

**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

**DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE ESPÉCIES DE RIVULIDAE
AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO**

Bolsista: Sarah Oliveira Bezerra

Orientador: Dr. José Augusto Senhorini

PIRASSUNUNGA-SP

Janeiro/2015

RESUMO

O presente estudo objetivou observar a eclosão de ovos de rivulídeos em laboratório e que já se encontravam em diapausa, armazenadas em fibras de coco no CEPTA, observando o tempo de eclosão de cada espécie utilizada. Foram utilizadas quatro espécies de Rivulídeos sendo, 34 (trinta e quatro) ovos da espécie *Nematolebias whitei*, 19 (dezenove) ovos da espécie *Ophtamolebias constanciae*, 12 (doze) ovos da espécie *Hypsolebias magnificus* e apenas um ovo da espécie *Hypsolebias fulminantes*. Foram medidas temperatura, taxa de eclosão, concentração de oxigênio, temperatura e salinidade da água. Durante os 27 dias de acompanhamento do experimento só houve eclosão de 2 larvas de *Hypsolebias magnificus*, do total de 12 ovos incubados da espécie, nas outras três espécies não ocorreram eclosão.

Palavras-chave: Rivulídeos, Peixes anuais, Diapausa, Eclosão.

ABSTRACT

This study aimed to observe the emergence of killifish eggs in the laboratory and that already were in diapause , stored in coconut fibers in CEPTA , noting the time of onset of each species used . four species of killifish were being used , 34 (thirty four) eggs of the species *Nematolebias whitei* , 19 (nineteen) eggs *Ophtamolebias kind constanciae* twelve (12) eggs *Hypsolebias magnificus* species and only one egg of the species *Hypsolebias fulminating* . They were measures temperature , hatching rate , oxygen concentration , temperature and salinity of the water. During the 27 days of trial monitoring was only hatching larvae 2 *Hypsolebias magnificus* , the total of 12 incubated ovos the species, the other three species not occurred outbreak .

Keywords : killifishes annual Fish , Diapause , hatching .

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 - *Nematolebias whitei*

FIG. 2 - *Ophtamolebias constanciae*

FIG. 3 - *Hypsolebias magnificus*

FIG. 4 - *Hypsolebias fulminantes*

FIG. 5 – AQUÁRIOS CONTENDO OS OVOS

FIG. 6 – AQUÁRIO CONTENDO OVOS DA ESPÉCIE *Nematolebias whitei*

FIG. 7 - AQUÁRIO CONTENDO OVOS DA ESPÉCIE *Ophtamolebias constanciae*

FIG. 8 - AQUÁRIO CONTENDO OVOS DA ESPÉCIE *Hypsolebias magnificus*

FIG. 9 - AQUÁRIO CONTENDO OVOS DA ESPÉCIE *Hypsolebias fulminantes*

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – CONTROLE DE TEMPERATURA DOS TANQUES 01 E 02

GRÁFICO 2 – CONTROLE DE TEMPERATURA DOS TANQUES 03 E 04

GRÁFICO 3 – TAXA DE O₂ DISSOLVIDO DOS TANQUES 01 E 02

GRÁFICO 4 – TAXA DE O₂ DISSOLVIDO DOS TANQUES 03 E 04

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- CONTROLE DIÁRIO DE CONDIÇÕES DA ÁGUA DOS TANQUES

1. INTRODUÇÃO

Entre essas espécies ameaçadas, podem-se destacar as chamadas anuais (Cyprinodontiformes, Rivulidae), assim conhecidas por habitarem unicamente áreas úmidas sazonais, que passam por seca em determinados períodos do ano (ARENZON et al., 2002). A principal fonte de ameaça a estas espécies é a destruição ou descaracterização do seu habitat pelas atividades humanas, entre elas a agropecuária e a expansão urbana (ROSA & LIMA, 2008; VOLCAN, 2011).

Os Rivulídeos em sua maioria vivem em áreas de proteção permanente (APPs) (Lei Federal nº. 4.771 de 1965). São locais protegidos por lei mas que não impedem a ação da urbanização e da ação predatória de aquaristas. Vivem em áreas alagadas que sofrem com a estiagem e secam, fazendo com que os peixes precisem colocar seus ovos antes da morte, para garantir a perpetuação de sua espécie. Os ovos entram em diapausa e quando as poças se enchem novamente com a água da chuva, eclodem e dão origem às larvas e sucessivamente a indivíduos adultos (WOURMS, 1972;VOLCAN, 2009).

São peixes com evidente dimorfismo sexual e com cores bem marcantes, o que agrava ainda mais sua situação pois, são comercializados como peixes ornamentais e sua excepcional capacidade adaptativa à situações adversas faz seu comércio ficar ainda mais fácil. Contrabandeados e reproduzidos em cativeiro, são vendidos como peixes exóticos fora do país.

Os estudos realizados com esse grupo de peixes anuais mostram a dificuldade da reprodução dos mesmos e sua especificidade com relação ao ambiente em que se reproduzem, desta forma, este trabalho tem como objetivo de verificar a taxa de eclosão e desenvolvimento larval de ovos já em diapausa por vários meses das espécies de peixes anuais Rivulidae sob condições de laboratório, a fim de levantar informações detalhadas sobre estas espécies ameaçadas que possam servir como base em estudos de biotecnologia aplicada à conservação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho está sendo conduzido no Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Aquática Continental– CEPTA – ICMBio, localizado a 21°55'48" latitude sul, 47°22'28,1" longitude oeste, no município de Pirassununga, estado de São Paulo.

Foram utilizados ovos de quatro espécies de Rivulidae, sendo, 34 (trinta e quatro) da espécie *Nematolebias whitei* (Fig1), 19 (dezenove) ovos da espécie *Ophtamolebias constanciae* (Fig 2), 12 (doze) ovos da espécie *Hypsolebias magnificus* (Fig 3) e apenas um ovo da espécie *Hypsolebias fulminantis* (Fig 4), totalizando 66 (sessenta e seis) ovos todos em diapausa por um período de 5 (cinco) meses.

Os ovos de cada espécie foram distribuídos aquários separadamente, com 25 (vinte e cinco) litros de água cada Fig. 5,6,7,8 e 9.

Os ovos em diapausa estavam armazenados dentro de sacolas plásticas com fragmentos de casca de coco seco que foram retirados das mesmas e colocados em placas de Petri e foram mergulhadas cuidadosamente cada espécie em seu respectivo aquário.

Estão sendo avaliados os aspectos quantitativos de cada espécie, a taxa de eclosão e o tempo que os embriões levam para completar o desenvolvimento.

Diariamente, no período da tarde foram verificados a temperatura, oxigênio dissolvido e a salinidade na água, utilizando se um oxímetro, peagametro e salinometro.

Como não se sabia o tempo que cada espécie levava para a eclosão de seus ovos, não foi estimado o tempo que os ovos ficariam nos aquários, mesmo assim foram acompanhados diariamente.



Fig 1 - *Nematolebias whitei*



Fig 2 - *Ophtamolebias constanciae*

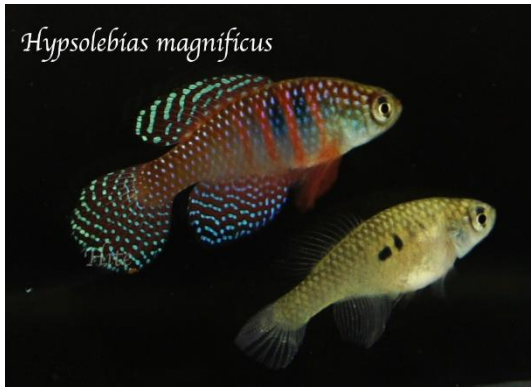


Fig 3 - *Hypsolebias magnificentus*



Fig 4 - *Hypsolebias fulminantis*



Fig 5 – Ovos em seus respectivos aquários



Fig 6 – Ovos de *Nematolebias whitei*



Fig 7 – Ovos de *Ophthalmolebias constanciae*



Fig 8 – Ovos de *Hypsolebias magnificus* Fig 9 - Ovo de *Hypsolebias fulminantis*

3. RESULTADOS PARCIAIS

3.1 Variação física e química da água de criação.

Os valores de temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade da água dos aquários estão apresentados na tabela 1 (anexo) e gráficos abaixo para melhor visualização.

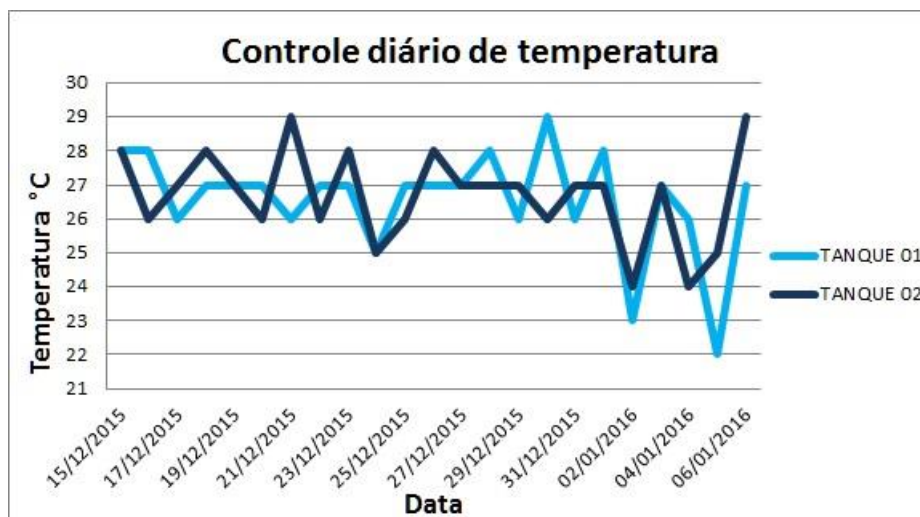


Gráfico 1 – Controle de temperatura dos tanques 01 e 02

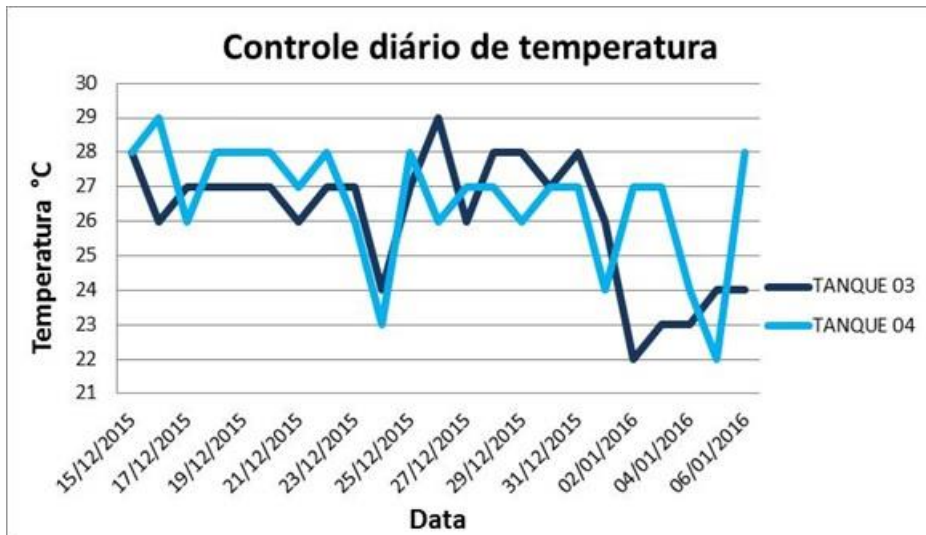


Gráfico 2 – Controle de temperatura dos tanques 03 e 04

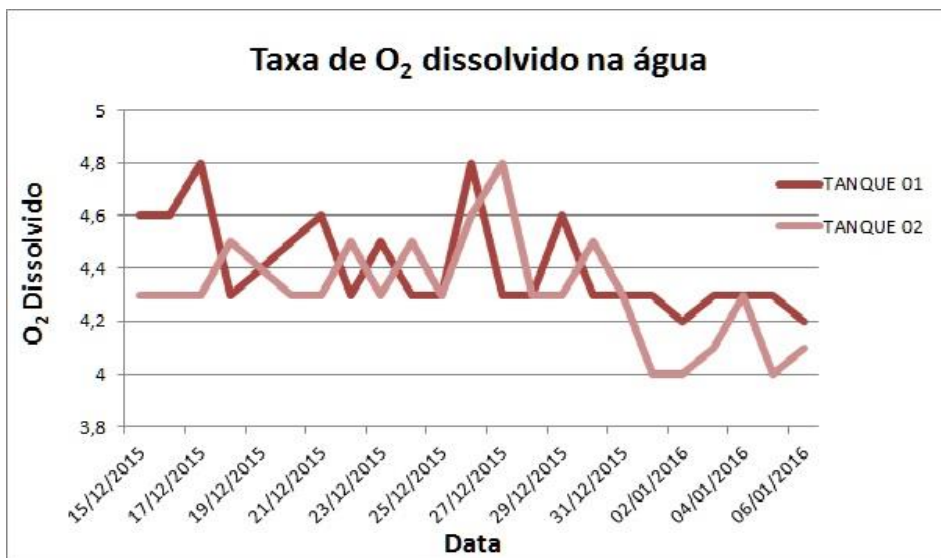


Gráfico 3 – Taxa de O₂ dissolvido dos tanques 01 e 02

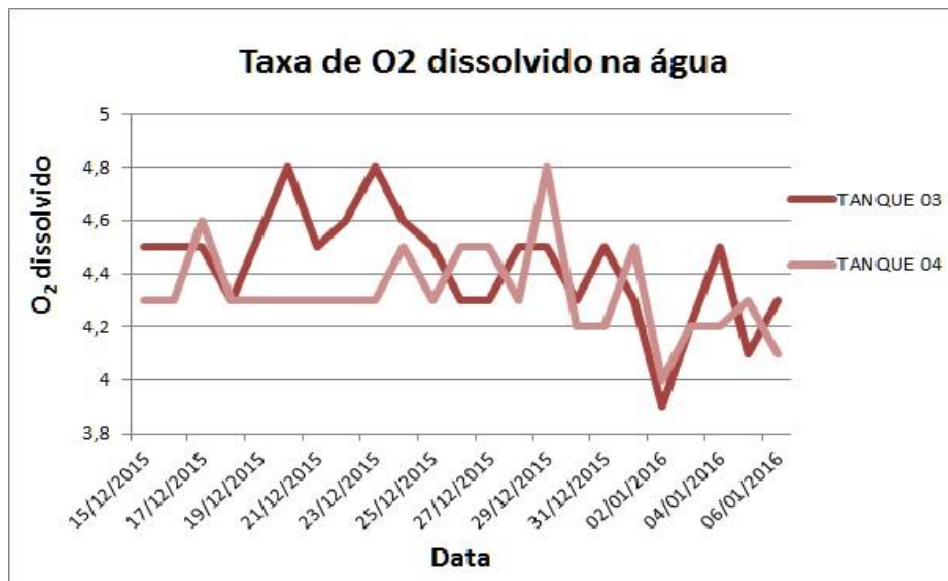


Gráfico 4 – Taxa de O₂ dissolvido dos tanques 03 e 04

3.2 Eclosões dos ovos.

Durante os 27 dias de acompanhamento do experimento só houve eclosão de 2 larvas de *Hypsolebias magnificus*, do total de 12 ovos incubados, nas outras três espécies não ocorreram eclosão.

4. DISCUSSÃO

Os dados desta pesquisa demonstraram que a eclosão dos ovos foi baixa, e apenas para uma única espécie.

Um aspecto abordado na literatura sobre 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 *Cynopoecihus 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, neste estudo a variação da temperatura da água foi de 23⁰C a 29⁰C, o que não deve ter afetado a possível eclosão.

Talvez o tempo em que os ovos ficaram armazenados, aliada a falta de conhecimento sobre a biologia destas espécies em ambiente natural possam ser o fator mais contributivo.

A segunda etapa da pesquisa foi feita com indivíduos adultos separados em casais para tentar uma possível reprodução. Como se tratavam de peixes coletados fora da época de reprodução, a pesquisa não gerou dados consideráveis, uma vez que os peixes estavam desnutridos e debilitados.

CONCLUSÃO

Na primeira parte da pesquisa houve eclosão de 16% de ovos de *Hypsolebias magnificus*, não ocorrendo eclosão dos ovos de *Nematolebias White*, *Ophtamolebias constanciae* e *Hypsolebias fulminantis*.

Não se sabe se a taxa de eclosão estava ligada ao tempo em que os ovos permaneceram na diapausa, portanto, novos experimentos com ovos menos tempo estocados, e em diferentes estágios de desenvolvimento serão realizados feitos para poder aprofundar os conhecimentos sobre as espécies aqui estudadas.

Na segunda parte da pesquisa, não foram gerados dados suficientes para análise, pois, os peixes já muito debilitados morreram, impossibilitando a formação de casais.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Dr. José Augusto Senhorini pela paciência, pela amizade, pela orientação e pelo conhecimento aprendido, A todos os pesquisadores e funcionários do CEPTA pela orientação, amizade e pela estrutura oferecida e ao CNPq/PIBIC/ICMBio, pela concessão da bolsa.

6. BIBLIOGRAFIA

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

ROSA, R. S. & F. C. T. LIMA. Peixes. Pp. 9-285. In: Machado, A. B. M., G. M. Drummond & A. P. Paglia (Eds.). Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Brasília, Ministério do Meio Ambiente. 906p. 2008.

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.

WOURMS, J. P. Developmental biology of annual fishes. I. Stages in the normal development of *Austrofundulus myersi* Dahl. *J. Exp. Zool.* 182, 143–168. 1972.

Fonte das imagens:

<https://www.google.com.br/search?q=nematolebias+whitei+tamoios&espv=2&biw=>

https://www.google.com.br/search?q=ophthalmolebias+constanciae&espv=2&biw=1366&bih=599&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwi25pmSrPDMAhVDFpAKHeofCm8Q_AUICCGC

<https://www.google.com.br/search?q=hypsolebias+magnificos&espv=2&biw=1600&bih=731&source>

7. ANEXOS

ATIVIDADES EXTRA EXPERIMENTO.

Além da condução do experimento fiz o levantamento bibliográfico sobre o tema, aprendi a como é feito todo o procedimento para análise citogenética em peixes da família rivulidae, analisei e comparei dados e o mapeamento de várias espécies.

Realizei um minicurso de georreferenciamento de imagens com o analista ambiental Wellington Adriano Moreira Peres, importante ferramenta para indicar áreas de ocorrência de Rivulideos.

TABELA 1- Controle diário das condições dos aquários

TANQUE	DATA	T° Água	O ₂ D		SALINIDADE	TAXA ECL
1	15/12/15	28°C	4,6		0%	X
2	15/12/15	28°C	4,3		0%	X
3	15/12/15	28°C	4,5		0%	X
4	15/12/15	28°C	4,3		0%	X
1	16/12/15	28°C	4,6		0%	X
2	16/12/15	26°C	4,3		0%	X
3	16/12/15	26°C	4,5		0%	X
4	16/12/15	29°C	4,3		0%	X
1	17/12/15	26°C	4,8		0%	X
2	17/12/15	27°C	4,3		0%	X
3	17/12/15	27°C	4,5		0%	X
4	17/12/15	26°C	4,6		0%	X
1	18/12/15	27°C	4,3		0%	X

2	18/12/15	28°C	4,5		0%	X
3	18/12/15	27°C	4,3		0%	X
4	18/12/15	28°C	4,3		0%	X
1	20/12/15	27°C	4,5		0%	X
2	20/12/15	26°C	4,3		0%	X
3	20/12/15	27°C	4,8		0%	02/12
4	20/12/15	28°C	4,3		0%	X
1	21/12/15	26°C	4,6		0%	X
2	21/12/15	29°C	4,3		0%	X
3	21/12/15	26°C	4,5		0%	02/12
4	21/12/15	27°C	4,3		0%	X
1	22/12/15	27°C	4,3		0%	X
2	22/12/15	26°C	4,5		0%	X
3	22/12/15	27°C	4,6		0%	X
4	22/12/15	28°C	4,3		0%	X
1	23/12/15	27°C	4,5		0%	X
2	23/12/15	28°C	4,3		0%	X
3	23/12/15	27°C	4,8		0%	02/12
4	23/12/15	26°C	4,3		0%	X
1	24/12/15	24°C	4,3		0%	X
2	24/12/15	25°C	4,5		0%	X
3	24/12/15	24°C	4,6		0%	X

4	24/12/15	23°C	4,5		0%	X
1	25/12/15	27°C	4,3		0%	X
2	25/12/15	26°C	4,3		0%	X
3	25/12/15	27°C	4,5		0%	X
4	25/12/15	28°C	4,3		0%	X
1	26/12/15	27°C	4,8		0%	X
2	26/12/15	28°C	4,6		0%	X
3	26/12/15	29°C	4,3		0%	X
4	26/12/15	26°C	4,5		0%	X
1	27/12/15	27°C	4,3		0%	X
2	27/12/15	27°C	4,8		0%	X
3	27/12/15	26°C	4,3		0%	X
4	27/12/15	27°C	4,5		0%	X
1	28/12/15	28°C	4,3		0%	X
2	28/12/15	27°C	4,3		0%	X
3	28/12/15	28°C	4,5		0%	X
4	28/12/15	27°C	4,3		0%	X
1	29/12/15	26°C	4,6		0%	X
2	29/12/15	27°C	4,3		0%	X
3	29/12/15	28°C	4,5		0%	X
4	29/12/15	26°C	4,8		0%	X
1	30/12/15	29°C	4,3		0%	X

2	30/12/15	26°C	4,5		0%	X
3	30/12/15	27°C	4,3		0%	X
4	30/12/15	27°C	4,2		0%	X
1	31/12/15	26°C	4,3		0%	X
2	31/12/15	27°C	4,3		0%	X
3	31/12/15	28°C	4,5		0%	X
4	31/12/15	27°C	4,2		0%	X
1	01/01/16	28°C	4,3		0%	X
2	01/01/16	27°C	4,0		0%	X
3	01/01/16	26°C	4,3		0%	X
4	01/01/16	24°C	4,5		0%	X
1	02/01/16	23°C	4,2		0%	X
2	02/01/16	24°C	4,0		0%	X
3	02/01/16	22°C	3,9		0%	X
4	02/01/16	27°C	4,0		0%	X
1	03/01/16	28°C	4,3		0%	X
2	03/01/16	27°C	4,1		0%	X
3	03/01/16	23°C	4,2		0%	X
4	03/01/16	27°C	4,2		0%	X
1	04/01/16	26°C	4,3		0%	X
2	04/01/16	24°C	4,3		0%	X
3	04/01/16	23°C	4,5		0%	X

4	04/01/16	24°C	4,2		0%	X
1	05/01/16	22°C	4,3		0%	X
2	05/01/16	25°C	4,0		0%	X
3	05/01/16	24°C	4,1		0%	X
4	05/01/16	22°C	4,3		0%	X
1	06/01/16	27°C	4,2		0%	X
2	06/01/16	29°C	4,1		0%	X
3	06/01/16	24°C	4,3		0%	X
4	06/01/16	28°C	4,1		0%	X

.

8. DIFICULDADES ENCONTRADAS

Como o projeto se tratava da eclosão de ovos que já se encontravam em diapausa há um bom tempo, a maior dificuldade foi encontrar as condições ideais para que houvesse uma eclosão significativa.

A quantidade de ovos era significativa, porém, levando-se em conta que a eclosão tende a ser menor, não houve uma taxa de eclosão significativa, sendo assim, como dito anteriormente a maior dificuldade foi fazer com que um número significativo de ovos eclodisse.

Na segunda metade da pesquisa, a dificuldade foi a manutenção dos peixes debilitados e a reprodução. Mesmo controlando a temperatura da água com aquecedores. Não houve reprodução e muito menos eclosão de ovos.