

DM  
CARV./

INSTITUTO SUPERIOR DE PSICOLOGIA APLICADA  
MESTRADO EM ETOLOGIA

TESE DE MESTRADO

Padrões de Actividade e Distribuição Espacial,  
Reprodução e Desenvolvimento Embrionário e Larvar  
em *Chondrostoma lusitanicum* Collares-Pereira, 1980

Vera Susana Dias Carvalho – N° 1330

Orientador: Vitor Almada

*Instituto Superior de Psicologia Aplicada*



2001

ISPA | Instituto Superior de Psicologia Aplicada  
Centro de  
Documentação  
Registo: 14529  
Data: 20/11/2003  
Tel.: 21 881 17 50 • bibli@ispa.pt

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Vitor Almada (Instituto Superior de Psicologia Aplicada), orientador desta tese, por todo apoio e entusiasmo com que acompanhou a realização deste trabalho, pelas críticas e sugestões que foi apresentando ao longo do mesmo e pela revisão do relatório final.

À Doutora Joana Robalo (Instituto Superior de Psicologia Aplicada), pela forma como disponibilizou a inclusão neste estudo dos trabalhos que temos vindo a realizar nesta área.

Ao Doutor João Paulo Fonseca (Parque Natural Sintra-Cascais –ICN) pela forma como tentou viabilizar a realização de uma parte deste estudo, nomeadamente na disponibilidade de local para a realização das experiências.

Aos meus colegas da Unidade de Eco-Etologia (Instituto Superior de Psicologia Aplicada), em especial, à Cláudia Faria e à Rita Borges pelo apoio emocional e ajuda neste trabalho, nomeadamente no que concerne ao desenvolvimento.

Ao João Paulo Matos e ao Sr. Miranda (Parque Natural Sintra-Cascais –ICN), os quais se revelaram ser uma ajuda preciosa tanto na captura de peixes na Ribeira da Samarra, como na sua manutenção em cativeiro, disponibilizando-se sempre a tentar ultrapassar alguns problemas que foram surgindo no decurso do trabalho.

À Mami e à Laró pela forma como me têm acompanhado e incentivado ao longo do meu percurso académico.

Ao Varito, pelo apoio moral, pelo enorme incentivo, pela forma como respeita e aprecia o meu trabalho e acima de tudo, por estar sempre por perto, nos bons e maus momentos.

## Índice

Introdução.....	1
Métodos.....	7
Captura e manutenção de exemplares em cativeiro.....	7
Padrões de actividade e distribuição espacial.....	8
Estudo preliminar do comportamento reprodutor.....	9
Desenvolvimento embrionário e larvar.....	10
Resultados.....	12
Padrões de actividade e distribuição espacial.....	12
Estudo preliminar do comportamento reprodutor.....	18
Desenvolvimento embrionário e larvar.....	20
Fase de embrião livre.....	21
Período larvar.....	25
Discussão.....	30
Referências bibliográficas.....	42
Anexos.....	50
Anexo A.....	51
Anexo B.....	52

Anexo C.....	53
Anexo D.....	54

## Resumo

O presente trabalho pretendeu dar um contributo para o conhecimento de alguns aspectos biológicos, e nomeadamente, comportamentais em *Chondrostoma lusitanicum*, um pequeno ciprinídeo endémico nas nossas águas continentais, o qual possui o estatuto de raro e cujas populações em algumas das áreas da sua distribuição se encontram em declínio. Entre outros, foram caracterizados os padrões de distribuição espacial e actividade em indivíduos pertencentes a diferentes classes de tamanho, descritos os comportamentos básicos envolvidos na reprodução desta espécie, bem como o seu desenvolvimento nos primeiros estádios da ontogenia.

Os exemplares utilizados neste estudo foram capturados na Ribeira da Samarra, local onde esta espécie ainda é relativamente abundante, e colocados em aquários sujeitos a diferentes condições de temperatura e fotoperíodo. Verificaram-se no decurso deste estudo, diferenças na ocupação do espaço entre os juvenis e os indivíduos adultos desta espécie.

No aquário mantido no exterior e sujeito a condições de temperatura e fotoperíodo naturais, os adultos apresentam uma clara preferência pela proximidade do substrato, enquanto os juvenis tendem a ser encontrados com maior frequência do que seria de esperar numa distribuição ao acaso, junto à superfície. A ocupação da superfície e a utilização da vegetação aí existente parecem ser uma resposta à predação, apesar de não terem sido observados ataques dirigidos aos juvenis, por parte dos adultos.

O facto de à temperatura de 10° C, os indivíduos adultos apresentarem uma menor mobilidade, um maior confinamento junto ao fundo e uma associação clara com a vegetação rasteira aí existente, a qual os torna pouco visíveis, deve ser a razão para uma maior ocorrência dos juvenis a meia água, o que vem apoiar a hipótese de que a predação será o principal factor a determinar as diferenças de ocupação do espaço, por parte dos indivíduos de diferentes dimensões. Apesar da inexistência de estudos que caracterizem a ocupação do habitat natural por parte desta espécie,

pensa-se que a um leque mais variado de locais disponíveis na natureza, deverá corresponder uma ocupação diferente, sendo a maior ocorrência dos juvenis à superfície, um constrangimento das condições de cativeiro.

Estas observações permitiram ainda verificar a formação de agregações por parte dos indivíduos de *Ch. lusitanicum*, as quais estão associadas a uma diminuição na temperatura. Como a esta diminuição corresponde também um decréscimo na actividade dos indivíduos, os quais tendem a manter-se em locais com vegetação no substrato (que constitui um recurso limitado), leva a crer que neste caso particular, as agregações que se estabeleceram nestas condições de cativeiro, não têm qualquer função óbvia.

Foram analisados os comportamento básicos que ocorrem durante a reprodução desta espécie em cativeiro. A reprodução destes animais caracteriza-se por uma enorme actividade e interacções entre os indivíduos, sendo as sequências de acasalamento extremamente rápidas, não excedendo os 60 seg. Não se observaram diferenças entre os sexos na ocupação do espaço (pelo menos nestas condições), nem o estabelecimento de territórios por parte dos machos. Durante o acasalamento, os machos aproximam-se das fêmeas, efectuando com o focinho toques sucessivos na região urogenital e flancos das fêmeas. Este comportamento é frequentemente realizado por vários machos em simultâneo, não se tendo verificado comportamentos agonísticos óbvios entre eles. A libertação dos gâmetas ocorre com a realização de um estremecimento simultâneo por parte dos indivíduos, tendo-se verificado a tentativa de fertilização dos ovos por parte de machos que não tinham estado envolvidos na corte.

Um facto a salientar nesta espécie, é a exibição das fêmeas durante a época de reprodução, a qual se caracteriza por uma movimentação constante da região posterior da fêmea e parece ter uma função de atracção para os machos.

Com base na Teoria Saltatória da Ontogenia, foram descritos os diferentes passos do desenvolvimento embrionário e larvar de *Ch. lusitanicum*. Os ovos desta espécie são esféricos com um diâmetro médio de 1,9 mm.

Neste estudo, a eclosão da maioria dos embriões deu-se 6 dias após a activação e parece ter sido influenciada por um aumento súbito na temperatura. Ao eclodirem os embriões apresentavam um vitelo de grandes dimensões, o corpo quase desprovido de pigmentação e rodeado por uma prega média. Ainda durante o período embrionário, ocorreu o enchimento da bexiga gasosa, o qual se deu 10 dias após a activação.

A fase larvar teve início 11 dias após a activação com o início da alimentação exógena e o segundo passo ocorre 2 dias depois com o desaparecimento completo do vitelo. A formação dos primeiros raios da dorsal marcam o início do 3º passo desta fase, a qual ocorreu 23 dias após a activação. O passo seguinte inicia-se 35 dias depois da fertilização, quando se dá o enchimento da câmara anterior da bexiga gasosa. O último passo que foi possível distinguir no desenvolvimento desta espécie foi o aparecimento das primeiras escamas na região ventral das larvas e a diferenciação das barbatanas dorsal e anal, as quais atingem o número final de raios, que ocorreu 55 dias após a activação dos ovos.

São discutidos entre outros, os problemas no estabelecimento dos passos do desenvolvimento, a comparação entre diferentes espécies e os constrangimentos destas fases iniciais da ontogenia dos indivíduos.

De uma forma geral, é defendida a importância destes estudos para um conhecimento mais profundo da biologia destas espécies e para a tomada de medidas de conservação, as quais começam a ser prementes dado o estado actual em que muitas das espécies nativas do nosso país se encontram.

## Introdução

A Família Cyprinidae, a maior e mais bem sucedida família de peixes de água doce primários encontra-se representada na Europa, Ásia, África e América do Norte. Na Península Ibérica, esta família ocupa, no domínio da ictiofauna continental, um papel primordial pela sua diversidade específica e abundância relativas (Coelho & Collares-Pereira, 1990). O mesmo acontece noutras penínsulas meridionais, em que o grande número de endemismos é consequência directa de fenómenos de especiação e hibridação (Collares-Pereira, 1983; Elvira *et al*, 1990).

Muitas das espécies indígenas portuguesas estão classificadas como espécies ameaçadas, no Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (SNPRCN, 1992) e as suas populações encontram-se em declínio. Este facto, está intimamente ligado à forte pressão antropogénica que as águas continentais têm vindo a sofrer nos últimos anos. Uma das principais acções humanas que tem vindo a afectar a fauna ictiológica é a destruição do habitat, consequência da construção de barragens e estabelecimento de enormes albufeiras, da regularização dos cursos de água e da sua captação para projectos de agricultura, a qual tem provocado grandes impactos sobre os peixes em geral e sobre as espécies autóctones em particular (Elvira, 1996).

As consequências mais graves destas actividades são a interrupção dos movimentos naturais dos animais e consequente diminuição do fluxo genético entre as populações, bem como a destruição e perda de acesso aos locais de desova, o que põe em causa a sobrevivência das espécies (Elvira, 1995; Meffe, 1990).

A fragmentação dos cursos dos rios e o abaixamento dos níveis de água pode também favorecer a hibridação dos *taxa* nativos (Elvira, 1996) como são exemplo *Chondrostoma lemmingii* x Complexo *Rutilus alburnoides*; *Ch. polylepis* x Complexo *R. alburnoides*; *Ch. polylepis* x *Ch. lusitanicum*; *Ch. polylepis* x *R.*

*arcasii*; *Ch. polylepis* x *R. macrolepidotus* (Collares-Pereira, 1983), *Ch. polylepis* x *Ch. lemmingii* (Elvira *et al*, 1990).

A introdução de espécies exóticas é um problema relativamente recente mas que tem produzido igualmente efeitos nefastos. A sobrevivência de espécies nativas tem vindo a ser posta em causa pela presença de espécies predadoras, espécies que competem com a fauna indígena por recursos e que ocupam os mesmos locais de desova (Elvira, 1995,1996,1997b).

As espécies endémicas, e neste caso particular, as dulçaquícolas, pelo seu carácter único e pelas ameaças que a grande maioria tem vindo a sofrer um pouco por todo o mundo, constituem um objecto de estudo merecedor de uma atenção especial. Por um lado, é urgente reunir esforços no sentido de minimizar os impactos negativos que põem em causa a sobrevivência destas espécies, e por outro, é necessário tomar medidas que permitam tentar restabelecer o curso normal da dinâmica das suas populações. No entanto, qualquer acção de conservação que se pretenda levar a cabo, exige um conhecimento profundo da biologia das espécies em questão (O'Hara, 1993; Johnston, 1999).

Os peixes ibéricos de água doce são razoavelmente conhecidos, graças ao trabalho intenso que tem sido levado a cabo nos últimos anos, sobre a fauna piscícola autóctone (Pereira, 1995). Grande parte dos estudos realizados com as espécies indígenas da Península Ibérica, e nomeadamente em Portugal, dizem respeito à sua descrição taxonómica, distribuição e padrões genéticos onde se salientam os trabalhos de Coelho 1983, 1985, Coelho *et al*, 1997, 1998; Collares-Pereira, 1979, 1980a,b, 1983, 1990, Collares-Pereira & Coelho, 1983; Collares-Pereira *et al*, 1999, 2000. No entanto, a sua biologia é desconhecida quase por completo, o que aliado ao agravamento da sua situação, torna premente a realização de estudos nesta área.

Alguns dos trabalhos realizados no que concerne a diferentes aspectos biológicos, são por exemplo os dados sobre idade, crescimento e reprodução em *Ch. willkommi* (Herrera & Fernández-Delgado, 1994), em *Ch. lemmingii* (Velasco *et al*, 1990), em *Barbus sclateri* (Herrera *et al*, 1988), em *Ch. polylepis* (Lorencio & Garcia-Novo, 1986), em *Leuciscus pyrenaicus* (Férrnandez-Delgado & Herrera, 1995;

Lóbon-Cervia & de Sostoa, 1987), sobre alimentação *em Ch. willkommi* (Bellido *et al*, 1989); sobre biomassa e produção (Lorencio & Garcia Novo, 1986), entre outros. No entanto estes estudos são pontuais e reportam a locais específicos onde estas espécies se distribuem.

Não se encontram na bibliografia, estudos que foquem o comportamento das espécies nativas da Península Ibérica. No entanto, se tivermos em consideração que o comportamento está envolvido na maioria dos traços da história vital destes organismos como são a selecção de habitat, distribuição espacial, alimentação, competição e outras interacções, reprodução e desenvolvimento, torna-se relevante a realização de estudos que aprofundem o conhecimento dos seus caracteres etológicos. Para além disso, e no contexto do estado actual dos estudos taxonómicos, o comportamento assume também um papel importante, pelo facto de uma grande parte dos mecanismos de isolamento reprodutor nos animais serem de tipo comportamental.

A reprodução é um aspecto da história vital dos animais que, pela sua importância na continuidade e perpetuação das espécies, assume um dos papéis mais relevantes no estudo dos organismos. Os peixes apresentam uma enorme diversidade de estratégias reprodutivas e são de todos os vertebrados os que exibem comportamentos mais elaborados e estereotipados. Os ciprinídeos apresentam uma enorme variedade de sistemas reprodutores, mas para a grande maioria das espécies, esses sistemas são ainda desconhecidos (Breder & Rosen, 1966). Este desconhecimento pode ser suplantado visto que, na maioria dos taxa desta família, a reprodução em cativeiro é tecnicamente possível, quer através da manipulação de factores ambientais como o fotoperíodo e a temperatura, quer por meio de técnicas de indução hormonal (Johnston, 1999).

O estudo dos processos de desenvolvimento têm tido algum ímpeto nos últimos anos, devido ao interesse nos complexos problemas biológicos do crescimento, aos constrangimentos existentes nas primeiras fases do desenvolvimento, às estimativas de biomassa e predição da força das classes anuais (Kamler *et al*, 1998; Osse, 1990). Outra abordagem que tem sido feita neste campo,

diz respeito à taxonomia, embora esta não receba um consenso geral pois, nem sempre os resultados extraídos destes trabalhos, estão de acordo com a taxonomia dos adultos (Osse, 1990). No entanto, sendo esta uma das fases do ciclo de vida dos organismos mais sensível a factores externos e onde se registam os maiores índices de mortalidade, o conhecimento da ontogenia dos primeiros estádios do desenvolvimento torna-se indispensável se se pretender tomar medidas de conservação em relação às espécies ameaçadas (Mills, 1982).

O estudo destes aspectos da biologia das espécies indígenas, aliado à reprodução artificial e possibilidade de produção intensiva, poderá permitir tomar medidas para moderar os impactos negativos sobre estes peixes, promovendo o seu repovoamento, e assim, contribuir para a protecção dos mesmos (Povz & Ocvirk, 1990).

O presente trabalho pretendeu dar um contributo para o conhecimento de alguns destes processos biológicos e aspectos comportamentais em *Chondrostoma lusitanicum* Collares-Pereira, 1980, um pequeno ciprinídeo, endémico nas águas desta região da Península, que habita cursos de água pouco profundos, com fluxo médio e vegetação nas margens (Alves & Coelho, 1994).

Esta espécie possui o estatuto de rara e a sua área de distribuição é bastante restrita. Ela ocorre em algumas localidades relativamente separadas da bacia hidrográfica do Tejo, em pequenas ribeiras a ocidente, nas bacias do Sado, Mira e Arade, tendo a sua presença sido assinalada também nas lagoas costeiras de Albufeira e Sto André (Alves & Coelho, 1994; Pereira, 1995; Rodrigues & Collares-Pereira, 1996).

Existe alguma controvérsia na classificação taxonómica de *Ch. lusitanicum*. A autora da descrição original, coloca-o no género *Chondrostoma* com base, fundamentalmente, no número e forma de branquispinhas, no número e forma dos dentes faríngeos, no relativamente elevado número médio de escamas da linha lateral e de fiadas transversais, na forma e posição da boca e na posição relativa das barbatanas anal e dorsal (Collares-Pereira, 1983).

Em 1987, Elvira ao fazer a revisão deste género, coloca *Ch. lusitanicum* provisoriamente no género *Rutilus*, assinalando as suas semelhanças com *Rutilus arcasii*. No mesmo ano, Coelho refuta esta ideia, integrando esta espécie novamente no género *Chondrostoma*, visto esta se inserir nas características gerais apontadas para este género (boca sem barbilhos em posição ínfera e cujo lábio inferior possui um bordo bem delimitado, curvo a recto, revestido por um estojo córneo mais ou menos desenvolvido). Coelho (1987) salienta ainda que a controvérsia na descrição de espécies e subespécies de *Chondrostoma* assenta essencialmente no facto de quase todas as formas serem alopátricas, o que dificulta a verificação de isolamento reprodutor.

Uma nova revisão do género realizada por Elvira (1997), volta a excluir a espécie em estudo dos *Chondrostoma*, defendendo que a sua inclusão iria quebrar o carácter holofilético do género, propondo desta vez, que devido às particularidades desta espécie, de *lemmingii*, *arcasii* e *macrolepidotus*, todas sejam colocadas num novo género próximo do género *Chondrostoma*. No presente estudo, mantém-se a denominação de *Chondrostoma lusitanicum*, em conformidade com a denominação constante no Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal e publicações de trabalhos referentes a esta espécie. Para além disso, estudos recentes sobre as relações filogenéticas entre os ciprinídeos europeus, colocam esta espécie mais perto do género *Chondrostoma* do que do género *Rutilus* (Zardoya & Doadrio, 1999)

O trabalho realizado por Alves & Coelho, 1994, mostra que *Ch. lusitanicum* se mantém abundante e comum nos pequenos rios ocidentais, mas as populações na bacia do Tejo encontram-se praticamente isoladas. Os níveis de heterozigotia registados foram surpreendentemente elevados, quando comparados com as congéneres ibéricas *Ch. polylepis* Steidachner e *Ch. willkommii* Steidachner, facto que pode ser atribuído a diferentes histórias de vida, uma vez que estas últimas, são espécies migratórias e *Ch. lusitanicum* é sedentária

Estudos posteriores mostraram um elevado polimorfismo em todas as populações, característica que se pode ter fixado antes do estabelecimento actual das bacias hidrográficas em questão, durante o Quaternário (Rodrigues & Collares-

Pereira, 1996). O grau de diferenciação observado por Coelho *et al*, 1997 nas populações do Sul, nomeadamente nas bacias do Mira e Arade, levaram a sugerir uma possível alteração no estatuto específico destas populações.

Tomando em consideração estes resultados, é fácil perceber a necessidade de estudos complementares em outras áreas que permitam compreender os mecanismos envolvidos na evolução e biologia desta espécie.

Este trabalho é constituído por três estudos que têm em vista um melhor conhecimento desta espécie:

- Compreender os padrões de actividade e distribuição espacial de *Chondrostoma lusitanicum*.
- Elaborar um estudo preliminar do seu comportamento reprodutor.
- Descrever o seu desenvolvimento embrionário e larvar.

## Métodos

### Captura e manutenção de exemplares em cativeiro

Os exemplares de *Chondrostoma lusitanicum* foram capturados com rede de cerco na Ribeira da Samarra, situada entre Sintra e Mafra, local onde esta espécie é relativamente abundante. Os indivíduos foram distribuídos por dois aquários, um deles colocado ao ar livre, sujeito ao fotoperíodo natural e temperatura ambiente e outro, mantido em condições laboratoriais, onde era possível controlar a temperatura (dentro de determinados limites) e manipular o fotoperíodo.

O primeiro, de dimensões 150 x 50 x 70 cm, foi colocado no Parque da Pena – Parque Natural de Sintra-Cascais, onde se tinha como objectivo último, estudar a reprodução desta espécie em cativeiro. O aquário encontrava-se equipado com dois filtros biológicos de duas saídas e quatro pedras difusoras. O fundo foi coberto com cerca de 8 cm de areão, misturado com casca de ostra de forma a estabilizar o pH. Foram colocadas no aquário algumas plantas aquáticas que se expandiam pela superfície e desenvolveu-se vegetação rasteira em algumas zonas do substrato, com cerca de 10 cm de altura. Ao longo da permanência destes animais em cativeiro a temperatura variou entre os 8° C e os 23° C.

Os 15 animais mantidos nestas condições foram alimentados com comida seca de dois em dois dias, tendo permanecido no aquário no período de Março a Dezembro de 2000. De 3 em 3 semanas foram feitas mudanças de cerca de um terço da água.

O aquário colocado em condições controladas tinha dimensões 70 x 40 x 50 cm, também ele equipado com um filtro biológico de duas saídas e duas pedras difusoras. O fundo foi coberto com areão e munido de algumas plantas. Neste caso,

fez-se variar a temperatura entre os 16° C e os 20° C e tentou-se manter um fotoperíodo semelhante ao exterior mediante o uso de luz artificial.

Devido às menores dimensões deste aquário, apenas foram mantidos 6 indivíduos nestas condições, tendo-se seguido padrões de alimentação e mudança de água semelhantes aos descritos anteriormente.

### **Padrões de actividade e distribuição espacial**

Este trabalho pretendeu, entre outros aspectos, investigar como a actividade dos indivíduos varia com a temperatura, como as diferentes classes de tamanho se distribuem na coluna de água e averiguar a existência de padrões de agregação em *Ch. lusitanicum*.

Com a finalidade de caracterizar estes processos, o fundo do primeiro aquário foi dividido em 20 sectores de área 15 x 25 cm cada, assim como, foram definidos 3 níveis na coluna de água: Nível 1 – terço inferior associado ao fundo, Nível 2 – terço intermédio associado à meia água e Nível 3 – terço superior associado à superfície. Para cada indivíduo determinou-se o comprimento total e standard, encontrando-se as suas dimensões discriminadas na Tabela 1 do Anexo A. Foram consideradas três classes de tamanho de acordo com as dimensões dos indivíduos presentes: Juvenis – indivíduos com comprimento total inferior a 4 cm; Médios – indivíduos com dimensões entre os 7 e os 9,5 cm; Grandes – indivíduos com dimensões superiores a 9,5 cm.

No segundo aquário, devido às suas menores dimensões, apenas foram considerados 8 sectores cujas dimensões eram 17,5 x 20 cm. Tal como foi descrito anteriormente, foram definidos três níveis na coluna de água e os indivíduos divididos por classes de tamanho. No entanto, neste caso, não existiu a classe de tamanho correspondente aos juvenis. As dimensões dos indivíduos encontram-se discriminadas na Tabela 2 do Anexo A.

Foram efectuados para cada aquário, scans visuais com uma periodicidade de 5 minutos ao longo de uma hora, onde eram registados para cada indivíduo observado, o sector em que se encontrava, a sua posição da coluna de água bem como, a classe de tamanho pré-estabelecida a que pertencia.

Realizaram-se um total de 10 períodos de amostragem em cada um dos aquários, totalizando 20 horas de observações a diferentes temperaturas. O período de realização da experiência e a forma como foram repartidas as observações pelas diferentes temperaturas, são apresentadas no Anexo B.

O tratamento estatístico destes resultados foi efectuado utilizando os programas de computador Statistica for Windows (versão 4.5) (Copyright 1993, Statsoft Inc.) e Actus (Estabrook & Estabrook, 1989) – Teste de Independência para tabelas de contingência, utilizado para amostras de pequena dimensão.

### **Estudo preliminar do comportamento reprodutor**

Apesar de todos os esforços, não foi possível registar o momento da reprodução no aquário colocado em Sintra. Desta forma, o comportamento reprodutor foi estudado a partir da análise de imagens obtidas em vídeo pela Dr<sup>a</sup> Joana Robalo, a 25 de Abril de 2000, que gentilmente autorizou a sua integração neste trabalho, uma vez que esta tem sido uma investigação levada a cabo em conjunto.

A reprodução ocorreu num aquário de dimensões 150 x 50 x 70 cm, colocado no exterior e por isso, sujeito a condições de temperatura e luz naturais, com indivíduos mantidos nestas condições de cativeiro há cerca de um ano. No momento em que se deu início a reprodução, a temperatura registada era de 18° C.

Estas imagens foram captadas com uma câmara de vídeo Hi8 sem a utilização de luz artificial e totalizaram um período de cerca de uma hora. A análise destes registos permitiu descrever os comportamentos de acasalamento e postura, determinar a duração das diferentes sequências, bem como, o número de indivíduos

envolvidos em cada uma delas. O dimorfismo sexual nesta espécie não é evidente, tendo o sexo sido inferido quer pelo comportamento diferencial dos indivíduos, quer pelo facto de as fêmeas, de uma maneira geral, apresentarem a região abdominal mais dilatada.

### **Desenvolvimento embrionário e larvar**

Na sequência do trabalho que tem vindo a ser realizado com a Dr<sup>a</sup> Joana Robalo, pretendeu-se descrever o desenvolvimento embrionário e larvar de *Ch. lusitanicum*.

Este estudo envolveu a recolha de ovos por remoção do areão do aquário após o episódio reprodutor atrás referido. Os ovos fertilizados foram transferidos para caixas de plástico, onde foram mantidos até à eclosão. Todos os dias foi trocada cerca de metade da água das caixas com uma pipeta de Pasteur. Durante este período, os ovos foram mantidos sobre condições controladas em que a temperatura variou entre 16,5°C e 19°C. O ciclo dia-noite foi semelhante ao exterior, tendo-se tido o cuidado de evitar a exposição dos exemplares à luz directa, uma vez que existem indícios que o desenvolvimento dos peixes pode ser afectado pela exposição excessiva à luz (Blaxter, 1969).

Ao longo deste trabalho, foi retirado diariamente um ovo, medido à lupa com ocular micrométrica e fotografado ao microscópio, sendo as imagens digitalizadas em computador através do programa CAMEDIA. Todos os espécimens utilizados foram posteriormente conservados em formol a cerca de 10%.

Após a eclosão procedeu-se da mesma forma com os embriões livres e larvas, tendo estas sido alimentadas diariamente com comida seca e náuplios de *Artemia* sp. Nesta fase, foram feitos registos dos comportamentos visualmente observáveis, nomeadamente no que diz respeito à mobilidade. Devido ao número reduzido de indivíduos na amostra utilizada, não foi possível fazer a fixação diária de exemplares

após a eclosão, tendo-se optado por fixar uma larva de 3 em 3 dias, nos estádios mais avançados do desenvolvimento.

As imagens captadas e os indivíduos formolizados foram então analisados e a sua descrição interpretada no contexto da Teoria Saltatória da Ontogenia proposta por Balon 1975b, 1979.

Devido à rapidez com que se processam os primeiros passos do desenvolvimento nas fases de clivagem e embrionária e às dificuldades em conseguir precisar os momentos em que cada um dos passos ocorreu, optou-se por, até à fase de embrião livre, fazer apenas uma pequena descrição dos acontecimentos que foi possível observar.

## Resultados

### Padrões de actividade e distribuição espacial

Com o objectivo de averiguar como peixes de diferentes dimensões se distribuem na coluna de água, foi contabilizado para cada temperatura, o número total de indivíduos de cada classe de tamanho em cada um dos três níveis estabelecidos no aquário mantido em condições naturais, como mostram os valores constantes na figura 1:

		Temperatura a 10° C			Temperatura a 12° C			Temperatura a 14° C		
		Juvenis	Médios	Grandes	Juvenis	Médios	Grandes	Juvenis	Médios	Grandes
Nível	Nível 1	1	279	185	3	111	57	2	123	74
	Nível 2	85	105	7	35	81	39	61	154	68
	Nível 3	58	0	0	34	0	0	48	3	2

Figura 1 – Distribuição dos indivíduos pelos diferentes níveis da coluna de água, a diferentes temperaturas, no aquário mantido em Sintra.

A estes valores, aplicou-se um teste de simulação de independência, cujos resultados se indicam na figura 2, para os indivíduos mantidos em condições naturais:

	Temperatura a 10° C			Temperatura a 12° C			Temperatura a 14° C		
	Juvenis	Médios	Grandes	Juvenis	Médios	Grandes	Juvenis	Médios	Grandes
Nível 1	0	994	1000	0	991	966	0	978	999
	1000	7	0	1000	11	41	1000	30	2
Nível 2	1000	574	0	797	468	402	628	775	162
	0	474	1000	264	579	667	418	259	873
Nível 3	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
	0	1000	1000	0	1000	1000	0	1000	1000

$\chi^2 = 449.136$   $p < 0.001$      
 $\chi^2 = 172.293$  ,  $p < 0.001$      
 $\chi^2 = 206.925$   $p < 0.001$

Figura 1 – Resultados da aplicação de um teste de simulação de independência aos valores de ocupação dos diferentes níveis da coluna de água, pelas 3 classes de tamanho consideradas, nas diferentes temperaturas ocorridas no aquário mantido em condições naturais de temperatura e fotoperíodo. Legenda

Sim.  $\leq$  Obs.

Sim  $\geq$  Obs.

Por observação da figura, verifica-se que, para qualquer das temperaturas registadas no aquário em condições naturais, os juvenis tendem a encontrar-se mais frequentemente junto à superfície do que seria de esperar numa distribuição ao acaso, enquanto que, os indivíduos de maiores dimensões raramente são encontrados neste nível da coluna de água. Por outro lado, os indivíduos médios e grandes são encontrados com maior frequência do que seria de esperar ao acaso junto ao fundo, enquanto os juvenis raramente foram observados neste nível.

Para além disso, à temperatura de 10° C regista-se que a presença de juvenis também é significativamente mais frequente a meia água do que nas restantes temperaturas. Por outro lado, à mesma temperatura, os indivíduos grandes raramente se encontram a meia água, facto que não acontece nas temperaturas mais elevadas.

Procedeu-se da mesma forma para o aquário colocado em condições controladas, valendo a pena recordar que neste caso particular não haviam juvenis.

Os dados obtidos para a distribuição dos indivíduos encontram-se patentes na figura 3:

	Temperatura a 16° C		Temperatura a 18° C		Temperatura a 20° C	
	Médios	Grandes	Médios	Grandes	Médios	Grandes
Nível 1	54	61	72	80	60	67
Nível 2	52	47	69	63	45	40
Nível 3	2	0	3	1	3	1

Figura 3 – Distribuição dos indivíduos pelos diferentes níveis da coluna de água, a diferentes temperaturas, no aquário mantido em laboratório.

A aplicação do teste de simulação de independência aos dados obtidos não registou diferenças significativas na distribuição dos indivíduos em nenhuma das temperaturas consideradas, como se pode observar na figura 4:

	Temperatura a 16° C		Temperatura a 18° C		Temperatura a 20° C	
	Médios	Grandes	Médios	Grandes	Médios	Grandes
Nível	307	753	356	725	319	730
	750	292	698	323	728	317
Nível	716	334	689	338	716	345
	349	726	346	702	346	706
Nível	932	378	857	421	845	405
	240	1000	318	867	335	867

$\chi^2 = 2.679 \quad p > 0.05$      
 $\chi^2 = 1.694, \quad p > 0.05$      
 $\chi^2 = 1.680 \quad p > 0.05$

Figura 4 – Resultados da aplicação de um teste de simulação de independência aos valores de ocupação dos diferentes níveis da coluna de água, pelas 3 classes de tamanho consideradas, nas diferentes temperaturas ocorridas no aquário mantido em condições controladas. Legenda

Sim. $\leq$ Obs.
Sim. $\geq$ Obs.

Apesar destes resultados não serem significativos, é possível verificar, por observação directa dos dados (figura 3), que a frequência de indivíduos encontrados à superfície, é muito baixa.

Pretendeu-se determinar a possível ocorrência de agregações nestes peixes e a sua relação com a temperatura. Foram então contabilizados o número de sectores vazios de cada scan, em cada período de amostragem (Anexo C), valores estes que fornecem uma medida da agregação dos indivíduos no aquário, ou seja, quanto maior o número de sectores vazios, maior o grau de agregação entre os indivíduos. Aos dados obtidos foi feito um teste de aproximação à normal e de homogeneidade das variâncias a fim de determinar se a amostra cumpria os pressupostos da Análise de Variância – ANOVA, tendo-se verificado pelos resultados, que esta era aplicável, mas apenas para o aquário sujeito a menores temperaturas.

Verificou-se a existência de diferenças significativas no número de sectores vazios consoante a temperatura (Análise de Variância – ANOVA,  $SS = 136.90$ ,  $MS = 68.45$ ,  $df = 2$ ,  $F = 33.50$ ,  $p < 0.001$ ). Seguidamente, procedeu-se a um teste de Tukey para comparação das médias entre as temperaturas, tendo-se observado diferenças significativas entre os 10° C e os 12° C e entre os 10° C e os 14° C, o mesmo não acontecendo entre os 12° C e os 14° C, como é possível verificar na figura 5.

	10° C Média = 12.35	12° C Média = 10.61	14° C Média = 9.89
10° C	-	0.000114 *	0.000114 *
12° C	0.000114 *	-	0.085932
14° C	0.000114 *	0.085932	-

Figura 5 – Resultados do Teste de Tukey aplicado às médias de sectores vazios, nas diferentes temperaturas registadas no aquário mantido em condições naturais (\* significativo).

Para o aquário mantido em condições experimentais procedeu-se da mesma forma (Anexo D) mas, uma vez que este não cumpria os pressupostos da ANOVA, efectuou-se um Teste de Kruskal-Wallis, não se tendo obtido diferenças significativas para estas temperaturas mais elevadas ( $n = 120$ ,  $H = 3.877$ ,  $p > 0.05$ ).

Pretendeu-se determinar se haveria uma preferência dos indivíduos associados ao fundo do aquário para os sectores onde se desenvolveu vegetação no substrato, no aquário colocado em Sintra. Para tal, foi calculada a densidade dos indivíduos em sectores com e sem vegetação para cada período de amostragem. Estes cálculos não foram efectuados para o aquário em condições laboratoriais, uma vez que este não apresentava vegetação no substrato. A figura 6 representa os resultados obtidos.

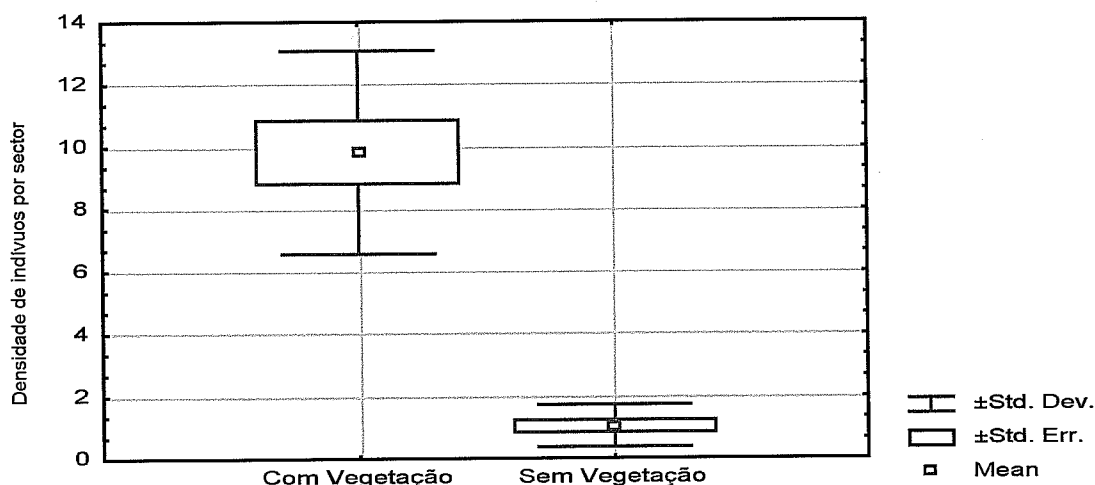


Figura 6 – Representação gráfica das médias e desvios padrão das densidades dos indivíduos associados ao Nível 1 da coluna de água em sectores com e sem vegetação.

A estes dados foi aplicado um Teste de Wilcoxon, tendo-se verificado que os indivíduos associados ao fundo, apresentam preferência por substratos com vegetação rasteira (Teste de Wilcoxon,  $n = 10$ ,  $Z = 2.80$ ,  $p < 0.01$ ).

Finalmente, tentou-se averiguar a possível influência da temperatura na mobilidade dos indivíduos. Para tal, contabilizaram-se as diferenças em cada 2 scans sucessivos no número de indivíduos por sector, em cada período de observação (Anexo D). Estas diferenças constituem uma medida da mobilidade dos indivíduos. Posteriormente, efectuou-se um teste de Correlação de Spearman entre o total de diferenças e a temperatura de cada período de amostragem. Foi registada uma relação significativa entre a mobilidade e a temperatura no aquário mantido em condições naturais, em que a permanência dos indivíduos no mesmo sector em cada 2 scans sucessivos, é menor a temperaturas mais elevadas (Correlação de Spearman :  $n = 10$ ,  $r = 0.811$ ,  $p < 0.01$ ), no entanto, o mesmo não aconteceu para o aquário colocado em condições experimentais (Correlação de Spearman:  $n = 10$ ,  $r = 0.590$ ,  $p > 0.05$ ).

Em resumo:

- Observa-se uma distribuição diferencial dos indivíduos na coluna de água, associada às suas dimensões. Os juvenis tendem a ocorrer com maior frequência junto à superfície do que seria de esperar ao acaso, enquanto que os indivíduos de maiores dimensões tendem a encontrar-se associados aos dois níveis mais profundos.
- À temperatura de 10°C, há um maior confinamento dos indivíduos grandes junto ao substrato, tendo-se verificado a esta temperatura, uma maior ocorrência dos juvenis a meia água.
- A temperaturas mais elevadas, a partir dos 16° C, não se registram diferenças na distribuição espacial dos indivíduos, mas os dados indicam que a sua ocorrência à superfície é pouco frequente
- Foi possível verificar a formação de agregados por parte dos indivíduos, agregados esses que são mais evidentes a temperaturas mais baixas.

- Existe uma preferência por parte dos indivíduos que se encontram junto ao fundo por substratos com vegetação.
- Existe uma relação directa entre a mobilidade dos indivíduos e a temperatura quando esta é menor ou igual a 14°C.

### **Estudo preliminar do comportamento reprodutor**

O início da reprodução desta espécie em cativeiro, é facilmente observável por diferenças de comportamento, as quais se traduzem num aumento considerável de interações entre os indivíduos e uma movimentação constante por todo o aquário, comparativamente com o que se passa fora da época de reprodução.

De entre as interações observadas nestes registos, distinguiram-se as sequências de acasalamento, com ou sem a ocorrência de postura, tendo sido medida a sua duração com um cronómetro digital, as quais variaram entre 18 e 60 seg. Normalmente, uma sequência inicia-se sempre que um ou mais machos se aproximam de uma fêmea e termina quando deixa de haver interação entre os indivíduos envolvidos.

Devido ao facto destes comportamentos serem extremamente rápidos e complexos, optou-se por efectuar uma descrição dos comportamentos básicos ocorridos.

A aproximação dos machos pode ser feita quer por baixo da fêmea, quer de lado. Inicialmente, um macho aproxima-se e acompanha a fêmea dando pequenos toques com o focinho na região urogenital da fêmea, toques esses que depois progridem para os flancos, aproximando-se da zona da cabeça. Este comportamento pode ser seguido por um ou mais machos, tendo ocorrido sucessões de toques efectuadas em simultâneo por 3 indivíduos. Os diferentes machos podem seguir a fêmea até ao *terminus* da sequência, ou podem afastar-se, sendo ou não substituídos por outros. Nunca foram observados comportamentos claramente agonísticos entre

os machos envolvidos nas sequências, parecendo haver uma relativa tolerância à presença uns dos outros. O acasalamento pode ocorrer num plano horizontal junto ao substrato, ou na vertical, funcionando então o vidro do aquário como plano direccional.

Um comportamento que ocorreu com alguma frequência durante o acasalamento desta espécie, foi a realização, por parte do macho, de uma natação em círculos por baixo da fêmea, intercalada com toques no abdómen e flancos. Este comportamento ocorreu quando a fêmea realizava pequenas deslocações, no plano horizontal, e parece ter como função controlar o movimento da fêmea, de modo a que esta não se afaste do local onde se encontra.

Em termos comportamentais, o papel da fêmea na corte, não parece ser passivo. Foi possível observar que durante o período reprodutor, as fêmeas se deslocam por todo o aquário com um padrão de natação diferente do habitual. Estas deslocações efectuam-se em áreas abertas e caracterizam-se por uma movimentação contínua e ampla da região posterior do corpo, com movimentos constantes das barbatanas peitorais e caudal. Esta exibição denominada “provocatória”, realiza-se numa posição horizontal sem que a fêmea saia praticamente do local onde se encontra ou na vertical, onde a fêmea efectua pequenas subidas e descidas na coluna de água. Grande parte das aproximações dos machos ocorreram após a exibição deste comportamento, pelo que se pensa que a sua realização seja um sinal de que a fêmea está pronta para o acasalamento e funcione como comportamento de atracção por parte desta.

O culminar destas sequências de acasalamento, pode dar-se com a ocorrência ou não de postura. No primeiro caso, a fêmea é conduzida e muitas vezes pressionada contra o substrato pelo macho ou machos intervenientes, mantendo-se os indivíduos com os corpos paralelos entre si e muito próximos um dos outros, dando-se um estremeamento dos corpos em simultâneo. Pressupõe-se que nesta altura se dá a libertação dos ovos e a sua fertilização, apesar não se ter conseguido visualizar este acontecimento. Nesta fase, ocorre com frequência a aproximação de outros machos que, podendo não estar envolvidos nas fases iniciais do acasalamento, tentam

também fertilizar os ovos. Nestas observações verificou-se que este comportamento pode ser efectuado em simultâneo por um máximo de oito indivíduos, formando como que um “novelo”, em que vários machos se comprimem uns contra os outros. Finalmente, após o estremecimento, ocorre a separação dos peixes, que se afastam do local da postura.

Algumas vezes, após os toques por parte dos machos, a fêmea realiza uma natação rápida de fuga, sendo ou não perseguida por um ou mais machos. Estas perseguições acabam muitas vezes com o abandono por parte destes, sem que ocorra a postura.

Estas sequências desenrolaram-se ao longo de várias horas durante as quais, estes comportamentos foram ocorrendo quase ininterruptamente. Algumas fêmeas efectuaram mais do que uma postura e pelo que foi possível observar, nenhum macho conseguiu garantir a exclusividade na paternidade.

Verificaram-se ainda, comportamentos de predação por parte dos indivíduos adultos, que se caracterizaram por uma procura intensa com o focinho, por entre os interstícios do areão, nos locais onde se tinham efectuado posturas.

### **Desenvolvimento embrionário e larvar**

A primeira fase do desenvolvimento dos embriões ocorreu à temperatura de 16,5° C, tendo ocorrido um pico de 19° C ao final de uma semana, que coincidiu com a eclosão dos indivíduos.

Os ovos de *Ch. lusitanicum* são esféricos, relativamente aderentes ao substrato sólido e apresentam um diâmetro médio de 1.9 mm (SD = 0.048, n = 8). As cápsulas dos ovos apresentam uma coloração acastanhada e são extremamente opacas durante a Fase de Clivagem.

A partir do 3° dia após a activação, a cápsula que envolve o ovo torna-se menos opaca, permitindo visualizar já o vitelo de grandes dimensões que ocupa

quase todo o ovo, sendo o espaço perivitelino bastante reduzido. O embrião é ainda muito pequeno não sendo ainda possível distinguir quaisquer estruturas.

No dia seguinte já eram discerníveis a cabeça e a região caudal do embrião, o qual ainda não ocupava toda a extensão do vitelo. A localização dos olhos já era bem visível, apesar de estes ainda não se apresentarem pigmentados. Neste dia foi possível observar pequenas contracções musculares do embrião.

No 5º dia após a fertilização, o embrião que aumentou bastante o seu tamanho, rodeando já todo o vitelo. Já se observam maiores movimentações dentro do ovo, possivelmente devido à diminuição do vitelo e aumento do espaço perivitelino. A cabeça encontra-se curvada sobre o saco vitelino e os olhos já estão pigmentados, podendo mesmo ser observados a olho nu. Para além dos olhos, mais nenhuma pigmentação é visível. A descrição desta sequência será mais pormenorizada em estudos posteriores quando se proceder à remoção das cápsulas dos ovos. Alguns aspectos desta fase do desenvolvimento são apresentados na figura 7.

#### Fase de Embrião Livre

- Passo VIII (Início: Eclosão)

Seis dias depois de ter ocorrido a activação dos ovos, deu-se a eclosão da maior parte dos embriões (Figura 8), possivelmente devido ao facto de neste dia, os ovos terem sido sujeitos a uma maior manipulação e aumento da temperatura para os 19º C, uma vez que foi necessário removê-los do local onde se encontravam. Ao eclodirem, os embriões apresentavam o corpo praticamente transparente observando-se apenas, para além da pigmentação dos olhos e do sangue, alguns melanóforos na zona anterior da notocorda que se prolongavam até à região do ânus.

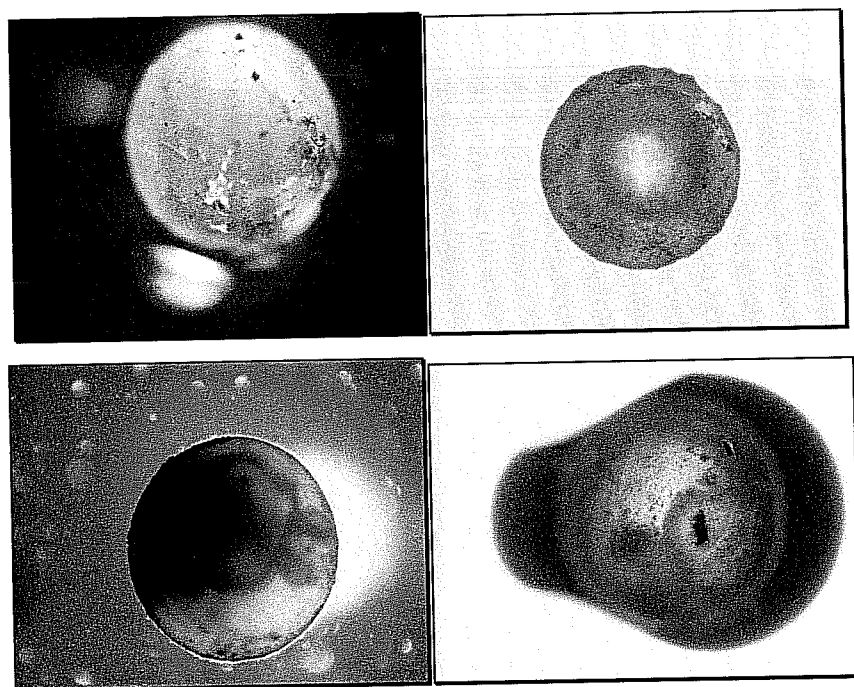


Figura 7 – Alguns aspectos do desenvolvimento embrionário de *Ch. lusitanicum* antes da eclosão. Em cima, à esquerda um dia após a activação; em cima 3 dias após a activação; em baixo à esquerda 5 dias após a activação; em baixo à direita, 7 dias após a activação.

A cabeça encontrava-se curvada sobre o vitelo, o qual tinha ainda grandes dimensões, com uma forma globular na região anterior e a zona posterior afilada. Todo o corpo encontrava-se rodeado por uma prega média, observando-se alguma acumulação de mesênquima na região das futuras barbatanas dorsal e caudal. As barbatanas peitorais eram apenas pequenos círculos junto ao corpo e ainda não realizavam qualquer movimento. Os otólitos eram bem visíveis e o embrião já apresentava o número final de miómeros : 24 pré-anais e 15 pós-anais.

Ao longo deste passo do desenvolvimento, os embriões tenderam a manter-se imóveis no fundo das caixas, numa posição lateral. Apenas se observaram movimentos rápidos de fuga, quando eram incomodados com a pipeta de Pasteur, utilizada para retirá-los. Até ao final deste passo, a pigmentação do corpo vai aumentando, sendo possível observar duas faixas dorsais descontínuas de

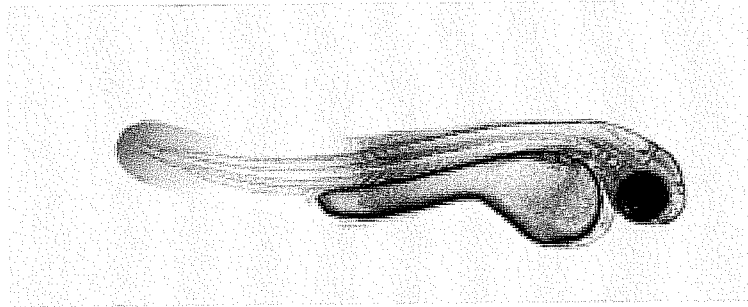


Figura 8 – Embrião de *Chondrostoma lusitanicum* recém eclodido

menanóforos estrelados que se vão estendendo até à região caudal, duas faixas ventrais pouco conspícuas, alguns melanóforos dispersos sobre a cabeça, na região superior do intestino e na região caudal. As barbatanas peitorais vão aumentando de tamanho e tomando a forma oval. Progressivamente a cabeça vai-se afastando do vitelo, o qual começa a apresentar menores dimensões.

Apesar de alguns embriões só terem eclodido 2 e 3 dias mais tarde, o desenvolvimento continuou a desenrolar-se dentro do ovo (figura 9), uma vez que estes ao eclodirem, eram comparativamente maiores que os primeiros, já apresentavam o corpo mais pigmentado e a cabeça mais afastada do vitelo. O comprimento dos indivíduos durante este passo variou entre os 4, 45 mm e os 6, 55 mm.

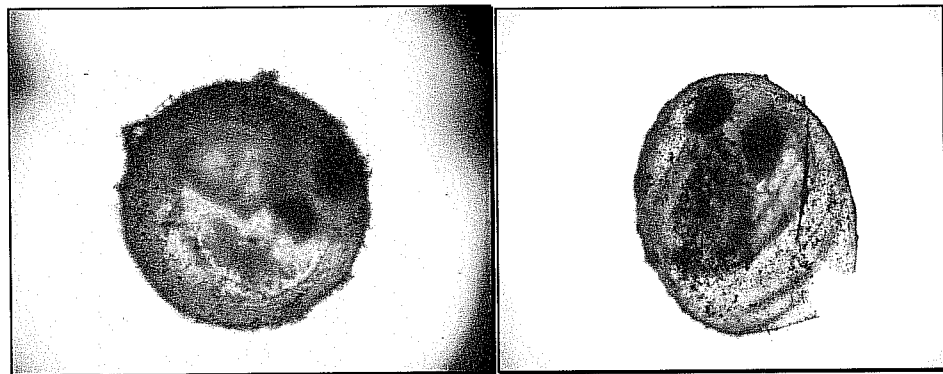


Figura 9 – À esquerda um ovo de *Ch. lusitanicum* 8 dias após a activação; à direita um ovo 9 dias após a activação.

- Passo IX (Início: Enchimento da bexiga gasosa).

No 4º dia após a eclosão dos primeiros embriões, 10 dias após à activação, foi observada a dilatação da bexiga gasosa, que começa a encher (figura 10). Não foi observado o comportamento de subida à superfície para engolir ar, daí que não se possa precisar o momento exacto em que se deu este acontecimento. Nesta etapa do desenvolvimento, o vitelo cada vez mais reduzido, passa a ter uma forma alongada. Houve um aumento no número de melanóforos das faixas dorsais, ventrais e na linha média do corpo. A cavidade digestiva apresentava uma pigmentação difusa desde o nível das barbatanas peitorais até ao ânus e a bexiga gasosa exibia numerosos melanóforos na zona superior.

As barbatanas peitorais aumentaram de tamanho e começaram a apresentar alguns movimentos. A prega média apresenta-se mais reduzida, em especial na região da cauda. As acumulações de mesênquima foram aumentando na região ventral do uróstilo, podendo observar-se também alguns pigmentos nesta zona.

As fendas branquiais eram bem visíveis, não tendo sido ainda cobertas pelo o opérculo. A boca era difícil de visualizar devido às suas dimensões e posição inferior. O comprimento dos indivíduos durante este passo variou entre os 6,55 mm e os 6,84 mm.

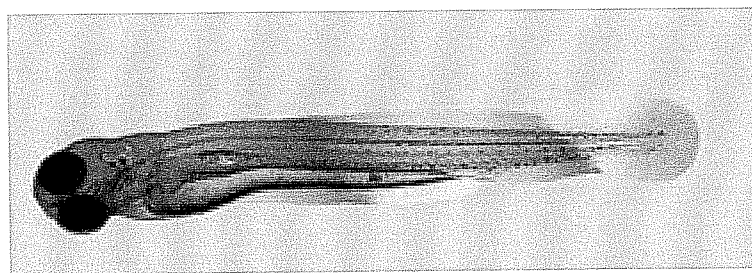


Figura 10 – Embrião de *Ch. lusitanicum* no início do Passo IX da Fase Embrionária.

### Período Larvar

- Passo I (Início: começo da alimentação exógena)

Cinco dias após a eclosão, onze após a activação, foi possível observar a presença de alimento no intestino dos indivíduos, pelo que se inferiu que a alimentação exógena se tinha iniciado, ao mesmo tempo que ainda se mantinham alguns suplementos de vitelo. As larvas já efectuam deslocações pela coluna de água e mostram-se sensíveis à aproximação do investigador. O crescimento das larvas durante este passo foi pouco significativo tendo variado entre os 6,84 mm e os 6,86 mm.

A bexiga gasosa apresenta agora um maior volume e está rodeada de uma enorme quantidade de pigmentos escuros, em forma de estrela. A prega média apresentava um maior estreitamento no início da região caudal a qual exibia grandes concentrações de mesênquima na parte ventral. Ao mesmo tempo observava-se também uma redução da espessura da prega média na região anterior da futura barbatana dorsal e um pequeno sulco que marcava o início desta. As barbatanas peitorais apresentavam maiores dimensões e encontravam-se mais afastadas do corpo.

- Passo II (Início: Alimentação exclusivamente exógena)

O vitelo desapareceu por completo, 7 dias depois de ter ocorrido a eclosão (treze após a fertilização). O comprimento das larvas neste passo, variou entre os 6,86 mm e os 7,96 mm. O corpo das larvas apresentava uma forma alongada (figura 11). A cabeça permanece um pouco arredondada e o focinho é pouco proeminente. A maxila inferior apresenta já mobilidade estando a boca situada numa posição mais terminal. Os arcos branquiais começam a ser progressivamente cobertos por uma estrutura ainda não ossificada.

A prega média diminuiu nas regiões dorsal, anal e caudal, havendo grandes concentrações de mesênquima em especial nesta última. A pigmentação vai-se tornando mais intensa na região ventral e as regiões da bexiga gasosa e do intestino apresentam uma grande concentração de melanóforos. O topo da cabeça apresentava também pigmentação dispersa, na forma de pequenas pontuações. Os otólitos continuam bem visíveis e de maiores dimensões.

O volume do intestino vai aumentando e o ânus encontra-se visivelmente aberto. Ao longo deste passo vão-se formando progressivamente na caudal vários raios mesenquimatosos com pigmentos estrelados na extremidade. Ao 13º dia após a eclosão inicia-se a torção urostilar, a qual começa por uma ligeira curvatura da zona terminal da notorda progredindo depois para uma inclinação de cerca de 45º.

As larvas movimentam-se activamente junto à superfície com oscilações constantes da região posterior do corpo. As barbatanas peitorais vão aumentando de tamanho ultrapassando a zona anterior da bexiga gasosa.

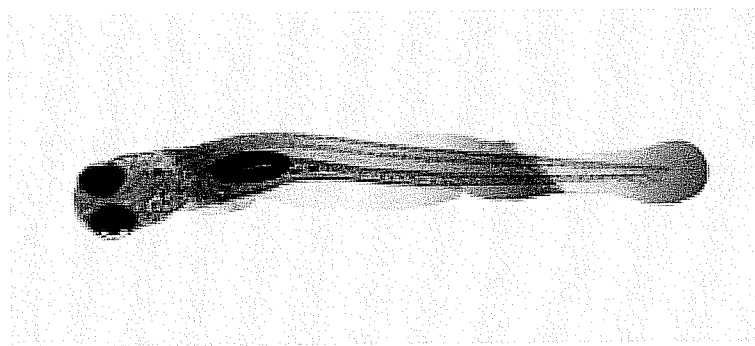


Figura 11 – Início do Passo II do Período Larvar em *Ch. lusitanicum*

- Passo III (Início: Formação de raios na barbatana dorsal )

Ao 17º dia após a eclosão (23 depois da activação), apareceram os primeiros raios mesenquimatosos na dorsal, apresentando esta, uma maior diferenciação em

relação à prega média (Figura 12). O corpo dos indivíduos encontrava-se mais opaco, com pigmentação progressivamente mais numerosa e escura nas regiões dorsal, do intestino e cabeça.

Os primeiros raios mesenquimatosos da anal só apareceram 4 dias mais tarde. A barbatana caudal começa a formar dois lobos e o número de raios aumenta. As barbatanas peitorais também aumentam as suas dimensões, estendendo-se até meio da bexiga gasosa.

Nesta altura verifica-se o desenvolvimento dos indivíduos não é homogéneo, pois em dias sucessivos, alguns animais apresentam estruturas menos desenvolvidas do que outros, nomeadamente o número de raios nas barbatanas. De uma forma geral, o comportamento dos indivíduos caracteriza-se por natação contínua junto à superfície, com pequenos saltos que se depreende serem movimentos de captura de presas. O comprimento das larvas durante este passo variou entre 7,96 mm e os 9,00 mm.

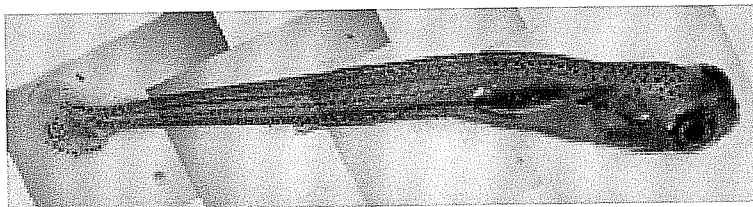


Figura 12 – Início do Passo III do Período larvar em *Ch. lusitanicum*.

- Passo IV (Início: Enchimento da câmara anterior da bexiga gasosa)

Ao 29º dia de vida livre (35 dias após a activação), a câmara anterior da bexiga gasosa começa a encher, apresentando menores dimensões do que a câmara posterior. A barbatana caudal já apresenta claramente dois lobos mas ainda mantém a notocorda e alguns resquícios da prega média. A maioria dos raios encontram-se segmentados, mas não ramificados.

A barbatana dorsal já apresenta 5 raios e a anal 3 raios. As branquias parecem já estar completamente cobertas mas o opérculo ainda não tem uma estrutura rígida. Ao longo deste passo foi possível observar a formação de apófises, as quais começam a aparecer a partir da zona caudal. Começam a observar-se concentrações de mesênquima na prega média, na região das barbatanas pélvicas (Figura 13).

O comportamento é semelhante ao descrito no passo anterior e as dimensões dos indivíduos durante este passo estão compreendidas entre os 9,00 mm e os 10,03 mm.

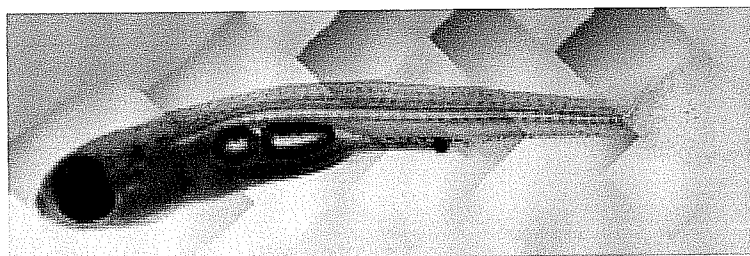


Figura 13 – Larva de *Ch. lusitanicum*, 41 dias após a eclosão

- Passo V (Início: Diferenciação das barbatanas dorsal e anal; aparecimento das primeiras escamas)

49 dias após a eclosão deu-se o aparecimento das primeiras escamas na região ventral dos indivíduos, apresentando estes o comprimento de 12,28 mm. Nesta altura as barbatanas dorsal e anal já apresentam o número definitivo de raios encontrados no adulto: D III 6-7; A III 6-7. No entanto ainda se mantêm resquícios da prega média na região das barbatanas pélvicas, as quais ainda se encontram pouco desenvolvidas, não ultrapassando a extremidade da prega. A barbatana caudal ainda mantém a extremidade da notocorda, mas já apresenta raios ramificados.

Neste passo, o número de apófises é muito maior apesar de ainda não estarem desenvolvidas na região anterior do corpo. A pigmentação é muito mais numerosa e

de uma forma geral o corpo dos indivíduos começa a tornar-se mais opaco. A cabeça encontra-se menos arredondada e o focinho é mais proeminente.

Este estudo não se prolongou para além do aparecimento das primeiras escamas pois, as observações dos indivíduos a partir desta altura passaram a ser bastante difíceis, tornou-se praticamente impossível manter os animais numa posição constante ao microscópio para serem fotografados. Para além disso, restavam apenas 2 indivíduos para serem observados que apresentavam algumas diferenças no desenvolvimento.

## Discussão

A distribuição dos organismos foi condicionada a uma larga escala pela combinação de condições históricas e biogeográficas, as quais determinaram a colonização de diferentes áreas do globo. A uma escala mais estreita, a ocupação dos diferentes habitats, é regulada por outros factores como são as condições climáticas, diferentes factores bióticos e mais recentemente, a intervenção humana que tem vindo a impor alguns constrangimentos na distribuição das espécies (Jackson *et al*, 2001).

As comunidades aquáticas que vivem em rios e lagos, encontram-se particularmente sujeitas aos factores que actuam a pequena escala devido ao facto de estarem limitadas no seu potencial de movimento e dispersão (Jackson *et al*, 2001). Desta forma, os processos de selecção de habitat resultam de uma combinação de escolha entre locais que oferecem maior potencial de crescimento e sobrevivência, e que ao mesmo tempo evitem a competição e a mortalidade devido ao risco de predação (Grand & Dill, 1999). Nas fases mais precoces do desenvolvimento, a utilização do microhabitat é um aspecto particularmente importante, pois as pequenas dimensões e a mobilidade restrita, tornam os indivíduos mais susceptíveis a quaisquer alterações do meio e à predação (Copp, 1992).

Os resultados das observações realizadas neste estudo mostram uma clara separação na ocupação do habitat entre os juvenis e os peixes de maiores dimensões, com estes últimos a ocuparem os níveis mais profundos e os juvenis a serem encontrados com maior frequência junto à superfície. Vários autores enfatizam que a distribuição dos juvenis e larvas de peixes é basicamente influenciada pela disponibilidade de alimento, pelo risco de predação e por outros factores ambientais, entre os quais o mais importante é a temperatura, (Copp, 1992; Krause, 1994; Garner, 1996; Baras & Nindaba, 1999; Persson *et al*, 2000). Nestas condições de cativeiro, a disponibilidade de alimento não parece ser um factor condicionante, uma

vez que os indivíduos são alimentados artificialmente e a superfície não fornece recursos alimentares suplementares. A temperatura por seu lado também não parece influenciar a distribuição dos juvenis nestas condições, uma vez que não existiram diferenças neste parâmetro ao longo da coluna de água, durante os períodos de observação.

A predação parece ser o principal factor a condicionar a distribuição dos juvenis neste caso particular, apesar de durante o período de amostragem não terem sido observados quaisquer ataques por parte dos indivíduos de maiores dimensões dirigidos aos juvenis. Os resultados obtidos à temperatura de 10° C parecem confirmar este facto. A esta temperatura, verificou-se há um maior confinamento dos indivíduos grandes no fundo, devido à menor mobilidade, o que poderá ter permitido aos juvenis uma maior ocupação dos locais a meia água. Para além deste facto, observou-se que os peixes grande e médios ao ocuparem o fundo preferem locais onde a vegetação rasteira é densa, o que os torna menos visíveis para os juvenis podendo facilitar uma maior ocupação do espaço disponível.

De qualquer forma, parece haver uma preferência dos indivíduos de maiores dimensões por locais mais profundos, uma vez que nas condições laboratoriais, em que as temperaturas eram mais elevadas e havia ausência de juvenis, os indivíduos eram encontrados com pouca frequência junto à superfície.

Trabalhos feitos em cativeiro sobre a resposta aos riscos de predação em juvenis de *Perca fluviatilis* e *Rutilus rutilus*, mostraram que as duas espécies apresentam várias respostas comportamentais à presença de predadores (Eklöv & Persson, 1996). Estes autores verificaram que estes juvenis não só são capazes de utilizar diferentes estruturas do habitat para minimizar o risco de predação, como também conseguem diferir a magnitude das suas respostas consoante a sua maior ou menor susceptibilidade a um determinado predador. *R. rutilus* é um nadador mais rápido, realizando manobras evasivas quando atacado e escolhe preferencialmente a vegetação como refúgio. Por seu lado, *P. fluviatilis* responde a ataques predatórios tornando-se críptico e permanecendo no fundo dos aquários. Esta espécie apresenta, no entanto, uma maior variabilidade na escolha de refúgios, podendo utilizar quer a

vegetação, quer outras estruturas existentes no meio. Foi sugerido que as diferenças de comportamento em ambas as espécies pode estar relacionada com as diferentes formas de selecção a que as duas espécies estão sujeitas durante a ontogenia

Nas condições de manutenção em cativeiro utilizadas no presente estudo, a ocupação de locais junto à superfície, os quais não são usados pelos exemplares de maiores dimensões, e a utilização da vegetação existente nestes locais como refúgio, poderão ser a resposta ao risco de predação dos juvenis de *Ch. lusitanicum*, neste caso particular. Este estudo deverá ser aprofundado no sentido de precisar se a predação é efectivamente o único factor a determinar estas diferenças na ocupação do espaço. Este trabalho é fácil de realizar experimentalmente comparando a distribuição dos juvenis em condições de presença e ausência de indivíduos adultos.

No meio natural, as respostas à predação por parte dos juvenis de *Ch. lusitanicum* poderão eventualmente ser diferentes, uma vez que este fornece aos animais um leque mais variado de habitats. Durante as capturas dos exemplares, observou-se também na natureza, a existência de uma diferença na distribuição dos indivíduos, que se caracteriza pelo facto dos juvenis raramente serem vistos nos locais onde se encontravam os indivíduos de maiores dimensões. No entanto, nenhum dos grupos foi encontrado muito perto da superfície, o que vem apoiar a hipótese anteriormente proposta de que, a utilização da superfície como local preferencial poderá ser um constrangimento das condições de cativeiro.

Investigações desenvolvidas com várias espécies de ciprinídeos em liberdade mostram que a diversas fases do desenvolvimento dos organismos correspondem diferentes ocupações do espaço, as quais estarão relacionadas com as necessidades dos animais em cada momento. Watkins *et al* (1997) estudaram a utilização do microhabitat por parte de diferentes espécies, tendo verificado em todas elas diferenças de ocupação entre juvenis e indivíduos adultos. Por exemplo, os juvenis de *Barbus barbus* preferem áreas junto às margens com vegetação submersa e suspensa e fraca corrente, enquanto os adultos foram encontrados preferencialmente em águas mais profundas, longe das margens, em substratos de pedras e sem vegetação. Em *Leuciscus cephalus*, apesar de numa maneira geral todos os

indivíduos apresentarem uma preferência por locais com pouca corrente, os juvenis aparecem com maior frequência em locais pouco profundos, com pouco oxigénio dissolvido e sem grande associação com a vegetação. Por seu lado, os adultos preferem margens de maior declive com vegetação suspensa e temperaturas relativamente mais baixas.

Vários estudos mostram que a ocupação preferencial de determinados habitats pelos ciprinídeos, difere de espécie para espécie e difere também ao longo do crescimento e desenvolvimento, dentro da mesma espécie (Mann, 1996). Copp (1992) observou que larvas de *R. rutilus* e *L. leuciscus* em diferentes estádios de desenvolvimento são encontradas em regimes lenticos em margens de pouco declive, com areia e lodo. No entanto, *L. leuciscus* distribui-se por uma maior gama de profundidades, desde locais junto à superfície até profundidades superiores a 1m, com preferência por zonas com macrofitas, enquanto *R. rutilus* ocupa locais em que a profundidade varia entre os 0,5 m e 1 m, tendo também preferência por locais com o mesmo tipo de vegetação. Em oposição as larvas de *Ch. nasus* evitam as macrofitas e preferem substratos com pedras. Após a metamorfose, os juvenis destas espécies tendem a dispersar-se mais pelo espaço, ocupando uma maior diversidade de habitats.

Baras & Nindaba (1999) verificaram que em *L. cephalus* e *L. leuciscus*, os juvenis mostram uma dinâmica mais estruturada na utilização do habitat, que reflecte um balanço entre o acesso aos recursos alimentares e o evitamento de predadores.

Sendo assim, devido à fragilidade dos primeiros estádios do desenvolvimento torna-se relevante levar a cabo estudos que identifiquem os habitats explorados pelos indivíduos de *Ch. lusitanicum* nos diferentes estádios da vida, bem como, esclarecer os mecanismos subjacentes á distribuição dos mesmos no meio natural, uma vez que há um desconhecimento total deste aspecto da história vital nesta espécie. Este conhecimento poderá permitir identificar se o declínio desta espécie em determinados locais da sua distribuição está em parte associado a problemas que ocorrem a este nível.

O estabelecimento de agregações nos peixes encontra-se largamente documentada, e a maioria dos trabalhos realizados nesta área dizem respeito às funções deste tipo de comportamento em diversos aspectos da biologia das espécies. Por um lado, tácticas de captura em cardume, parecem ser efectivas em várias espécies devido à possibilidade de encurralarem as suas presas e por outro, a estratégia de agregação é muitas vezes utilizada pelas presas como forma de evitar a predação (Pitcher & Parrish, 1993). Em ciprinídeos, a formação de agregações nos juvenis é bastante frequente, como resposta ao risco de predação (Copp, 1992) e nos adultos a formação de cardumes na altura da reprodução está muitas vezes associada a migrações para os locais de desova, como é o caso de *R. rutilus* (Vollestad & L'Abbé-Lund, 1987).

As agregações observadas nos adultos de *Ch. lusitanicum* no decurso deste estudo, não têm uma função clara e podem mesmo ser um constrangimento das condições de cativeiro. Pelo facto deste comportamento estar intimamente associado às variações na temperatura, pensa-se que ele é apenas consequência de uma menor mobilidade dos indivíduos e da preferência pelos locais com maior vegetação. Assim, a temperaturas de 10° C a mobilidade dos indivíduos é largamente diminuída, devido possivelmente a uma redução dos processos metabólicos. Como consequência os indivíduos tendem a manter-se junto ao fundo. Uma vez que existe uma preferência destes peixes por locais com vegetação rasteira e este é um recurso limitado que só ocupa cerca de 40% dos sectores da área de estudo, os indivíduos tendem a confinar-se nestes locais resultando assim numa maior agregação.

O facto de com o aumento da temperatura, o grau de agregação ir diminuindo, não sendo mesmo detectado com os métodos utilizados neste trabalho a temperaturas mais elevadas, aponta nesta direcção, pois a maior mobilidade dos indivíduos permite-lhes uma maior dispersão.

Os ciprinídeos apresentam uma enorme variedade de sistemas reprodutores que vão desde a simples emissão de gâmetas por grupos de peixes em movimento, ao estabelecimento de territórios, à construção de ninhos e cuidados parentais,

culminando num dos sistemas mais especializados exibido pelas espécies da subfamília Rhodeinae, as quais utilizam as câmaras branquiais de um bivalve de água doce como local de postura (Breder & Rosen, 1966).

Balon (1975a) propôs uma classificação para as estratégias reprodutivas nos peixes, baseada no tipo de substrato usado nas posturas e no comportamento e morfologia dos órgãos respiratórios dos embriões e larvas. As observações realizadas no decurso deste trabalho não permitem precisar a estratégia reprodutiva de *Ch. lusitanicum* segundo esta classificação. A grande maioria das posturas ocorreram no areão e em pedras existentes no aquário, o que o colocaria no grupo de peixes Litófilos, os quais depositam os seus ovos em substratos rochosos ou de cascalho, onde os embriões e larvas se desenvolvem. No entanto, existem dúvidas, sobre se algumas das posturas não ocorreram também nas plantas. Nesse caso, e segundo a mesma classificação, *Ch. lusitanicum* seria considerado Fitolitófito. Segundo o autor desta classificação, o grupo dos Fitolitófilos apresenta alguma controvérsia, se forem considerados apenas os substratos onde se efectuam as posturas. Esta classificação deverá sempre ter em consideração as características dos embriões e larvas, podendo nessa altura incluir vários sub-grupos intermédios dentro dos Fitolitófilos.

O início da época de reprodução de *Ch. lusitanicum* em meio natural não está determinado, mas supõe-se que começará no meio da Primavera, quando a temperatura da água e o fotoperíodo começam a aumentar, pois fêmeas capturadas nesta altura exibiam o abdómen bastante dilatado.

O início da reprodução em cativeiro caracterizou-se por uma enorme actividade dos indivíduos, facto que é comum a muitas outras espécies. Svårdson (1952) refere que em *Rutilus rutilus*, alguns dos indivíduos chegam a saltar para fora de água, uma vez que o acasalamento ocorre em locais pouco profundos. Também em *Cyprinus carpio* se relata uma actividade tão intensa que por vezes a água se torna extremamente turva, impedindo que se visualizem os indivíduos (Breder & Rosen, 1966).

Como já foi referido anteriormente, não se observa nesta espécie a existência de dimorfismo sexual, nomeadamente o aparecimento de ornamentações, facto que não é muito comum entre os ciprinídeos. Wedekind (1996) observou que em *R. rutilus*, os machos desenvolvem pequenos tubérculos distribuídos por toda a pele e barbatanas, pouco antes da época de reprodução, os quais segundo o autor, deverão dar informação sobre o factor de condição dos indivíduos. Por exemplo, *Gobio gobio* exhibe dimorfismo cromático na altura do acasalamento e os machos de *Phoxinus phoxinus* apresentam um vermelho intenso na base das barbatanas (Breder & Rosen, 1966).

Nas imagens recolhidas durante o acasalamento de *Ch. lusitanicum*, não se registou qualquer diferença na ocupação do espaço pelos dois sexos. Uma vez que não existem registos sobre a distribuição dos sexos na natureza na altura da reprodução, não é possível inferir se este facto é ou não um constrangimento das dimensões do cativeiro. No entanto, a segregação espacial dos sexos encontra-se bastante associada a fenómenos de territorialidade. Em *R. rutilus* foi observado que os locais de postura se encontram ocupados pelos machos os quais patrulham as zonas menos profundas, enquanto as fêmeas ocupam locais mais profundos e afastados das zonas de desova (Svårdson, 1952). Para a mesma espécie Wedekind (1996) observou que apesar de não haver uma defesa marcada de territórios, os machos apresentam uma preferência por determinados locais, ocorrendo em grandes concentrações e ocasionalmente efectuam algumas perseguições e bicadas a outros machos que se aproximam, sem que no entanto se tenham registado exhibições extremamente agressivas. Em *A. brama* a concentração de machos nos locais de postura é menor, pois estes exibem um comportamento claramente territorial.

Nos registos efectuados neste trabalho, como já foi referido, não se observou qualquer tipo de preferência por determinados locais no aquário para a realização das posturas, nem a existência de comportamentos territoriais. As posturas ocorreram por todo o aquário em locais junto a plantas, em rochas ou em locais abertos junto ao substrato. Porém, pensa-se que na natureza, os indivíduos poderão apresentar preferências por determinados locais para a realização de posturas.

A não evidencia de comportamentos agonísticos óbvios por parte dos machos de *Ch. lusitanicum* durante o acasalamento será talvez um dos factos a salientar. Este fenómeno poderá resultar do facto desta espécie não apresentar no seu repertório comportamental exibições agonísticas evidentes ou de uma maior motivação sexual, que inibe este tipo de comportamentos tornando-se a tentativa de fertilização das fêmeas o objectivo primordial.

Não foram encontradas na bibliografia quaisquer referências semelhantes às exibições realizadas pelas fêmeas no decurso deste estudo. Este comportamento denominado “provocatório”, poderá ter uma função de atracção dos machos e poderá indicar que a fêmea se encontra pronta para o acasalamento, uma vez que ela expõe a região urogenital durante as suas movimentações.

Alguns trabalhos realizados sobre reprodução em espécies ibéricas indígenas mostram diferentes estratégias reprodutivas no que diz respeito ao número de posturas efectuadas pelas fêmeas no seu ciclo anual de reprodução. Um estudo feito com *Ch. lemmingii* mostrou que esta espécie desenvolve apenas uma fracção de ovos em cada época de reprodução, os quais são depositados em pequenas porções (Velasco *et al*, 1990). Segundo estes autores, as vantagens selectivas deste tipo de estratégia ainda não são bem compreendidas. Por outro lado, em *Ch. willkommii* e *L. pyrenaicus* foram observadas múltiplas posturas desfasadas no tempo, tendo as observações histológicas dos ovários das fêmeas destas espécies, mostrado uma distribuição bimodal no tamanho dos ovos, com uma fracção de oócitos imaturos e outra de oócitos maduros (Herrera & Fernández-Delgado, 1994; Fernández-Delgado & Herrera, 1995). Segundo estes autores a apresentação de vários picos reprodutivos ao longo do ano representam uma clara vantagem para espécies que habitam ambientes flutuantes. Rinchar & Kestemont (1996) acrescentam que a dispersão ao longo do tempo na produção de ovos, poderá assegurar que pelo menos uma fracção da postura total, sobrevive ao recrutamento.

Em *Ch. lusitanicum*, a reprodução em cativeiro aconteceu num único episódio, no entanto, não é possível precisar se na natureza existe apenas um pico

reprodutivo. São necessários estudos que determinem que tipo de estratégia é utilizada por esta espécie na natureza, nomeadamente a análise histológica dos ovários das fêmeas.

A ontogenia tem sido encarada sob uma variedade de pontos de vista, podendo ser olhada como um processo gradual ou um processo saltatório (Vilizzi & Walker, 1999). Por um lado, Kamler *et al*, (1998) consideram que na prática, é mais útil uma abordagem que se concentre na forma como os eventos chave do desenvolvimento, como são a eclosão, o enchimento da bexiga gasosa, o início da alimentação exógena e absorção do vitelo se sucedem, do que propriamente na divisão em intervalos de desenvolvimento. Por outro, Hensel (1999) enfatiza a importância da heterocronia no estudo do desenvolvimento, uma vez que a ontogenia é um processo formativo que acontece em todas as espécies a uma taxa e ritmo específicos.

Balon (1975b) baseado na Teoria Saltatória da Ontogenia, propôs uma terminologia de intervalos para a descrição da história vital nos peixes. Segundo este autor, a vida de um peixe pode ser dividida em 5 períodos: embrionário, larvar, juvenil, adulto e senescente, sendo cada um destes períodos dividido em fases que permitem a identificação morfológica dos níveis de desenvolvimento. Dentro destes intervalos são considerados passos, que constituem uma “sequência de rápidas alterações na forma e função, separadas pela acumulação e canalização prolongadas de estruturas complexas, que se desenvolvem a variados ritmos e tornam possível a rápida alteração seguinte” (Balon, 1984). Estes últimos, constituem os intervalos mais importantes na ontogenia, uma vez que representam intervalos naturais em que existem alterações das relações dos organismos com o ambiente (Balon, 1979, 1984).

O desenvolvimento embrionário e larvar descrito neste trabalho, foi realizado com base nesta terminologia, no entanto, a rapidez de determinados passos, tornou impossível uma descrição mais pormenorizada do desenvolvimento antes da eclosão. Por exemplo, a descrição do desenvolvimento embrionário em *Ch. toxostoma* mostra que a fase de clivagem tem a duração de menos de 48 horas (Gozlan *et al*, 1999a), de

forma que a caracterização dos passos ocorridos exigia uma observação e fixação dos indivíduos em intervalos muito mais pequenos durante esta fase, do que os diariamente efectuados durante este estudo.

Apesar da eclosão ter sido utilizada como acontecimento que marca o início do Passo VIII do Período Embrionário, a sua aplicação como fronteira entre os dois intervalos do desenvolvimento, ela não constitui um verdadeiro limiar. Segundo Balon (1984) a eclosão não é um evento instantâneo mas sim um processo que varia de indivíduos para indivíduo e é influenciado por diferentes estímulos ambientais e epigenéticos. No caso concreto deste trabalho, esta conclusão é particularmente evidente, uma vez que um aumento da manipulação e da temperatura despoletou a eclosão na maioria dos indivíduos, mas não em todos. A influência da temperatura na ocorrência da eclosão em várias espécies, tem sido largamente documentada por vários autores (Blaxter, 1992; Gulidov & Popova, 1981; Herzig & Winkler, 1986; Kamler *et al*, 1998; Kaufmann & Wieser, 1992, Volodin & Strelnikova, 1985). Desta forma, o início da circulação sanguínea e o número final de sómitos, deveriam ser melhores descritores do início deste passo.

O desenvolvimento posterior ocorre a diferentes taxas no tempo. O último passo que foi possível descrever neste estudo inicia-se com o aparecimento de estruturas que já podem ser consideradas características do Período juvenil. A definição da transição do Período Larvar para o Período Juvenil tem sido algo controversa. Enquanto a transição dos Períodos Embrionário-Larvar se encontra bem caracterizada pelo o início da alimentação exógena e a transição Juvenil-Adulto pela maturação sexual (Balon, 1999; Copp & Kovác, 1996), a transição do Período Larvar para o Período Juvenil tem sido algo controversa.

Segundo Balon (1999), o juvenil é o começo de um fenótipo definitivo em que a maioria da estruturas embrionárias e larvares degeneram e a maioria dos órgãos e estruturas vitais do adulto se formam, dando-se uma estabilização do crescimento alométrico. Esta passagem caracteriza-se, em muitas espécies, por uma metamorfose na qual se dão alterações na anatomia, fisiologia, comportamento e ecologia dos indivíduos. No entanto, esta definição não permite identificar precisamente o final da

metamorfose e o início do Período Juvenil, podendo ser sujeita a várias interpretações (Gozlan *et al*, 1999b). Estes autores verificaram que em *Ch. toxostoma*, o aparecimento de estruturas características do adulto, não coincidem com a estabilização relativa do crescimento. Consideram a existência de um limiar que inicia o último intervalo do processo de remodelação, onde há uma estabilização do crescimento relativo e ao qual chamaram intervalo “Pre-juvenil”.

Não é possível determinar se o último passo do desenvolvimento larvar descrito para *Ch. lusitanicum*, poderá ou não coincidir com o intervalo descrito anteriormente, uma vez que não foi possível continuar a observação do desenvolvimento após esta etapa. Para além disso, este estudo não aprofundou os perfis de crescimento nesta espécie, os quais, durante a o Período Larvar não estão distribuídos uniformemente ao longo de todo o corpo (Fuiman, 1983). Estudos futuros deverão tentar aprofundar o conhecimento deste traço do desenvolvimento.

A comparação do desenvolvimento em laboratório e em meio natural é também um factor importante a considerar em estudos futuros. Segundo Economou *et al* (1991), os exemplares de *Leuciscus cephalus* capturados no campo, quando comparados com os produzidos em cativeiro, apresentam um aparecimento das diferentes estruturas quando os animais atingem maiores dimensões. Para além disso, os indivíduos provenientes da natureza apresentam uma pigmentação e coloração mais intensas. O mesmo foi observado por Gozlan *et al* (1999b) em *Ch. toxostoma*, em que o aparecimento das estruturas adultas ocorreu em indivíduos com cerca de 15 mm SL em condições laboratoriais e a 25 mm SL em indivíduos capturados no campo. Os autores sugerem que estas diferenças estarão relacionadas com a relação entre os organismos, os quais apresentam uma enorme plasticidade e o meio que normalmente oferece maior qualidade de alimento.

Este estudo vem revelar o desconhecimento quase total que existe sobre os processos biológicos em *Ch. lusitanicum*, e vem levantar muitas outras questões para estudos futuros. A compreensão das relações dos organismos com o meio e o

conhecimento dos processos reprodutivos e do desenvolvimento são particularmente importantes numa perspectiva conservacionista das espécies de peixes ameaçadas, principalmente se a reintrodução nos rios for a única opção para restabelecer a distribuição original da espécie. Estes estudos, aliados a um conhecimento profundo da genética das populações, poderá permitir a gestão de stocks, que com a contínua degradação dos habitats e a perspectiva do agravamento geral das condições ambientais, podem vir a constituir uma mais valia na manutenção das espécies nativas. Inclusivamente, este estudo mostra que este tipo de gestão é tecnicamente possível pois a reprodução ocorre naturalmente em cativeiro e o desenvolvimento dos indivíduos em cativeiro ocorreu com enorme sucesso, com uma taxa de mortalidade praticamente nula.

## Referências Bibliográficas

- Alves, M. J. & Coelho, M. M. (1994). Genetic Variation and Population Subdivision of the Endangered Iberian Cyprinid *Chondrostoma lusitanicum*. *Journal of Fish Biology* **44** (4): 627-637.
- Balon, E. K. (1975a). Reproductive Guilds of Fishes: A Proposal and Definition. . *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **32** (6): 821-864.
- Balon, E. K. (1975b). Terminology of Intervals in Fish Development. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **32** (9): 1663-1670.
- Balon, E. K. (1979). The Theory of Saltation and its Application in the Ontogeny of Fishes: Steps and Thresholds. *Environmental Biology of Fishes* **4**(2): 97-101.
- Balon, E. K. (1984). Reflections on Some Decisive Events in the Early Life of Fishes. *Transactions of the American Fisheries Society*, **113**: 178-185.
- Balon, E. K. (1999). Alternative Ways to Become a Juvenile or a Definitive Phenotype (and Some Persisting Linguistic Offenses) *Environmental Biology of Fishes*, **56** (1-2) : 17-38.
- Baras, E. & Nindaba, J. (1999). Seasonal and Diel Utilisation of Inshore Microhabitats by Larvae and Juveniles of *Leuciscus cephalus* and *Leuciscus leuciscus*. *Environmental Biology of Fishes*, **56**: 183-197.
- Bellido, M., Hernando, J. A., Fernandez-Delgado, C. & Herrera, M. (1989). The Food Habits of the Iberian Nase (*Chondrostoma polylepis wilkomii*, Stein. 1866) in the Sierra Boyera Reservoir (Córdoba, Spain). *Doñana, Acta Vertebrata* **16** (2): 189-201.
- Blaxter, J. H. S. (1969). Development Eggs and Larvae. In: Hoar W. S. & D.

J. Randall (Eds): *Fish Physiology* vol. 3, (pp. 117-152). Academic Press, New York.

Blaxter, J. H. S. (1992). The Effect of Temperature on Larval Fishes. *Netherlands Journal of Zoology* 42 (2-3): 336-357.

Breden, C. M. & Rosen, D. E. (1966). *Modes of Reproduction in Fishes*. Natural History Press, Garden City, New York.

Coelho, M. M. (1983). The Straight Mouth Portuguese *Chondrostoma* Agassiz, 1835. I- On the Populations of *Chondrostoma polylepis* Steindachner, 1865 (Pisces, Cyprinidae). *Arquivos do Museu Bocage - Série A* 2 (5): 61-79.

Coelho, M. M. (1985). The Straight Mouth Portuguese *Chondrostoma* Agassiz, 1835. II-Taxonomic Position and Geographic Distribution of *Ch. polylepis* Steindachner, 1865 and *Ch. willkommii* Steindachner, 1866, with the Description of a New Subspecies, *Ch. polylepis duriensis*. *Arq. Mus. Bocage- Série A*. 3 (2): 13-38.

Coelho, M. M. (1987). Estudo Sistemático de Populações de *Chondrostoma* Agassiz, 1835 (Pisces, Cyprinidae). A Especiação de *Ch. polylepis* Steind. 1865 e *Ch. willkommii* Steind., 1866. (Tese de Doutoramento). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Coelho, M. M., & Collares-Pereira, M. J. (1990). A Família Cyprinidae na Bacia do Douro, Diversidade e Aspectos Ecológicos. *Observatório* 1: 391-397.

Coelho, M. M., Alves, M. J. & Rodrigues, E. (1997). Patterns of Genetic Divergence in *Chondrostoma lusitanicum* Collares-Pereira, in Intermittent Portuguese Rivers. *Fisheries Management and Ecology* 4 (3): 223-232.

Coelho, M. M., Bogutskaya, N. G., Rodrigues, J. A. & Collares-Pereira, M. J. (1998). *Leuciscus torgalensis* and *L. aradensis*, Two New Cyprinids for Portuguese Fresh Waters. *Journal of Fish Biology* 52 (5): 937-950.

Collares-Pereira, M. J. (1979). On the Systematic Position of the Iberian Cyprinidae Forms *arcasi* (Steindachner, 1866) and *macrolepidotus* (Steindachner,

1866) of the Genus *Rutilus*. *Arquivos do Museu Bocage (2ª série)* **6** (22): 361-393.

Collares-Pereira, M. J. (1980a). Contribution to the Knowledge of the Iberian Cyprinid *Chondrostoma lemmingi* (Steind., 1866) and its Affinities with *Chondrostoma arrigonis* (Steind., 1866). *Arq. Mus. Bocage - A. (2ª Série)* **VII** (12): 1-27.

Collares-Pereira, M. J. (1980b). Les *Chondrostoma* à Bouche Arqué de la Péninsule Ibérique (avec la Description de *Ch. lusitanicum* nov. Sp.) (Poissons: Cyprinidae). *C. R. Acad. Sc. Paris* t. 291 Série D: 275-278.

Collares-Pereira (1983). Estudo Sistemático e Citogenético dos Pequenos Ciprinídeos Ibéricos Pertencentes aos Géneros *Chondrostoma* Agassiz, 1835, *Rutilus* Rafinesque, 1820 e *Anaocypris* Collares-Pereira, 1983. (Tese de Doutoramento). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Collares-Pereira, M. J., and Coelho, M. M. (1983). Biometrical Analysis of *Chondrostoma polylepis* x *Rutilus arcasti* Natural Hybrids (Osteichthyes - Cypriniformes - Cyprinidae). *Journal of Fish Biology* **23** (5): 495-509.

Collares-Pereira, M. J., Alves, M. J. & Coelho, M. M. (1999). Reassessment of the Generic Position of the Iberian Cyprinid *alburnoides* complex: its Return to the Genus *Leuciscus*. *Journal of Fish Biology*, **54**: 465-468.

Collares-Pereira, M., Cowx, I., Ribeiro, F., Rodrigues, J. & Rogado, L. (2000). Threats Imposed by Water Resource Development Schemes on the Conservation of Endangered Fish Species in the Guadiana River Basin in Portugal. *Fisheries Management and Ecology* **7**: 167-178.

Copp, G. H. (1992). Comparative Microhabitat Use of Cyprinid Larvae and Juveniles in a Lotic Floodplain Channel. *Environmental Biology of Fishes*, **33**: 181-193.

Economou, A. N.; Daoulas, Ch. & Psarras, T. (1991). Growth and Morphological Development of Chub, *Leuciscus cephalus* (L.) During the First Year of Life. *Journal of Fish Biology*, **39**: 393-408.

Eklöv, P. & Persson, L. (1996). The Response of Prey to the Risk of Predation: Proximate Cues for Refuging Juvenile Fish. *Animal Behaviour* **51** (1): 105-115.

Elvira, B. (1987). Taxonomic Revision of the Genus *Chondrostoma* Agassiz, 1835 (Pisces, Cyprinidae). *Cybium 3-Ser.* **11** (2): 111-140.

Elvira, B. (1995). Freshwater Fishes Introduced in Spain and Relationships with Autochthonous Species in D. P. E. Philipp, J. M. ; Marsden, J. E.; Claussen, J. E. & Wolotira, R. J., (eds.) *Protection of Aquatic Biodiversity* (pp. 262-265) Osford & IBH Publishing Co., New Delhi.

Elvira, B. (1996). Endangered Freshwater Fish of Spain. In B. S. Birkhaeuser Verlag, (ed.) *Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe* (pp. 55-61) Basel (Switzerland)

Elvira, B. (1997b). Impacto y Control de los Peces Exoticos Introducidos en España. In C. G. Lorenzo, (ed). *Conservación, Recuperación y gestión de la Ictiofauna Continental Ibérica* (pp.139-151) Publicaciones de la Estación de Ecología Acuática, Sevilla.

Elvira, B. P., Rincón, P. A. & Velasco, J. C. (1990). *Chondrostoma polylepis* Steindachner x *Rutilus lemmingii* (Steindachner) (Osteichthyes, Cyprinidae), a New Natural Hybrid from Duero River Basin, Spain. *Journal of Fish Biology* **37** (5): 745-754.

Elvira, B. (1997a). Taxonomy of the Genus *Chondrostoma* (Osteichthyes, Cyprinidae): An Updated Review. *Folia Zoologica* **47** (suppl. 1): 1-14.

Fernández-Delgado, C. & Herrera, M. (1995). Age, Growth and Reproduction of *Leuciscus pyrenaicus* in an Intermittent Stream in the Guadalquivir River Basin, Southern Spain. *Journal of Fish Biology*, **46**: 371-380.

Fuiman, L. A. (1983). Growth Gradients in Fish Larvae. *Journal of Fish Biology*, **23** (1): 117-123.

Garner, P. (1996). Microhabitat Use and Diet of 0+ Cyprinid Fishes in a Lentic, Regulated Reach of the River Great Ouse, England. *Journal of Fish Biology* **48** (3): 367-382.

Gulidov, M. V. & Popova, K. S. (1981). The Hatching Dynamics and Morphological Features of Larvae of Roach, *Rutilus rutilus* in Relation to Incubation Temperature. *Journal of Ichthyology*: 87-92.

Gozlan, R. E., Copp, G. H. & Tourenq, J. N. (1999a). Early Development of the Sofie, *Chondrostoma toxostoma*. *Environmental Biology of Fishes*, **56** (1-2): 67-77.

Gozlan, R. E., Copp, G. H. & Tourenq, J. N. (1999b). Comparison of Growth Plasticity in the Laboratory and Field, and Implications for the Onset of Juvenile Development in Sofie, *Chondrostoma toxostoma*. *Environmental Biology of Fishes*, **56** (1-2): 153-165

Grand, T. C. & Dill, L. M. (1999). Predation Risk, Unequal Competitors and the Ideal Free Distribution. *Evolutionary Ecology Research*, **1**: 389-409.

Hensel, K. (1999) To be a Juvenile and not be a Larva: An Attempt to Synthesize. *Environmental Biology of Fishes*, **56** (1-2) 277-280.

Herrera, M. & Fernandez-Delgado, C. (1994). The Age, Growth and Reproduction of *Chondrostoma polylepis willkommi* in a Seasonal Stream in the Guadalquivir River Basin (Southern Spain). *Journal of Fish Biology* **44** (1): 11-22.

Herrera, M., Hernando, J. A., Fernandez-Delgado, C. & Bellido, M. (1988). Age, Growth and Reproduction of the Barbel, *Barbus sclateri* (Guenther, 1868), in a First-Order Stream in Southern Spain. *Journal of Fish Biology* **33** (3): 371-381.

Herzig, A. & Winkler, H. (1986). The Influence of Temperature on the Embryonic Development of Three Cyprinid Fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides* and *Vimba vimba*, *Journal of Fish Biology*, **28**: 171-181.

Jackson, D. A., Peres-Neto, P. R. & Olden, J. D. (2001). What Controls Who is Where in Freshwater Communities – The Roles of Biotic, Abiotic, and Spatial Factors. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**: 157-170.

Johnston, C. E. (1999). The Relationship of Spawning Mode to Conservation of North American Minnows (Cyprinidae). *Environmental Biology of Fishes* **55**: 21-30

Kamler, E., H. Keckeis, & E. Bauer-Nemeschkal. (1998). Temperature-Induced Changes of Survival, Development and Yolk Partitioning in *Chondrostoma nasus*. *Journal of Fish Biology* **53** (3): 658-682.

Kaufmann, r. & wiser, W. (1992). Influence of Temperature and Ambient Oxygen on the Swimming Energetics of Cyprinid Larvae and Juveniles. *Environmental Biology of Fishes*, **33** (1-2): 87-95.

Krause, J. (1994). The Influence of Food Competition and Predation Risk on Size-assortative Shoaling in Juvenile Chub (*Leuciscus cephalus*). *Ethology* **96**: 105-116.

Lobon-Cervia, J. & de Sostoa, A. (1987). El Crecimiento del Cacho (*Leuciscus cephalus pyrenaicus* Günther, 1862) en el Rio Jarama (Cuenca del Tajo). *Doñana, Acta Vertebrata* n° 14: 41-51.

Lorencio, C. G. & Garcia-Novo, F. (1986). Biomass and Production of Fishes in a Recent Inpoundment. *Oecologia acuática* n° 8: 133-138.

Lorencio, C. G. & Garcia-Novo, F. (1986). Ichthyofauna of the Arrocampo Reservoir (Tagus River). II Age, Growth and Reproduction of Iberian Nase-Carp, *Chondrostoma polylepis* (Steindachner,1865). *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (B.)* **81** (1-4): 27-35.

Mann, R. H. K. (1996). Environmental Requirements of European Non-Salmonid Fish in Rivers. *Hydrobiologia*, **323**: 223-235.

Meffe, G. K. (1990). Genetic Approaches to Conservation of Rare Fishes: Examples from North American Desert Species. *Journal of Fish Biology* **37** (suppl. A): 105-112.

Mills, C. A. (1982). Factors Affecting the Survival of Dace *Leuciscus leuciscus* (L.), in the Early Post-Hatching Period. *Journal of Fish Biology* **20** (6): 645-655.

O'Hara, K., (1993). Fish Behaviour and the Management of Freshwater Fisheries. In Pitcher, T. J. (ed.) *Behaviour of Teleost Fishes* (2<sup>nd</sup> ed.) (pp. 645-670) Chapman & Hall, London.

Osse, J. W. M. (1990). Form Changes in Fish Larvae in Relation to Changing Demands of Function. *Netherlands Journal of Zoology* **40** (1-2): 362-385.

Pereira, N. C. (1995). The Freshwater Fishes of the Iberian Peninsula. *Arquivos do Museu Bocage (Nova Série)* **2** (30): 473-538.

Persson, L., Bystrom, P., Wahlstrom, E., Nijlunsing, A. & S. Rosema. (2000). Resource Limitation During Early Ontogeny: Constrains Induced by Growth Capacity in Larval an Juvenile Fish. *Oecologia* **122**: 459-469.

Pitcher, T. J. & Parrish, J. K. (1993) .Functions of Shoaling Behaviour in Teleosts. In Pitcher, T. J. (ed.), *Behaviour of Teleost Fishes* (pp.363-439). London, Chapman & Hall.

Povz, M., & Ocvirk, A. (1990). Breeding and Restocking of Danubian Roach, *Rutilus pigus virgo* (Heckel). *Journal of Fish Biology* **37** (suppl. A): 245-246.

Rinchar, J. & Kestemont, P. (1996). Comparative Study of Reproductive Biology in Single- and Multiple-Spawner Cyprinid Fish. I- Morphological and Histological Features. *Journal of Fish Biology*, **49**: 883-894.

Rodrigues, E. & Collares-Pereira, M. J. (1996). NOR Polymorphism in the Iberian Species *Chondrostoma lusitanicum* (Pisces: Cyprinidae). *Genética* **98** (1): 59-63.

Svårdson, G. (1952). Spawning Behaviour of *Leuciscus rutilus* (Linné). *Rep. Inst. Freshwater Res. Drottningholm*, **29**: 102-107.

Velasco, J. C., Rincon, P. A. & Lobon-Cervia, J. (1990). Age, Growth and Reproduction of the Cyprinid *Rutilus lemmingii* (Steindachner, 1866) in the River Huebra, Central Spain. *Journal of Fish Biology* **36** (4): 469-480.

Vilizzi, L. & Walker, K. (1999). The Onset of the Juvenile Period in Carp, *Cyprinus carpio*: A Literature Survey. *Environmental Biology of Fishes*, **56** (1-2): 93-102.

Vollestad, L. A., & L'Abée-Lund (1987). Reproductive Biology of Stream-Spawning Roach, *Rutilus rutilus*. *Environmental Biology of Fishes* **18** (3): 219-227.

Volodin, V. M. & Strelnikova (1985). Stages of the Postembryonic Development of Blue Bream, *Abramis ballerus* under Hatchery Conditions. *Journal of Ichthyology* **25** (1): 142-153.

Watkins, M. S., Doherty, S. & Copp, G. H. (1997). Microhabitat Use by 0+ and Older Fishes in a Small English Chalk Stream. *Journal of Fish Biology* **50** (5): 1010-1024.

Wedekind, C. (1996). Lek-Like Spawning Behaviour and Different Female Mate Preferences in Roach (*Rutilus rutilus*). *Behaviour* **133** (8-9): 681-695.

Wootton, R. J. (1990). *Ecology of Teleost Fishes*. Chapman & Hall (eds), London, U.K., pp 404.

Zardoya, R., & Doadrio, I. (1999). Molecular Evidence on the Evolutionary and Biogeographical Patterns of European Cyprinids. *Journal of Molecular Evolution* **49**: 227-237.

# ANEXOS

## Anexo A

**Tabela 1** – Dimensões dos exemplares mantidos no aquário em Sintra

Classe de Tamanho	Comprimento Standard (cm)	Comprimento Total (cm)
Juvenis	2,1	3,1
	2,8	3,5
	2,9	3,5
Médios	5,7	7,1
	6,2	7,4
	6,3	7,6
	6,5	8,0
	6,7	8,0
	6,8	8,3
	6,8	8,4
	7,3	8,9
Grandes	7,8	9,6
	8,8	10,4
	8,9	10,6
	9,2	10,9

**Tabela 2** – Dimensões dos exemplares mantidos em condições controladas

Classe de Tamanho	Comprimento Standard (cm)	Comprimento Total (cm)
Médios	7,3	8,7
	7,7	9,2
	8,0	9,4
Grandes	8,6	10,4
	9,7	11,6
	10,7	12,9

**Anexo B****Tabela 3** – Distribuição dos períodos de amostragem pelos dois locais de observação a diferentes temperaturas

Local	Data	Temperatura
Laboratório	04-04-2000	18° C
Laboratório	05-04-2000	18° C
Laboratório	06-04-2000	18° C
Laboratório	08-04-2000	18° C
Laboratório	09-04-2000	20° C
Laboratório	11-04-2000	20° C
Sintra	19-10-2000	12° C
Sintra	24-10-2000	14° C
Sintra	02-11-2000	14° C
Laboratório	07-11-2000	20° C
Laboratório	08-11-2000	16° C
Sintra	09-11-2000	10° C
Laboratório	09-11-2000	16° C
Laboratório	10-11-2000	16° C
Sintra	10-11-2000	10° C
Sintra	14-11-2000	14° C
Sintra	17-11-2000	10° C
Sintra	24-11-2000	12° C
Sintra	27-11-2000	10° C
Sintra	29-11-2000	12° C

## Anexo C

**Tabela 4** – Número de sectores vazios em cada período de amostragem em Sintra

Temperatura a 10° C				Temparatura a 12° C			Temperatura a 14° C		
A 4	A5	A7	A9	A1	A8	A10	A2	A3	A6
11	12	13	15	12	12	12	9	13	8
12	13	12	13	12	12	12	9	12	11
12	12	12	17	12	12	12	10	13	10
10	13	11	12	10	11	7	11	11	7
12	12	11	12	12	9	11	11	11	11
12	12	12	14	13	7	10	11	10	10
12	12	14	15	13	12	9	8	11	9
13	13	12	12	13	8	10	8	11	10
15	11	13	11	11	10	7	9	9	7
12	11	11	13	10	11	11	10	10	10
11	12	14	13	12	10	9	10	10	9
12	10	14	10	12	9	7	9	8	10

**Tabela 5** – Número de sectores vazios em cada período de amostragem em Laboratório

Temperatura a 16° C			Temperatura a 18° C				Temperatura a 20° C		
L8	L9	L10	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7
4	4	4	6	4	4	4	5	4	5
5	4	5	5	4	5	5	4	5	3
4	4	4	4	5	4	4	5	3	3
3	4	4	3	4	4	4	5	5	4
5	3	4	5	4	3	4	4	3	3
4	3	4	4	4	3	5	4	4	3
4	4	4	4	5	3	5	5	4	5
3	3	5	3	5	4	4	4	5	2
4	3	4	4	2	4	3	4	4	5
3	4	3	5	4	4	5	4	3	4
3	4	6	4	5	4	5	4	4	5
3	3	5	5	4	4	5	4	5	4

## Anexo D

**Tabela 6** – Total de diferenças no número de indivíduos por sector entre cada 2 scans sucessivos em cada um dos períodos de amostragem em Sintra.

Total de diferenças	Temperatura (° C)
132	12
138	14
150	14
108	10
84	10
120	14
114	10
138	12
118	10
134	12

**Tabela 7** – Total de diferenças no número de indivíduos por sector entre cada 2 scans sucessivos em cada um dos períodos de amostragem em Laboratório.

Nº de Sectores vazios	Temperatura (° C)
76	18
60	18
50	18
70	18
62	20
70	20
54	20
76	16
72	16
72	16