

**MISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE**  
**INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE**  
**CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE**  
**AQUÁTICA CONTINENTAL**  
**PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-PIBIC/ICMBio**

**Relatório Final**

**2016-2017**

**Reprodução, Larvicultura e Criação de Juvenis de Rivulídeos Ameaçados de  
Extinção.**

**Bolsista: Guilherme Rodrigues**

**Orientador: Dr. José Augusto Senhorini**

**Co orientadora: Dra. Maria Rita de Cassia Barretto Neto.**

**PIRASSUNUNGA-SP**

**Setembro/2017**

## RESUMO

Os Rivulídeos compreendem uma família de peixes anuais amplamente distribuída pelo Brasil que inclui 201 espécies das quais 125 encontram-se em risco de extinção, o que enfatiza a implantação de estratégias de conservação. Neste trabalho foi avaliado o desempenho reprodutivo de exemplares dos rivulídeos *Hypsolebias fulminantes* e *Nematolebias whitei*, espécies criticamente ameaçadas de extinção, e do *Hypsolebias sertanejo* espécie sofrendo grande pressão antrópica. Dessa forma, peixes coletados em 2016 (1 macho e 1 fêmea de cada espécie) foram distribuídos em três aquários de 40 L, na densidade de um macho para cada fêmea, e a temperatura da água mantida a 27°C, com fotoperíodo de 12 horas de luz. Em cada aquário foi inserido um recipiente com areia de granulometria menor de 0,42 mm e utilizada como substrato para a deposição de ovos. Os ovos coletados nos ninhos, com o uso de uma pipeta foram colocados em placas de petri com as informações da origem do peixe, a espécie, o nº de ovos coletados e a data da coleta. Os ovos coletados entre os meses de fevereiro a abril de 2017 (08 coletas), onde foram mensurados o número de ovos colocados por cada fêmea, ovos viáveis e % de eclosão. Durante o período experimental foram coletados 18 ovos, sendo 4 viáveis, 0 % de eclosão, para H fulminantes, 111, 7 e 1,1 % de N whitei e 150, 57, 0 %, H sertanejo. A temperatura média da água tanto dos aquários, como do local de eclosão foi de 27, 7 °C. Para o estudo reprodutivo de rivulídeo ainda é necessário o estabelecimento das condições específicas para a estocagem dos ovos, garantindo assim maior sucesso nos índices de eclosão e sobrevivência, bem como um aprofundado estudo da ecologia da espécie no ambiente natural.

**Palavras-chave:** Rivulidae; Peixes Anuais, reprodução, Desenvolvimento.

## ABSTRACT

The Rivulids comprise a family of annual fishes widely distributed in Brazil, which includes 201 species of which 125 are in danger of extinction, which emphasizes the implementation of conservation strategies. In this work the reproductive performance of the specimens of the rivulids fulminant *Hypsolebias* and *Nematolebias whitei*, critically endangered species, and of the *Hypsolebias sertanejo* species suffering great anthropic pressure were evaluated. Thus, fish collected in 2016 (1 male and 1 female of each species) were distributed in three aquaria of 40 L, in the density of one male for each female, and the water temperature maintained at 27 ° C, with photoperiod of 12 Hours of light. In each aquarium was inserted a container with sand of granulometry less than 0.42 mm and used as substrate for egg deposition. The eggs collected in the nests with the use of a pipette were placed in petri plates with the information of the origin of the fish, the species, the number of eggs collected and the date of collection. The eggs collected between February and April 2017 (08 collections), where the number of eggs placed by each female, viable eggs and % of hatching were measured. During the experimental period 18 eggs were collected, 4 of which were viable, 0% hatching, for *H. fulminans*, 111, 7 and 1.1% *N. whitei* and 150, 57.0%, *H. sertanejo*. The mean water temperature of both the aquarium and the hatching site was 27.7 ° C. For the reproductive study of rivulid it is still necessary to establish the specific conditions for the storage of the eggs, thus guaranteeing greater success in the hatching and survival rates, As well as an aggressive study of the species ecology in the natural environment.

**Keywords:** Rivulidae; Annual Fish; Reproduction; Development .

## **SIGLAS**

CEPTA Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática

Continental

ICMBIO Instituto Chico Mendes de Conservação Da Biodiversidade

CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

PIBIC Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

## LISTA DE FIGURAS

- FIG. 1**– Exemplo de Figura 1 - *H. fulminantes* (a) macho, (b) fêmea. Pág.0 9
- FIG. 2** - *Nematolebias whitei* (a) macho, (b) fêmea Pág. 10
- FIG. 3** – *Hypsolebias sertanejo* (a) macho Pág. 10
- FIG. 4** – Distribuição das espécies de *Hypsolebias fulminantes*, *Nematolebias whitei*, e do *Hypsolebias sertanejo* Pág. 11
- FIG. 5** - Corte para reprodução de *Hypsolebias fulminantes* Pág. 12

## LISTA DE TABELAS

- Tabela. 1** – Quantidade de ovos desovados, viáveis, não viáveis por coleta de *Hypsolebias fulminantes*, *Nematolebias whitei*, e do *Hypsolebias sertanejo*. Pág. 13

## LISTA DE GRAFICOS

- Grafico. 1** - Total de ovos desovados, viáveis, não viáveis e temperatura <sup>0</sup>C da água dos aquários de manutenção dos peixes. Pág.14

## LISTA DE QUADROS

- Quadro. 1** – Coordenadas da distribuição das espécies de *Hypsolebias fulminantes*, *Nematolebias whitei*, e do *Hypsolebias sertanejo*. Pág. 11

## 1. INTRODUÇÃO

Em 2009, o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, tendo como suporte a Portaria nº 316/2009, em conjunto com o Ministério do Meio Ambiente, e a portaria nº 78/2009 do ICMBio, estabeleceu uma estratégia para elaboração e implementação dos Planos de Ação, envolvendo instituições parceiras coordenadas pelos centros de pesquisa e conservação do Instituto. O centro Nacional de pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental – CEPTA é responsável pela coordenação do PAN Rivulídeos. Neste plano foram selecionadas 64 espécies, das quais 30 estão listadas na Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção (IN nº 05/2004), 19 não estão listadas, mas foi cientificamente avaliada, de acordo com os critérios da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) em 2011, que resultaram em quatro objetivos específicos objetivando a conservação destas espécies, e dentre estes um que visa a realizar estudos técnicos e científicos, *in situ* e *ex situ*, aplicados à conservação das espécies focais de rivulídeos e seus habitats. Desta forma, o CEPTA está desenvolvendo estudos buscando o conhecimento da biologia reprodutiva *ex situ* de rivulídeos ameaçados de extinção a partir da Ação 2.2 - Realizar pesquisas para manutenção de populações viáveis de rivulídeos *ex situ*.

Os PANs (Planos de Ação Nacionais) são um importante instrumento de gestão conservacionista, já que reúnem um conjunto de táticas articuladas e programadas a serem cumpridas por vários setores da sociedade em prazos pré-estabelecidos, com o objetivo de proteger determinada espécie da fauna ou flora ou um ambiente de relevante interesse ecológico. O PAN Rivulídeos tem como recorte os peixes da família Rivulidae

(ordem Cyprinodontiformes), uma das quatro mais diversificadas entre as 39 famílias de peixes de água doce do Brasil. Esses peixes ocorrem nas Américas, entre o México e a Argentina.

Rivulidae é uma família de peixes de pequeno porte e são conhecidos como peixes anuais e não anuais e habitam rios, lagos e pequenas poças formadas por água de chuva. As espécies de rivulídeos atualmente descritas, em sua maioria, vivem em poças temporárias e possuem um ciclo de vida muito diferenciado do restante da ictiofauna. Esse ciclo de vida envolve a deposição dos ovos no substrato, a morte dos pais quando a poça seca e eclosão no período de chuvas seguinte. Tal modo de vida permitiu aos rivulídeos explorarem ambientes indisponíveis a outros grupos de peixes. Essas espécies quase sempre possuem distribuição restrita a pequenos trechos das drenagens, condição delicada sob o ponto de vista da conservação, visto que impactos nessas áreas podem significar a extinção da espécie. Isso é particularmente verdadeiro para os rivulídeos, cuja área de uso, que deixa de ser um ambiente aquático durante os períodos de seca e quase nunca está conectada diretamente ao rio. Esse panorama sugere a adoção de estratégias de conservação imediatas, como a constituição de bancos genéticos *ex situ* e propagação artificial.

A maioria das espécies de peixes anuais sofre ameaça de extinção, por seu habitat ser constantemente descaracterizado pelo uso em atividades humanas (VOLCAN *et al.*, 2009; 2011). Entre estas atividades estão principalmente a agropecuária e a expansão urbana, formal ou informal, além da falta de fiscalização e cumprimento de leis que protegem estes ambientes, já que os mesmos são áreas de preservação permanente (APP) (Lei Federal nº 4.771 de 1965), portanto, legalmente

não é permitida a sua utilização para qualquer fim que não assegure sua estabilidade (FONSECA, 2011).

### **Aspectos Reprodutivos *in situ* e *ex situ***

Todo o processo reprodutivo é extremamente delicado e está intimamente relacionado com as condições externas do ambiente, como índices de chuva, temperatura, incidência de luz e características físico-químicas da água. Não são totalmente conhecidos todos os mecanismos que interferem induzindo e cessando o processo de diapausa nessas espécies de peixes, o que evidencia um processo evolutivo muito complexo e individual. Os Rivulídeos são classificados como uma guilda reprodutiva única entre os peixes e são definidos largamente por suas características de desenvolvimento e embriológicas. Essas características representam dois principais pontos de partida no desenvolvimento dos rivulídeos quando comparados com outros teleósteos: o comportamento celular durante seu desenvolvimento precoce e a interrupção do desenvolvimento pela diapausa (PODRABSKY, 1999).

Além da necessária abordagem conservacionista, estas espécies representam importantes modelos laboratoriais para pesquisa científica, devido a características de sua biologia básica, a destacar: os aspectos relacionados à diapausa nos embriões, a facilidade de locação e manejo, além da fácil adaptação aos variados sistemas de tratamento, e o tempo de vida curto, possibilitando um estudo detalhado sobre taxas de mortalidade, sobrevivência, reprodução e, mais recentemente sobre o envelhecimento com resultados claros em um breve período (PODRABSKY, 1999; GENADE, *et al.*, 2005; KIRSCHNER, 2012).

O estudo da biologia e de técnicas de cultivo de espécies ameaçadas de extinção é muito importante para subsidiar trabalhos de conservação, manejo populacional e repovoamento (FONSECA, 2011). Dentre os estudos sobre *H. fulminatis*, a maior parte envolve a sua conservação, distribuição e taxonomia (PONZETTO, 2014), enquanto poucos abrangem a biologia e cultivo da espécie (COSTA, 2009), além disto, grande parte das publicações sobre reprodução e cultivo de peixes anuais possui pouco embasamento científico, sendo destinadas principalmente à aquarofilia e criadores (FONSECA, 2011).

Desta forma, este trabalho foi conduzido com o objetivo de descrever a biologia reprodutiva e o desenvolvimento embrionário de *Hypsolebias fulminantis* (Rivulidae, Cyprinodontiformes) sob condições controladas em laboratório, a fim de reunir informações detalhadas sobre peixes anuais ameaçados de extinção que possam servir como base em estudos de biotecnologia aplicada à conservação. Conhecer e descrever todos estes mecanismos entre as espécies anuais é necessário como ferramenta de conservação e de propagação deste grupo, que já possuem muitas espécies em risco real de extinção.

## **2. OBJETIVO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho reprodutivo de exemplares dos rivulídeos *Hypsolebias fulminantes* e *Nematolebias whitei*, espécies criticamente ameaçadas de extinção, e do *Hypsolebias sertanejo* espécie sofrendo grande pressão antrópica.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Área de Estudo e Realização do Estudo.

O trabalho foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental – CEPTA – ICMBio, localizado a 21°55'48" lat. sul, 47°22'28,1" long. oeste, no município de Pirassununga, estado de São Paulo. Para a realização do estudo foi solicitada autorização SISBio n. 47050-3, foram coletados no ambiente natural exemplares dos rivulídeos *Hypsolebias fulminantes* (Fig.1) e *Nematolebias whitei*, (Fig.2) espécies criticamente ameaçadas de extinção, estando incluída na categoria “Criticamente Ameaçada” nos livros vermelhos da fauna ameaçada de extinção do Brasil (IN 445, 2014), e do *Hypsolebias sertanejo* (Fig.3), espécie sofrendo grande pressão antrópica.

A localização das espécies esta descrita na figura 4 e quadro 1.

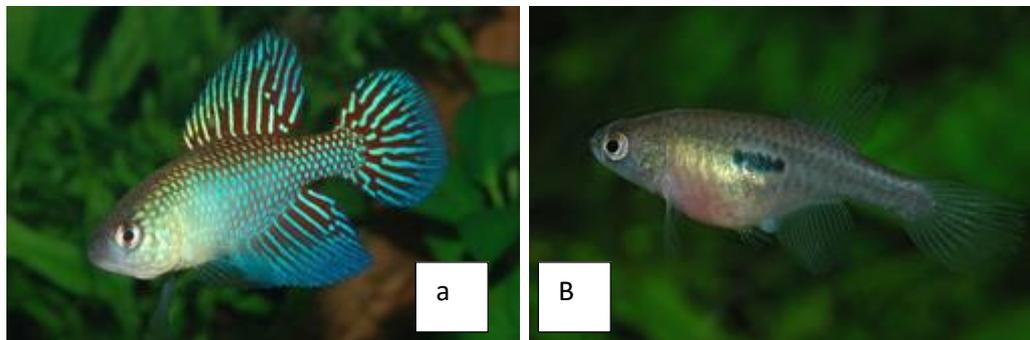


Figura 1 - *H. fulminantes* (a) macho, (b) femea.

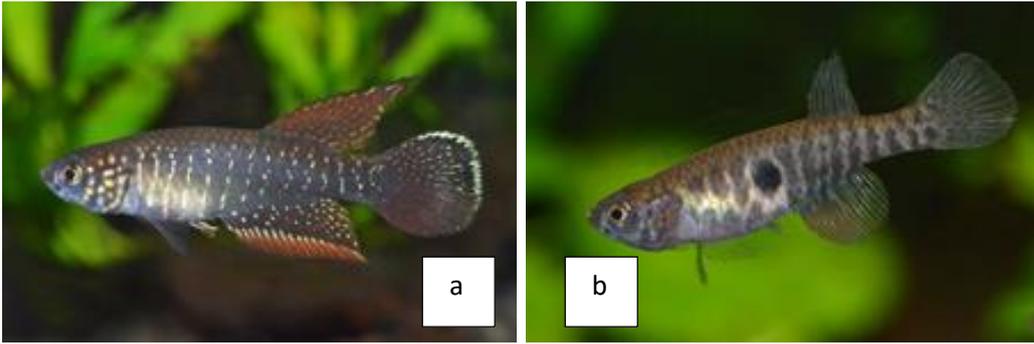
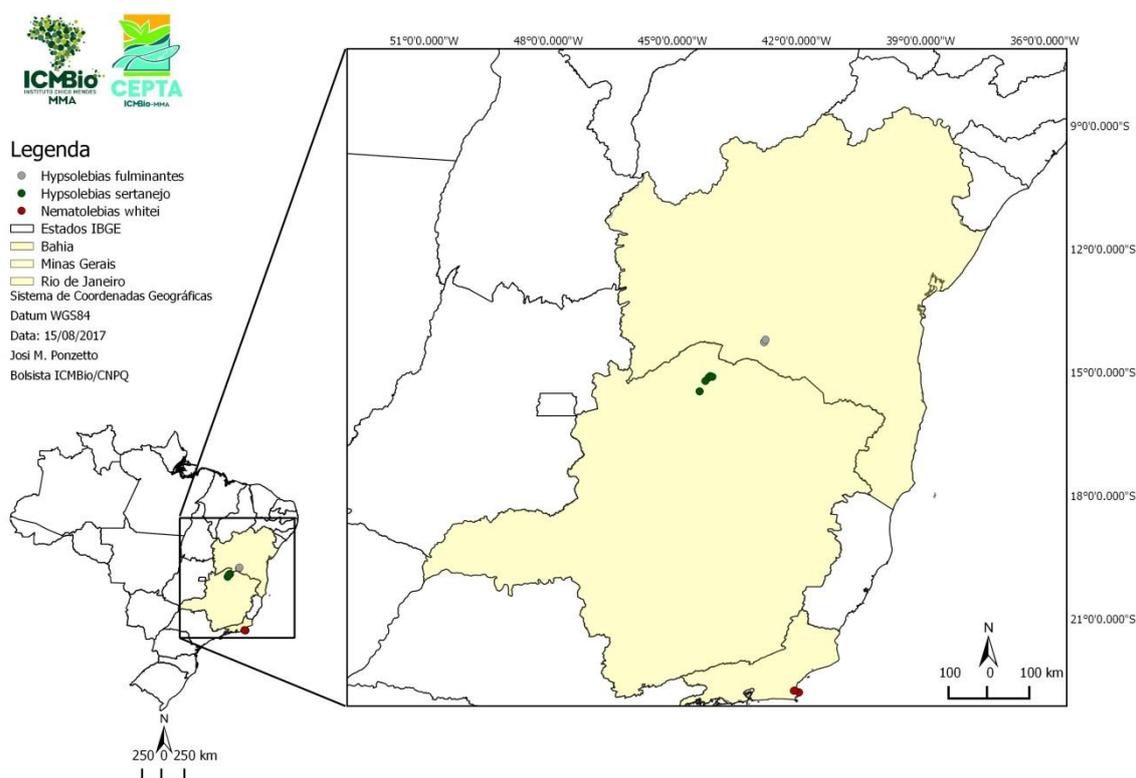


Figura 2 - *Nematolebias whitei* (a) macho, (b) femea.



Figura 3 - *Hypsolebias sertanejo* (a) macho



<i>Espécies</i>	<i>Latitude</i>	<i>Longitude</i>	<i>Localidade</i>
<i>Nematolebias whitei</i>	-41,94019	-22,77975	Armação de Búzios/RJ
<i>Nematolebias whitei</i>	-41,94003	-22,77994	Armação de Búzios/RJ
<i>N. whitei</i>	-42,04167	-22,73306	Tamoios-Cabo Frio/RJ
<i>N. whitei</i>	-42,06369	-22,74078	Tamoios-Cabo Frio/RJ
<i>Nematolebias whitei</i>	-42,05692	-22,74033	Tamoios-Cabo Frio/RJ
<i>Hypsolebias sertanejo</i>	-15,08233	-44,08831	Itacarambi/MG
<i>Hypsolebias sertanejo</i>	-15,45261	-44,34269	Januária/MG
<i>Hypsolebias sertanejo</i>	-15,11642	-44,12436	Itacarambi/MG
<i>Hypsolebias sertanejo</i>	-15,09775	-44,03556	Matias Cardoso/MG
<i>Hypsolebias sertanejo</i>	-15,20042	44,20342	Januária/Itacarambi/MG
<i>Hypsolebias fulminantes</i>	-14,25397	-42,78225	Guanambi/BA
<i>Hypsolebias fulminantes</i>	-14,25394	-42,78267	Guanambi/BA
<i>Hypsolebias fulminantes</i>	-14,19547	-42,74969	Guanambi/BA
Coletor: Analista Ambiental Dra Maria Rita Barreto Neto - CEPTA/ICMBIO			
Mapa: Dra Josi Pozetto			

Fig 4 e quadro 1 : Localização das espécies

### 3.2. Aspectos quantitativos das desovas.

Nesse estudo foram avaliados os seguintes parâmetros: quantidade de ovos coletados do substrato (areia) e porcentagem de ovos fertilizados. Foram formados 3 casais, um de cada espécie, sendo que cada casal foi colocado em 1 aquário com capacidade de 30l, porém contendo 20l de água, com aeração constante. Em cada aquário foi inserido substrato para a desova (areia), no fundo do aquário, objetivando a possibilidade de feitura de ninho pelos peixes, possibilitando a realização de corte e desovas, o que possibilitou estudar também seu comportamento reprodutivo (análise de sua etologia).



Figura 5 – Corte para reprodução de *Hypsolebias fulminantis*

#### **Alimentação**

Os peixes foram alimentados duas vezes no período da manhã, a primeira alimentação foi feita por volta das 9 horas, com minhocas. A segunda por volta das 11 horas, com artêmia e ração industrializada.

#### **Verificação dos ninhos e coleta de ovos**

Para retirar os ovos dos ninhos usa-se uma peneira plástica e coloca em cima de um balde com água de forma que a peneira fique com um pouco d'água no seu interior.

Em sequência usa uma mangueira fina para sugar a areia e filtrar os ovos. Colocar os ovos em uma placa de Petri e levar a lupa para fazer a contagem e viabilidade dos ovos coletados. Os ovos fecundados foram armazenados em um saco plástico com fibra de coco umedecida para posterior hidratação e tentativa de eclosão dos ovos.

#### 4. Resultados.

A Tabela 1 demonstra os dias de coletas, numero de ovos desovados, ovos viáveis e inviáveis, de *Hypsolebias fulminantes*, *Nematolebias whitei*, do *Hypsolebias sertanejo* no período de 02/02, a 26/03 de 2017.

Tabela: Dados de coleta de ovos das espécies *Hypsolebias fulminantes*, *Nematolebias whitei* e do *Hypsolebias sertanejo*.

Data 2017	Total de ovos	Ovos viáveis	Ovos inviáveis	Total de ovos	Ovos viáveis	Ovos inviáveis	Total de ovos	Ovos viáveis	Ovos inviáveis
	<i>Hypsolebias fulminantes</i>			<i>Nematolebias whitei</i> ,			<i>Hypsolebias sertanejo</i>		
02/02	10	4	6	2	0	2	25	16	9
09/02	8	1	7	27	0	27	37	11	26
16/02	0	0	0	19	0	19	12	6	6
21/02	0	0	0	6	0	6	28	18	10
28/02	0	0	0	0	0	0	9	4	5
05/03	0	0	0	12	0	12	23	3	20
12/03	0	0	0	20	0	20	3	0	3
19/03	0	0	0	6	2	4	13	0	13
26/03	0	0	0	19	5	14	0	0	0

O gráfico 1 demonstra o numero total de ovos coletados e % de ovos não fertilizados ou seja inviáveis.

A figura 1 relaciona ops dados da biologia da reprodução, comparada com a temperatura a agua dos aquários de manutenção dos peixes.

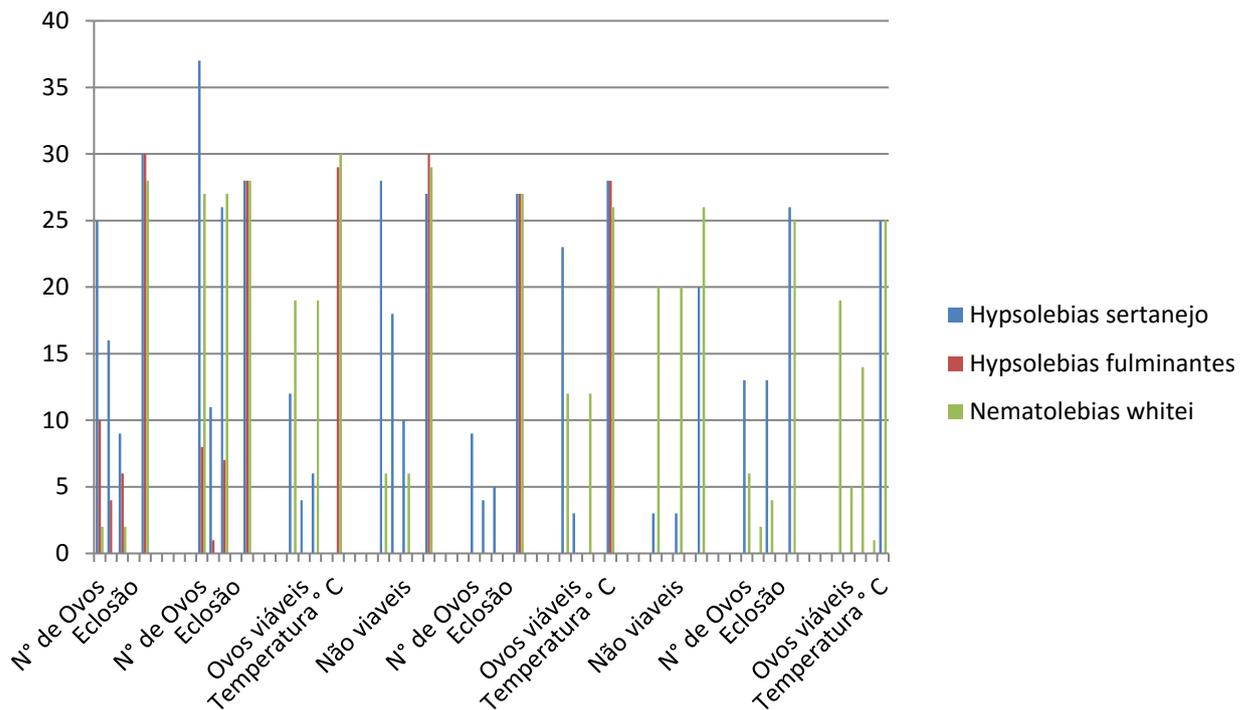


Gráfico 1. Número total de ovos, ovos não viáveis, ovos eclodidos e temperatura da água de criação o período de coletas de *H. fulminantes*, *W Whitei* e *H sertanejo*.

## 5- Discussão e Conclusões

A reprodução em cativeiro é um dos primeiros passos para a conservação de algumas espécies de peixes ameaçadas de extinção, porém existem lacunas no tocante à toda sua biologia tanto em ambiente in situ, como ex situ. O sucesso no estabelecimento do protocolo reprodutivo de rivulídeos em cativeiro permitirá realizar ações de manejo efetivas (translocações, repovoamento) em áreas em que a espécie esteja em risco eminente de perda de habitat.

Porem só um trabalho bastante sobre a ecologia destas espécies no ambiente natural é que permitira um sucesso reprodutivo destas espécies em cativeiro, cabe ressaltar que existe um numero grupo de espécies e praticamente distribuído por todos os biomas

brasileiros, o que não permite generalizar quando se pretende pesquisar e replicar determinada espécie.

No presente trabalho, foram coletados 18 ovos, sendo 4 viáveis, para *H fulminantes*, 111, 7 e de *N whitei* e 150, 57 para *H sertanejo*. A temperatura média da água tanto dos aquários, como do local de eclosão foi de 27, 7 °C, 27, 1 °C e 28, 0 °C, demonstrando pouca variação da temperatura nos aquários.

Os fatores ambientais modulando a qualidade da desova de peixes anuais é a questão da influência da temperatura sobre os ovócitos e o desenvolvimento embrionário. Arenzon, Lemos e Bohrer (2002), abordando os aspectos da influência da temperatura sobre o desenvolvimento da espécie *Cynopoechus melanotaenia*, constataram que o efeito de duas faixas distintas de temperatura, 20°C e 25°C e de uma outra variável (16-25°C), afetavam diretamente o tempo de desenvolvimento dos embriões da espécie, modulando a velocidade de ocorrência dos estágios normais da embriogênese. Os autores destacam que foi necessário menor período de incubação para completar o desenvolvimento a 25°C, temperatura mais elevada.

No presente trabalho, além da dificuldade de se trabalhar com uma espécies ameaçada de extinção, onde os indivíduos são escassos, não permitindo a aplicabilidade de replicas, ainda deve ser levanda a consideração da quase que ausência total de desconhecimento da etologia no ambiente natural, o que logicamente pode levar ao insucesso da criação “ex situ”, ficando mais na tentativa de acertos, muito embora o trabalho ainda em andamento permitira desenvolver pacotes tecnológicos para a manutenção e reprodução ex situ de algumas espécies de Rivulídeos ameaçadas de extinção.

## **5- Considerações e Recomendações Finais**

Entendemos que é de fundamental importância a implementação de pesquisa “in situ”, das várias espécies de Rivulídeos ameaçados de extinção, para que se possa iniciar ou melhor implementar criações “ex situ”, inclusive com a possibilidade de replicar fatores ambientais, ou mesmo criar ambientes favoráveis para uma possível transposição da espécie, caso seja extremamente necessário.

## **6- Agradecimentos**

Agradecemos ao CNPq, ao ICMBio-CEPTA e ao PAN Rivulídeos pelo apoio financeiro e institucional que vem proporcionando o desenvolvimento do presente projeto.

Aos Laboratórios de Biologia e Reprodução de Rivulídeos e de Citogenética de Peixes, e da orientação da Dra. Maria Rita de Cassia Barreto Neto e apoio técnico científico da Dra. Josi Pozetto, Daniela José de Oliveira e do mestrando Hatus Siqueira e Luiz Sérgio Ferreira Martins.

## **7 - Referências Bibliográficas**

ARENZON, A., C. A. LEMOS & M. B. C. BOHRER. The influence of temperature on the embryonic development of the annual fish *Cynopocilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Brazilian Journal of Biology* 62(4B): 743-747. 2002.

COSTA, W. J. E. M. **Peixes anuais brasileiros: diversidade e conservação**. Curitiba: Ed. UFPR, 2002.

COSTA, W. J. E. M. Trophic radiation in the South American annual killifish genus *Austrolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). **Ichthyol. Explor. Freshwaters.** 20(2):179-191. 2009.

FONSECA, Alinca Peres da. Crescimento e reprodução do peixe anual *Austrolebias wolterstorffi* (cyprinodontiformes:rivulidae) em diferentes temperaturas. 2011. 47f. **Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.**

GENADE, T., M. BENEDETTI, E. TERZIBASI, P. RONCAGLIA, D. R. VALENZANO, A. CATTANEO & A. CELLERINO. Annual fishes of the genus *Nothobranchius* as a model system for aging research. **Aging Cell** 4:223-233. 2005.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção.** Editores Ângelo Barbosa Monteiro Machado, Gláucia Moreira Drummond, Adriano Pereira Paglia. - 1.ed. - Brasília, DF. MMA; Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, 2v. (1420 p.) - (Biodiversidade 19). 2008.

KIRSCHNER, J., WEBER, D., NEUSCHL, C., ANDRE FRANKE, A., BOTTGER, M., ZIELKE, L., POWALSKY, E., GROTH, M., SHAGIN, D., PETZOLD, A., HARTMANN, N., ENGLERT, C., BROCKMANN, G., PLATZER, M., CELLERINO & KATHRIN REICHWALD, K. Mapping of quantitative trait loci controlling lifespan in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri* – a new vertebrate model for age research. **Aging Cell** 11:252–261. 2012.

PODRABSKY, J.E. Husbandry of the Annual Killifish *Austrofundulus limnaeus* with Special Emphasis on the Collection and Rearing of Embryos. **Environmental Biology of Fishes.** 54: 421-431. 1999.

PONZETTO, Josi Margarete. Relações filogenéticas e filogeografia molecular das espécies de peixes anuais do gênero *Simpsonichthys* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). 2012. 63 f. **Dissertação - (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro**, 2012.

GALENI, M. T. Reprodução e desenvolvimento embrionário de *Hypsolebias sertanejo* ameaçado de extinção. **Relatório final de iniciação científica, PIBIC, CEPTA, ICMBIO-CNPQ**. 21 p, 2015.

VOLCAN, M. V. Crescimento e fecundidade do peixe anual *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) sob condições de laboratório. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande – FURG. 59p. (**Dissertação – Mestrado em Aquicultura**). 2009.

VOLCAN, M. V., FONSECA, A. P. & R. B. ROBALDO. Reproduction of the threatened Annual Killifish *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), confined in a natural environment. **Journal of Threatened Taxa**. 3(6): 1864-1867. 2011.