

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Salinidade e concentração de presas na larvicultura do killifish anual
Hypsolebias radiseriatus (Cyprinodontiformes: Rivulidae)

LUCIANO MEDEIROS ARAUJO

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG

2017

LUCIANO MEDEIROS DE ARAUJO

Salinidade e concentração de presas na larvicultura de killifish anual
***Hypsolebias radiseriatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae)**

Dissertação apresentada à UFMG como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia.

Área: Produção Animal/Aquacultura

Orientador: Ronald Kennedy Luz

Belo Horizonte

Escola de Veterinária - UFMG

2017

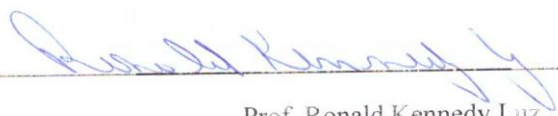
A663s Araujo, Luciano Medeiros de, 1974-
Salinidade e concentração de presas na larvicultura de killifish anual *Hypsolebias radiseriatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) / Luciano Medeiros de Araujo. – 2017.
42 p. : il.

Orientador: Ronald Kennedy Luz
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Peixe ornamental – Criação – Teses. 2. Peixe – Larva – Teses. 3. Artêmia – Teses.
4. Salinidade – Teses. I. Luz, Ronald Kennedy. II. Universidade Federal de Minas Gerais.
Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 639.31


Dissertação defendida e aprovada em 23/02/2017, pela comissão examinadora constituída por:



Prof. Ronald Kennedy Luz
Orientador



Prof. Deliane Cristina Costa
Examinador externo à UFMG



Prof. Daniela Chemim de Melo Hoyos

Examinador interno à UFMG

“Dum spiro spero! [Enquanto há vida, há esperança!] ... Se eu fosse um dos corpos celestiais, eu olharia com completo desapego para esta bola miserável de sujeira e poeira ... Eu brilharia indiferente entre o bem e o mal ... Mas eu sou um homem. A história do mundo que para você, desapaixonado cálice de ciência, para você, guarda-livros da eternidade, parece apenas um momento insignificante no equilíbrio temporal, para mim é tudo! Enquanto eu respirar, eu lutarei pelo futuro, este radiante futuro no qual o homem, poderoso e belo, se tornará mestre do fluxo incerto da História e irá direcioná-lo para um horizonte sem fim de beleza, alegria e felicidade! ”

Leon Trotsky, 1901

Agradecimentos

Acima de tudo agradeço aos meus pais Raimundo Antônio de Araújo e Efigênia Medeiros da Silva e aos meus familiares e amigos por tudo o que fizeram por mim e que ainda continuam fazendo.

A minha linda esposa Thalita pelo companheirismo e paciência.

A minha filha Nina Maria por todas as vezes que me fez companhia até tarde da noite enquanto eu escrevia e também por ser a criaturinha mais fofo deste mundo.

Ao Prof.^o Dr.^o Ronald Kennedy Luz, meu orientador, por sua extraordinária competência, pela oportunidade que me foi dada e confiança .

Aos amigos do LAQUA e do Aquário da Fundação Zoobotânica.

A FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro para a realização dos experimentos.

A Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte por ter doado os ovos de *H. radiseriatus* necessários para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	10
2.	Revisão de literatura.....	11
2.1	Características dos killifishes anuais	11
2.2	Salinidade	12
2.2.1	Tolerância a salinidade	12
2.2.2	Cultivo em diferentes salinidades	13
2.3	Concentração de presas	13
3	Objetivos.....	16
3.1	Objetivo geral.....	16
3.2.	Objetivos específicos.....	16
4	Referências Bibliograficas	17
5	Artigo: Salinidade e concentração de presas na larvicultura do killifish anual <i>Hypsolebias radiseriatus</i> (Cyprinodontiformes: Rivulidae).....	21
6	Considerações finais.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis físico-químicas da água nas diferentes salinidades utilizadas para os testes de tolerância ao choque osmótico em larvas de <i>Hypsolebias radiseriatus</i>	25
Tabela 2: Variáveis físico-químicas da água nas diferentes salinidades utilizadas para os testes de tolerância – aclimação gradual em larvas de <i>Hypsolebias radiseriatus</i>	26
Tabela 3: Concentrações diárias de náuplios de artemia (P) (náuplios larva ⁻¹) oferecido as larvas de <i>Hypsolebias radiseriatus</i> durante 35 dias de alimentação, para as diferentes salinidades testadas.....	27
Tabela 4: Valores médios (\pm desvio padrão) da sobrevivência (%), peso (mg) e comprimento total (CT) (mm) de larvas de <i>Hypsolebias radiseriatus</i> após 96 horas de iniciado o teste de tolerância ao choque osmótico (Experimento I) e à aclimação gradual (Experimento II) em diferentes salinidades.....	29
Tabela 5: Variáveis físico-químicas da água nas diferentes salinidades (S) e concentração de presas (P) utilizadas na larvicultura de <i>H. radiseriatus</i>	30
Tabela 6: Valores de F e valores médias (\pm desvio padrão) de comprimento total (CT) (mm), peso (mg), taxa de crescimento específico diária (% dia ⁻¹) (TCE) e sobrevivência (%) durante a larvicultura de <i>Hypsolebias radiseriatus</i> em diferentes salinidades da água (S) e concentrações de presas (P).....	32
Tabela 7: Valores médios (\pm desvio padrão) do desdobramento da interação para comprimento total e peso após 15 dias da larvicultura de <i>Hypsolebias radiseriatus</i>	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Machos de *Hysolebias radiseriatus*. Fonte: Arquivo pessoal (2015)..... 12

RESUMO

A larvicultura é considerada a fase crítica na produção de peixes. Alguns killifishes são anuais e são os únicos vertebrados onde os embriões podem, em certo momento, dependendo das condições ambientais, optarem por caminhos distintos de desenvolvimento, podendo este ser direto ou por diapausas. Para a espécie *Hypsolebias radiseriatus* ainda não existe nenhum dado de produção de juvenis. O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância a diferentes gradientes de salinidade e realizar a larvicultura de *H. radiseriatus* em diferentes concentrações de presa e salinidade da água. Para os testes de tolerância, foram utilizadas larvas recém-eclodidas, onde foi realizado o choque osmótico (experimento I) e aclimação gradual (experimento II) às seguintes salinidades: água doce, 2, 4, 6 e 8 g de sal/L. As observações foram realizadas até 96 horas. No experimento III, larvas recém eclodidas foram estocadas na densidade de 4 larvas L⁻¹ e submetidas a três salinidades da água a saber: S₀ - água doce, S₂ - 2 g de sal L⁻¹ e S₄ - 4 g de sal L⁻¹, e três concentrações diárias iniciais de presas: 100, 300 e 500 náuplios de artêmia larva⁻¹ em esquema fatorial 3 × 3 com três repetições cada. A larvicultura teve duração de 35 dias. No experimento I e II a sobrevivência sofreu influência apenas na salinidade de 8 g de sal L⁻¹ (P<0,01). Para o peso houve redução a partir de 6 g de sal L⁻¹ (experimento I) e 8 g de sal L⁻¹ (experimento II). No experimento III, a amônia total foi maior para a maior concentração de presas testada independente da salinidade da água. Após 15 dias, a sobrevivência foi menor a 4 g de sal L⁻¹ e verificou-se efeitos tanto da salinidade, como da concentração de presas e da interação entre estes fatores no desempenho das larvas com menores valores para S₄P₁₀₀. Após 35 dias o comprimento não apresentou efeito da salinidade, concentração de presas e da interação entre os fatores (P>0,05). O peso foi influenciado somente pela concentração de presas (P<0,05) com maiores valores para P₅₀₀. A sobrevivência foi influenciada pela salinidade (P<0,01) e pela concentração de presas (P<0,05), sem efeito da interação (P>0,05). A pior sobrevivência foi para S₄ e para P₁₀₀. Logo, a larvicultura de *H. radiseriatus* pode ser realizada em salinidade de até 2 g de sal L⁻¹, com a maior concentração de presas testada neste experimento.

Palavras chave: Artemia, peixe ornamental, peixe anual.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento inicial é, provavelmente, a fase mais crítica para muitas espécies de peixes. Dentre os manejos a serem adotados na larvicultura de peixes de água doce, tem merecido especial atenção de pesquisadores o uso de diferentes salinidades da água, assim como a determinação da quantidade ideal de alimento a ser oferecida, visando o melhor desempenho dos animais. Contudo, trabalhos de larvicultura com espécies nacionais de killifishes anuais são escassos. Volcan et al. (2012) avaliaram o efeito da temperatura no crescimento inicial e na primeira diferenciação sexual em *Austrolebias nigrofasciatus*, enquanto Fonseca et al. (2013) avaliaram somente o crescimento inicial de *Austrolebias wolterstorffi* em diferentes temperaturas.

Trabalhos com killifishes anuais despertam grande interesse dos pesquisadores principalmente pelo seu peculiar desenvolvimento embrionário (Furnes et al., 2015). Estudos sobre a embriologia de *Austrofundulus limnaeus*, sugerem que os killifishes anuais são os únicos vertebrados conhecidos onde os embriões podem, em certo momento, dependendo das condições ambientais, optarem por caminhos diferentes de desenvolvimento, podendo os embriões optarem pelo desenvolvimento direto ou então passarem por uma ou diversas etapas de diapausas (Podrabsky et al., 2010).

Em 2013 o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) através da portaria 198/2013 do Ministério do Meio Ambiente aprova a implementação do Plano Nacional de Conservação dos Peixes Rivulídeos Ameaçados de Extinção (PAN Rivulídeos) contemplando cinquenta e três espécies. Dentre as ações propostas no plano está a realização de estudos *ex-situ* das espécies ameaçadas, apoiando projetos de manutenção de populações viáveis geneticamente em cativeiro e o desenvolvimento de protocolos de manejos reprodutivos adequados para os diferentes grupos de killifishes nacionais (ICMBIO, 2013).

Desta forma, o presente estudo tem por objetivo realizar pela primeira vez estudos de tolerância salinidade e larvicultura de *Hysolebias radiseriatus*, em condições controladas, contribuindo para inovação de informações e para a produção de juvenis e adultos desta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características dos killifishes anuais

Killifish é o nome comum usado mundialmente para identificar todas as espécies de peixes da ordem cyprinodontiformes que são ovíparas. A atual distribuição mundial das espécies de killifishes sugere que parte dela está aparentemente associada à gênese dos continentes, corroborando com a teoria da tectônica de placas e com a geomorfologia histórica das bacias hidrográficas (Costa, 2013). Com exceção da Antártida e Oceania, os killifishes estão presentes em todos continentes, porém os anuais ocorrem apenas nos continentes Sul Americano e Africano (Costa, 2008).

Os killifishes anuais são assim chamados por viverem em ambientes aquáticos onde o ciclo da vida é determinado pelas estações chuvosa e seca (Wourms, 1972). Esta adaptação exigiu que estes peixes produzissem ovos resistentes, possibilitando, então, que seus embriões sobrevivessem por um longo período fora da água (Hrbek e Larson, 1999), como também um impressionante mecanismo de desenvolvimento embrionário que envolve vias de desenvolvimento direto e outras vias com desenvolvimento em diapausa (Podrabsky et al., 2010). Além disso, são caracterizados por acentuado dimorfismo (Costa, 2008).

As desovas dos killifishes anuais são feitas no substrato do fundo dos alagados temporários onde habitam e, podem ser tanto nas camadas superficiais, sem que aconteça o mergulho do casal no substrato, como em alguns gêneros Sul Americanos e Africanos (Ex: *Maratecoaras*, *Plesiolebias*, *Nothobranchius*), ou em regiões mais profundas, quando o casal mergulha totalmente no substrato (Ex: *Hypsolebias*, *Neofundulus*, *Cynolebias*) (Belote e Costa, 2002; Passos et al., 2015).

A espécie utilizada no presente estudo *Hypsolebias radiseriatus* (Fig. 1), é um killifish anual que ocorre em alagados sazonais, formados na estação chuvosa, pertencentes a sub bacia do Rio Verde Grande, um tributário da margem direita do Rio São Francisco, Minas Gerais (Costa et al., 2012). Segundo os mesmos autores, esta espécie está inserida em um complexo de espécies morfologicamente similares relacionadas à *Hypsolebias flavicaudatus* e difere-se das outras oito espécies deste complexo por ser a única que possui uma série de pequenas linhas douradas e azuis claras na porção subdistal da nadadeira dorsal em machos.



Figura 1 – Machos de *Hypsolebias radiseriatus*. Fonte: Arquivo pessoal (2015)

Contudo, até o momento não existe na literatura nenhum dado sobre a sua larvicultura, tanto para a o uso de salinidade da água como para a quantidade de alimento ideal para o melhor desempenho e sobrevivência dos animais.

2.2 Salinidade

2.2.1 Teste de tolerância à salinidade

Os testes de tolerância à salinidade têm por finalidade identificar os níveis seguros para que protocolos adequados possam ser definidos em: Transporte de peixes vivos (Wurts, 1995; Salaro et al., 2015), larvicultura (Varsamos et al., 2005) e tratamentos profiláticos e preventivos (Souza-Bastos e Freire, 2009). Também contribui para o entendimento das limitações fisiológicas que podem influenciar no cultivo das espécies (Dimaggio et al., 2009).

Estudos sobre tolerância a diferentes gradientes de salinidade são realizados utilizando diluições de sal não iodado em água desclorada, para avaliação dos efeitos agudos, em ensaios de 96 horas de duração (Fashina-Bombata e Busari, 2003; Bringolf et al., 2005). Assim, com os resultados destes testes podem-se estabelecer limites seguros para o uso do sal no cultivo das espécies de peixes desejadas.

A tolerância a diferentes salinidades durante o desenvolvimento larval inicial sugere a presença de mecanismos e estruturas relacionadas ao processo de aclimação à variação osmótica, sendo este um ponto importante quando o sal é usado na prevenção de doenças e na melhoria da produção de juvenis (Luz e Santos, 2010).

Além destes testes, o cultivo em água salinizada também tem sido realizado para larvas de peixes de água doce.

2.2.2 Cultivo em diferentes salinidades

O cultivo de larvas e juvenis de peixes neotropicais de água doce em diferentes gradientes de salinidade vem demonstrando que o uso adequado do sal pode favorecer o desempenho e a sobrevivência no cultivo de algumas espécies (Luz e Portella, 2002; Luz et al., 2008; Luz et al., 2013). No entanto, quando peixes são submetidos a salinidades acima das suas concentrações corporais há o desencadeamento de uma série de processos e respostas fisiológicas que envolvem gastos energéticos necessários para o restabelecimento do equilíbrio osmótico (Boeuf e Payan 2001). Estes processos podem ser classificados como primários, com alterações das secreções hormonais (Almazán-Rueda et al., 2005; Enaytmehr e Jamili, 2015), secundários quando envolvem alterações no metabolismo (Legras et al., 2000; Martins et al., 2014) e terciários com a queda do rendimento produtivo e resistência a doenças (Bonga, 1997).

Pesquisas têm comprovado que a salinidade de até 2 g de sal L⁻¹ pode ser empregada na larvicultura de espécies de peixes neotropicais de água doce melhorando o desempenho e sobrevivência como em *Piaractus mesopotamicus* (Jomori et al., 2012), *Lophiosilurus alexandri* (Luz e Santos, 2008), *Oreochromis niloticus* (Luz et al., 2013) e *Betta splendens* (Dias et al., 2016).

Porém, além da salinidade, outro manejo importante na larvicultura de peixes de água doce é o estabelecimento de protocolos adequados de alimentação.

2.3 Concentração de presas

Para o melhor desenvolvimento dos peixes durante a fase larval, é necessário, dentre outros fatores, que a disponibilidade de alimento seja a ideal (Santos e Luz, 2009). Desta forma, diferenças em crescimento, sobrevivência e comportamento alimentar foram observados em diversos estudos (Puvanendran et al., 2002; Temple et al., 2004; Santos e Luz

2009; Luz e Portella, 2015) confirmando a importância deste manejo. A oferta da quantidade de alimento é importante no desenvolvimento inicial das espécies neotropicais cultivadas e, em espécies carnívoras, por reduzir o canibalismo e aumentar a sobrevivência (Santos et al., 2015).

Este manejo alimentar deve ser considerado juntamente com fatores ambientais para o melhor desenvolvimento dos animais. Entre estes fatores está a temperatura da água. Takata et al. (2014) verificaram que as maiores concentração de presas testadas e temperaturas entre 29-32°C resultaram em melhor crescimento na larvicultura de *Lophiosilurus alexandri*, comparado a temperaturas inferiores.

Além da temperatura, o manejo alimentar pode ser associado à densidade de estocagem. Para *Rhinelepis aspera* foi avaliado o efeito de três densidades de estocagem (20,40 e 60 Larvas L⁻¹) e duas concentrações diárias de presas (400 e 700 náuplios de artêmia larva⁻¹) durante sete dias (Santos et al., 2011). Neste estudo, o crescimento foi maior na concentração diária de presas de 700 náuplios larva⁻¹, independentemente da densidade testada.

Outro fator ambiental que pode ser associado ao manejo alimentar é a salinidade da água, principalmente por esta aumentar o tempo de vida dos náuplios de Artemia (Beux e Zaniboni Filho, 2006), principal alimento empregado atualmente na larvicultura de peixes de água doce. Durante a larvicultura de *Pseudoplatystoma corruscans*, *Prochilodus costatus* e *Lophiosilurus alexandri* (Santos e Luz, 2009) verificou-se que para *P. costatus* o melhor desempenho foi na salinidade de até 4 g de sal L⁻¹ e em *L. alexandri* de 2 g de sal L⁻¹. Para estas duas espécies o crescimento foi significativamente superior nas maiores concentrações de presas testadas, enquanto a sobrevivência foi semelhante entre os tratamentos testados. Neste mesmo trabalho, os autores verificaram também que em *P. corruscans* a concentração de presas não afetou o desempenho e a sobrevivência foi melhor na salinidade de 2 g de sal L⁻¹. Jomori et al (2013) avaliaram diferentes salinidades e concentrações de presa para quatro espécies neotropicais de água doce. Para *Colossoma macropomum* as melhores taxas de sobrevivência e crescimento foram para o uso da salinidade de até 2 g de sal L⁻¹ e concentração inicial diária de 500 náuplios larva⁻¹. Para *Astronotus ocellatus* a melhor taxa de sobrevivência foi na salinidade de 2 g de sal L⁻¹ enquanto que a concentração de presas não teve efeito sobre a sobrevivência. Os melhores valores de peso e comprimento foram obtidos na salinidade de 2 g L⁻¹ e para maior concentração de presas testada. Ainda no mesmo trabalho, os autores concluíram que para larvas de *Brycon amazonicus* as melhores taxas de sobrevivência e desempenho ocorrem na salinidade de 2 g de sal L⁻¹, e que a concentração de presas não afeta o peso e o comprimento. Os autores verificaram ainda que para larvas de

Leporinus macrocephalus pode-se utilizar a salinidades de até 4 g de sal L⁻¹ sem prejudicar a sobrevivência e desempenho, sendo o melhor crescimento na maior concentração de presas testada.

Como apresentado, os manejos de salinidade da água e concentração de presas são fundamentais para o sucesso da larvicultura de várias espécies de peixes de água doce e apresentam variações em função da espécie em relação a salinidade ideal e ao melhor manejos alimentar. Neste sentido, este será o primeiro estudo de larvicultura de *Hypsolebias radiseriatus* testando esses manejos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar aspectos referentes a larvicultura em cativeiro de *Hypsolebias radiseriatus*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a tolerância de larvas de *Hypsolebias radiseriatus* ao choque osmótico em diferentes gradientes de salinidade;
- Avaliar a tolerância de larvas de *Hypsolebias radiseriatus* a aclimação gradual a diferentes gradientes de salinidade;
- Avaliar o desempenho e sobrevivência na larvicultura *Hypsolebias radiseriatus* em diferentes salinidades da água e concentração de presas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Belote, D. F., Costa, W.J.E.M., 2002. Reproductive behavior patterns in the neotropical annual fish genus *Simpsonichthys* Carvalho, 1959 (Cyprinodontiformes, Rivulidae): description and phylogenetic implications. *Boletim do Museu Nacional, Nova Serie, Rio de Janeiro* 489:1-10.
- Beux, L.F., Zaniboni Filho, E., 2006. Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp. *Boletim do Instituto de Pesca* 32:73-77.
- Bringolf, R. B., Kwak, T. J., Cope, W. G., Larimore, M. S., 2005. Salinity tolerance of flathead catfish: implications for dispersal of introduced populations. *Transactions of the American Fisheries Society* 134:927-936.
- Costa, W.J.E.M., 2008. Catalog of aplocheiloid killifishes of the world. Laboratório de Ictiologia Geral e Aplicada, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Costa, W. J.E.M., Amorim, P. F., Mattos, J.L.O., 2012. Species delimitation in annual killifishes from the Brazilian Caatinga, the *Hypsolebias flavicaudatus* complex (Cyprinodontiformes: Rivulidae): implications for taxonomy and conservation. *Systematics and biodiversity* 10:71-91.
- Costa, W.J.E.M., 2013. Historical biogeography of aplocheiloid killifishes (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Vertebrate Zoology* 63:139-154.
- Dias, J. A. R., Abe, H. A., Sousa, N. C., Ramos, F. M., Cordeiro, C. A. M., Fujimoto, R. Y., 2016. Uso do sal comum (NaCl) e densidade de estocagem durante a larvicultura de *Betta splendens*. *Boletim do Instituto de Pesca* 42:719-726.
- DiMaggio, M. A., Ohs, C. L., Petty, B. D., 2009. Salinity tolerance of the Seminole killifish, *Fundulus seminolis*, a candidate species for marine baitfish aquaculture. *Aquaculture* 293:74-80.
- Enayatmehr, M., Jamili, S. Effects of Salinity on Growth, Hormonal and Enzymatic Status in Fish: A Review., 2015. *International Journal of Science and Research* 4:805-813
- Fashina-Bombata, H. A., Busari, A. N., 2003. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture* 224:213-222.
- Furness, A. I., Reznick, D. N., Springer, M. S., Meredith, R. W., 2015. Convergent evolution of alternative developmental trajectories associated with diapause in African and South

- American killifish. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences 282:20142189.
- Fonseca, A. P. D., Volcan, M. V., Sampaio, L. A., Romano, L. A., Robaldo, R. B., 2013. Growth of critically endangered annual fish *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) at different temperatures. Neotropical Ichthyology, 11:837-844.
- Hrbek, T., Larson, A., 1999. The evolution of diapause in the killifish family Rivulidae (Atherinomorpha, Cyprinodontiformes): a molecular phylogenetic and biogeographic perspective. Evolution 53:1200-1216.
- Icmbio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). 2013. Sumário Executivo do Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Peixes Rivulídeos Ameaçados de Extinção. Brasília. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-rivulideos/sumario-executivo-rivulideos.pdf>>. Acessado em março de 2016.
- Jomori, R. K., Luz, R. K., Portella, M.C., 2012. Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. Journal of the World Aquaculture Society 43:423-432.
- Jomori, R. K., Luz, R. K., Takata, R., Fabregat, T. E. H. P., Portella, M. C., 2013. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. Pesquisa Agropecuária Brasileira 809-815.
- Luz, R.K., Portella, M.C., 2002. Larvicultura de trairão (*Hoplias lacerdae*) em água doce e água salinizada. Revista Brasileira de Zootecnia 31:829-834.
- Luz, R. K., Santos, J. C. E., 2008. Densidade de estocagem e salinidade da água na larvicultura do pacamã. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43: 903-909.
- Luz, R.K., Santos, J.C.E., 2010. Effect of salt addition and feeding frequency on cascudo preto *Rhinelepis aspera* (Pisces: Loricariidae) larviculture. Journal of Applied Ichthyology 26:453-455.
- Luz, R. K., Santos, A. E. H., Melillo Filho, R., Turra, E. M., Alencar Teixeira, E., 2013. Larvicultura de tilápia em água doce e água salinizada. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48:1150-1153.
- Luz, R.K., Portella, M. C., 2015. Effect of prey concentrations and feed training on production of *Hoplias lacerdae* juvenile. Anais da Academia Brasileira de Ciências 87:1125-1132.

- Martins, Y. S., Melo, R. M. C., Campos-Junior, P. H. A., Santos, J. C. E., Luz, R. K., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2014. Salinity and temperature variations reflecting on cellular PCNA, IGF-I and II expressions, body growth and muscle cellularity of a freshwater fish larvae. *General and comparative endocrinology* 202:50-58.
- Passos, C., Tassino, B., Rosenthal, G. G., Reichard, M., 2015. Reproductive Behavior and Sexual Selection in annual Fishes. *Annual Fishes. Life History Strategy, Diversity, and Evolution* 207-230.
- Podrabsky, J. E., Garrett, I. D., Kohl, Z. F., 2010. Alternative developmental pathways associated with diapause regulated by temperature and maternal influences in embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*. *Journal of Experimental Biology* 213:3280-3288.
- Puvanendran, V., Leader, L. L., Brown, J. A., 2002. Foraging behaviour of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae in relation to prey concentration. *Canadian journal of zoology* 80:689-699.
- Salaro, A. L., Campelo, D. A. V., Tavares, M. M., Braga, L. G. T., Pontes, M. D., Zuanon, J. A. S., 2015. Transport of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 in saline water. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 37:137.
- Santos, J. C. E., Luz, R. K., 2009. Effect of salinity and prey concentrations on *Pseudoplatystoma corruscans*, *Prochilodus costatus* and *Lophiosilurus alexandri* larviculture. *Aquaculture* 287:324-328.
- Santos, J. C. E., Pedreira, M. M., Luz, R. K., 2011. The effects of stocking density, prey concentration and feeding on *Rhinelepis aspera* (Spix & Agassiz, 1829) (Pisces: Loricariidae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 34:133-139.
- Santos, J. C. E., de Souza Correia, E., Luz, R. K., 2015. Effect of daily artemia nauplii concentrations during juvenile production of *Lophiosilurus alexandri*. *Boletim do Instituto de Pesca* 41:771-776.
- Souza-Bastos, L. R., Freire, C. A., 2009. The handling of salt by the neotropical cultured freshwater catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 289:167-174.
- Takata, R., Costa, D. C., Melillo Filho, R., Luz, R. K., 2014. Effect of water temperature and prey concentrations on initial development of *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes: Pseudopimelodidae), a freshwater fish. *Neotropical Ichthyology* 12:853-859.

- Temple, S., Cerqueira, V. R., Brown, J. A., 2004. The effects of lowering prey density on the growth, survival and foraging behaviour of larval fat snook (*Centropomus parallelus* poey 1860). *Aquaculture* 233:205-217.
- Varsamos, S., Nebel, C., Charmantier, G., 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 141:401-429.
- Volcan, M. V., Fonseca, A. P. D., Figueiredo, M. R. C., Sampaio, L. A., Robaldo, R. B., 2012. Effect of temperature on growth of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* Costa and Cheffe 2001. *Biota Neotropica* 12:68-73.
- Wourms, J.P., 1972. The developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes. *Journal of Experimental Zoology* 182:389-414.
- Wurts, W.A., 1995. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. *World Aquaculture* 26:80-81.

5. ARTIGO

Salinidade e concentração de presas na larvicultura de killifish anual *Hypsolebias radiseriatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae)

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância a diferentes gradientes de salinidade e realizar a larvicultura de *Hypsolebias radiseriatus* em diferentes concentrações de presa e salinidade da água. Para os testes de tolerância a salinidade, foram utilizadas larvas recém-eclodidas, onde foi realizado o teste de choque osmótico (experimento I) e aclimatação gradual (experimento II) às seguintes salinidades: água doce, 2, 4, 6 e 8 g de sal/L, com três repetições cada. As observações foram realizadas até 96 horas. No experimento 3, larvas recém eclodidas foram estocadas na densidade de 4 larvas L⁻¹ e submetidas a três salinidades da água a saber: S₀ - água doce, S₂ - 2 g de sal L⁻¹ e S₄ - 4 g de sal L⁻¹, e três concentrações diárias iniciais de presas: 100, 300 e 500 náuplios de artemia larva⁻¹ em esquema fatorial 3 × 3 com três repetições cada. A larvicultura teve duração de 35 dias. No experimento I e II a sobrevivência sofreu influência apenas na salinidade de 8 g de sal L⁻¹ (P<0,01). Para o peso houve redução a partir de 6 g de sal L⁻¹ (experimento I) e 8 g de sal L⁻¹ (experimento II). No experimento III, amônia total foi maior para a maior concentração de presas testada independente da salinidade da água. Após 15 dias, a sobrevivência foi menor a 4 g de sal L⁻¹ e verificou-se efeitos tanto da salinidade, como da concentração de presas e da interação entre estes fatores no desempenho das larvas com menores valores para S₄P₁₀₀. Após 35 dias o comprimento não apresentou efeito da salinidade, concentração de presas e da interação entre os fatores (P>0,05). O peso foi influenciado somente pela concentração de presas (P<0,05) com maiores valores para P₅₀₀. A sobrevivência foi influenciada pela salinidade (P<0,01) e pela concentração de presas (P<0,05), sem efeito da interação (P>0,05). A pior sobrevivência foi para S₄ e para P₁₀₀. Logo, a larvicultura de *H. radiseriatus* pode ser realizada em salinidade de até 2 g de sal L⁻¹, com a maior concentração de presas testada neste experimento.

Palavras chaves: Killifish, Artemia, peixe ornamental, peixe anual

INTRODUÇÃO

O termo killifish é uma classificação genérica para todas as espécies de peixes da ordem cyprinodontiformes, ovíparas. Com exceção da Antártida e Oceania, os killifishes estão presentes em todos os continentes. Entretanto, os killifishes anuais ocorrem somente nos continentes Africano e Sul Americano (Costa, 2008). É sabido que os killifishes anuais são os únicos vertebrados onde os embriões podem, em certo momento, dependendo das condições ambientais, optarem por caminhos distintos de desenvolvimento, podendo este ser direto ou por diapausas (Podrabsky et al., 2010). Em 2013 o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) através da portaria 198/2013 do Ministério do Meio Ambiente, Brasil, aprovou a implementação do Plano Nacional de Conservação dos Peixes Rivulideos Ameaçados de Extinção (PAN Rivulideos) contemplando cinquenta e três espécies. Dentre as ações propostas no plano está a realização de estudos *ex-situ* das espécies ameaçadas, apoiando projetos de manutenção de populações viáveis geneticamente em cativeiro e o desenvolvimento de protocolos de manejos reprodutivos adequados para os diferentes grupos de killifishes (ICMBIO, 2013). Além disso, os killifishes têm sido comercializados como peixes ornamentais pela variedade de cores e formatos, agregando valor produção destas espécies.

Dentre estas espécies estão as do gênero *Hypsolebias*, distribuídas nas bacias do rio São Francisco, Tocantins, médio Jequitinhonha, baixo Jaguaribe e em bacias isoladas do nordeste do Brasil (Ponzetto et al., 2016; Costa 2014). A *Hypsolebias radiseriatus* se relaciona filogeneticamente com um complexo de espécies ligadas ao grupo da *Hypsolebias flavicaudatus* (Ponzetto et al., 2016). Porém, atualmente existem poucos trabalhos sobre a larvicultura de killifishes, sendo os estudos centrados no efeito da temperatura no desenvolvimento inicial de *Austrolebias nigrofasciatus* (Volcan et al., 2012) e de *Austrolebias wolterstorffi* (Fonseca et al., 2013). Na larvicultura de *Fundulus grandis* foi avaliada a substituição de nauplios de artêmia na alimentação inicial por uma dieta preparada (Patterson et al., 2016). Para *H. radiseriatus*, ainda não existe nenhum dado na literatura.

Dentre os manejos a serem empregados na larvicultura de peixes de água doce, merece destaque a salinidade da água, uma vez que pode aumentar a sobrevivência dos náuplios de artêmia usados como alimento vivo (Jomori et al., 2012). Testes em ensaios de 96 horas de duração vem sendo realizados para avaliar a tolerância a diferentes salinidades (Fashina-Bombata e Busari, 2003; Luz e Santos, 2008a; Wang et al., 2015). A larvicultura também pode ser realizada em baixas salinidades, entre 2 a 4 g de sal L⁻¹, manejo que vem se

mostrando benéfico para várias espécies de água doce como *Hoplias lacerdae* (Luz e Portella, 2002), *Lophiosilurus alexandri* (Luz e Santos, 2008b), *Prochilodus costatus* e *Pseudoplatystoma corruscnas* (Santos e Luz, 2009), *Rhinelepis aspera* (Luz e Santos, 2010), *Piaractus mesopotamicus* (Jomori et al., 2012), *Astronotus ocellatus*, *Brycon amazonicus*, *Colossoma macropomum*, *Leporinus macrocephalus* (Jomori et al., 2013) e *Oreochromis* sp. (Luz et al., 2013).

Além da salinidade, a quantidade de alimento vivo a ser oferecido diariamente também é um manejo importante, uma vez que pode afetar o desempenho das larvas de peixes de água doce (Santos e Luz, 2009; Santos et al., 2012; Jomori et al., 2013; Santos et al., 2015; Luz e Portella, 2015), maximizando a produção,

O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância a diferentes gradientes de salinidade e realizar a larvicultura de *H. radiseriatus* em diferentes concentrações de presa e salinidade da água

MATERIAIS E METODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Aquacultura da Universidade Federal de Minas Gerais (LAQUA/UFMG), Brasil de acordo com protocolo da Comissão de ético em uso de animais (Protocolo CEUA: 344/2016). Os ovos fertilizados foram fornecidos pela Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte, Brasil. Estes foram provenientes de reprodutores descendentes de peixes selvagens capturados em janeiro de 2011, com a autorização do Instituto Estadual de Florestas de Minas Gerais (Licença de Pesca Científica – Categoria D – Nº 011 -09) na cidade de Jaíba/MG, quando foi encontrada uma nova população desta espécie na localidade 15°21'29.00"S 43°41'19.50"W.

Para os três experimentos os ovos embrionados foram eclodidos utilizando água doce na temperatura de 28°C em béqueres de 1L, as larvas recém-eclodidas foram posteriormente transferidas antes da primeira alimentação para as unidades experimentais. Para a biometria inicial foi utilizada uma amostra de 20 larvas recém eclodidas, pesadas em balança analítica (Marte AY220 – 0,001g) e comprimento total aferido com paquímetro digital (Starret Indústria e Comércio Ltda., Itu, SP, série 799A).

Experimento I. Tolerância a salinidade da água – choque osmótico

Para o choque osmótico, a água nas diferentes salinidades foi previamente preparada e a salinidade, condutividade e pH aferidos diariamente com aparelho (Hanna Instruments modelo Combo pH & EC) (Tabela 1). Para a salinização da água, foi utilizado sal grosso não-iodado (MARISAL LTDA - ingredientes: cloreto de sódio e antiemectante INS 535 ferrocianeto de sódio).

Tabela 1: Variáveis físico-químicas da água nas diferentes salinidades utilizadas para os testes de tolerância ao choque osmótico em larvas de *Hypsolebias radiseriatus*.

	Salinidade (g de sal L ⁻¹)				
	Água doce	2	4	6	8
pH	8,29±0,12	8,13±0,09	8,13±0,08	8,10±0,07	8,06±0,09
Temperatura (°C)	28,0±0,28	28,0±0,32	28,15±0,30	28,2±0,35	28,0±0,45
Condutividade (mS cm ⁻¹)	0,30±0,07	4,17±0,05	8,29±0,09	12,35±0,10	16,35±0,10

Após a eclosão, as larvas (4,98±0,7 mm e 1,02 mg) foram transferidas diretamente para béqueres contendo 1 L de água na densidade de 10 larvas L⁻¹ com as seguintes salinidades: água doce, 2, 4, 6 e 8 g de sal/L. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com 5 diferentes salinidades da água e três repetições cada. Os animais foram observados a cada 1 hora nas primeiras quatro horas e, posteriormente, a cada 24 horas, pelo período total de 96h. As unidades experimentais foram mantidas em sistema estático, sem renovação de água, com temperatura constante (Tabela 1) e níveis de oxigênio dissolvido superiores a 5 mg L⁻¹. Durante este período, os animais não foram alimentados. As larvas mortas foram quantificadas e retiradas. Ao final do período experimental, foi avaliada a sobrevivência e realizada a biometria (peso e comprimento) das larvas sobreviventes.

Experimento II. Tolerância à salinidade – aclimação gradual

Larvas recém eclodidas ($4,98 \pm 0,7$ mm e $1,02$ mg) foram transferidas para béqueres contendo 1 L de água doce na densidade de 10 larvas L^{-1} . Para a aclimação aos diferentes gradientes de salinidade, foram acrescentadas 2 gramas de sal L^{-1} de duas em duas horas até que as concentrações finais fossem de 2, 4, 6 e 8 g L^{-1} de sal (Tabela 2). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com 5 diferentes salinidades da água e três repetições cada. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas, pelo período total de 96 h. As unidades experimentais foram mantidas em sistema estático, sem renovação de água, com temperatura constante (Tabela 2) e níveis de oxigênio dissolvido superiores a 5 mg L^{-1} . Durante este período, os animais não foram alimentados. As larvas mortas foram quantificadas, retiradas e ao final avaliada a sobrevivência e realizada a biometria (peso e comprimento) dos animais.

Tabela 2: Variáveis físico-químicas da água nas diferentes salinidades utilizadas para os testes de tolerância – aclimação gradual em larvas de *Hypsolebias radiseriatus*.

	Salinidade (g de sal L^{-1})				
	Água doce	2	4	6	8
pH	$8,22 \pm 0,38$	$8,06 \pm 0,43$	$8,03 \pm 0,47$	$7,98 \pm 0,47$	$7,95 \pm 0,42$
Temperatura (°C)	$28,05 \pm 0,24$	$28,05 \pm 0,24$	$28,0 \pm 0,27$	$28,05 \pm 0,26$	$28,05 \pm 0,28$
Condutividade ($mS\ cm^{-1}$)	$0,24 \pm 0,08$	$4,23 \pm 0,10$	$8,25 \pm 0,29$	$12,23 \pm 0,49$	$16,27 \pm 0,79$

Experimento III. Larvicultura em diferentes salindades da água e concentrações de presas

Para este experimento as larvas recém eclodidas ($4,9 \pm 0,5$ mm e $0,904$ mg) foram transferidas para 27 unidades experimentais de 2L de volume útil na densidade de 4 larvas L^{-1} . As unidades experimentais foram mantidas em sistema de banho-termostatizado com temperatura da água de 28 °C. Cada unidade teve aeração suplementar por meio de pedra porosa para manter o oxigênio acima de $5,0$ mg L^{-1} .

De acordo com os dados do experimento 1 e 2, foram testadas três salinidades da água a saber: S₀ - água doce, S₂ - 2 g de sal L⁻¹ e S₄ - 4 g de sal L⁻¹, e três concentrações diárias de presas (Tabela 3). As concentrações de presas utilizadas foram baseadas em estudos anteriores com larvas de outras espécies de peixe de água doce (Santos e Luz, 2009, Luz e Portella, 2015). O experimento foi conduzido em esquema fatorial 3 × 3 com três repetições cada. Para a alimentação foram utilizados náuplios de artemia recém eclodidos. As larvas foram alimentadas duas vezes ao dia, as 9:00 e 16:00 horas.

Após 15 e 35 dias foram realizadas biometrias de todos os animais, assim como determinada a sobrevivência. Para a biometria, as larvas foram anestesiadas em solução de eugenol (80 mg L⁻¹) e realizadas medidas de peso e comprimento como descrito anteriormente, sendo, posteriormente, retornados para o cultivo (Cordeiro et al., 2016).

Tabela 3. Concentrações diárias de náuplios de artemia (P) (náuplios larva⁻¹) oferecido às larvas de *Hypsolebias radiseriatus* durante 35 dias de alimentação, para as diferentes salinidades testadas.

Tratamentos	Período de alimentação						
	1 – 5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35
	dias	dias	dias	dias	dias	dias	dias
Concentrações diárias de presas (náuplios larva ⁻¹)							
P ₁₀₀	100	150	225	338	506	760	1.139
P ₃₀₀	300	450	675	1.013	1.520	2.280	3.420
P ₅₀₀	500	750	1.125	1.688	2.532	3.798	5.697

Diariamente, antes do fornecimento da alimentação das 16 h, era feita a renovação de aproximadamente 50% do volume de água das unidades experimentais. Para a renovação, águas nas diferentes salinidades foram preparadas separadamente de acordo com os tratamentos e na mesma temperatura do cultivo. Os parâmetros da água (pH e amônia total) foram verificados diariamente pela manhã, antes da alimentação. Os valores de amônia foram medidos por meio de kit colorimétrico comercial (Alcon Labcon, Camboriú, Brasil) e os de pH como descrito anteriormente.

Estatística

Os dados do experimentos 1 e 2 foram submetidos a ANOVA e posterior teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de sobrevivência do experimento 1 e 2 sofreram transformação arcoseno antes de serem analisados. Os dados do experimento 3 foram submetidos a ANOVA Fatorial e posterior teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de sobrevivência do experimento 3 sofreram transformação arcoseno antes de serem analisados.

RESULTADOS

Experimentos I e II

Na tabela 4 são apresentados os resultados de sobrevivência, peso e comprimento após 96 h para os testes de choque osmótico (experimento I) e aclimação gradual (experimento II). Nos dois experimentos a sobrevivência sofreu influência apenas na salinidade de 8 g de sal L⁻¹ (P<0,01). Para o peso, larvas submetidas ao choque osmótico apresentam redução a partir de 6 g de sal L⁻¹, enquanto que após a aclimação gradual não há diferença entre os tratamentos (P>0,05). O comprimento também foi afetado (P<0,05) somente na salinidade de 8 g L⁻¹ no tratamento com choque osmótico, sem diferença quando da aclimação (P>0,05).

Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) da sobrevivência (%), peso (mg) e comprimento total (CT) (mm) de larvas de *Hypsolebias radiseriatus* após 96 horas de iniciado o teste de tolerância ao choque osmótico (Experimento I) e à aclimação gradual (Experimento II) em diferentes salinidades.

Variáveis	Salinidade da água (g de sal L ⁻¹)				
	Água doce	2	4	6	8
	Choque osmótico (Experimento I)				
Sobrevivência	100,0 a	100,0 a	93,3 \pm 0,58 a	86,7 \pm 1,15 a	43,3 \pm 1,52 b
Peso	0,99 \pm 0,06 a	0,78 \pm 0,07 ab	0,88 \pm 0,04 ab	0,69 \pm 0,07 b	0,64 \pm 0,13 b
CT	4,94 \pm 0,06 a	4,83 \pm 0,06 ab	4,78 \pm 0,18 ab	4,79 \pm 0,01 ab	4,60 \pm 0,05 b
	Aclimação gradual (Experimento II)				
Sobrevivência	100,0 a	100,0 a	100,0 a	93,3 \pm 1,15 a	76,6 \pm 0,58 b
Peso	0,92 \pm 0,07 a	0,76 \pm 0,10 a	0,71 \pm 0,04 a	0,66 \pm 0,20 a	0,71 \pm 0,13a
CT	4,96 \pm 0,08 a	4,85 \pm 0,06 a	4,83 \pm 0,15 a	4,82 \pm 0,067 a	4,74 \pm 0,08 a

Médias seguidas pela mesma letra, em linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($P>0,05$)

Experimento III

Durante a larvicultura, o pH não apresentou efeito da salinidade, concentração de presas e da interação entre estes fatores ($P>0,05$) (Tabela 5). Para amônia total não houve efeito da salinidade e da interação S x P ($P>0,05$), porém foi verificado efeito ($P<0,01$) da concentração de presas com maiores valores para P_{500} .

Tabela 5. Variáveis físico-químicas da água nas diferentes salinidades (S) e concentração de presas (P) utilizadas na larvicultura de *H. radiseriatus*.

Estatística	Valores de F	
	pH	Amônia total
Salinidade (S)	2,84 ^{ns}	0,60 ^{ns}
Conc. De presa(P)	1,37 ^{ns}	17,06 ^{**}
Inter SxP	2,83 ^{ns}	2,61 ^{ns}
Salinidade	Médias	
S ₀	6,90±0,11	0,44±0,27
S ₂	6,85±0,10	0,56±0,37
S ₄	6,95±0,08	0,58±0,65
Concentração de Presas	Médias	
P ₁₀₀	6,86±0,12	0,17±0,18b
P ₃₀₀	6,91±0,09	0,47±0,23b
P ₅₀₀	6,93±0,10	0,94±0,46a

Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). *($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); ns (não significativo).

Na tabela 6 são apresentados os dados de desempenho e sobrevivência durante a larvicultura de *H. radiseriatus*. A sobrevivência após 15 dias sofreu efeito somente da salinidade ($P < 0,01$) com menores valores para S₄ (Tabela 6). Após 35 dias a sobrevivência foi influenciada pela salinidade ($P < 0,01$) e pela concentração de presas ($P < 0,05$), sem efeito da interação ($P > 0,05$). A pior sobrevivência foi para S₄ e para P₁₀₀.

Após 15 dias, o comprimento total apresentou efeito da salinidade, da concentração de presas e de interação entre estes fatores ($P < 0,01$). Para cada concentração de presas, os piores valores foram verificados para a maior salinidade da água testada (Tabela 7). Já, para S₀ e S₂, o pior comprimento foi para P₁₀₀, enquanto que para S₄ o maior comprimento foi para P₃₀₀. Após 35 dias o comprimento não apresentou efeito da salinidade, concentração de presas e da interação entre os fatores ($P > 0,05$). Porém foi verificada maior heterogeneidade dos animais.

Para o peso após 15 dias, verificou-se efeito da salinidade ($P < 0,01$), concentração de presas ($P < 0,01$) e da interação S x P ($P < 0,05$) (Tabela 6). Em S₀ e S₂ o maior peso foi para a maior P₅₀₀ ($P < 0,05$), enquanto que para S₄ os pesos foram semelhantes ($P > 0,05$) (Tabela 7). Dentro do tratamento P₁₀₀ não há diferença entre os animais ($P > 0,05$). Porém, para P₃₀₀ e P₅₀₀

o maior peso foi na salinidade S_2 ($P < 0,05$). Com 35 dias, o peso foi influenciado somente pela concentração de presas ($P < 0,05$) com maiores valores para P_{500} (Tabela 6).

A TCE durante os primeiros 15 dias de larvicultura teve efeito da salinidade ($P < 0,01$) e da concentração de presas ($P < 0,01$), mas sem interação ($P > 0,05$) (Tabela 6). A menor TCE foi verificada para S_4 e P_{100} . Durante 16 a 35 dias, a TCE não apresentou efeito da salinidade, concentração de presas e da interação entre os fatores ($P > 0,05$).

Tabela 6. Valores de F e valores médias (\pm desvio padrão) de comprimento total (CT) (mm), peso (mg), taxa de crescimento específico diária (% dia⁻¹) (TCE) e sobrevivência (%) durante a larvicultura de *Hypsolebias radiseriatus* em diferentes salinidades da água (S) e concentrações de presas (P)

Estatística	Valores de F							
	CT 15 dias	CT 35 dias	Peso 15 dias	Peso 35 dias	TCE 1-15 dias	TCE 16-35 dias	Sobrevivência 15 dias	Sobrevivência 35 dias
Salinidade (S)	53,30 **	1,70 ns	20,00 **	0,27 ns	13,39 **	1,06 ns	25,55 **	33,48 **
Concentração de Presas (P)	44,68 **	2,12 ns	29,47 **	4,05 *	20,43 **	0,02 ns	1,65 ns	4,62 *
Interação S x P	7,19 **	0,07 ns	3,82 *	0,19 ns	0,97 ns	0,69 ns	0,21 ns	1,05 ns
Médias por concentração de sal (S)								
S ₀	12,18 \pm 1,40	15,57 \pm 1,86	19,49 \pm 7,88	40,65 \pm 13,37	19,91 \pm 2,99a	3,82 \pm 1,24	93,06 \pm 9,08a	79,17 \pm 8,84a
S ₂	12,85 \pm 12,43	15,84 \pm 0,02	25,87 \pm 12,43	46,83 \pm 20,35	21,56 \pm 3,62a	3,11 \pm 1,23	87,50 \pm 12,50a	80,56 \pm 12,67a
S ₄	9,51 \pm 2,11	12,06 \pm 2,25	11,96 \pm 5,91	39,33 \pm 34,42	16,28 \pm 4,07b	4,71 \pm 3,36	52,78 \pm 15,02b	43,06 \pm 15,45b
Médias por quantidade de presas (P)								
P ₁₀₀	9,65 \pm 1,19	11,94 \pm 4,71	9,86 \pm 3,39	24,60 \pm 15,40b	15,42 \pm 3,09b	3,86 \pm 2,54	72,22 \pm 21,45	61,11 \pm 17,05b
P ₃₀₀	12,43 \pm 1,19	14,96 \pm 5,88	21,03 \pm 5,55	49,07 \pm 24,85ab	20,76 \pm 1,86a	3,97 \pm 2,48	77,78 \pm 23,20	65,28 \pm 24,83ab
P ₅₀₀	12,47 \pm 17,89	16,57 \pm 0,02	26,43 \pm 12,55	53,15 \pm 20,83a	21,59 \pm 4,11a	3,97 \pm 2,48	83,33 \pm 21,65	76,39 \pm 21,14a
CV%	6,31	33,46	24,4	54,44	11,51	60,20	16,66	16,31

Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical não diferiram pelo teste de Tukey (P>0,05). *(P< 0,05); ** (P<0,01); ns (não significativo).

Tabela 7. Valores médios (\pm desvio padrão) do desdobramento da interação para comprimento total e peso após 15 dias da larvicultura de *Hypsolebias radiseriatus*

Salinidade (g de sal L ⁻¹)	Concentração diária de presas		
	P ₁₀₀	P ₃₀₀	P ₅₀₀
	Comprimento total (mm) – 15 dias		
S ₀	10,48 \pm 0,13 Ba	12,43 \pm 0,18 Aab	13,64 \pm 0,45Aa
S ₂	10,21 \pm 0,37 Ba	13,65 \pm 0,56 Aa	14,70 \pm 0,87Aa
S ₄	8,25 \pm 1,03Bb	11,21 \pm 0,93Ab	9,07 \pm 1,17Bb
	Peso (mg) – 15 dias		
S ₀	10,39 \pm 0,88Ba	20,32 \pm 3,48Aab	27,75 \pm 2,83Ab
S ₂	12,30 \pm 3,15Ca	26,81 \pm 2,65 Ba	38,51 \pm 9,13Aa
S ₄	6,89 \pm 3,56Aa	15,97 \pm 3,88Ab	13,03 \pm 6,88Ac

Médias seguidas pelas mesmas letras (A, B para linhas e a, b, c para colunas) não diferem pelo teste Tukey (P>0,05)

DISCUSSÃO

A sobrevivência de *H. radiseriatus* foi afetada negativamente na salinidade de 8 g de sal L⁻¹ tanto para o choque osmótico como para a aclimação gradual. Em larvas de *Rhamdia quelen*, no início da alimentação exógena, a taxa de sobrevivência para o teste de tolerância a salinidade de 96 h sem aclimação, começou a sofrer influência a partir de 6 g de sal L⁻¹ (Fabregat et al., 2015), enquanto em larvas de *L. alexandri* recém eclodidas a sobrevivência foi de 100% até 4 g de sal L⁻¹ e com mortalidade total a 6 g de sal L⁻¹ (Luz e Santos 2008a). Os resultados indicam que a tolerância a salinidades é espécie-específica. Contudo, no presente estudo, a aclimação a salinidade de 8 g de sal L⁻¹ proporcionou melhor sobrevivência quando comparada com a do choque osmótico. Desta forma, a aclimação gradual favoreceu uma melhor adaptação das larvas durante o processo de osmorregulação.

Nos testes de salinidade (experimentos I e II), também fica evidente o efeito negativo do choque osmótico no peso das larvas a partir de 6 g de sal L⁻¹, em relação a aclimação gradual onde não houve diferença entre os tratamentos. Este fato também indica que larvas de *H. radiseriatus* se adaptaram melhor às diferentes salinidades quando da aclimação. No geral, quando peixes são submetidos a salinidades acima das suas concentrações corporais há o desencadeamento de uma série de processos de respostas fisiológicas que envolvem gastos energéticos, necessários para o restabelecimento do equilíbrio osmótico (Boeuf e Payan 2001). Estes processos podem ser classificados como primários, com alterações das secreções hormonais (Almazán-Rueda et al., 2005), secundários quando envolvem alterações no metabolismo (Legras et al., 2000) e terciários com a queda do rendimento produtivo e resistência a doenças (Bonga, 1997). Portanto, no presente estudo, fica demonstrado que a aclimação gradual pode proporcionar melhores respostas dos processos fisiológicos de adaptação em curto prazo, tornando possível o melhor aproveitamento dos benefícios do uso do sal na fase de larvicultura, fato que deve ser comprovado para outras espécies estenohalinas.

Durante a larvicultura (experimento III), a qualidade da água se manteve em relação ao pH, indicando que tanto a salinidade como as concentrações de presas testadas não afetaram este parâmetro. Contudo, para amônia total o aumento na concentração de presas levou a piora na qualidade da água, independente da salinidade testada. Este fato se deve a maior quantidade de alimento oferecida, como também a maior excreção de fezes pelos

animais. Resultados semelhantes foram registrados na larvicultura de *P. corruscans*, *P. costatus*, *L. alexandri* (Santos e Luz, 2009) e *H. larcedae* (Luz e Portella, 2015) quando do uso de maiores concentrações de presas. No entanto, a maior concentração deste composto não prejudicou o desempenho das larvas no presente estudo ao final de 35 dias de cultivo. Porém, é conhecido que a alta concentração de amônia no cultivo de organismos aquáticos pode trazer diminuição na sobrevivência, inibição do crescimento e aumentar o risco de doenças (Tomasso, 1994). Desta forma, os manejos de limpeza a serem adotados, quando do uso de maiores concentrações de presas, devem ser diferenciados, como por exemplo, com maior troca de água para a manutenção de sua qualidade. Neste sentido, também são importantes estudos para a determinação da tolerância de larvas de *H. radiseriatus* a amônia total em diferentes condições de cultivo.

Contudo, cabe destacar que durante os primeiros 15 dias de larvicultura, o peso das larvas a 2 g de sal L⁻¹ foi melhor, comparado a água doce e 4 g de sal L⁻¹ na maior concentração de presas testada. É conhecido que a adição de sal na água reduz o nível de amônia no sangue em peixes (Kubitza e Kubitza, 1999). Este fato pode ter contribuído para o melhor desempenho das larvas de *H. radiseriatus* em níveis mais elevados de amônia total na concentração de até 2 g de sal L⁻¹. Além disso, a 4 g de sal L⁻¹ o efeito negativo pode ter sido potencializado por esta salinidade. A salinidade de 4 g de sal L⁻¹ também prejudicou o desempenho de larvas de *L. alexandri* em maiores densidades (60 larvas L⁻¹) de estocagem comprada ao cultivo em salinidade de 2 g de sal L⁻¹ na mesma densidade (Luz e Santos, 2008b). Segundo os autores, o pior desempenho pode ser consequência do efeito negativo associado da maior salinidade e da maior densidade de estocagem testada.

Durante os primeiros 15 dias de alimentação as diferentes concentrações de presas não tiveram efeito sobre a sobrevivência larval de *H. radiseriatus*. Resultados semelhantes foram verificados para *P. corruscans* nos primeiros cinco dias de alimentação e *P. costatus* e *L. alexandri* nos primeiros 10 dias de alimentação (Santos e Luz, 2009), para *R. aspera* nos primeiros 7 dias de alimentação (Santos et al., 2011) e para *H. larcedae* nos primeiros 15 dias de alimentação (Luz e Portella, 2015). Estes trabalhos indicam que nas espécies estenohalinas estudadas, a sobrevivência não é afetada pela concentração de presas durante a fase inicial do desenvolvimento. Entretanto dos 16 aos 35 dias de alimentação a concentração de presas inicial de P₅₀₀ influenciou positivamente na sobrevivência de *H. radiseriatus*. Este fato pode ser devido a falta de alimento com o desenvolvimento dos animais nas menores concentrações de presas, fato que também se

reflete no menor peso dos animais. Assim, são necessários testes com maiores concentrações de presas a partir desta idade. Além disso, nos protocolos de cultivos de espécies de água doce, as larvas recebem alimento vivo, geralmente, até duas semanas, quando se inicia o fornecimento de dietas formuladas. Este fato restringe o conhecimento da quantidade ideal de alimento a ser oferecida para tempos maiores de cultivo para várias espécies.

Com relação à salinidade da água, a sobrevivência foi prejudicada somente na salinidade de 4 g de sal L⁻¹ aos 15 e 35 dias. Estes dados estão de acordo com a tolerância inicial ao choque osmótico verificado no experimento I. Ainda, apesar da maior tolerância quando da aclimação gradual (experimento II), em longos períodos de manutenção na salinidade de 4 g de sal L⁻¹ esta pode ser prejudicial aos animais. A diminuição da taxa de sobrevivência em salinidades mais altas é uma característica das espécies estenohalinas e estão relacionadas ao aumento dos gastos energéticos necessário nos processos de osmorregulação (Kilambi, 1980). Como no presente estudo, para outras espécies de água doce a salinidade de 2 g de sal L⁻¹ pode ser utilizada durante a larvicultura de *H. lacerdae* (Luz e Portella, 2002) *L. alexandri* (Luz e Santos 2008b), *P. corruscans* (Santos e Luz, 2009), *P. mesopotamicus* (Jomori et al., 2012) e *R. quelen* (Fabregat et al., 2015).

De forma geral P₃₀₀ e P₅₀₀ em água doce ou a 2 g de sal L⁻¹ proporcionaram maiores valores de comprimento, enquanto o maior peso foi verificado em P₅₀₀ e S₂ após 15 dias de larvicultura de *H. radiseriatus*. Assim como para a sobrevivência, a salinidade de 4 g de sal L⁻¹ não deve ser recomendada nesta fase inicial por prejudicar também o desempenho. Na larvicultura de outras espécies de água doce, também registrou-se efeito destes manejos no desempenho. Para *P. costatus*, durante os primeiros 10 dias de cultivo, a concentração inicial de presas 900 náuplios larva⁻¹ proporcionou maior desempenho podendo ser utilizada a salinidade de até 4g de sal L⁻¹ (Santos e Luz, 2009). Os mesmos autores verificaram também que, para *P. corruscans* nos primeiros cinco dias de cultivo, a salinidade de 2 g de sal L⁻¹ proporcionou maior desempenho, porém, sem diferença das concentrações de presas testadas. Ainda, segundo os autores, a larvicultura de *L. alexandri*, durante os primeiros 10 dias de alimentação tem melhor desempenho para a maior concentração de presas testada na salinidade de até 2 g de sal L⁻¹. Segundo Jomori et al. (2013) larvas de *Colossoma macropomum* apresentaram maior crescimento na salinidade de até 2 g de sal L⁻¹ com a concentração inicial diária de presas utilizada de 500 náuplios larva⁻¹. Em larvas de *Astronotus ocellatus*, os mesmos autores registraram melhores

valores de peso e comprimentos na maior concentração de presas testa e salinidade de 2 g de sal L⁻¹. Para larvas de *Brycon amazonicus*, estes autores verificaram desempenho semelhante entre as concentrações iniciais de presas testadas, porém com melhor desempenho na salinidade de 2 g de sal L⁻¹. Já, para larvas de *Leporinus macrocephalus* Jomori et al. (2013), verificaram maiores valores para peso e comprimento na salinidade de 4 g de sal L⁻¹ e na maior concentração de presas testada. Salinidade de até 4 g de sal L⁻¹ também pode ser utilizada na larvicultura de *H. lacerdae* (Luz e Portella, 2002). Como apresentado, a salinidade e a concentração diária de presa ideal dependem da espécie, ressaltando a importância deste estudo para os melhores manejos a serem adotados na larvicultura de *H. radiseriatus*.

Contudo, após 35 dias de alimentação, os manejos não influenciaram mais o comprimento das larvas de *H. radiseriatus*, Porém, o peso ainda foi maior para a maior concentração de presas, mas sem efeito da salinidade. A heterogeneidade dos animais foi verificada na maior salinidade, fato que denota que alguns animais se adaptaram melhor que outros se aproveitando melhor do alimento oferecido. Outro ponto a ser considerado é que foi verificado que as larvas apresentaram maior crescimento em termos de altura, o que reflete em peso e não em comprimento.

Durante os primeiros 15 dias de alimentação, as maiores concentrações de presas proporcionaram maior TCE de *H. radiseriatus*. Resultados semelhantes foram encontrados para *H. lacerdae* (Luz e Portella, 2015) *P. corruscans*, *P. costatus* e *L. alexandri* (Santos e Luz, 2009). Posteriormente, entre os dias 16-35 de alimentação, a concentração de presas não influenciou mais a taxa de crescimento.

Assim como para a sobrevivência e peso, a salinidade de 4 g de sal L⁻¹ influenciou negativamente a TCE. Esta salinidade também diminuiu a TCE na larvicultura inicial de *L. alexandri* e *P. corruscans* (Luz e Santos, 2008b; Santos e Luz, 2009). Contudo, devido ao reflexo da heterogeneidade de tamanhos nesta fase na maior salinidade e assim como para o peso, as TCE entre 16-35 dias de alimentação não sofreram efeito das diferentes salinidades.

Este foi o primeiro estudo de larvicultura de *H. radiseriatus* onde esta pode ser realizada na salinidade de até 2 g de sal L⁻¹, com a maior concentração de presas testada neste experimento durante 35 dias.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brasil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brasil), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG-Brasil), Pró-Reitoria de Pesquisa (PRPq-UFMG-Brasil) Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (FZB-BH-Brasil). R.K. Luz é bolsistas do CNPq-Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almazán-Rueda, P., Van Helmond, A. T., Verreth, J. A. J., Schrama, J. W., 2005. Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology* 67:1029-1039.
- Boeuf, G., Payan, P., 2001. How should salinity influence fish growth?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130:411-423.
- Bonga, S. W. , 1997. The stress response in fish. *Physiological reviews* 77:591-625.
- Costa, W.J.E.M. Catalog of aplocheiloid killifishes of the world. 2008. Laboratório de Ictiologia Geral e Aplicada, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Costa, W.J.E.M., Amorim, P.F., Braganca, P.H.N., 2014. Species limits and phylogenetic relationships of red-finned cryptic species of the seasonal killifish genus *Hypsolebias* from the Brazilian semi-arid Caatinga (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 52:52-58.
- Cordeiro, N. I. S., Costa, D. C., S e Silva, W., Takata, R., Miranda-Filho, K. C., Luz, R. K., 2016. High stocking density during larviculture and effect of size and diet on production of juvenile *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes: Pseudopimelodidae). *Journal of Applied Ichthyology* 32:61-66.
- Fabregat, T. E. H. P., Damian, J., Fialho, N. S., Costa, D., Broggi, J. A., Pereira, R. G., Takata, R., 2015. Toxicidade aguda ao sal comum e larvicultura intensiva do jundiá *Rhamdia quelen* em água salobra. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 67:547-554.
- Fashina-Bombata, H. A., Busari, A. N., 2003. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture* 224:213-222.
- Fonseca, A.P.D., Volcan, M.V., Sampaio, L.A., Romano, L. A., Robaldo, R. B., 2013. Growth of Critically Endangered annual fish *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) at different temperatures. *Neotropical Ichthyology* 11:837-844.
- Kilambi, R.V., 1980. Food consumption, growth and survival of grass carp *Ctenopharyngodon idella* Val at four salinities. *Journal of Fish Biology* 17:613-618.

- Kubitza, F., Kubitza, L. M. M., 1999. Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados. Jundiaí: Ed. Degaspari, p.96.
- Icmbio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade)., 2013. Sumário Executivo do Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Peixes Rivulídeos Ameaçados de Extinção. Brasília. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-rivulideos/sumario-executivo-rivulideos.pdf>>. Acessado em março de 2016.
- Jomori, R.K., Luz, R.K., Portella, M.C., 2012. Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a fresh waters species. Journal of the World Aquaculture Society 43:423-432.
- Jomori, R. K., Luz, R. K., Takata, R., Fabregat, T. E. H. P., Portella, M. C., 2013. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. Pesquisa Agropecuária Brasileira 48:809-815.
- Legras, S., Mouneyrac, C., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Rainbow, P. S., 2000. Changes in metallothionein concentrations in response to variation in natural factors (salinity, sex, weight) and metal contamination in crabs from a metal-rich estuary. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 246:259-279.
- Luz, R.K., Portella, M.C., 2002. Larvicultura de trairão (*Hoplias lacerdae*) em água doce e água salinizada. Revista Brasileira de Zootecnia 31:829-834.
- Luz, R.K., Santos, J.C.E. dos., 2008a. Avaliação da tolerância de larvas do pacamã *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1877 (Pisces: Siluriformes) a diferentes salinidades. Acta Scientiarum. Biological Science 30:345-350.
- Luz, R.K., Santos, J.C.E dos., 2008b. Densidade de estocagem e salinidade da água na larvicultura do pacamã. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43:903-909.
- Luz, R.K., Santos, J.C.E., 2010. Effect of salt addition and feeding frequency on cascudo preto *Rhinelepis aspera* (Pisces: Loricariidae) larviculture. Journal of Applied Ichthyology 26:453-455.
- Luz, R. K., Santos, A. E. H., Melillo Filho, R., Turra, E. M., Teixeira, E. A., 2013. Larvicultura de tilápia em água doce e água salinizada. Pesquisa Agropecuária Brasileira 48:1150-1153.
- Luz, R.K., Portella, M. C., 2015. Effect of prey concentrations and feed training on production of *Hoplias lacerdae* juvenile. Anais da Academia Brasileira de Ciências 87:1125-1132.

- Patterson, J., Ohs, C., O'Malley, P., Palau, A., D'Abramo, L., Reigh, R., Green, C., 2016. Feeding larval gulf killifish: total replacement of *Artemia* nauplii and co-feeding from hatch. *North American Journal of Aquaculture* 78:396-404.
- Podrabsky, J.E., Garrett, I.D.F., Kohl, Z.F., 2010. Alternative developmental pathways associated with diapause regulated by temperature and maternal influences in embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*. *The Journal of Experimental Biology* 213:3280-3288.
- Ponzetto, J. M., Britzke, R., Nielsen, D. T., Parise-Maltempi, P. P., Alves, A. L., 2016. Phylogenetic relationships of *Simpsonichthys* subgenera (Cyprinodontiformes, Rivulidae), including a proposal for a new genus. *Zoologica Scripta* 4:394-406.
- Tomasso, J. R., 1994. Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews in Fisheries Science* 2:291-314.
- Santos, J.C.E., Luz, R.K., 2009. Effect of salinity and prey concentrations on *Pseudoplatystoma corruscans*, *Prochilodus costatus* and *Lophiosilurus alexandri* larviculture. *Aquaculture* 287:324-328.
- Santos, JCE, Pedreira, M. M., Luz, R. K., 2011. The effect of stocking density, prey concentration and feeding on *Rhinelepis aspera* (Spix & Agassiz, 1829) (Pisces: Loricariidae) larviculture. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 34:133-139.
- Santos, J. C. E., de Souza Correia, E., Luz, R. K., 2015. Effect of daily artemia nauplii concentrations during juvenile production of *Lophiosilurus alexandri*. *Boletim do Instituto de Pesca* 41:771-776.
- Volcan, M.V., Fonseca, A.P.D., Figueiredo, M.R.C Sampaio, L. A., Robaldo, R. B., 2012. Effect of temperature on growth of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* Costa & Cheffe 2001. *Biota Neotropica* 12:68-73.
- Wang, Y., Guo, Q., Zhao, H., Liu, H., Lu, W., 2015. Larval development and salinity tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) from hatching to juvenile settlement. *Aquaculture Research* 46:1878-1890.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A larvicultura de *H. radiseriatus* pode ser realizada na salinidade de até 2 g de sal L⁻¹, com uma concentração de presas inicial de 500 nauplios larva⁻¹ durante os primeiros 35 dias . No entanto, maiores concentrações de presas devem ser testadas em trabalhos futuros.

A densidade de 4 larvas de L⁻¹ usada durante a larvicultura de *H. radiseriatus* no presente trabalho mostrou-se satisfatória do ponto de vista do desempenho e sobrevivência, porém é necessário testar densidades diferentes para se saber o real efeito que ela exerce no cultivo dessa espécie.