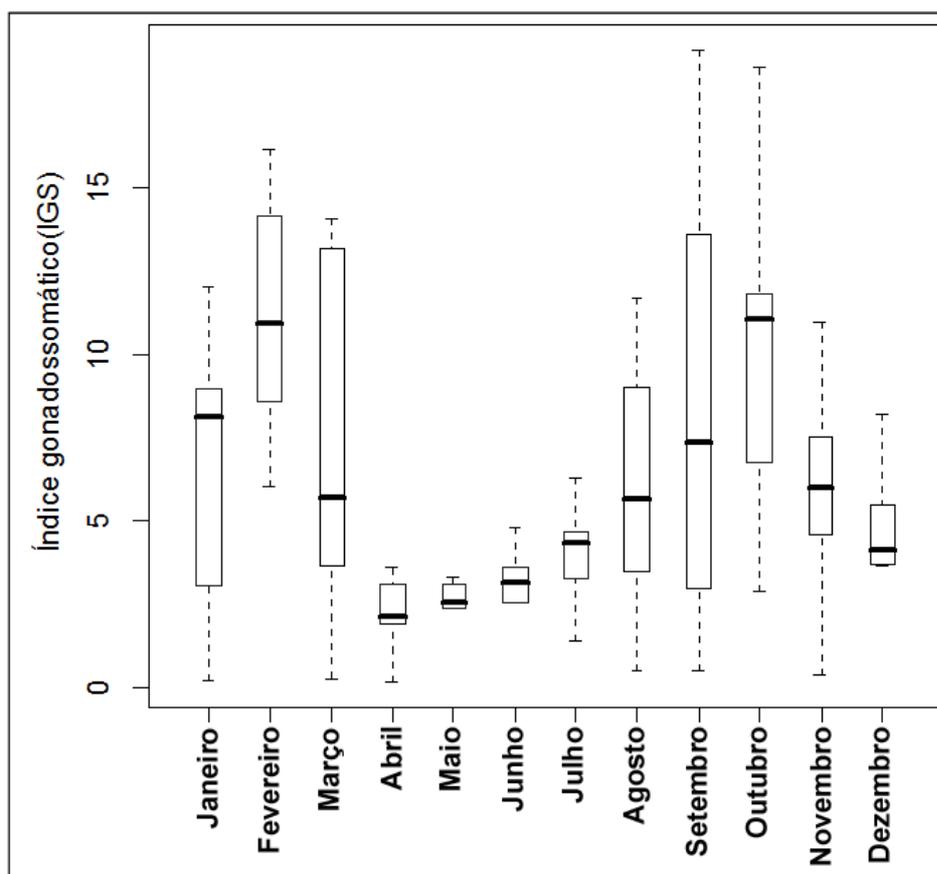


**Fig. 3** Cortes histológicos, corados em azul de toluidina, de testículos de *A. riograndensis* capturados no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. A) testículo na fase de maturação gonadal apto à reprodução em corte transversal, grande quantidade de espermatozoides no lúmen, comprimento padrão (CP) do macho: 34.35 mm. B) testículo apto à reprodução em corte longitudinal, apresentando todas as fases da espermatogênese e grande quantidade de espermatozoides, CP do macho: 41.35 mm. C) detalhe em maior aumento do corte longitudinal mostrando a sequência de estágios da espermatogênese em cistos, com evidência da organização lobular restrita do testículo, CP do macho: 41.35 mm. ec1: espermátocito primário; ec2: espermátocito secundário; eg: espermatogônia; et: espermátide; asterisco: espermatozoide.

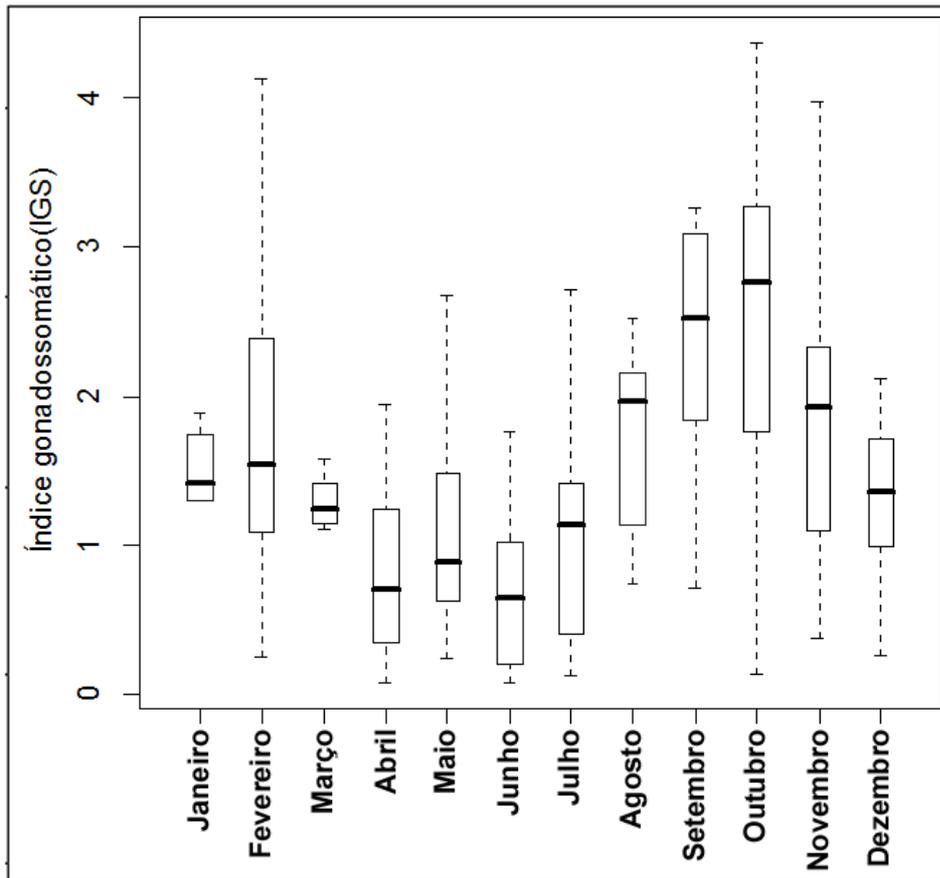
As análises histológicas demonstraram que fêmeas aptas à reprodução ocorrem durante os meses de agosto a março, coincidindo com as estações de temperaturas mais elevadas (média da primavera de 21°C e do verão de 23°C) e maior tempo de brilho do sol (média da primavera de 231 horas e verão de 262 horas), embora não haja relação entre as médias de IGS e os dados abióticos de temperatura, horas de brilho do sol e pluviosidade (fêmeas:  $F: 1.16$   $p: 0.38$ ; machos:  $F: 0.49$   $p: 0.69$ ).

A desova é mais evidente nos meses de novembro, dezembro e março conforme as quedas nos valores de IGS de fêmeas e machos (Figs. 4-5). Os meses de abril e maio

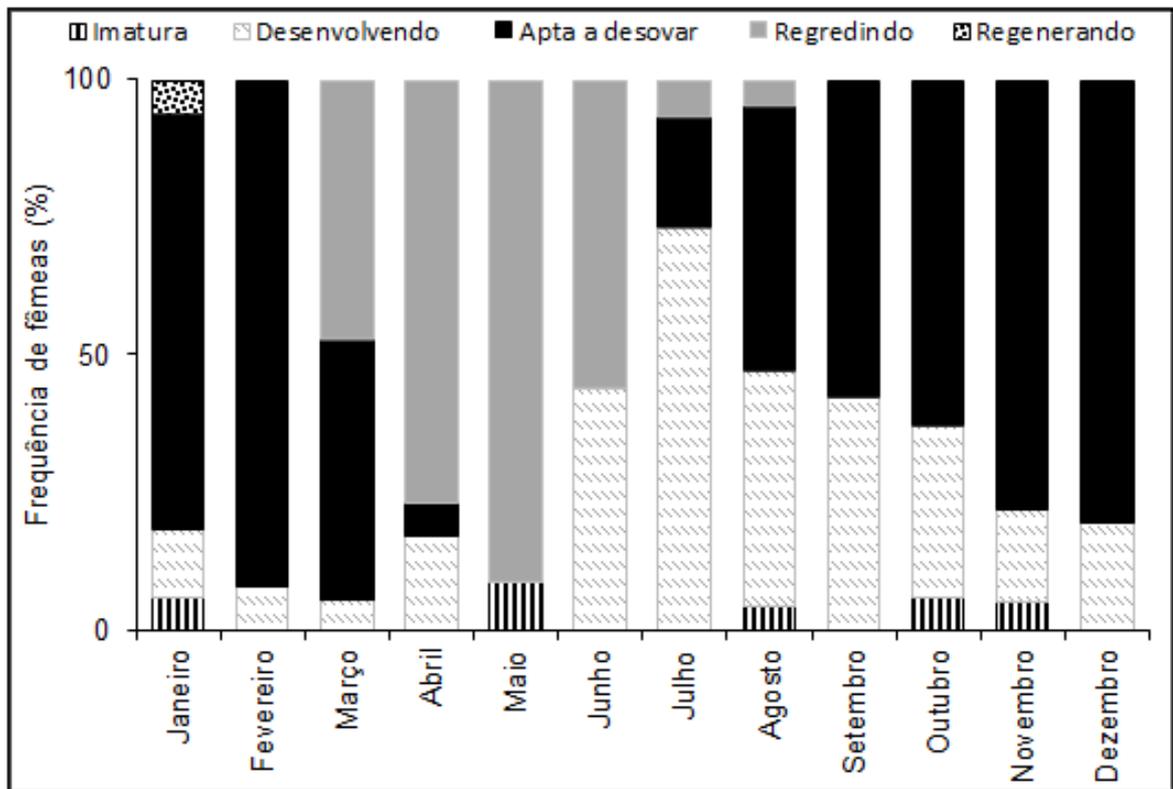
correspondem principalmente ao período de regressão das gônadas femininas e os meses de junho e julho caracterizaram o início da fase de desenvolvimento (Fig.6). Os valores de IGS diferiram ao longo dos meses confirmando um período reprodutivo definido entre a primavera e o verão (fêmeas:  $F: 7.58 p < 0.001$ ; machos:  $F: 7.33 p < 0.001$ ).



**Fig. 4** Variação mensal do índice gonadosomático (IGS) das fêmeas de *A. riograndensis* coletadas no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2012.



**Fig. 5** Variação mensal do índice gonadosomático (IGS) dos machos de *A. riograndensis* coletadas no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2012.



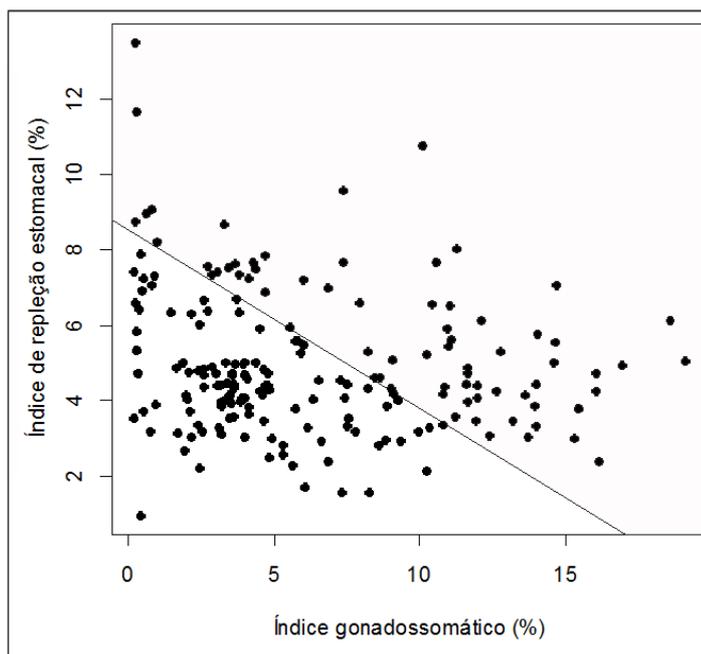
**Fig. 6** Frequência relativa mensal das fases de maturação gonadal de *A. riograndensis* coletadas no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2012.

Apenas cinco gônadas femininas, retiradas de indivíduos com comprimento padrão variando entre 10.59 e 13.91 milímetros, foram classificadas como imaturas. As fêmeas a partir desta faixa de comprimento padrão foram classificadas como desenvolvendo, conforme as análises histológicas, por apresentarem oócitos vitelogênicos. A menor fêmea com gônadas em desenvolvimento inicial encontrada possuía 13.59 milímetros de comprimento padrão (Fig. 2b). O menor macho encontrado possuía 11.92 milímetros de comprimento padrão e os cortes histológicos evidenciaram uma gônada em desenvolvimento, com a presença de espermatozoides, embora em número reduzido.

A proporção sexual de machos e fêmeas em relação ao total de indivíduos amostrados não diferiu de 1:1 conforme o teste do chi-quadrado ( $\chi^2$ : 0.71  $p > 0.05$ ), entretanto se registrou maior ocorrência de machos no mês de junho (proporção de 2.3:1) e fêmeas nos meses de agosto ( $\chi^2$ : 0.71  $p > 0.05$ ) e setembro ( $\chi^2$ : 0.71  $p > 0.05$ ) (proporção de 2.3:1).

As análises não mostraram relação entre os valores de IGS e IHS (fêmeas: F: 0.13  $p$ : 0.71), enquanto que a variação do IR mostrou uma relação negativa em função do IGS para as

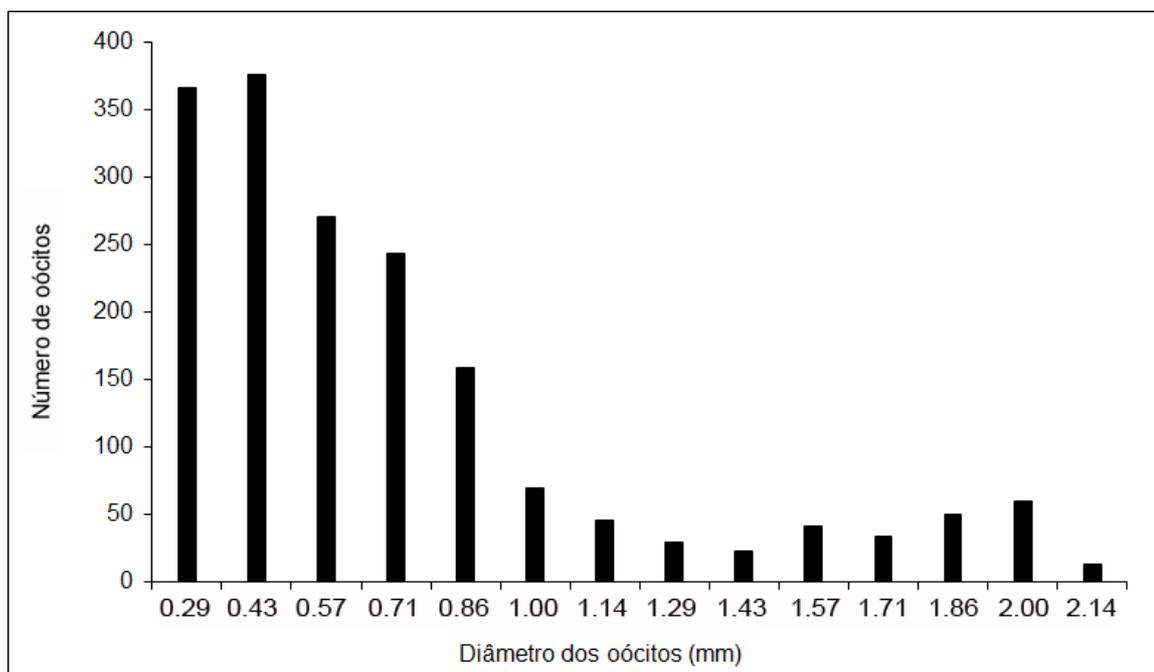
fêmeas (fêmeas:  $F: 7.58$   $p: 0.006$ ; machos:  $F: 0.19$   $p: 0.65$ ) (Fig. 7) indicando uma tendência de menor ingestão de alimento em fêmeas com IGS mais alto.



**Fig. 7** Regressão linear entre os valores do índice de repleção estomacal e do índice gonadossomático das fêmeas de *A. riograndensis* coletadas no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2012.

A fecundidade média absoluta estimada foi de 19.33 oócitos, com valores mínimos e máximos de nove e 34 oócitos vitelogênicos, respectivamente e a fecundidade média relativa por miligrama de peso total foi de 0.06. O diâmetro máximo dos oócitos vitelogênicos foi 2.14 milímetros e o médio 1.57 milímetros.

A análise da distribuição do número total de oócitos por classe de diâmetro revela mais de duas modas, caracterizando um desenvolvimento oocitário sincrônico em mais de dois grupos, ou seja, uma desova parcelada (Fig. 8). As análises histológicas, por sua vez, confirmam esta desova parcelada mostrando, em fêmeas consideradas aptas a desovar, lotes de oócitos em distintos estágios de desenvolvimento, com oócitos vitelogênicos intermediários e finais, e a evidência de desovas anteriores com a presença de folículos pós-ovulatórios.



**Fig. 8** Número de oócitos em relação aos diâmetros destes oócitos em 15 fêmeas de *A. riograndensis* aptas a desovar, coletadas no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2012.

## Discussão

O período reprodutivo longo descrito para *A. riograndensis* neste estudo, é bastante conhecido entre os indivíduos da família Rivulidae (Arezo *et al.*, 2007; Arenzon *et al.*, 1999; Gonçalves *et al.*, 2011; Cassel *et al.*, 2013). Dentre os rivulídeos anuais, *Austrolebias charrua* apresentou todos os estágios de maturação sexual de maio para dezembro, este último, caracterizado como o mês da senescência já que os indivíduos adultos desta espécie morrem na estação seca (Arezo *et al.*, 2007). *Cynopoecilus multipapillatus*, por sua vez, não possui período reprodutivo definido, desovando continuamente e com maturação gonadal interrompida somente pela morte dos peixes adultos durante a seca (dezembro a janeiro) (Arenzon *et al.*, 1999). Esta população foi primeiramente identificada como *Cynopoecilus melanoaenia* (Arenzon *et al.*, 1999), porém trata-se de *Cynopoecilus multipapillatus*, descrita posteriormente com este nome por Costa (2002) e assim reportada neste artigo.

*Melanorivulus punctatus*, como representante dos rivulídeos não anuais, apresentou fêmeas em estágio de desenvolvimento de maio a setembro e a estação reprodutiva correspondente aos meses de outubro a março (Cassel *et al.*, 2013), nas estações de primavera e verão, como em *A. riograndensis*. Além disso, o padrão dos machos de apresentarem-se

aptos à reprodução ao longo de todo o ano, característico de *A. riograndensis*, é também reportado para *M. punctatus* em que o ciclo reprodutivo foi caracterizado como contínuo para os machos, com pouca influência de fatores ambientais e cujas fases de maturação gonadal regredindo e regenerando não foram observadas (Cassel *et al.*, 2013). A fase regenerando parece ocorrer muito rapidamente também para as fêmeas de rivulídeos, uma vez que em *A. riograndensis* somente uma fêmea foi capturada nesta fase de maturação das gônadas e em *M. punctatus* esta fase não pode ser observada entre as fêmeas da espécie (Cassel *et al.*, 2013). Os fatores ambientais, assim como para os machos de *M. punctatus*, não influenciaram a reprodução de *A. riograndensis* durante o período deste estudo no Banhado dos Pachecos.

A maturação sexual precoce caracteriza rivulídeos anuais e não anuais. *Atlantirivulus riograndensis* apresentou fêmeas com gônadas em desenvolvimento inicial a partir de 13.59 milímetros de comprimento padrão e *C. multipapillatus* apresentou esta fase de desenvolvimento entre os comprimentos totais de 8.20 e 14.20 milímetros (Arenzon *et al.*, 1999). Nos ovários de *A. charrua*, cerca de 45 dias após a eclosão das larvas, estavam presentes em alguns indivíduos oócitos vitelogênicos e em outros oócitos com vesículas alveolares corticais (Arezo *et al.*, 2007) que correspondem ao estágio final do oócito em crescimento primário e início do processo de vitelogênese, caracterizando fêmeas em desenvolvimento inicial das gônadas (Quagio-Grassiotto *et al.*, 2013).

A diferenciação sexual macroscópica em machos e fêmeas para *C. multipapillatus*, pode ser realizada a partir de 10.5 e 8.2 milímetros de comprimento total, respectivamente (Arenzon *et al.*, 1999). Na espécie *A. riograndensis* a classificação entre machos e fêmeas pode ser confusa quando não são realizadas análises histológicas e somente o dimorfismo sexual de coloração ou a análise macroscópica das gônadas são considerados, em comprimentos padrões inferiores a 20 milímetros. Isso porque as fêmeas inferiores a 20 milímetros de comprimento padrão podem apresentar gônadas muito semelhantes à dos machos em função da ausência de oócitos visíveis macroscopicamente. Além disso, o dimorfismo sexual de coloração nesta faixa de comprimento pode não ter se desenvolvido ainda em todos os indivíduos da população, com alguns machos apresentando uma mancha ocoolada no pedúnculo caudal igual a das fêmeas e ausência da tonalidade esverdeada ao longo do corpo que, conforme o artigo de descrição da espécie (Costa & Lanés, 2009) os caracteriza.

As análises histológicas realizadas por Arezo *et al.* (2007) em machos e fêmeas de *A. charrua* possibilitaram, em relação à diferenciação sexual, encontrar ovários com oogônias e oócitos primários em embriões pré-eclosão (em torno de 38 dias após a fertilização dos ovos)

e testículos contendo cistos de espermátocitos 30 dias após a eclosão das larvas (Arezo *et al.*, 2007).

Os Rivulídeos, quanto à composição da população, já foram encontrados com proporções sexuais distintas de fêmeas em maior número nas espécies *Austrolebias arachan*, *Austrolebias viarius*, *A. riograndensis* e *Simpsonichthys boitonei* (Shibatta, 2005; Laufer *et al.*, 2009; Lanés *et al.*, 2012; Lanés *et al.*, 2013) e machos em maior número em *Austrolebias luteoflammulatus* e *C. melanotaenia* (Laufer *et al.*, 2009; Gonçalves *et al.*, 2011), ou sem distinções quanto à proporção sexual, como em *Austrolebias cheradophilus*, *C. melanotaenia* (Laufer *et al.*, 2009) e *A. riograndensis*, considerando a população ao longo de todo o período amostrado neste presente estudo. Segundo Gonçalves *et al.* (2011) diferenças na proporção sexual podem aumentar a competição e comportamentos agonísticos, desequilibrando a população, principalmente em espécies com machos territorialistas ou que apresentam comportamento de corte. Entretanto, em *A. riograndensis*, evidências de lepidofagia que poderiam indicar competição intra ou interespecífica no mês em que a proporção de machos foi mais elevada, não foram encontradas quando se investigou a dieta desta população (Cavalheiro, 2014).

O número elevado de fêmeas em relação ao de machos, por sua vez, nos meses de agosto e setembro, durante o período reprodutivo de *A. riograndensis*, pode estar relacionado a uma gama de fatores, não identificados neste estudo. Dala-Corte & Fialho (2013) relacionam diferenças na proporção sexual de *Deuterodon stigmaturus* às técnicas de amostragem, enquanto Vazzoler (1996) afirma que proporções sexuais distintas entre machos e fêmeas estão relacionadas a eventos que atuam de diferentes formas sobre os indivíduos de cada sexo, podendo estar associadas à mortalidade, ao crescimento diferenciado e ao comportamento reprodutivo dos indivíduos, entre outros. Os autores Lanés *et al.* (2012) também desconhecem os motivos para a diferença na proporção sexual encontrada em *A. riograndensis* no Parque Nacional da Lagoa do Peixe, Rio Grande do Sul, Brasil.

A maturação sincrônica de lotes de oócitos, liberados em intervalos de tempo, ao longo da estação reprodutiva caracteriza uma desova parcelada (Nakatani *et al.*, 2001), identificada em *A. riograndensis* e registrada para os anuais *Austrolebias toba*, *Austrolebias nigrofasciatus*, *C. melanotaenia*, *C. multipapillatus* e *S. boitonei* (Calviño, 2005; Shibatta, 2005; Arenzon *et al.*, 1999; Gonçalves *et al.*, 2011; Volcan *et al.*, 2011; Volcan *et al.*, 2013) e para o não anual *M. punctatus* (Cassel *et al.*, 2013).

As múltiplas desovas durante o período reprodutivo, para peixes de habitats lênticos, podem reduzir a competição entre as larvas quando estas apresentam uma taxa de dispersão

mais baixa (Godinho *et al.*, 2010) e representam uma vantagem em ambientes instáveis quanto aos fatores abióticos, por permitir que alguns lotes de oócitos sejam liberados em condições ambientais relativamente melhores, aumentando as chances de sobrevivência da nova prole. Esta tática reprodutiva parece essencial principalmente nos rivulídeos anuais que podem encontrar habitats em condições extremamente desfavoráveis. Uma vantagem adaptativa é associada, por Lowe-McConnell (1999), às desovas parceladas, quando alguns lotes de oócitos podem correr riscos em função de flutuações no nível da água e Gonçalves *et al.* (2011) descrevem esta tática reprodutiva para *C. melanotaenia* como uma forma de aumentar a sobrevivência em depleções prolongadas. Segundo Nakatani *et al.* (2001) o potencial reprodutivo de uma população depende do sucesso da desova, do equilíbrio estrutural do estoque reprodutor e da taxa de fertilização dos óvulos.

A desova parcelada, em longos períodos reprodutivos, relaciona-se a taxas de fecundidade indeterminadas (Ganias, 2013). Nestas situações, os estoques de oócitos em maturação avançada não conseguem indicar a fecundidade anual da espécie, porque novos lotes de oócitos em crescimento primário são recrutados durante a estação reprodutiva, enquanto oócitos maduros são eliminados, em um padrão de recrutamento de oócitos que se sobrepõe completamente a desova (Ganias, 2013). Com várias desovas ocorrendo ao longo da época reprodutiva, a contagem dos oócitos vitelogênicos presentes nos ovários pode então, ser subestimada, podendo explicar, assim, a baixa fecundidade encontrada para *A. riograndensis* (média de 19.33 oócitos) e o baixo número de oócitos presentes entre os diâmetros de 1.43 a 1.71 e 1.86 a 2.14 milímetros, que evidenciam duas modas distintas de desenvolvimento oocitário (Fig. 9).

Os valores de fecundidade estimados para *A. riograndensis*, embora o padrão de fecundidade indeterminada caracterize a espécie, podem ser úteis na comparação com rivulídeos anuais e na caracterização de sua estratégia reprodutiva. *Austrolebias toba* apresentou fecundidade aproximada de 57 ovos por fêmea por semana com diâmetros variando entre 1.4 e 1.6 mm; *A. nigrofasciatus* apresentou fecundidade média de 21.5 ovos por fêmea por semana e diâmetro médio de 1.5 mm; *C. melanotaenia* registrou fecundidade média de 19 oócitos no período reprodutivo; *C. multipapillatus* apresentou fecundidade variando entre 49 a 219 oócitos com diâmetros médios de 1.15 mm; *S. boitonei* teve a fecundidade estimada em três ovos por fêmea a cada dia de desova com diâmetro médio de 1.6 mm (Calviño, 2005; Shibatta, 2005; Arenzon *et al.*, 1999; Gonçalves *et al.*, 2011; Volcan *et al.*, 2011).

Os rivulídeos, com base nestes dados, apresentam claramente maior investimento energético na produção de oócitos de melhor qualidade, com maiores quantidades de vitelo do que em número elevado de oócitos. A fecundidade, segundo Ganiás (2013), parece ser principalmente regulada pelo habitat, com base em evidências de unidades populacionais de peixes com ampla distribuição geográfica e gêneros com populações que habitam ambientes distintos e apresentam diferenças nas estimativas do número de oócitos produzidos em cada estação reprodutiva.

A produção de oócitos com mais vitelo visa à competitividade das larvas e sua capacidade de sobreviver em condições adversas nos primeiros estágios de desenvolvimento pós-eclosão. Nos peixes oportunistas, associados à baixa sobrevivência de juvenis em virtude de habitats efêmeros e desfavoráveis, a tática de produzir ovos grandes pode ser uma tendência para aumentar a sobrevivência da prole (Winemiller & Rose, 1992), garantindo as primeiras etapas do desenvolvimento larval com o vitelo como fonte de energia. A tentativa de aumentar o número de ovos na estratégia oportunista, por sua vez, ocorre com a tática da desova parcelada durante um longo período reprodutivo, resultando em uma fecundidade que excede bastante a massa corporal da fêmea nestas espécies de pequeno tamanho (Winemiller & Rose, 1992).

Os oportunistas, além disso, para conter a mortalidade de juvenis, investem em altas taxas de crescimento inicial com uma maturação sexual precoce e maximizam, portanto, as taxas de crescimento intrínseco da população, através da redução no tempo médio de geração (Winemiller & Rose, 1992; Fonseca & Cabral, 2007). A probabilidade de sobrevivência das larvas nos estágios iniciais de vida aumenta com o crescimento inicial rápido, porque, entre outras vantagens, larvas maiores em comparação as menores têm taxas mais elevadas de alimentação e menor vulnerabilidade aos predadores (Fonseca & Cabral, 2007).

*Atlantirivulus riograndensis* apresentou fator de condição maior nas fêmeas na população do Parque Nacional da Lagoa do Peixe e os autores Lanés *et al.* (2012) associaram este resultado ao maior peso das gônadas femininas em relação às masculinas. Nesta linha, entendemos que o grande volume ocupado pelos ovários maduros na cavidade celomática, em virtude do grande tamanho dos oócitos, pode explicar a relação inverça entre o IGS e o IR para as fêmeas de *A. riograndensis*, indicando que indivíduos com ovários maiores e consequentemente valores mais altos de IGS, possuíam estômagos com um volume de alimento mais baixo. Esse padrão não se repete nos machos porque as gônadas masculinas, mesmo no período reprodutivo ocupam, proporcionalmente, um menor espaço na cavidade celomática dos machos. Entretanto, não podemos afirmar que a intensidade alimentar

diferenciada entre machos e fêmeas não se associe a diversidade de comportamento entre os sexos.

A atividade reprodutiva e a maturação de gametas envolve energia estocada em várias partes do corpo (Vazzoler, 1996). O IHS é um bom indicador de reservas energéticas em peixes, porque o fígado, nos teleósteos, desempenha um papel importante na digestão, metabolismo de nutrientes, desintoxicação e processos de armazenamento de gordura e glicogênio, que são realocados conforme as necessidades energéticas envolvidas nos diversos processos fisiológicos, incluindo aqueles associados ao ciclo reprodutivo (Tavares-Dias *et al.*, 2000; Nunes *et al.*, 2011). Nas fêmeas, durante a estação reprodutiva, o fígado é responsável pela síntese de vitelogenina, impregnada nos oócitos durante a vitelogênese que ocorre no interior dos folículos ovarianos e, portanto, variações na relação hepatossomática dos indivíduos podem, então, estar associadas à estação reprodutiva das espécies (Nunes *et al.*, 2011; Quagio-Grassiotto *et al.*, 2013), embora em *A. riograndensis* não tenham sido constatadas variações de IHS em função do IGS.

### **Considerações finais**

*Atlantirivulus riograndensis* apresenta o mesmo padrão encontrado em rivulídeos anuais, com uma estratégia reprodutiva oportunista, confirmada pela maturação sexual precoce, fecundidade baixa e período reprodutivo longo com desova parcelada. As fêmeas encontram-se aptas a desova de agosto a março e os machos encontram-se aptos à reprodução durante todo o ano. Assim, conclui-se que as características filogenéticas da família Rivulidae são determinantes na biologia reprodutiva de *A. riograndensis* e que a espécie visa maior investimento energético na produção de oócitos de melhor qualidade, com grandes quantidades de vitelo, refletindo posteriormente uma prole mais competitiva e apta a enfrentar um ambiente instável e efêmero, em detrimento da produção de um número elevado de oócitos, embora *A. riograndensis* esteja associado a locais perenes e relativamente estáveis como o Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos.

### **Literatura citada**

Accordi, I. A. 2008. Ecologia e conservação de aves em ambientes costeiros do Rio Grande do Sul. Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 76p.

- Adebisi, A. A. 1987. The relationships between fecundities, gonadosomatic indices and egg sizes of some fishes of Ogun River, Nigéria. *Archiv für Hydrobiologie*, 111: 151-156.
- Arenzon, A., A. C. Peret & M. B. C. Bohrer. 1999. Reproduction of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) in a temporary water body in Rio Grande do Sul, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Hydrobiologia*, 411: 65-70.
- Arenzon, A., A. C. Peret & M. B. C. Bohrer. 2001. Growth of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) based in a temporary water body population in Rio Grande do Sul state, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 61: 117-123.
- Arenzon, A., A. C. Peret & M. B. C. Bohrer. 2002. Culture parameters of the annual fish, *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) based on a temporary water body characteristics (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Journal of the American Killifish Association*, 35: 133-136.
- Arezo, M. J., L. Pereiro & N. Berois. 2005. Early development in the annual fish *Cynolebias varius*. *Journal of Fish Biology*, 66: 1357-1370.
- Arezo, M. J., S. D'Alessandro, N. Papa, R. de Sá & N. Berois. 2007. Sex differentiation pattern in the annual fish *Austrolebias charrua* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Tissue and Cell*, 39: 89-98.
- Brown-Peterson, N. J., D. M. Wyanski, F. Saborido-Rey, B. J. Macewicz & S. K. Lowerre-Barbieri. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, 3: 52-70.
- Calviño, P. A. 2005. *Austrolebias toba* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), una especie nueva de pez anual de la Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 7: 183-190.
- Cassel, M., M. Mehanna, L. Mateus & A. Ferreira. 2013. Gametogenesis and reproductive cycle of *Melanorivulus* aff. *punctatus* (Boulenger, 1895) (Cyprinodontiformes, Rivulidae) in Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 11: 179-192.
- Cavalheiro, L. W. 2014. Biologia alimentar e reprodutiva de *Atlantirivulus riograndensis* (Costa & Lanés, 2009) (Cyprinodontiformes: Rivulidae) no Refúgio da Vida Silvestre Banhado dos Pachecos, Rio Grande do Sul, Brasil. *Dissertação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre*, 76f.
- Costa, W. J. E. M. 2002. The annual fish genus *Cynopoecilus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae): taxonomic revision, with descriptions of four new species. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 13: 11-24.
- Costa, W. J. E. M. 2009. Aplocheiloid fishes of the brazilian atlantic forest: history, diversity and conservation. Rio de Janeiro, Museu Nacional.
- Costa, W. J. E. M. 2011. Phylogenetic position and taxonomic status of *Anablepsoides*, *Atlantirivulus*, *Cynodonichthys*, *Laimosemion* and *Melanorivulu* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22: 233-249.

- Costa, W. J. E. M. & L. E. K. Lanés. 2009. *Rivulus riograndensis*, a new aplocheiloid killifish from southern Brazil (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 20: 91-95.
- Dala-Corte, R. B. & C. B. Fialho. 2013. Reproductive tactics and development of sexually dimorphic structures in a stream-dwelling characid fish (*Deuterodon stigmaturus*) from Atlantic Forest. *Environmental Biology of Fishes*, DOI: 10.1007/s10641-013-0202-y.
- Devlin, R. H. & Y. Nagahama. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208: 191-364.
- Fonseca, V. F. & H. N. Cabral. 2007. Are fish early growth and condition patterns related to life-history strategies? *Biology and Fisheries*, 17: 545-564.
- Ganias, K. 2013. Determining the indeterminate: Evolving concepts and methods on the assessment of the fecundity pattern of fishes. *Fisheries Research*, 138: 23 – 30.
- Godinho, A. L., I. R. Lamas & H. P. Godinho. 2010. Reproductive ecology of Brazilian freshwater fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 87: 143-162.
- Gonçalves, C. S., U. P. Souza & M. V. Volcan. 2011. The opportunistic feeding and reproduction strategies of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) inhabiting ephemeral habitats on southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9: 191-200.
- Keppeler, F. W., L. E. K. Lanés, A. S. Rolon, C. Stenert, L. Maltchik. 2013. The diet of *Cynopoecilus fulgens* Costa, (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Southern Brazil wetlands. *Italian Journal of Zoology*, 1-12.
- Lanés L. E. K., F. W. Keppeler & L. Maltchik. 2012. Abundance, sex-ratio, length–weight relation, and condition factor of non-annual killifish *Atlantirivulus riograndensis* (Actinopterygii: Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Lagoa do Peixe national park, a Ramsar site of southern Brazil. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 42: 247-252.
- Lanés, L. E. K., Â. C. Gonçalves & M. V. Volcan. 2013. *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*, 29: 252–256.
- Laufer, G., M. Arim, M. Loureiro, J. M. Piñeiro-Guerra, S. Clavijo-Baquet & C. Fagúndez. 2009. Diet of four annual killifishes: an intra and interspecific comparison. *Neotropical Ichthyology*, 7: 77-86.
- Legendre, P. & L. Legendre. 1998. *Numerical ecology: developments in environmental modeling* 20. Amsterdam, Elsevier.
- Lowe-McConnell, R. H. 1999. *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. São Paulo, Edusp.

Nakatani, K., A. A. Agostinho, G. Baumgartner, A. Bialezki, P. V. Sanches, M. C. Makrakis & C. S. Pavanelli. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá, Eduem.

Nunes, C., A. Silva, E. Soares & K. Gantias. 2011. The use of Hepatic and Somatic Indices and histological information to characterize the reproductive dynamics of atlantic sardine *Sardina pilchardus* from the Portuguese Coast. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, 3: 127-144.

Parenti, L. R. & H. J. Grier. 2004. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integrative & Comparative Biology*, 44: 333-348.

Pillar, V. D., S. C. Müller, Z. Castilhos, A. V. A. Jacques (Eds.). 2009. Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.

Quagio-Grassiotto, I., D. D. Wildner & R. Ishiba. 2013. Gametogênese de peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. *Revista brasileira de reprodução animal*, 37: 181-191.

Santos, E. P. 1978. Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura. São Paulo, Hucitec/Edusp.

Shibatta, O. A. 2005. 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*, 22: 1146-1151.

Shibatta, O. A., S. T. Bennemann. 2003. Plasticidade alimentar em *Rivulus pictus* Costa (Osteichthyes, Cyprinodontiformes, Rivulidae) de uma pequena lagoa em Brasília, Distrito Federal, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20:615-618.

Tavares-Dias, M., M. L. Martins & F. R. Moraes. 2000. Relação hepatossômica e esplenossômica em peixes teleósteos de cultivo intensivo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 17: 273 – 281.

Vazzoler, A. E. M. 1996. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá, EDUEM, SBI, CNPq, NUPELIA.

Volcan, M. V., L. E. K. Lanés & M. M. Cheffe. 2010. Distribuição e conservação de peixes anuais (Cyprinodontiformes: Rivulidae) no município do Chuí, sul do Brasil. *Biotemas*, 23: 51-58.

Volcan, M. V., A. P. Fonseca & R. B. Robaldo. 2011. Reproduction of the threatened Annual Killifish *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), confined in a natural environment. *Journal of Threatened Taxa*, 3: 1864-1867

Volcan, M. V., L. A. Sampaio, D. C. Bongalhardo & R. B. Robaldo. 2013. Reproduction of the annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* (Rivulidae) maintained at different temperatures. *Journal of Applied Ichthyology*, 29: 648-652.

Winemiller, K. O. 1989. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. *Oecologia*, 81:225-241

Winemiller, K.O & K. A. Rose. 1992. Patterns of life-history diversification in North American fishes: implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49: 2196-2218.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. New Jersey, Prentice Hall.

## **CAPÍTULO IV**

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## Considerações finais

- A composição alimentar de *Atlantirivulus riograndensis* é, em sua maioria, autóctone, com preferência pelo consumo de Diptera e microcrustáceos;
- Os principais itens consumidos na dieta desta espécie sofrem influências do crescimento somático dos indivíduos e da sazonalidade;
- A espécie comporta-se como zooplactófaga quando juvenil, consumindo maior quantidade de microcrustáceos nessa fase de desenvolvimento;
- O espectro alimentar é ampliado de acordo com o crescimento somático dos indivíduos e a proporção de Diptera autóctone na dieta aumenta gradualmente, assim como a proporção de outros insetos autóctones;
- A tendência especialista para insetivoria aumenta conforme a ontogenia, embora a intensidade alimentar diminua ao longo do crescimento somático da espécie;
- A alimentação mais diversa para *A. riograndensis* ocorre na primavera e no verão, estações em que a presença dos peixes maiores, com hábitos alimentares mais abrangentes, foi mais marcante;
- O consumo elevado de microcrustáceos no outono está relacionado aos indivíduos menores, capturados em maior quantidade neste período pós-reprodução;
- A menor diversidade na dieta ocorre durante o inverno e pode ser reflexo da menor diversidade de recursos alimentares disponíveis nesta época do ano;
- O período reprodutivo da espécie ocorre de agosto a março, com picos de desova em novembro, dezembro e março;
- Os machos de *A. riograndensis* encontraram-se aptos à reprodução durante todo o ano;
- A espécie apresenta uma estratégia reprodutiva oportunista;
- A menor ingestão de alimento por fêmeas com maiores valores do índice gonadossomático pode estar relacionada ao espaço ocupado pelas gônadas na cavidade celomática em virtude do grande tamanho dos oócitos;
- O período reprodutivo não foi relacionado ao estoque de energia no fígado e não houve relação entre os valores do índice gonadossomático e dados abióticos de temperatura, pluviosidade e tempo em horas de brilho do sol.
- O padrão dos rivulídeos anuais se repete em *A. riograndensis* no que se refere à longa estação reprodutiva com desovas múltiplas, uma maturação sexual precoce e baixas taxas de fecundidade relativa.

## ANEXO I

[http://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/10641?print\\_view=true&detailsPage=pltc\\_i\\_2060407](http://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/10641?print_view=true&detailsPage=pltc_i_2060407)

Environmental Biology of Fishes  
Editor-in-Chief: David Noakes  
ISSN: 0378-1909 (print version)  
ISSN: 1573-5133 (electronic version)

Instructions for Authors

### MANUSCRIPT SUBMISSION

#### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

#### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

#### Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

### ARTICLE TYPES

Environmental Biology of Fishes welcomes a variety of article types.

Original Papers are original manuscripts that contain new findings in research consistent with the Journal’s aims and scope.

This would include, but is not limited to, new research findings in the fields of ecology, life history, epigenetics, behavior, physiology, morphology and evolution of marine and freshwater fishes. Original Papers can include the presentation of new hypotheses and experiments, concepts or theories, development of innovative experimental or numerical methods, or novel applications of existing methods and models, as well as research exploring the relationship between fishes and their external and internal environments.

The journal will not consider submissions of limited international interest or lacking a substantial impact. In addition, papers that merely comprise data collections based on the use of routine analytical methods are not acceptable. Repetition of already published knowledge, simply applied to the local level, will not be considered, nor will papers that do not highlight and explain clearly the new science versus the current knowledge.

Review Papers do not contain new information, but rather summarize emerging trends or recent developments.

In this section, contributions will be published that might not contain original new data but summarize existing information and synthesize recent findings. These manuscripts contain critical, state-of-the-art reviews with the objectives of critically evaluating existing knowledge and providing background information for future significant research.

Authors who wish to review a particular topic should consult the Editor-in-Chief prior to submission of the manuscript ([ebfi@oregonstate.edu](mailto:ebfi@oregonstate.edu)). It should be noted that Review Papers will undergo a similar peer review procedure as Original Papers.

Brief Communications contain research that does not meet all the criteria for Original Papers.

Brief Communications are restricted to reports of unusual urgency, timeliness, and significance. A brief statement explaining how the manuscript meets the criteria of urgency and significance should be included in the author’s remarks at submission.

Editorials are used as a forum for the Editor-in-Chief to convey general information to the journal’s readership.

Authors may also be invited to submit Editorials by the Editor-in-Chief, and peer-review of such articles will be at the discretion of the Editor-in-Chief.

Book Reviews are welcome but are generally solicited by the Editorial Office.

Book Reviews should be discussed with the Editorial Office prior to submission ([ebfi@oregonstate.edu](mailto:ebfi@oregonstate.edu)).

## Special Issues

We will consider the publication of a limited number of Special Issues. A Special Issue is devoted to a single, well-defined topic. The title of the topic, as well as the guest editors' names, will appear with the Special Issue.

A proposal for a special issue should be sent to the Editorial Office ([ebfi@oregonstate.edu](mailto:ebfi@oregonstate.edu)), and must include the following:

- Guest editors' names and affiliations
- Tentative title
- Outline summarizing the objectives of the special issue
- Tentative time schedule
- List of tentative contributions

A special issue proposal must be approved by both the Editor-in-Chief and the Publisher. If approved, an agreement will be drawn up between the guest editors and the Publisher, outlining the procedure and deliverables.

All papers must undergo the normal peer-review process, which includes the possibility of rejection. This process will be handled by the guest editors within the online reviewing system. The Managing Editor will provide proper training to the guest editors as requested.

## TITLE PAGE

### Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

### Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

### Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

## TEXT

### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

#### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

#### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

#### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

#### SCIENTIFIC STYLE

Authors are urged to comply with the rules of biological nomenclature, as expressed in the International Code of Zoological Nomenclature, the International Code of Botanical Nomenclature, and the International Code of Nomenclature of Bacteria. When a species name is used for the first time in an article, it should be stated in full, and the name of its describer should also be given. Descriptions of new taxa should comprise official repository of types (holotype and paratypes); author's collections as repositories of types are unacceptable.

Genus and species names should be in italics.

Authors are encouraged to place all species distribution records in a publicly accessible database such as the National Global Biodiversity Information Facility (GBIF) nodes ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)) or data centers endorsed by GBIF, including BioFresh ([www.freshwaterbiodiversity.eu](http://www.freshwaterbiodiversity.eu)).

National Global Biodiversity Information Facility (GBIF)  
BioFresh

#### REFERENCES

##### Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999).

##### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

##### Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med.* doi:10.1007/s001090000086

Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb.

<http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

[www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php](http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php)

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

## TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

## ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

### Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### Line Art

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

#### Halftone Art

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

#### Combination Art

- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

#### Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

#### Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

#### Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

#### Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

#### Figure Placement and Size

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm. For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

#### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

#### ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

#### Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

#### Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

#### Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

#### Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

#### Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

#### Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

#### Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

#### Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

#### Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

#### AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

#### Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer’s online platform SpringerLink.

#### Springer Open Choice

#### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

#### Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

#### Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

#### Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

#### Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

## ANEXO II

<http://www.scielo.br/revistas/ni/pinstruc.htm>

Neotropical Ichthyology  
ISSN: 1679-6225 (versão impressa)  
ISSN: 1982-0224 (versão online)

### INSTRUÇÕES AOS AUTORES

#### Escopo e política

A revista Neotropical Ichthyology publica artigos originais sobre peixes neotropicais de água doce e marinhos nas áreas de Biologia, Ecologia, Etologia, Fisiologia, Genética e Biologia Molecular e Sistemática.

Os manuscritos submetidos deverão ser contribuições relevantes dentro de sua área de investigação específica, devendo apresentar clara fundamentação teórica do tema, descrição dos objetivos e/ou hipóteses em análise, além de desenho amostral e analítico condizentes com a proposta. Trabalhos descritivos originais de elevada qualidade e relevância serão considerados para publicação. Observações casuais, notas científicas ou estudos meramente descritivos sem associação com questões teóricas relevantes não serão considerados para análise. O Editor e os editores de área avaliarão previamente o manuscrito submetido, a fim de determinar se seu conteúdo é adequado para publicação na revista Neotropical Ichthyology.

A revista está aberta para submissões a todos os pesquisadores da ictiofauna Neotropical. O pagamento dos custos de publicação pode ser requerido se nenhum dos autores for membro da Sociedade Brasileira de Ictiologia.

#### Submissão de manuscritos

Manuscritos devem ser submetidos como arquivos digitais no sítio <http://mc04.manuscriptcentral.com/ni-scielo>

Na submissão do manuscrito, os autores devem incluir uma carta com uma declaração de que se constitui em pesquisa original não submetida a outro periódico.

Na submissão do manuscrito, os autores devem incluir uma carta com uma declaração de que se constitui em pesquisa original não submetida a outro periódico.

Todos os co-autores e respectivos e-mails devem ser registrados nos formulários indicados durante a submissão do manuscrito.

Durante a submissão, indicar a área da revista (Bioquímica e Fisiologia, Biologia, Ecologia, Etologia, Genética e Biologia Molecular, Sistemática) a que o manuscrito se refere.

Durante a submissão, indique três possíveis referees (nome, instituição, país e email) para a análise do manuscrito.

Manuscritos submetidos fora do formato requerido nas instruções aos autores serão devolvidos.

Manuscritos submetidos com uso inapropriado da língua inglesa serão devolvidos sem revisão. O uso adequado da língua inglesa é um requisito para a revisão e publicação.

#### Forma e preparação de manuscritos

Texto deve ser em Word for Windows ou arquivos rtf.

Figuras e tabelas devem ser carregadas separadamente como arquivos individuais.

Não duplique informações no texto, nas figuras e nas tabelas. Apresente apenas figuras e tabelas que são estritamente necessárias.

#### Formato

Texto deve ser apresentado em inglês.

O manuscrito deve conter os seguintes itens, nesta ordem:

#### Título

- Título em minúsculas da seguinte forma: “*Isbrueckerichthys epakmos*, a new species of loricariid catfish from the rio Ribeira de Iguape basin, Brazil (Teleostei: Siluriformes)”.
- Táxons subordinados devem ser separados por dois-pontos, como segue: “(Siluriformes: Loricariidae)”.

### Autor (es) nome (s)

- Só as iniciais devem ser em letras maiúsculas. Nunca abrevie o primeiro nome.

### Endereços

- Não apresente os endereços em nota de rodapé.
- Use números arábicos sobrescritos<sup>1</sup> para identificação no caso de múltiplos autores e endereços.
- Listar endereços completos e email de todos os autores.

### Abstract

- Em inglês.

### Resumo

- Em Português ou espanhol. Deve ter o mesmo conteúdo do *Abstract* em inglês.

### Palavras-chave

- Cinco palavras-chave em inglês, não repetir palavras ou expressões do título.

### Introdução

### Material e Métodos

### Resultados

### Discussão

### Agradecimentos

### Literatura citada

### Tabela (s)

### Legenda(s) da(s) Figura(s)

Em trabalhos taxonômicos Verifique também: [Neotropical Ichthyology taxonomic contribution style sheet.](#)

### Texto

- Páginas de texto não podem incluir cabeçalhos, rodapés, ou notas de rodapé (exceto o número de página) ou qualquer formato de parágrafo. Texto deve ser alinhado à esquerda.
- Usar Times New Roman, fonte tamanho 12.
- Não hifenizar o texto.
- Usar a fonte “symbol” para representar os caracteres a seguir:  
**χ μ θ ω ε ρ τ ψ υ ι ο π α σ δ φ γ η φ κ λ ε ω β ν ≡ Θ Ω Σ Δ Φ**
- Espécies, gêneros e termos em Latim (*et al.*, *in vitro*, *in vivo*, *vs.*) devem ser em itálico.
- Termos em Latim apresentados entre os nomes genéricos e específicos - *cf.*, *aff.* (por exemplo, *Hoplias cf. malabaricus*) não devem ser em itálico.
- Não abreviar o nome do gênero no início de uma frase ou parágrafo.
- Não sublinhar palavras.
- Os títulos a seguir devem ser apresentados em negrito: **Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, Literature Cited.**
- Listar abreviaturas utilizadas no texto em Material e Métodos, exceto para aqueles de uso comum (por exemplo, min, km, mm, kg, m, s, h, ml, L, g).
- As medidas devem usar o sistema métrico
- Manuscritos devem conter as siglas institucionais e os números de catálogo de espécimes-testemunho.
- Descritores geográficos (rio, igarapé, arroio, córrego) devem ser em letras minúsculas, exceto quando se refere a um nome de localidade (*e.g.*, municipality of Arroio dos Ratos, State of Rio Grande do Sul).
- Agradecimento(s) deve(m) ser conciso(s).

### Nomenclatura

- Nomes científicos devem ser citados de acordo com o ICZN (1999).

- A autoria de nomes científicos é necessária apenas em trabalhos taxonômicos e na primeira referência de uma espécie ou gênero. Não inclua autoria no resumo e abstract.
- Verifique a ortografia, nomes válidos e autoria de espécies no *Catalog of Fishes* em <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

## Tabelas

- Tabelas devem ser numeradas sequencialmente de acordo com a sua ordem de citação no texto, usando os seguintes formatos: Table 1, Tables 1-2, Tables 1, 4.
- A palavra **Table** e o respectivo número devem ser grifados em negrito nas legendas das Tabelas.
- Tabelas devem ser construídas usando linhas e colunas; não use tabulações e espaços.
- Tabelas não podem conter linhas verticais ou notas de rodapé. Arquivos digitais de tabelas devem ser formatados em células. Arquivos digitais de tabelas com colunas separadas por tabulação ou espaço não serão aceitas.
- Legendas devem ser incluídas no final do manuscrito, no seguinte formato:  
Table 1. Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma speculiferum*...
- Os locais aproximados onde as tabelas devem ser inseridas devem ser indicados ao longo da margem do texto.

## Figuras

- Figuras devem ser numeradas sequencialmente de acordo com a sua ordem de citação no texto, usando os seguintes formatos: Fig. 1, Figs. 1-2, Fig. 1a, Figs. 1a-b, Figs. 1a, c.
- A palavra **Fig.** e respectivo número devem ser apresentado em negrito nas legendas.
- Figuras devem ser de alta qualidade e definição.
- Texto incluído em gráficos e imagens deve ter tamanho de fonte compatível com reduções à largura da página (175 mm) ou largura da coluna (85 mm). Gráficos serão impressos preferencialmente com a largura de uma coluna (85 mm).
- Fotos coloridas serão aceitas somente se necessário e o custo da impressão poderá ser cobrado dos autores.
- Figuras compostas devem ser preparadas a fim de ajustar-se à largura da página (175 mm) ou largura da coluna (85 mm).
- Ilustrações devem incluir uma escala ou uma referência para o tamanho do item ilustrado na legenda da figura.
- Nunca inclua objetos ou ilustrações na legenda da figura. Substituir por texto (*e.g.*, “triângulo preto”) ou representar seu significado na própria figura.
- Uma lista de legendas das figuras deve ser apresentada no final do arquivo do manuscrito.

## Literatura Citada

- Use os seguintes formatos de citação no texto: Eigenmann (1915, 1921) ou (Eigenmann, 1915, 1921; Fowler, 1945, 1948) ou Eigenmann & Norris (1918) ou Eigenmann *et al.* (1910a, 1910b).
- Não inclua resumos e relatórios técnicos na literatura citada.
- Evite referências desnecessárias a teses ou dissertações.
- Nunca use tabulação ou espaço para formatar referências.
- A literatura citada deve ser ordenada em ordem alfabética. Referências com dois ou mais autores devem ser listadas na ordem alfabética do sobrenome do primeiro autor e, em seguida, do sobrenome do segundo autor e assim sucessivamente.
- Não abreviar nomes dos periódicos.
- Não use itálico ou negrito para títulos de livros e revistas.
- As citações no texto devem corresponder às referências em Literatura Cited.
- Use os seguintes formatos:

### Livros:

Campos-da-Paz, R. & J. S. Albert. 1998. The gymnotiform “eels” of Tropical America: a history of classification and phylogeny of the South American electric knifefishes (Teleostei: Ostariophysi: Siluriphysi). Pp. 419-446. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Porto Alegre, Edipucrs.

### Teses/Dissertações:

Langeani, F. 1996. Estudo filogenético e revisão taxonômica da família Hemiodontidae Boulenger, 1904 (*sensu* Roberts, 1974) (Ostariophysi, Characiformes). Unpublished Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, 171p.

*Artigos:*

Lundberg, J. G., F. Mago-Leccia & P. Nass. 1991. *Exallodontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) from deep river channels of South America and delimitation of the subfamily Pimelodinae. Proceedings of the Biological Society of Washington, 104: 840-869.

*Artigos no prelo:*

Burns, J. R., A. D. Meisner, S. H. Weitzman & L. R. Malabarba. (in press). Sperm and spermatocyte ultrastructure in the inseminating catfish, *Trachelyopterus lucenai* (Ostariophysi: Siluriformes: Auchenipteridae). Copeia, 2002: 173-179.

*Recursos da Internet:*

Author. 2002. Title of website, database or other resources, Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access).

**Informações adicionais**

Contate o editor em [neoichth@ufrgs.br](mailto:neoichth@ufrgs.br)